

Síntese de Compostos Contendo Ácido Gálico Ligado a Aminoácidos e Peptídeos: Interação com miméticos de Membrana e Atividade Biológica.

Paulo Ricardo S. Sanches*¹ (IC), Wanessa Fernanda Altei (PG)², Adriano Defini Andricopulo (PQ)², Eduardo Maffud Cilli¹ (PQ)

1 – Universidade Estadual Paulista – Instituto de Química – UNESP – Araraquara. e-mail: prsanches@iq.unesp.br

2 - Laboratório de Química Medicinal e Computacional - Instituto de Física de São Carlos - USP

Palavras Chave: Ácido Gálico, aminoácidos, Esticolisina II, miméticos de membrana, atividade anticâncer.

Introdução

O ácido orgânico; 3,4,5-trihidroxibenzóico, conhecido como ácido gálico (AG) é objeto de estudo de muitos pesquisadores. Sua estrutura molecular composta por um anel aromático, três grupos funcionais hidroxilas e um grupo carboxila possibilita modificações moleculares bastante peculiares e interessantes. Considerando estas características, os aminoácidos triptofano e tirosina e o peptídeo Esticolisina II foram acoplados ao AG utilizando a técnica de Síntese de Peptídeos em Fase Sólida (SPFS). Este trabalho tem como objetivos pontuais avaliar a possibilidade de síntese dos derivados de ácido gálico pela técnica de SPFS, caracterizar o modo de ação do AG frente a membranas biológicas, além de avaliar os potenciais biológicos das novas moléculas comparativamente ao ácido livre.

Resultados e Discussão

Depois de sintetizadas, as moléculas AG – Trp, AG – Tyr, AG – St II e o peptídeo St II foram purificados em HPLC em fase reversa obtendo-se frações com pureza acima de 96%. A confirmação da síntese se deu por espectrometria de massas utilizando eletrospray, técnica na qual obtemos a razão massa molecular/carga. Posteriormente, ensaios de interação com miméticos de membrana (micelas de SDS) foram realizados. Os testes de interação com miméticos de membrana mostraram que os peptídeos sem e com o AG possuem acentuada interação com micelas de SDS. Pelos espectros de fluorescência e pelos gráficos obtidos (figura 1), podemos notar que, com a adição de SDS houve diminuição do comprimento de onda de máxima absorção para ambas as moléculas. Este fenômeno é conhecido como “blue shift” e indica que o triptofano da cadeia está passando de um ambiente polar para um apolar, indicando a interação do peptídeo com a região apolar da micela. Somado a isto, nota-se a diminuição e o aumento da intensidade de fluorescência para os peptídeos sem e com o AG, respectivamente. Esta variação pode indicar que o peptídeo sem o AG está situado próximo da superfície da micela, promovendo a interação do triptofano com as cabeças polares do SDS e um apagamento da fluorescência. Tal suposição foi confirmada nos testes de supressão de fluorescência por acrilamida. Se comparado ao peptídeo contendo o AG, o resultado é exatamente o inverso, indicando uma maior interação desta molécula com a parte apolar das micelas de SDS que, no estado de agregação, compõem o seu interior.

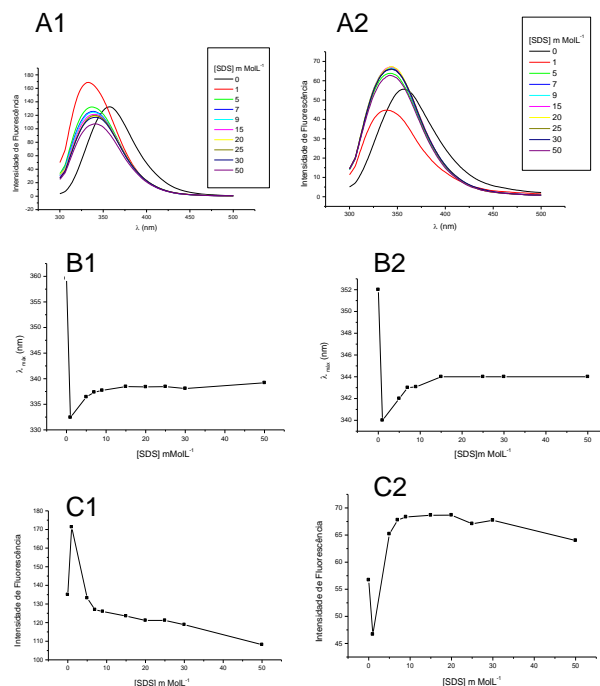


Figura 1: A1 e A2: espectros de fluorescência, B1 e B2: gráficos da variação do comprimento de onda de máxima absorção em função da concentração de surfactante, C1 e C2: gráficos de intensidade de fluorescência em função da concentração de SDS do peptídeo livre e do contendo AG, respectivamente.

Como teste biológico principal foram realizados ensaios de inibição do crescimento de células de câncer de próstata e de mama. Os resultados mostraram que o ácido gálico inibe cerca de 50% das células a concentração de 1 $\mu\text{mol/L}$. Os derivados deste ácido apresentaram menor inibição, sendo que o peptídeo na forma livre não inibiu o crescimento, e o peptídeo com ácido inibiu cerca de 30% das células. Este resultado mostra que mesmo modificado o AG não perde toda sua atividade, mostrando que este é um bom candidato para a elaboração de imunocombinados.

Conclusões

1) A síntese dos derivados propostos por meio da SPFS e a purificação utilizando CLAE foi viável. 2) O ácido gálico não mostrou interação com a micela de SDS, sendo que este composto ligado ao peptídeo StII mostrou interação, no entanto, menor que a encontrada para o peptídeo sem este composto. 4) Os resultados dos testes anticâncer mostraram que a introdução de peptídeos ou aminoácidos ao ácido gálico mantém em parte sua atividade.

Agradecimentos

FAPESP e CNPq