

Efeito do Fármaco Anti-Tuberculose Isoniazida na Dinâmica Molecular de Lipossomos de Fosfatidilcolina.

**DANTAS MASCARENHAS, Layoan¹; VICENTE MARQUES, Amanda²;
MARENGO TRINDADE JR, Paulo²; RODRIGUES DE LIMA, Vânia³**

¹Universidade Federal do Rio Grande/ Química Bacharelado; ²Universidade Federal do Rio Grande/ Química Licenciatura; ³Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos. layoanmascarenhas@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) apresentou incidência no Brasil de 75 mil novos casos em 2010. O Brasil é o 19º país do mundo com maior número de casos da doença (OPAS/OMS, 2010). A TB é causada pela bactéria *M. tuberculosis* e a resistência desenvolvida pela mesma ao fármaco isoniazida (INH, Fig.1), contribui para tornar a TB a maior causa de morte em indivíduos HIV positivos (TAKAYAMA et al., 1979). A resistência da bactéria está diretamente associada ao uso indiscriminado do fármaco pela população, o que também provoca alta toxicidade e efeitos indesejáveis, como neurite periférica e hepatite.

Para combater aos quadros de resistência de agentes patogênicos ao tratamento com fármacos, a Organização Mundial da Saúde propõe a incorporação das substâncias ativas em carreadores lipídicos, como lipossomos (FRÉZARD et al., 2005). Sabendo-se que a incorporação de um fármaco pode provocar alterações nas propriedades físico-químicas das membranas, torna-se importante caracterizar as interações intermoleculares entre a INH e os lipossomos. Os lipossomos são geralmente compostos por fosfatidilcolinas (Fig. 2) saturadas ou insaturadas.

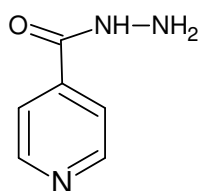


Figura 1- Isoniazida.

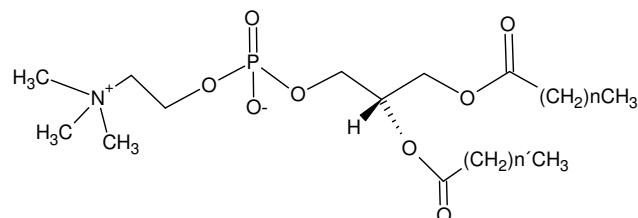


Figura 2- Estrutura da fosfatidilcolina.

Este trabalho objetiva incorporar e determinar o efeito do fármaco INH na dinâmica molecular de lipossomos compostos por dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), através do uso de técnicas instrumentais não-invasivas, como o Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), a Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC), e a espectroscopia UV-vísivel. Tais estudos poderão contribuir no desenvolvimento de novos sistemas farmacológicos menos suscetíveis a resistência bacteriana.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

2.1 Preparação dos lipossomos: Os lipossomos contendo DMPC foram preparados de acordo com o método de hidratação de vesículas (Fig.3), na presença e na ausência de INH (RODRIGUES et al.,2003).

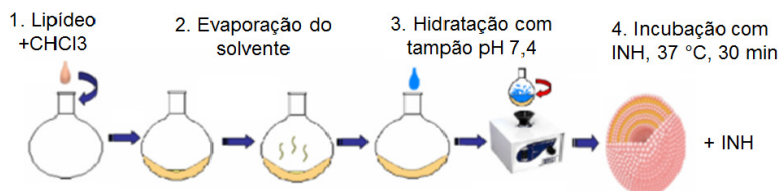


Figura 3 - Esquema de preparação de lipossomo.

2.2 Determinação do percentual de substância ativa incorporada em lipossomos: o percentual de INH incorporada nos lipossomos foi determinado a partir do seu efluxo no meio de reação após solubilização das membranas com Triton X-100 (RODRIGUES et al.,2003), monitorado por espectroscopia UV-visível ($\lambda = 263 \text{ nm}$). As amostras testadas apresentaram diferentes razões fármaco: lipídio (m/m).

2.3 Estudos com FTIR: os espectros de FTIR de lipossomos na presença e ausência de INH foram obtidos na faixa de frequência de $750 \text{ a } 4000 \text{ cm}^{-1}$. Os espectros foram analisados segundo o deslocamento de frequências de bandas do lipídio provocado pela interação com INH (FERIDE et al., 2005).

2.4 Estudos com DSC: Nos estudos com DSC os lipossomos, na ausência e na presença dos compostos, foram depositados em recipientes de alumínio (panelinhas) e submetidos a varreduras efetuadas a uma velocidade de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, em faixa de temperatura -10°C a 60°C (de LIMA et al., 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Quantificação do percentual de INH incorporada em lipossomos: os ensaios de quantificação determinaram um percentual de 46% de INH incorporada nos lipossomos, o que é considerado satisfatório para o tipo de membrana lipídica usada (Fig.4).

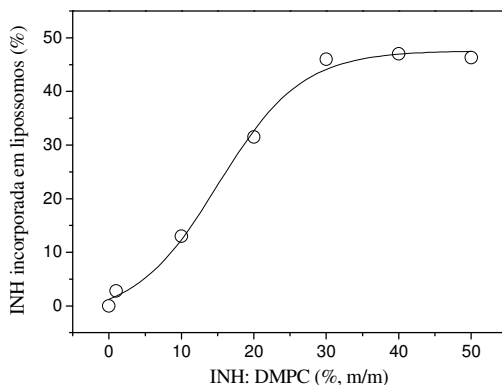


Figura 4 - Curva referente ao percentual de saturação de INH em lipossomos de DMPC com diferentes razões de INH: DMPC (% m/m).

3.2 Caracterização por FTIR: os espectros de FTIR dos lipossomos, na ausência e presença de INH, demonstraram que o fármaco provocou um deslocamento da frequência característica do grupo PO_4^- do lipídio (1075cm^{-1}) de 26 cm^{-1} para uma região de menor frequência (Fig. 5). Isto indica uma possível interação através de ligações de hidrogênio entre este grupo e a INH (FERIDE et al., 2005). Não foram observadas alterações no deslocamento das bandas características de nenhum outro grupo lipídico, incluindo as bandas referentes ao grupo CH_2 ($2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$), presente de forma majoritária na região apolar lipídica. Os dados indicam uma interação preferencial da INH com a região polar da membrana.

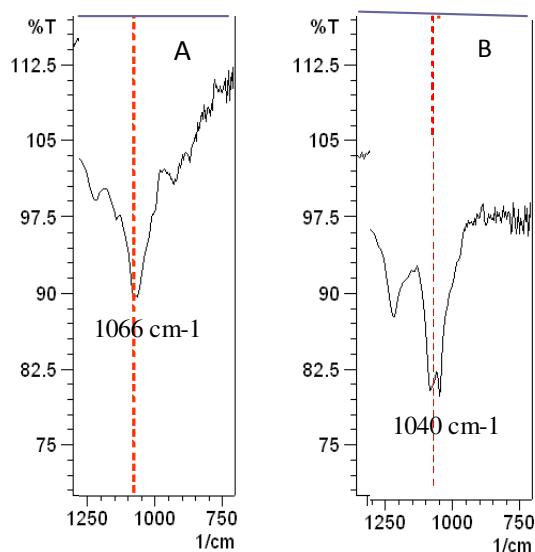


Figura 5- Banda de FTIR do grupo PO_2^- de DMPC na ausência (A) e na presença (B) de INH.

3.3 Caracterização por DSC: os ensaios de DSC (Tab. 1) não demonstraram influência de INH em valores de temperatura de transição de fase (T_m) e variação de entalpia (ΔH).

	ΔH J/g	T_m °C
DMPC	1,186	23,5
DMPC + INH	1,185	23,35

Tabela 1- Valores de variação de entalpia e temperatura de transição de fase em lipossomos de DMPC puros e incorporados com INH.

A variação dos valores de ΔH e T_m indicou uma interação mínima ou nula de INH com a região apolar de DMPC, confirmando os dados obtidos nos estudos com FTIR.

4 CONCLUSÃO

O percentual de INH incorporado nos lipossomos foi de 46%. Os espectros de FTIR indicaram uma interação da INH com a região polar da membrana, através de ligações de hidrogênio com o grupo PO_4^- do lipídio. Tais resultados foram confirmados pelas baixas alterações nos valores de variação de entalpia (ΔH) e temperatura de transição de fase (T_m) dos lipídios, na presença de INH, observadas por DSC.

5 REFERÊNCIAS

de LIMA, V.R.; CARO, M.S.B.; MUNFORD, M.L.; DESBAT, B.; DUFOURC, E.J.; PASA, A.; CRECZYNSKI-PASA, T.B. Influence of melatonin on the order of phosphatidylcholine based membranes. **J. Pineal Res.**, v. 49, p. 169-175, 2010.

FRÉZARD, F.; SCHETTINI, D.A. ; ROCHA O.G.F.; DEMICHELI C. Lipossomas: propriedades físico- químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. **Química Nova**, v. 28, p. 511-518, 2005.

Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde, OPAS/OMS (2010). Disponível em: <http://new.paho.org/bra/index.php>.

RODRIGUES, C.; GAMEIRO, P.; PRIETO, M.; de CASTRO, B. Interaction of rifampicin and isoniazid with large unilamellar liposomes: spectroscopic location studies. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1620, p. 151-159, 2003.

SEVERCAN, F.; SAHIN, I.; KAZANCI, N. Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes- evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1668, p. 215-222, 2005.

TAKAYAMA, K.; DAVIDSON, L.A. Antimycobacterial drugs that inhibit mycolic acid synthesis, **Trends Biol. Sci.**, v. 4, p. 280-282, 1979.

AGRADECIMENTOS: CAPES/CNPq