

Aplicação de técnicas espectroscópicas para avaliação da interação entre alcalóides β -carbolínicos e DNA (*Calf thymus*)

Marina M. Silva^{1*} (IC), Franciele C. Savariz² (PG), Maria Helena Sarragiotto² (PQ), Josué C. C. Santos¹ (PQ), Isis M. Figueiredo¹ (PQ) * marinaquimicaufal@gmail.com

¹Universidade Federal de Alagoas, ²Universidade Estadual de Maringá.

Palavras Chave: alcalóides β -carbolínicos, DNA (*Calf thymus*), interações moleculares, técnicas espectroscópicas.

Introdução

O mapeamento das interações entre pequenas moléculas que se ligam ao DNA é importante para compreender mecanismos moleculares de ação dos fármacos contribuindo para a concepção de novos medicamentos DNA-alvo.¹ Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o estudo da avaliação da interação entre uma classe de alcalóides β -carbolínicos (Fig.1) e ctDNA (*Calf thymus*), visando entender o modo de ligação dos compostos sintetizados. Para a avaliação das constantes de interação como também o modo de ligação composto-DNA, foram realizados estudos das interações através de espectroscopia na região do UV-Vis e fluorescência molecular.

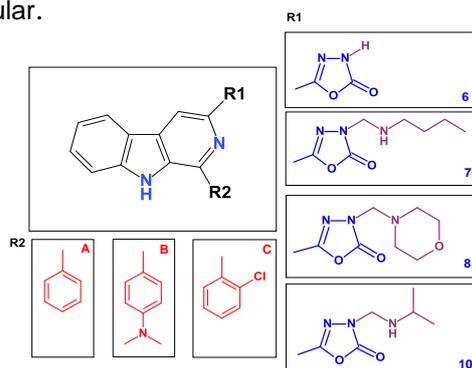


Figura 1. Estrutura das β -carbolinas avaliadas.

Resultados e Discussão

Nos estudos de interação entre o ctDNA e os compostos avaliados, observou-se um aumento da absorção nos espectros UV-Vis conforme o excesso de ctDNA no meio, enquanto nas medidas por fluorescência, os resultados mostraram que à medida que se adicionava quantidades crescentes de DNA, o sinal analítico diminuía, havendo a formação de complexos não fluorescentes entre o composto e o inibidor de fluorescência (*quencher*). As constantes de ligação (K_b) foram calculadas através das medidas de absorção e fluorescência molecular (Tabela 1), bem como o número de sítios de ligação (n) e o parâmetro termodinâmico (ΔG^0). Os valores de K_b por fluorescência variaram de 0,18 a $77,43 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, onde observou-se que os valores seguiram a seguinte ordem dentro de uma mesma série quanto aos radicais: B > A > C. O número de sítios de ligação foi, aproximadamente, igual a 1 e

os valores de ΔG^0 variaram de -21,86 a -33,60 KJ mol⁻¹. Por UV-Vis, os valores das constantes variaram de 5,0 a $18,20 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, obtendo-se tendência similar a ordem de interação por fluorescência. Adicionalmente, ensaios envolvendo KI e um comparativo com o brometo de dimído foram realizados a fim de confirmar o modo de interação do complexo DNA-ligante, evidenciando a interação preferencial por *groove*. Visto que as moléculas intercaladas são menos acessíveis a inibidores aniônicos devido às repulsões eletrostáticas com os ácidos nucleicos com densidade de carga negativa. Os valores de K_b obtidos foram correlacionados ($r > 0,9616$) com o IC₅₀ relativo à atividade antiproliferativa dos compostos avaliados em diferentes culturas de células tumorais (ovário, mama, próstata e pulmão), onde observou-se que quanto maior a constante de ligação dos compostos, menor o valor do IC₅₀, o que indica que para estes compostos nestas culturas celulares o mecanismo de ação da atividade antiproliferativa pode ser através da interação com DNA.

Tabela 1. Dados calculados para as constantes de Stern-Volmer (K_{SV}) e ligação (K_b).

| Comp. | Fluorescência Molecular | | UV-Vis |
|-------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | $K_{SV} \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ | $K_b \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ | $K_b \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ |
| 6A | 4,21 ± 0,38 | 7,75 ± 0,22 | 5,30 ± 0,02 |
| 6B | 3,81 ± 0,42 | 40,19 ± 0,45 | 5,90 ± 0,03 |
| 6C | 3,45 ± 0,09 | 0,28 ± 0,01 | 5,00 ± 0,02 |
| 7A | 1,94 ± 0,08 | 0,18 ± 0,07 | 6,80 ± 0,16 |
| 7B | 57,1 ± 0,1 | 72,4 ± 1,4 | 18,20 ± 0,80 |
| 7C | 8,1 ± 0,1 | 0,68 ± 1,22 | 7,90 ± 0,23 |
| 8A | 2,67 ± 0,01 | 49,61 ± 0,41 | 6,90 ± 0,06 |
| 8B | 3,29 ± 0,03 | 28,87 ± 0,36 | 7,60 ± 0,03 |
| 10B | 10,7 ± 0,5 | 77,43 ± 0,27 | 8,02 ± 0,02 |

Conclusões

As técnicas espectroscópicas utilizadas mostraram-se eficientes para avaliação da interação permitindo avaliar o modo de ligação e K_b entre os compostos β -carbolínicos estudados e o ctDNA.

Agradecimentos

IQB-UFAL, CNPq, FAPCAL.

¹ Sirajuddin, M. et al., A. J. Photochem. Photobiol. B: Biol, 2013, 124, 1.