

Estudo da Topologia de agregados lipídicos com Anestésicos Locais: Aplicação de Técnicas de Ressonância Magnética Nuclear - RMN

Luís Fernando Cabeça (PG)¹, Isis M. Figueiredo (PG)¹, Eneida de Paula (PQ)², Anita J. Marsaioli (PQ)^{1*} anita@igmm.unicamp.br

¹ Unicamp – Instituto de Química, Caixa Postal 6154, CEP 13084-862, Campinas - SP

² Unicamp – Instituto de Biologia, Caixa Postal 6109, CEP 13083-970, Campinas - SP

Palavras Chave: lipossomas, prilocaína, RMN, membranas

Introdução

Lipossomas são estruturas constituídas por uma ou mais esferas de bicamadas de lipídeos, separadas por compartimentos de água¹. Estas estruturas podem encapsular substâncias hidrofílicas, hidrofóbicas ou anfifílicas - em seu interior ou nas bicamadas - sendo interessante veículo para a liberação controlada de drogas².

A encapsulação de anestésicos locais (AL) em lipossomas prolonga a duração da anestesia e reduz a toxicidade para os sistemas cardiovascular e nervoso central³. Neste trabalho, medidas de RMN da Diferença de Transferência de Saturação (STD) e de WaterLOGSY foram realizados, objetivando identificar características moleculares da interação entre lipossomas de fosfatidilcolina de ovo (EPC) e Prilocaína (Figura 1).

Resultados e Discussão

Lipossomas multilamelares foram preparados por agitação de alíquotas de EPC em tampão deuterado de carbonato-bicarbonato 5mM, pH 10; a partir destes, vesículas unilamelares pequenas, apropriadas ao estudo por ¹H-RMN, foram preparadas, por sonicação.

O tamanho dos lipossomas, medido por espalhamento de luz, foi de 90 nm e a %STD foi obtida irradiando-se os lipossomas em -0,49 ppm.

Os Espectros de ¹H-RMN permitiram detectar a imobilização da molécula de prilocaína, quando intercalada nas bicamadas lipídicas. Já as medidas de STD (**Figura 2**) permitiram identificar picos correspondentes a interação entre as moléculas de EPC e PLC: na **Fig. 2A**, observa-se um sinal de 0,91% correspondente ao **H-8** do anestésico, 0,49% para **H-5**; 0,91% para **H-4**, 1,46% para o **CH₃-1** e 0,89% para os hidrogênios da região aromática (2). Estes resultados contrastam com o espectro controle de STB (**Fig 2B**), que mostra todos os sinais (da EPC e da PLC), obtidos através da irradiação de todos os hidrogênios do sistema. Estes resultados foram confirmados através do experimento de WaterLOGSY (**Fig. 2C**), onde foram observadas as mesmas interações intermoleculares que na **Fig. 2A**.

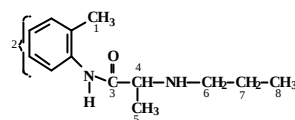


Figura 1. Molécula de Prilocaína

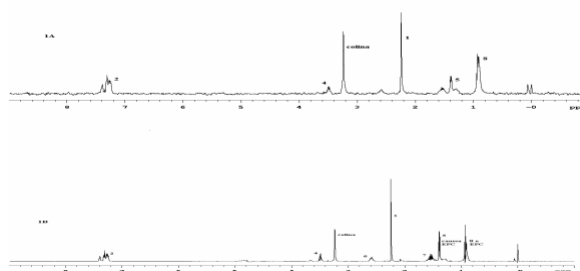


Figura 2. Espectros de ¹H-RMN obtidos Transferência de Saturação em amostra de lipossomas contendo Prilocaína. A) espectro de STD; B) espectro de STD “controle”; C) espectro de WaterLOGSY. [EPC]=5mM e [PLC]=10mM.

Conclusões

Através dos espectros de STD e WaterLOGSY foi possível identificar várias interações intermoleculares específicas entre a molécula de PLC e a de EPC, o que nos permite concluir que toda a molécula de PLC interage com os lipossomas (possivelmente embebida na bicamada lipídica). Os experimentos de STD nos permitirão ainda identificar o posição e orientação específica da inserção da PLC na bicamada e determinar a constante de associação entre PLC e lipossomas.

Agradecimentos

IQ-UNICAMP, CT-Petro - CNPQ, FAPESP

¹ Bangham, A. D.; Standish, M. M. e Watkins, J. C. *J. Mol. Biol.* **1965**, *13*, 238.

² Torchilin, V.P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Rev.* 2005, *4*, 145.

³ Mowat, J. J.; Mok, M. J.; MacLeod, B. A. e Madden, T. *D. Anesthesiol.* **1996**, *85*, 63