

Caracterização estrutural do Peptídeo Potencializador de Bradicinina (BPP-10c) e seu composto de inclusão por RMN e ITC

Frederico B. de Sousa*(PQ)¹, Ângelo M. L. Denadai (PQ)¹, Ivana S. Lula (PG)¹, Daniele Ianzer (PQ)^{2,3}, Robson A. S. Santos (PQ)², Antônio C. M. de Camargo (PQ)³ e Rubén D. Sinisterra (PQ)¹, fredbsousa@gmail.com

1-Laboratório de Encapsulamento Molecular e Biomateriais - Departamento de Química, ICEX - UFMG

2-Laboratório de Hipertensão - Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB – UFMG

3-Centro de Toxinologia Aplicada – CAT-CEPID, Instituto Butantan - SP

Palavras Chave: Ciclodextrinas, Peptídeos, Compostos de Inclusão

Introdução

Muitas formulações farmacêuticas contendo proteínas e peptídeos não podem ser administradas de forma oral devido à degradação enzimática. Por outro lado, a liberação desses no cólon é de especial relevância, uma vez que neste local existe uma menor quantidade de enzimas digestivas se comparado com o trato superior do sistema gastrointestinal, além de possuir uma capacidade especial de absorção¹. Assim, polissacarídeos e oligossacarídeos, dentre eles as ciclodextrinas, com o intuito de melhorar a estabilidade, absorção e biodisponibilidade de peptídeos e proteínas, têm sido usados como excipientes e agentes de encapsulamento molecular². Assim, o trabalho tem como objetivo a elucidação estrutural do BPP-10c (p-Glu-Asn-Trp-Pro-His-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro-OH) e seu composto de inclusão (CI) com β -ciclodextrina (β CD) na razão molar 1:1 por RMN (¹H, ¹³C, HMQC, TOCSY, COSY e 2D ROSEY no caso do CI) em D₂O e por Calorimetria Isotérmica de Titulação.

Resultados e Discussão

O experimento de HSQC demonstrou haver um número maior do que o esperado de hidrogênios H_α, de ligação peptídica. Para o CI o espectro de ¹H (Fig. 1) apresentou uma maior variação nos deslocamentos químicos do segmento Triptofano, quando comparado com o peptídeo puro, indicando assim uma interação entre o peptídeo e a β CD. No experimento 2D ROESY foram observadas manchas de correlação entre todos os hidrogênios da CD com os hidrogênios do anel do Triptofano, demonstrando interação a curta distância (menor do que 5Å) entre o resíduo de aminoácido e a β CD. Outras correlações observadas foram entre os hidrogênios gama da Prolina e os hidrogênios da CD e ainda, dos hidrogênios do segmento Isoleucina com os hidrogênios externos da CD. Sugerindo a formação de uma a formação de um complexo onde a estequiometria não é fixa. A obtenção da curva de titulação do BPP-10c (Fig 2b) é obtida através da subtração da curva de diluição do peptídeo (Fig. 2a) para retirar efeitos de interação

BPP-BPP e BPP-solvente. A curva não apresentou um perfil sigmóide, que é observado para sistemas que interagem segundo estequiometrias fixas. Contudo por um ajuste e levando em consideração a estequiometria de 1:1, é possível determinar a constante de equilíbrio e seu valor é $\approx 250 \text{ Lmol}^{-1}$.

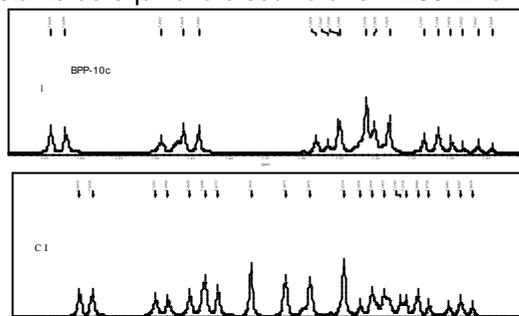


Figura 1. RMN de ¹H (400MHz) do BPP-10c e CI para a região aromática.

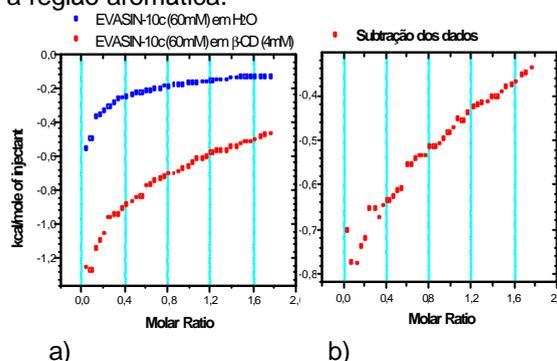


Figura 2. Titulação do BPP-10c em a) água e β CD b) subtração das curvas.

Conclusões

Através dos experimentos de RMN foi possível a elucidação estrutural do BPP-10c e confirmada sua interação com a β CD pelos segmentos Triptofano, Prolina e Isoleucina. Os experimentos de RMN indicaram ainda uma estrutura secundária que foi confirmada por ITC.

Agradecimentos

CNPq e Consorcio de Industrias Farmacêuticas, COINFAR.

¹ Sinha, V. R. e Racha K. *Int. J. Pharm.* **2001**, 224, 19-38.

² Uekama, K.; Hyrayama, F. e Irie, T. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2045-2076.