

Desenvolvimento de Sonda Fluorescente Betalaínica

Leticia Christina Pires Gonçalves¹ (PG), Renata Rosito Tonelli² (PG), Nathana Barbosa Lopes¹ (IC), Bruno Martorelli Di Genova¹ (IC), Wilhelm Josef Baader³ (PQ), Vani Xavier de Oliveira Junior¹ (PQ), Erick Leite Bastos^{1,*} (PQ)

erick.bastos@ufabc.edu.br

¹ CCNH, Universidade Federal do ABC. Av. do Estado, 5001 – Bloco B L201. 09210-170 Santo André, SP.

² Departamento de Microbiologia Imunobiologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP

³ Instituto de Química, Universidade de São Paulo. Av. Prof. Lineu Prestes, 748, São Paulo, SP

Palavras Chave: sondas fluorescentes, betalaínas, semi-síntese

Introdução

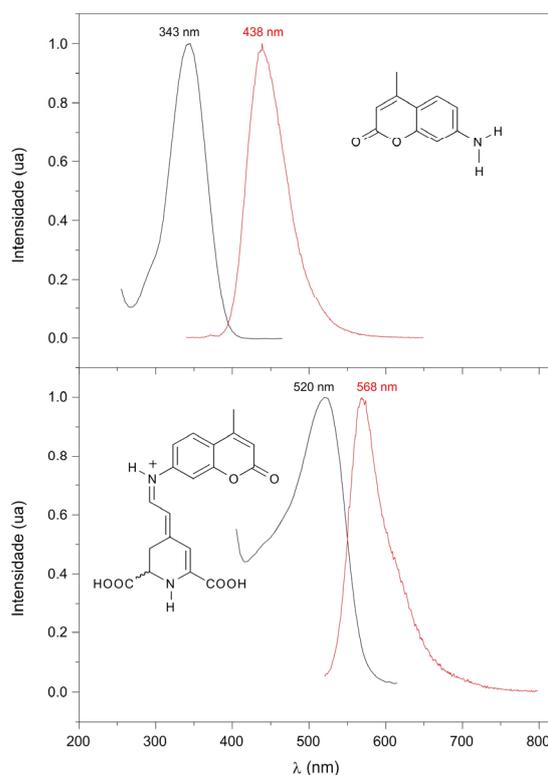
Betalaínas são pigmentos naturais encontrados de forma escassa no reino vegetal. Sua estrutura é constituída de uma porção diidropiridínica conjugada em um cromóforo similar a uma cianina fechada. A betalaína da L-prolina, por exemplo, é bastante fluorescente e pode ser semi-sintetizada a partir do acoplamento aldímico entre o ácido betalâmico e L-prolina.¹ Este ácido é fluorescente, bastante lábil e pode ser obtido a partir da hidrólise alcalina de qualquer betalaína. Com ele, podem ser semi-sintetizados novos pigmentos, possivelmente biocompatíveis, com diferentes padrões de cor e fluorescência.² Este trabalho descreve a semi-síntese de betalaínas cumarínicas e o estudo preliminar do seu uso como sonda fluorescente.

Resultados e Discussão

Betanina obtida de beterraba (*Beta vulgaris*, subsp. *vulgaris*) foi purificada por HPLC e hidrolisada em meio alcalino pH 11. O ácido betalâmico resultante foi submetido a acoplamento aldímico com 7-amino-4-metilcumarina em meio ácido pH 4. O produto obtido é bastante fluorescente e foi purificado por HPLC em escala preparativa. Este pigmento é a primeira betalaína semi-sintética não natural descrita. Os espectros de absorção e fluorescência da cumarina e da betalaína cumarínica são apresentados na Figura 1. Com o acoplamento, o espectro de fluorescência da metilcumarina mostra um desvio batocrômico de 130 nm resultado da extensão da conjugação.

Ensaio de fluorescência foram feitos com células LLC-MK₂. As células foram semeadas em meio DMEM contendo 10% SFB. Após 24 horas de incubação em estufa a 37 °C (5% CO₂), as células foram lavadas com tampão fosfato (pH 7,4) e incubadas com a betalaína cumarínica por 30 min. Após lavagem, as lâminas para microscopia foram montadas em PBS e a fluorescência observada em microscópio de epifluorescência. Observou-se a inserção da sonda na célula com uma suposta preferência pela periferia do núcleo celular.

Figura 1. Absorção e fluorescência do reagente e da sonda betalaínica em meio aquoso pH 4.



Conclusões

Foi semi-sintetizada uma betalaína cumarínica não natural que ao ser incubada em meio celular em pH fisiológico demonstrou potencial como sonda fluorescente.

Agradecimentos

Apoio financeiro: FAPESP (E.L.B., 07/00684-6; L.C.P.G., 07/59407-1), CAPES (E.L.B., 07/Pró-Equip.). Aos Profs. Drs. Antonio de Miranda, Etelvino J. H. Bechara e Sérgio Schenkman e pelo uso de equipamentos e materiais.

¹ Gandia-Herrero F, Garcia-Carmona F e Escribano J. *Nature* **2005**, 437, 334.

² Stintzing, F. C.; Carle, R., *Food Colorants*, **2008**, 277.