

Bioautografia - TLC – EASI/MS acelerando a identificação de compostos antimicobacterianos.

Caroline Fontanari¹ (PG)*, Fernanda Rodrigues¹ (IC), Fabio Cícero de Sá Galetti² (PG), Ana Paula Masson² (TC), Gustavo Braga Sanvido³ (PG), Itamar Soares de Melo⁴ (PQ), Marcos Nogueira Eberlin³ (PQ), Célio Lopes Silva² (PQ), Luiz Alberto Beraldo de Moraes¹ (PQ).

1-Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

2- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

3-Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas, Universidade de Campinas

4- EMBRAPA Meio Ambiente, Jaguariúna/SP

carol_fontanari@yahoo.com.br

Palavras Chave: tuberculose, antibióticos, espectrometria de massas, desreplcação, produtos naturais.

Introdução

O recente desenvolvimento das técnicas de ionização à pressão atmosférica (API) revolucionaram a espectrometria de massas. Em especial a técnica de ionização por electrospray (ESI) possibilitou a ionização e a identificação de compostos em matrizes complexas sem a necessidade de preparo prévio de amostra.¹ A recente técnica batizada de EASI (easy ambient sonic spray ionization) possibilitou a desorção/ionização dos analitos da superfície das placas de TLC. A ionização é produzida através da transferência de prótons da solução água-metanol para o analito, sem a necessidade de aplicação de voltagem no capilar.²

Outra etapa importante no estudo de compostos bioativos é o desenvolvimento dos bioensaios. A bioautografia é uma técnica baseada na resposta biológica (crescimento ou inibição) de uma determinada substância em análise, quando é exposta a ação de microorganismos, empregada principalmente no *screening* de atividade antibacteriana.

O objetivo deste trabalho foi realizar a identificação de compostos antimicobacterianos através da técnica de bioautografia - TLC-EASI-MS.

Resultados e Discussão

O extrato bruto da fermentação do *Penicillium oxalicum* em meio semi sólido de arroz apresentou atividade contra a *M. fortuitum*. A banda que apresentou atividade no ensaio de bioautografia foi submetida ao experimento de TLC-EASI-MS.

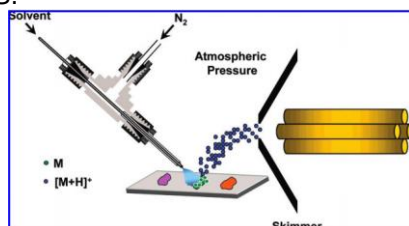


Figura 1. Diagrama esquemático do sistema de TLC-EASI-MS.²

O espectro de massas resultante pode ser observado na figura abaixo:

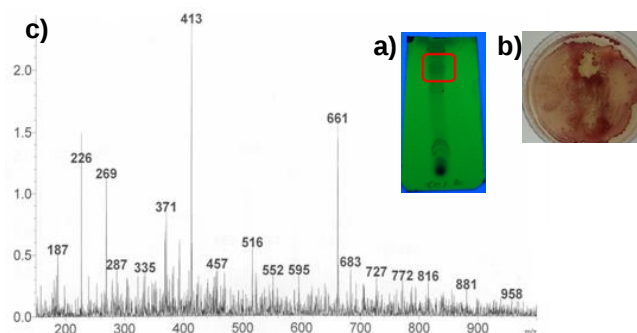


Figura 2. Ensaio de bioautografia e espectro de EASI-MS da banda de maior atividade do extrato de *P. oxalicum*. a) Foto da TLC revelada com luz ultravioleta; b) Foto do ensaio de bioautografia com *M. fortuitum*. c) Espectro de EASI da banda ativa.

Conclusões

Podemos concluir que foi possível a identificação do princípio ativo de um modo rápido através dos experimentos de espectrometria de massas empregando a técnica TLC-Bioautografia-EASI. Esta metodologia em conjunto com experimento de ultra resolução possibilitou a caracterização do composto de *m/z* 638,1536, de fórmula molecular $C_{32}H_{30}O_{14}$. Com base nos espectros de MS/MS e na busca no banco de dados "Dictionary of Natural Products", o composto ativo foi identificado como pertencendo à classe das xantonas.

Agradecimentos

Departamento de Química – FFCLRP/USP
FAPESP e CNPq

[1]. Takats, Z.; Wiseman, J.; Cooks, R. G. *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 1261.

[2]. Haddad, R., Milagre, H. M. S., Catharino, R. R., Eberlin, M. N.; *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 2744-2750.