

## CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DE RICINOLEILPIRROLIDILAMIDA EM MODELOS DE MEMBRANAS

**VICENTE MARQUES, Amanda<sup>1</sup>; MARENGO TRINDADE JR, Paulo<sup>1</sup>;  
SANT'ANNA CADAVAL, Tito Roberto<sup>1</sup>; RODRIGUES DE LIMA, Vânia<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande/Química Licenciatura, <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande  
Escola de Química e Alimentos  
amanda-marx@hotmail.com

### 1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é um exemplo de doença tropical negligenciada que apresentou uma incidência no Brasil de 75 mil novos casos em 2010. O país ocupa a 19ª posição entre os países responsáveis por 80% do total de casos desta doença no mundo (OPAS/OMS, 2010). A TB também é a 7ª causa dos maiores custos com internação no Sistema Único de Saúde nacional por doença infecciosa, tornando-a um grave problema de saúde pública (PNCT/MS, 2009).

Estes índices podem ser agravados pelo desenvolvimento de resistência do agente patogênico da TB, o *Mycobacterium tuberculosis*, causado pelo uso indiscriminado dos fármacos de primeira linha usados no tratamento da doença. A resistência do *M. tuberculosis* ao tratamento medicamentoso convencional contribui de forma significativa para que a TB seja a maior causa de mortalidade em pacientes HIV positivos (FASSIHI et al., 2009).

A Organização Mundial da Saúde propõe estratégias para reduzir os quadros de resistência dos agentes patológicos aos medicamentos. Estas constam de: i) sintetizar novas substâncias ativas e ii) produzir novos sistemas farmacológicos/nanotecnológicos com uso de carreadores lipídicos (WANG et al., 2002). Um candidato a fármaco promissor é a R- ricinoleilpirrolidilamida (RPA), demonstrada na Fig. 1, que vem apresentando atividade satisfatória contra cepas de *M. tuberculosis* resistentes à terapia farmacológica com isoniazida (MONTES D'OCA et al., 2010)

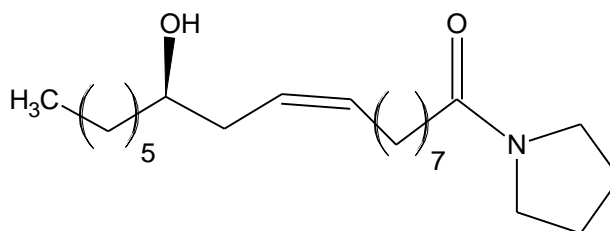


Figura 1 - Estrutura da ricinoleilpirrolidilamida (RPA)

Dentre os carreadores lipídicos que podem incorporar substâncias anti-TB e assim compor os sistemas farmacológicos, citam-se os lipossomos (SANTOS et al., 2002). (Fig. 2A). Estes constam de associações coloidais de lipídios anfipáticos em forma de concha esférica (OHVO-REKILÄ et al., 2002). Os lipossomos são geralmente compostos por fosfatidilcolinas (Fig. 2B) (GÜRSOY et al., 1994).

Está estabelecido que a incorporação de substâncias ativas como a RPA pode provocar alterações nas propriedades físico-químicas dos lipossomos. Desta forma torna-se importante estudar o efeito destas substâncias na dinâmica molecular

e topologia de lipossomos. Este trabalho teve por objetivo incorporar a RPA em lipossomos compostos por dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) e caracterizar as interações fármaco-lipídio através de técnicas instrumentais não-invasivas, como Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC), e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

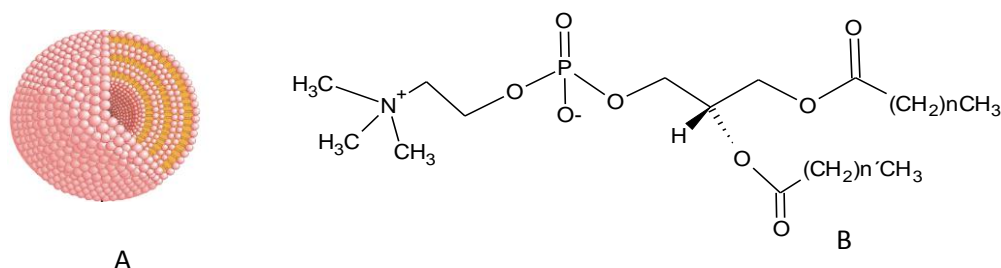


Figura 2- (A)-Representação esquemática de lipossomos; (B)- Estrutura de fosfatidilcolinas.

## 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

**2.1. Preparação dos lipossomos:** Os lipossomos foram preparados pelo método de hidratação de vesículas, na presença e na ausência de RPA (Fig.3) (HOPE et al., 1986).

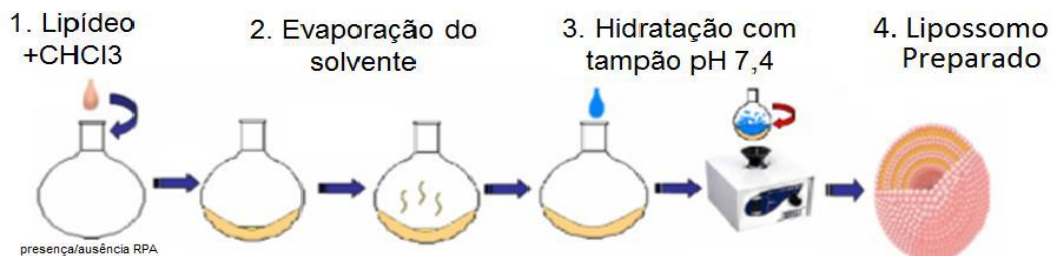


Figura 3 – Método de hidratação de vesículas.

**2.2. Quantificação de RPA incorporada nos lipossomos:** A RPA incorporada nas membranas foi quantificada, a partir do seu efluxo no meio da reação após a dissolução da membrana por Triton X-100, monitorado por espectroscopia de UV-visível.

**2.3. Estudos com FTIR:** Os estudos com FTIR foram realizados através do uso de cristal de HATR de ZnSe, onde foram depositadas as amostras. Os interferogramas foram obtidos através de 50 varreduras de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ . A influência de RPA nos alargamentos e deslocamentos dos picos do espectro de FTIR, referentes a grupos específicos dos lipídios foi analisada.

**2.4. Experimentos com DSC:** nos estudos com DSC, os lipossomos na ausência e na presença da RPA foram submetidos a varreduras efetuadas a uma velocidade de 10°C/min, em faixa de temperatura -10°C a 60°C.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de FTIR dos lipídios na presença da RPA demonstraram que esta provocou um deslocamento para maiores números de onda dos estiramentos axiais assimétricos característicos dos grupos  $\text{PO}_2^-$  e  $\text{C=O}$  de DMPC (Tab.1). Não foram observadas alterações induzidas por RPA em outros grupos funcionais de DMPC por FTIR. Tal resultado indica que a RPA pode estar localizada na interface do lipídio.

| Grupo                             | Número de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) |            |         |
|-----------------------------------|-------------------------------------|------------|---------|
|                                   | DMPC                                | DMPC + RPA | Varição |
| <b>C=O</b>                        | 1734,01                             | 1735,93    | 1,92    |
| <b><math>\text{PO}_2^-</math></b> | 1226,73                             | 1230,58    | 3,85    |

Tabela 1- Deslocamentos de números de ondas referentes a bandas de estiramentos axiais dos grupos  $\text{PO}_2^-$  e  $\text{C=O}$  de dimiristoilfosfatidilcolina na ausência (DMPC) e na presença de ricinoleilpirolidilamida (DMPC + RPA).

Os resultados de DSC (Fig.4) demonstram que a RPA provocou a diminuição nos valores de entalpia ( $\Delta H$ ), bem como a diminuição no valor da temperatura de transição de fase principal ( $T_m$ ) das membranas lipídicas (Tab. 2). Tal redução correspondeu a 18,2 % e 9,7% de  $\Delta H$  e  $T_m$  de DMPC, respectivamente. Isto indica que a RPA parece induzir um aumento da desordem, e da dinâmica das membranas lipídicas. Ao se localizar na parte intermediária da membrana, conforme visto por FTIR, a RPA pode estar diminuindo as interações entre as cadeias lipídicas, podendo aumentar a permeabilidade e a fluidez da membrana (de LIMA et al., 2010).

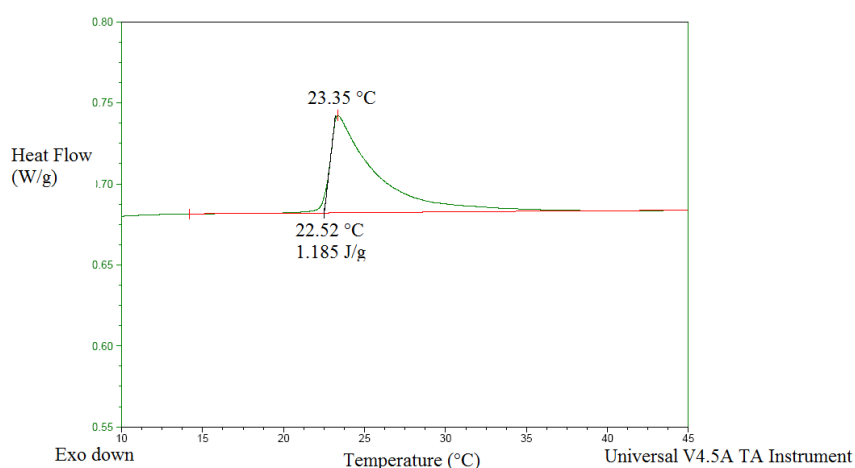


Figura 4- Curva de DSC de lipossomos de DMPC, na presença de RPA

### 4 CONCLUSÃO

4.1. De acordo com os estudos de FTIR, a RPA interage com o grupo  $\text{PO}_2^-$  e  $\text{C=O}$  de membranas de DMPC, indicando influência na parte intermediária do lipídio;

4.2. A RPA parece promover um aumento da dinâmica dos lipídeos de DMPC, observada através das curvas de DSC obtidas. Ao se localizar na parte intermediária, pode estar diminuindo as interações entre as cadeias lipídicas podendo aumentar a permeabilidade e a fluidez da membrana (SEVERCAN et al., 2005).

## 5 REFERÊNCIAS

1. de LIMA, V.R.; CARO, M.S.B.; MUNFORD, M.L.; DESBAT, B.; DUFOURC, E.J.; PASA, A.; CRECZYNSKI-PASA, T.B. (2010) Influence of melatonin on the order of phosphatidylcholine based membranes. *J. Pineal Res.* 49: 169-175.
2. FASSIHI, A.; AZADPOUR, Z.; DELBARI, N.; SAGHAIE, L.; MEMARIAN, H.R.; SABET, R.; ALBORZI, A.; MIRI, R.; POURABBAS, B.; MARDANEH, J.; MOUSAVI, P.; MOEINIFARD, B.; SADEGHI-ALIABADI, H. (2009) Synthesis and antitubercular activity of novel 4-substituted imidazolyl-2-6-dimethyl-N<sup>3</sup>, N<sup>5</sup>-bisaryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxamides. *Eur. J. Med. Chem.* 44: 3253-3258.
3. GÜRISOY, A.; KUT, E.; ÖZKIRIMLI, S. (2004) Co-encapsulation of isoniazid and rifampicin in liposomes and characterization of liposomes by derivative spectroscopy. *Int. J. Pharm.* 271: 115-123.
4. HOPE, M.J.; BALLY, M.B.; MAYER, L.D.; JANOFF, A.S.; CULLIS, P.R. (1986) Generation of multilamellar and unilamellar phospholipid vesicles. *Chem. Phys. Lipids* 40: 89-107.
5. MONTES D'OCA, C.R.; COELHO, T.; MARINHO, T.G.; HACK, C.R.L.; DUARTE, R.C.; SILVA, P.A.; MONTES D'OCA, M.G. (2010) Synthesis and antituberculosis activity of new fatty acid amides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20: 5255-5257
6. OHVO- REKILÄ, H.; RAMSTED, B.; LEPPIMÄKI, P.; SLOTTE, J. P. (2002) Cholesterol interactions with phospholipids in membranes. *Prog. Lipid Res.* 41: 66-97.
7. Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde, OPAS/OMS (2010). Disponível em: <http://new.paho.org/bra/index.php>.
8. Programa Nacional de Controle a Tuberculose/ Ministério da Saúde-PNCT-MS(2009). Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=28055](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=28055).
9. SANTOS, N.C.; CASTANHO, M.A.R.B. (2002) Liposomes: has the magic bullet hit the target? *Quim. Nova.* 25: 1181-1115.
10. SEVERCAN, F.; SAHIN, I.; KAZANCI, N. (2005) Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes-evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. *Biochim. Biophys. Acta*, 1668: 215-222.
11. WANG, Y.S.; YOUNGSTER, S.; GRACE, M.; BAUSCH, J.; BORDENS, R.; WYSS, D.F. (2002) Structural and biological characterization of pegylated recombinant interferon alpha-2b and its therapeutic implications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 547-570.

## 6 AGRADECIMENTOS

CAPES / CNPq