

Caracterização físico-química e avaliação da atividade anti-hipertensiva de uma formulação constituída por β CD e o pentapeptídeo BPP5a

Ângelo M.L. Denadai (PG)^{*1,2}, Danielle Ianzer (PG)³, Antônio F.C. Alcântara (PQ)¹, Ivana S. Lula (PG)¹, Marcelo M. Santoro (PQ)⁴, Cynthia F.F. Santos (PG)³, Antônio C.M. Camargo (PQ)⁵, Adelaide Faljoni-Alario (PQ)⁵, Robson A. Santos (PQ)³, 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 Fisiologia e Biofísica, ICB-UFMG. ⁴Departamento de Bioquímica e Imunologia, ICB-UFMG. ⁵Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada, Instituto Butantan, CAT-CEPID. ⁶Departamento de Bioquímica, IQ-USP.

Palavras Chave: Ciclodextrina, BPP, Atividade anti-hipertensiva, *Bothrops jararaca*, Interações.

Introdução

No presente trabalho são descritas as propriedades físico-químicas e a atividade anti-hipertensiva de uma formulação oral, obtida pela complexação da ciclodextrina (β CD) com BPP5a (Pyr-Lys-Trp-Ala-Pro-OH), peptídeo anti-hipertensivo encontrado em veneno de *Bothrops jararaca*¹. Dicroísmo circular, RMN de ¹H e ROESY, Cálculos teóricos PM3 e ITC foram utilizados para caracterizar o complexo formado. A atividade anti-hipertensiva do complexo foi avaliada por telemetria em ratos hipertensos, comparando sua atividade com a dos controles (peptídeo e β CD puros).

Resultados e Discussão

O espectro de Dicroísmo Circular sugere que o BPP5a é um peptídeo randômico², o que é condizente com o tamanho. Na presença de β CD, observa-se um aumento da elipsidade a 200 nm, sugerindo maior estruturação do peptídeo. O espectro de RMN de ¹H do complexo mostra nítidas mudanças nos sinais dos hidrogênios do resíduo Triptofano (Trp) sugerindo seletividade da β CD pelo mesmo. Os dados de ROESY mostraram intensas correlações entre os hidrogênios do Trp com os hidrogênios da cavidade da β CD, mostrando novamente a preferência da β CD por este resíduo. Usando o método teórico PM3 (adotando-se como parâmetro de estabilidade a entalpia de formação do complexo), foi possível confirmar que as geometrias mais estáveis envolvem complexação da β CD com o Trp. Experimentos de ITC foram realizados objetivando-se determinar os parâmetros de interação (K , ΔG° , ΔH° , ΔS°), a 25 °C. O perfil da curva calorimétrica obtida foi típico de sistemas de constantes de afinidade relativamente baixas ($K < 20000$)³. Assim, foi assumida uma estequiometria 1:1 para os cálculos. De fato, o processo ocorre com baixa constante de afinidade ($K = 24,4$), provavelmente pelo forte caráter hidrofílico do peptídeo. O processo ainda ocorre com redução de

entalpia ($\Delta H^\circ = -15,4$ kJ/mol) e com redução de entropia ($\Delta S^\circ = -7,2$ kJ/mol). O termo entálpico foi atribuído à formação tanto de interações estáveis entre as espécies quanto de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água liberadas da cavidade das ciclodextrinas com o restante das moléculas de água do solvente. O termo entrópico foi atribuído à formação de complexo volumoso e de baixa mobilidade, se comparado com as substâncias livres. A avaliação da pressão arterial média (MAP) de ratos espontaneamente hipertensos, mediante a aplicação de 2,02 μ mol/kg do complexo (0,71 μ mol de BPP5a + 1,31 μ mol de β CD) promoveu a redução da MAP por 6 h, sendo a máxima queda alcançada em 60 min ($11,0 \pm 3,4$ mmHg). A aplicação do veículo (1,31 μ mol de β CD pura) ou de uma dose de BPP5a puro em uma concentração equivalente de peptídeo puro (0,71 μ mol/kg), não promoveram reduções na MAP, demonstrando que, na presença de β CD, obtém-se uma redução da pressão arterial.

Conclusões

Os dados experimentais mostraram que o complexo formado pela complexação da β CD com o BPP5a ocorre com seletiva interação do resíduo triptofano com a cavidade da β CD e que o peptídeo exibe uma estrutura mais rígida após a complexação. Os cálculos teóricos e os dados termodinâmicos mostraram relativamente fraca interação entre as espécies, o que é vantajoso em termos de formulação, pois implica em fácil dissociação do complexo em sistemas biológicos. Experimentos *in vivo* mostram que a formulação é eficiente na redução da pressão arterial, provavelmente devido ao aumento da biodisponibilidade do peptídeo.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPEMIG, COINFAR.

¹ Denadai, A.M.L. et. al., Int. J. Pharm., 2007, article in press.

² Reed, J.R., Reed T.A. Anal. Biochem. 1997, 254, 36.

³Turnbull, W.B.; Daranas, A.H., J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 14859.