

Determinação de β -N-metilamino-L-alanina (L-BMAA) em amostras ambientais por Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H)

Mariah de Almeida Ultramari (IC)*, Sidnei Moura (PG), Daniela Mendes Louzada de Paula (PQ), Maurício Yonamine (PQ), Ernani Pinto (PQ)

*e-mail: mariah_ultramari@hotmail.com

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo - Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - CEP: 05508-900 São Paulo, SP.

Palavras Chave: L-BMAA, RMN ^1H , SPE, amostras ambientais

Introdução

A β -N-metilamino-L-alanina (L-BMAA) é um aminoácido modificado recentemente identificado em algumas espécies de cianobactérias presentes em ambientes aquáticos (especialmente do gênero *Nostoc*)¹. Este composto tem sido associado a doenças neurodegenerativas como esclerose lateral amiotrófica/demência de Parkinson (ALS/PDC),^{2,3} Esse efeito é atribuído ao agonismo apresentado entre essa molécula e o neuromediador glutamato. Em consequência disso, o monitoramento dessa toxina passa ser importante. Aminoácidos livres, em geral, possuem algumas propriedades incompatíveis com as técnicas analíticas tradicionais, como por exemplo, a baixa volatilidade (para análise em CG) e a não absorvência em UV-visível (para análise em HPLC), sendo necessários métodos de derivatização para ambos os métodos. Assim, o objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de um método por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H que seja capaz de quantificar microgramas desse aminoácido de forma específica.

Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento e validação de um método por RMN de ^1H para L-BMAA em amostras ambientais utilizou-se como padrão interno (PI) 4-nitro-DL-fenilalanina (Figura 1) e separação dos analitos através de extração em fase sólida (SPE).

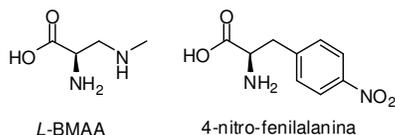


Figura 1. Estruturas químicas L-BMAA e PI.

A eficiência do método foi comprovada através dos seguintes parâmetros analisados: (i) A precisão do método apresentou coeficiente de variação menor que 20% e o coeficiente de correlação de aproximadamente 0.98. (ii) A recuperação encontrada foi de 98% para o menor ponto da curva de linearidade (10 $\mu\text{g/mL}$), 100% para o ponto

intermediário (50 $\mu\text{g/mL}$) e de 100% para o maior ponto (100 $\mu\text{g/mL}$).

Na Figura 2 é apresentado um espectro de RMN de ^1H onde podemos visualizar os sinais utilizados para a quantificação desse composto, σ 2.71 ppm (NCH_3) L-BMAA e 7.06 ppm (PhH_2) para o padrão interno.

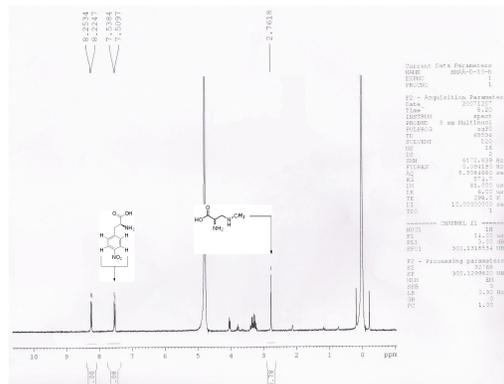


Figura 2. Espectro de RMN ^1H .

Conclusões

O método de quantificação por RMN ^1H para o aminoácido L-BMAA com utilização de padrão interno mostrou boa especificidade para análise em algumas amostras de florações de algas testados. Ainda, reserva as vantagens da utilização de RMN como a não destruição da amostra bem como a não necessidade de derivatização. Teve ainda os parâmetros de validação adequados como esperado e também foi capaz de analisar microgramas do composto, o que esta dentro da faixa de necessária para a identificação dessa toxina em alguns gramas de amostra de acordo com a literatura.¹

Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPESP.

¹ Cox, P. A.; Banack, S. A.; Murch, S. J., 2003. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (23), 13380-13383.

²Murch S.J., Cox P.A., Banack S.A., Steele J.C., Sacks O.W. 2004 Acta Neurol. Scand. 110 (4), 267-269.

³ (a) Papapetropoulos, S., *Neurochem.* 2007. Int., 50 (7,8), 998-1003. (b) Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 3335.