

Incorporação de uma betalaína cumarínica em lipossomas

Ana Clara B. Rodrigues^{1,*} (PG), Helena C. Junqueira¹ (PQ), Cristiane B. Da Silva² (PQ), Rosângela Itri² (PQ) e Erick L. Bastos¹ (PQ)

¹Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo –SP; ²Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo –SP; abeltran@usp.br

Palavras Chave: betalaínas, vesículas unilamelares gigantes, lipídeos, eritrócito, sonda.

Introdução

Betalaínas naturais são pigmentos atóxicos, solúveis em água e capazes de interagir com lipoproteínas e membranas biológicas.¹ Uma betalaína cumarínica semissintética (**BtC**) foi usada como marcador de eritrócitos infectados por *Plasmodium spp.*, o agente causador da malária.² Os resultados obtidos indicam que a sonda atravessa a membrana do eritrócito, a membrana do vacúolo parasitóforo e acumula no interior do plasmódio. Por isso, é necessário entender o papel da composição lipídica de membranas sobre o mecanismo de permeação e acúmulo de betalaínas em células e compartimentos subcelulares. Vesículas unilamelares gigantes (GUVs) são modelos utilizados para o estudo de membranas lipídicas. Com diâmetros de até 100 µm, as GUVs possuem tamanhos comparáveis aos de células eucariontes e podem ser estudadas por microscopia óptica.³ Este trabalho discute a incorporação de **BtC** em dois tipos diferentes de GUV.

Resultados e Discussão

As GUVs foram preparadas pela metodologia de crescimento por eletroformação³ e estudadas por microscopia de contraste de fase⁴ em microscópio invertido Axiovert 200 (Carl Zeiss). Foram utilizados dois tipos de GUVs: um sistema modelo simples, composto por um fosfolípido sintético, **POPC** (1-palmitoil-2-oleoil-*sn*-glicero-3 fosfatidilcolina); e outro formado por componentes da membrana de eritrócito de coelho (**RBC**). **BtC** foi preparada e purificada de acordo com o procedimento da literatura.² Em resumo, ácido betalâmico foi preparado a partir de hidrólise alcalina de suco de beterraba e então acoplado a 7-amino-4-metilcumarina e purificada por cromatografia de permeação.

A microscopia de contraste de fase depende da existência de meios com diferentes índices de refração dentro e fora da vesícula. Por isso, as GUVs foram preparadas com sacarose (0,2 mol L⁻¹) (**POPC**) ou sacarose (0,3 mol L⁻¹) + MgSO₄ (1 mmol L⁻¹) (**RBC**) em seu interior e diluídas em soluções 0,2 mol L⁻¹ de glicose (**POPC**) ou 0,3 mol L⁻¹ manitol (**RBC**). Foram realizados experimentos controle na ausência e na presença de **BtC** incorporada à

solução dentro das GUVs; as lipossomas foram observadas durante 10 min (**Figura 1**).

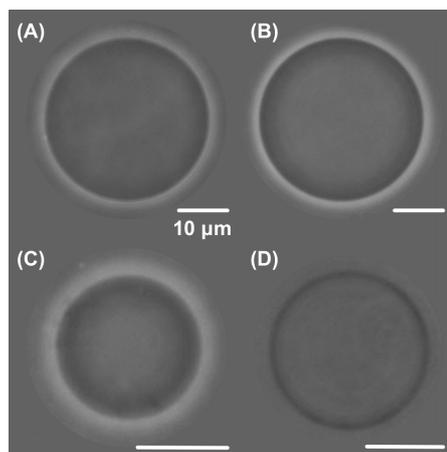


Figura 1. Microscopia de contraste de fase após 10 min: (A) Controle de POPC; (B) POPC + **BtC** (10 µmol L⁻¹); (C) Controle de RBC; (D) RBC + **BtC** (10 µmol L⁻¹). As barras de escala correspondem a 10 µm. As imagens foram agrupadas digitalmente.

Observa-se que as GUVs de **POPC** apresentam diâmetro maior do que as de **RBC** e que a presença de **BtC** não provoca mudança no contraste entre a porção interna e externa. Na concentração de sonda estudada, nota-se que somente com as GUVs de **RBC** houve perda de contraste, indicando que há interação entre a **BtC** e a membrana.

Conclusões

A complexidade da composição da membrana do eritrócito, formada por diferentes lipídeos e proteínas, pode ser determinante para a passagem de **BtC** pela membrana.

Agradecimentos

À FAPESP (ELB 2011/23036-5) e ao CNPq (ACBR, D140676/2013-9, ELB, PP304094/2013-7).

¹ Tesoriere, L.; Gentile, C.; Angileri, F.; Attanzio, A.; Tutone, M.; Allegra, M. e Livrea, M. A. *Eur J Nutr* **2013**, *52*, 1077.

² Gonçalves, L. C. P.; Tonelli, R. R.; Bagnaresi, P.; Mortara, R. A.; Ferreira, A. G. e Bastos, E. L. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e5387.

³ Mikelj, M.; Praper, T.; Demič, R.; Hodnik, V.; Turk, T. e Anderluh, G. *Anal. Biochem.* **2013**, *435*, 174.

⁴ Dimova, R.; Aranda, S.; Bezlyepkina, N.; Nikolov, V.; Riske, K. A. e Lipovsky, R. *J. Phys.: Condens. Matter* **2006**, *18*, S1151.