

FILMES NANOESTRUTURADOS CONTENDO PEPTÍDEOS BIOATIVOS APLICADOS COMO SENSORES ELETROQUÍMICOS EM MÉTODOS DIAGNÓSTICOS.

C. Bittencourt¹, J. R. S. Almeida Leite¹ and C. Eiras¹

¹*Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, Campus Ministro Reis Velloso, CMRV, Universidade Federal do Piauí, UFPI, Parnaíba, PI, 64202020, Brazil.*

Palavras Chave: Films, Self-assembly, Dermaseptin, Liposome.

INTRODUÇÃO

Neste trabalho propomos a formação de filmes multicamadas empregando peptídeo sintético análogo ao encontrado na secreção cutânea de anfíbios da fauna brasileira, no qual serão imobilizados em conjunto com gomas de exsudatos (goma natural de caju), na forma de filmes finos preparados pela técnica de automontagem do tipo *layer-by-layer (LbL)* (Decher *et al.*, 1992), além disso o mesmo peptídeo será intercalado com lipossomo, afim de criar subsídios para avaliar a ação do peptídeo sobre membranas biológicas. A adsorção resultante da interação eletrostática entre o material de suporte, as gomas e a estrutura em α -hélice dos PAMs proporciona uma gama de novas aplicações para estes nanocompósitos, que serão testados como materiais ativos para a fabricação de biossensores para detecção de atividade leishmanicida.

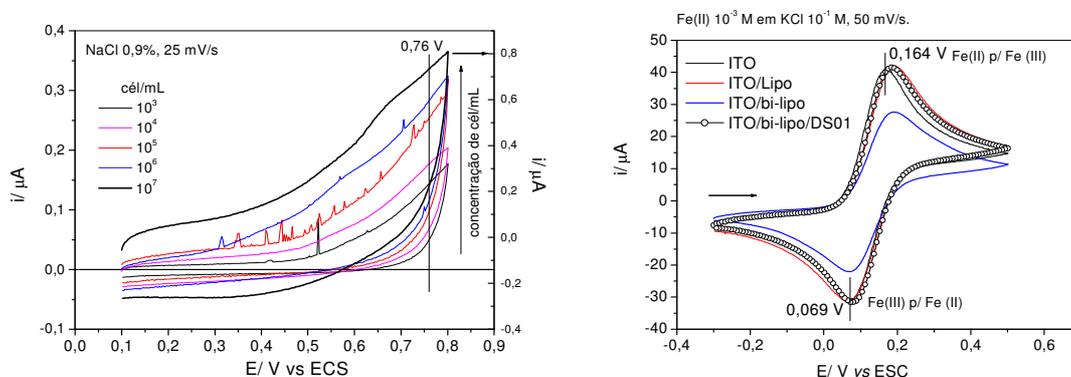
METODOLOGIA

A goma do cajueiro foi coletada da floresta nativa de caju situada no município de Ilha Grande, Piauí, e purificada na forma de sal de sódio como descrito na literatura (Costa *et al.*, 1996). Após o processo de purificação, uma massa de 0,5 g de cada goma foi dissolvida em 100 mL de água por 24 h, sendo as soluções filtradas em funil de placa sinterizada, adicionado-se 0,25 mL de álcool para ajudar na evaporação do solvente, esta solução foi utilizada na deposição dos filmes *LbL*. O peptídeo DS01 foi sintetizado, segundo a metodologia usada por Merrifield, B. (1963). A purificação foi feita no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, HPLC (Shimadzu prominence, AUTOSAMPLER SIL-10AF, CTO-20A, LC-6AD, CBM-20A, SPD-20A), fase reversa. As amostras foram fracionadas em uma coluna C12 Vydac e equilibradas com água a 0,1% de TFA. A eluição ocorreu utilizando um gradiente Linear de ACN (5% a 65%) com o fluxo e de 3 mL por minuto. A deposição das multicamadas foi feita manualmente através do seguinte procedimento: ITO (substrato puro), ITO/ DS 01 (monocamada), ITO/ Caju (monocamada), ITO/Caju, ITO/(Caju/DS 01)*n*. Para os filmes contendo lipossomo foram obtidas as seguintes arquiteturas: ITO/monoLIPO, ITO/biLIPO, ITO/(biLIPO/DS01). Para a realização das medidas eletroquímicas foi utilizado à técnica de

voltametria cíclica com o auxílio de um potenciostato/galvanostato PGSTAT 128N da AUTOLAB.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil eletroquímico mostra que com o aumento da concentração de células do protozoário ocorre um aumento progressivo de corrente, como ilustrado na figura 1. A explicação para o aumento de corrente em função da concentração de células de *Leishmania chagasi* reforça a idéia da ação do peptídeo sobre a membrana do protozoário, causando seu rompimento, os eletrólitos do meio intracelular são liberados e, por conseguinte possibilitam um aumento de corrente.



Após os testes de detecção foram feitos testes com membranas vesiculares (lipossomo), com o intuito de imitarmos a ação do peptídeo na membrana do protozoário, desestabilizando-a, como mostrado na figura 2.

Neste voltamograma podemos perceber que há uma diminuição de corrente com o sistema ITO/biLIPO, uma explicação plausível seria o fato da bicamada recobrir de uma forma mais efetiva o ITO, resultando numa diminuição no transporte de cargas, dificultando portanto o processo redox. Já o sistema contendo ITO/(biLIPO/DS01), há um aumento de corrente, acredita-se que a DS01 lisa o lipossomo, deixando livre a superfície do substrato antes modificado pela bicamada, facilitando com isso o transporte de cargas.

CONCLUSÕES

Os estudos indicaram que é possível a obtenção de filmes contendo peptídeo antimicrobiano (DS01) e polissacarídeo natural (Goma do caju) capazes de detectar a presença de células de *Leishmania chagasi*, a partir de uma dose-resposta em função da concentração de células, deixando clara a ação do peptídeo antimicrobiano sobre a membrana do protozoário, evidenciado pelos testes com membranas vesiculares (lipossomos). Assim,

este trabalho cria subsídios para o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados, que atualmente é a principal alternativa na busca por novos métodos diagnósticos.

APOIO

Os autores agradecem a bolsa CNPq concedida ao aluno, bem como ao suporte financeiro concedido pelas instituições FAPEPI, CNPq, e Rede NANOBIOEMED/CAPEES

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Decher. G.; *Science* **1997**, *277*, 1232.
2. ZAMPA, MF.; ARAÚJO, IMS.; COSTA V.; NERY COSTA, CH.; SANTOS JR., JR.; ZUCOLOTTI, V.; EIRAS, C.; LEITE, JRSA.; Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, (2009).