

Estudo das Interações Supramoleculares entre β CD e o nonapeptídeo BPP9a por Dicroísmo Circular, RMN (^1H e ROESY) e ITC

Ângelo M. L. Denadai (PQ)^{*1,2}, Frederico B. de Sousa (PG)¹, Ivana S. Lula (PG)¹, Thiago R. Mares Guia (PQ)³; Marcelo M. Santoro (PQ)³; Danielle Ianzer (PG)⁴, Antônio C. M. Camargo (PQ)⁵, Robson A. S. Santos (PQ)⁴, Rubén D. Sinisterra (PQ)¹. angelomld@gmail.com

¹Laboratório de Encapsulamento Molecular e Biomateriais – Departamento de Química – ICEX – UFMG.

²Centro Federal de Educação Tecnológica – CEFET-Timóteo-MG.

³Departamento de Bioquímica e Imunologia – ICB – UFMG.

⁴Departamento de Fisiologia-Biofísica – ICB – UFMG.

⁵Centro de Toxicologia Aplicada CAT-CEPID, Instituto Butantan, SP, Brazil.

Palavras Chave: Ciclodextrina, BPP, Anti-hipertensivo.

Introdução

Neste trabalho, foram estudadas as interações supramoleculares entre o peptídeo potencializador de bradicinina BPP9a¹ (Pyr-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro-OH) e a ciclodextrina β CD, visto que tal complexo é um potencial candidato para formulações orais². Inicialmente, foi feita a identificação da estrutura secundária do BPP9a por dicroísmo circular associada à deconvolução matemática com o programa PEPFIT³. Para o estudo das interações intermoleculares com a β CD, foram utilizadas as técnicas de Dicroísmo Circular (espectrofotômetro JASCO J-720), RMN de ^1H e ROESY (espectrômetro Bruker Avance DRX 400) e ITC (Calorímetro VP-ITC da Microcal).

Resultados e Discussão

O BPP9a é uma molécula anfifílica rica em resíduos prolina, que causam dobras em cadeias peptídicas e protéicas³. Análise dos dados de Dicroísmo Circular³ sugerem uma correspondência de 40% com o padrão “g_{class}”, comum a peptídeos pequenos que possuem estrutura secundária com dobras na cadeia. O espectro de RMN de ^1H do BPP9a mostrou um número de sinais muito superior ao esperado, confirmando a existência de estrutura secundária na molécula. Sua diluição calorimétrica foi exotérmica, insinuando ainda desagregação durante o processo de diluição. Esses dados sugerem agregação do peptídeo, o que lhe permite rigidez conformacional. Na presença de β CD, observou-se nítido desvio hipocrômico na elipsidade a 203 nm e alterações no número de sinais de RMN de ^1H , demonstrando mudança conformacional do peptídeo. Através do mapa de contornos ROESY, foi possível observar a preferência da β CD em se associar com o resíduo Triptofano. Porém, foi também observado proximidade espacial dos hidrogênios da cavidade da β CD com os resíduos Isoleucina e Prolina, sugerindo a formação de um arranjo supramolecular. Para determinar os

parâmetros termodinâmicos de interação (ΔG° , ΔH° , $T\Delta S^\circ$), foram realizados os experimentos de ITC a 25 °C. A curva de titulação não apresentou o perfil sigmóide, demonstrando fracas interações entre as espécies e impossibilitando a determinação precisa da estequiometria⁴. Assim, neste estudo foi assumida a estequiometria de 1:1 para o cálculo dos parâmetros termodinâmicos. O valor de K encontrado (149 ± 4) é relativamente baixo se comparado com outros sistemas⁴. Supõe-se que a baixa afinidade seja devida à pronunciada interação peptídeo-peptídeo frente às interações peptídeo-ciclodextrina. Os dados calorimétricos mostraram que o processo é exotérmico ($\Delta H^\circ = -14,0$ kJ/mol) ocorrendo com pequena redução de entropia ($T\Delta S^\circ = -1,6$ kJ/mol). O termo entálpico foi atribuído à formação de interações estáveis do tipo íon-dipolo, ligações de hidrogênio e Van der Waals e ainda à formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água deslocadas da cavidade das ciclodextrinas. O termo entrópico foi atribuído à formação de complexo volumoso, de baixa mobilidade e conseqüentemente mais organizado.

Conclusões

De acordo com os dados experimentais obtidos, observa-se alta complexidade nas interações entre o BPP9a e a β CD. Pode-se constatar que a β CD tende a reduzir a estrutura secundária do peptídeo, porém o complexo como um todo tem menor entropia do que os reagentes livres. Propõe-se que o mecanismo de interação entre as espécies envolva inicial quebra de agregados de BPP's com subsequente complexação com a ciclodextrina.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPEMIG, COINFAR.

¹Denadai, A.M.L. et. al. International Journal of Pharmaceutics, 2007, article in press.

²Lofsson, T.; Brewster, M. E. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1996, 85, (10), 1017-1025.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

³Reed, J. R. and Reed T. A. Analytical Biochemistry, 1997, 254, 36-40.

⁴Turnbull, W. B.; Daranas, A. H., Journal of the American Chemical Society, 2003, 125, (48), 14859-14866.