

Fluorescência no estudo da interação entre tiossemicarbazonas e modelos de membranas biológicas.

Thalma C. Duarte Azeredo^{1*}, Cássia Alessandra Marquezin².

1. Estudante de Biomedicina da Universidade Federal de Goiás - UFG; *thalmad@gmail.com

2. Docente do Instituto de Física, UFG, Goiânia/GO

Palavras Chave: *Membranas lipídicas, anisotropia e tiossemicarbazonas.*

Introdução

Considerando o forte potencial das tiossemicarbazonas para atuarem como agentes antitumorais¹, antibacterianos, antifúngicos, etc, investigamos neste trabalho as interações de alguns destes compostos com modelos de membranas biológicas: vesículas fosfolipídicas de DMPC (dimyristoyl-phosphatidylcholine) e DPPC (dipalmitoyl-phosphatidylcholine). As tiossemicarbazonas estudadas foram 2-nitrobenzaldeído-TSC (2-TSC) e 4 metilbenzaldeído-TSC (4-TSC).

As atividades biológicas das membranas se devem às suas propriedades físicas como resistência, flexibilidade e permeabilidade seletiva aos solutos polares. Dada a complexidade da membrana natural, são utilizadas vesículas de fosfolipídios, onde os lipídios se organizam em bicamadas anfipáticas extremamente solúveis em solventes orgânicos.

Os experimentos consistem em variar a temperatura das amostras e observar o comportamento de fase das bicamadas lipídicas, em presença e ausência dos fármacos de interesse. Quando houver interação dos fármacos com a membrana, existirão mudanças significativas no comportamento de fase, alterando visivelmente a anisotropia de fluorescência da sonda fluorescente utilizada (DPH). Os experimentos de absorção óptica auxiliaram na investigação da fotofísica do composto 2-TSC.

Resultados e Discussão

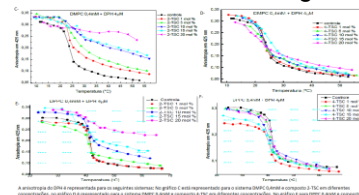
Foram obtidos espectros de absorção do composto 2-TSC através de experimentos de absorção óptica. Em etanol,

devido à mudança de polaridade do meio, as ondas sofrem deslocamento para menores comprimentos de onda em solvente de menor polaridade. Na presença de vesículas de DMPC, observamos deslocamentos para menores comprimentos de onda das bandas. Esses experimentos mostram a sensibilidade do 2-TSC à polaridade do meio.

Os modelos de membranas compostos de DMPC e DPPC foram testados na presença dos compostos 2-TSC e 4-TSC onde variou-se a temperatura de 12 a 65°C. Em todos os gráficos os pontos de cor preta representam o controle, para comparação e análise.

Na figura A nota-se que a anisotropia apresentou valores superiores ao controle na presença do 2-TSC e, esta anisotropia aumenta de acordo com o aumento da concentração do composto, como pode ser observado nas concentrações de 10% e 15% apresentando alterações significativas na membrana. Para a concentração de 20%, pode-se supor rompimento da bicamada lipídica. Na figura B é possível observar oscilação dos valores de anisotropia sobre o valor de referência, mas na fase gel

observa-se ligeiro aumento da concentração do composto, sugerindo maior rigidez da bicamada na fase fluida. Com o objetivo de monitorar os efeitos do 2-TSC e do 4-TSC em diversas profundidades de bicamadas lipídicas, o DPPC foi usado para a produção de bicamadas, alterando os fosfolipídios das vesículas. Na figura C, a membrana composta por DPPC apresentou uma mudança mais amena ao compararmos a concentração de 1mol% de 2-TSC com o controle. Para as concentrações de 15% e 20% há uma curva com comportamento diferente do controle indicando desorganização da membrana lipídica. Por fim, na figura D pode-se observar acentuada diminuição da anisotropia desta membrana em fase gel. A concentração de 1% mostra uma anisotropia menor ao se comparar ao controle, já as concentrações de 10%, 15% e 20% mostram uma curva com decaimento mais suave onde a fluidez da membrana está diminuída.



Conclusões

O composto 2-TSC teve espectros de absorção óptica medidos em meio aquoso, etanol e vesículas fosfolipídicas de DMPC a 1mM. Houve deslocamento das bandas quando variou-se a polaridade, por isso é perceptível a sensibilidade do 2-TSC à polaridade do meio.

Com os experimentos de anisotropia de fluorescência, pode-se inferir que as tiossemicarbazonas estudadas interagem com as bicamadas lipídicas, embora varie de acordo com o lipídio que compõe a membrana.

O composto 2-TSC possui comportamento parecido em ambos lipídios, embora haja um maior enrijecimento da membrana quando esta é composta de DMPC. A membrana mostrou-se desorganizada na concentração de 15% do composto 2-TSC e na concentração de 20% pôde-se interpretar como rompimento da membrana.

Com o composto 4-TSC as membranas compostas de ambos os lipídios seguiram um padrão de transição similar, onde se conferiu uma suavização da curva em ambos os casos, mas apresentando uma fluidez maior da membrana na presença destes compostos. Sugere-se que o composto 4-TSC pode ser utilizado em maiores concentrações sem grandes modificações da membrana.

Agradecimentos

À Prof^a Cecília Maria Alves de Oliveira por ceder as amostras de tiossemicarbazonas.

Ao CNPQ pelo incentivo à pesquisa.

¹ L. Feun, M. Modiano, K. Lee, J. Mao, A. Marini, N. Savaraj, P. Plezia, B. Imassian, E. Colacino, J. Fischer, S. Macdonald, "Phase I and pharmacokinetic study of 3-aminopyridine- 2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP) using a single intravenous dose schedule", *Cancer Chemother. Pharmacol.* Vol. 50, pp. 223-229. 2002.