

# Comportamiento a pH ácido y fisiológico del complejo N-acetilcisteína con dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC)

Cobos Picot, R.A.<sup>1,2</sup>, Arias J. M.<sup>3</sup>, Ben Altabef A<sup>1,2</sup>, Tuttolomondo, María Eugenia<sup>1,2</sup> y Díaz, Sonia<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>INQUINOA-CONICET, <sup>2</sup>Instituto de Química Física. Facultad de Bioqca., Qca.y Farmacia, U.N.T. San Miguel de Tucumán, R. Argentina.

<sup>3</sup>INIQUI CONICET, Box 620, Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas, U.N.Sa., Salta. R. Argentina.

e-mail: ale\_cobospicot@yahoo.com.ar

## Introducción

La N-acetil-L-cisteína (NAC) es usada como fármaco por sus propiedades mucolíticas; deshidrata las mucosas y provoca una ruptura de los enlaces disulfuro en las secreciones mucolíticas. Al ser incorporado como fármaco en solución acuosa, es interesante el estudio de su interacción con sistemas modelo de vesículas multilamelares de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y así poder inferir su mecanismo de acción.

## Objetivo

Estudiar a pH ácido (1,7-2,5) y pH fisiológico (7-7,4) los efectos de NAC con vesículas multilamelares (liposomas) de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), en estados gel (30 °C) y líquido cristalino (50 °C), realizando medidas experimentales de espectroscopias FTIR y Raman y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

## Resultados y Discusión

El complejo NAC:DPPC a pH ácido no presenta cambios en la Temperatura de transición ( $T_m$ ), pero a pH fisiológico cambia ligeramente hacia mayores valores con respecto al lípido puro, estabilizando la fase gel (Tabla 1). En el termograma del DPPC puro (Figura 1) podemos ver que el pico correspondiente a la pretransición en 35,85 °C ( $T_p$ ) desciende en intensidad gradualmente con la incorporación de NAC a pH 2, mientras que a pH 7 se observa que  $T_p$  aumenta con respecto al lípido puro, a partir de la relación molar 1,10:1,00.

Tabla 1	pH 2		pH 7	
	$T_p$	$T_m$	$T_p$	$T_m$
Relación molar NAC:DPPC				
0,00:1,00	35,85	41,50	35,85	41,50
0,37:1,00	35,80	42,30	35,00	41,45
1,10:1,00	32,18	42,09	37,00	42,25
1,47:1,00	32,28	41,75	37,90	42,36
2,93:1,00	-	41,40	37,40	42,52

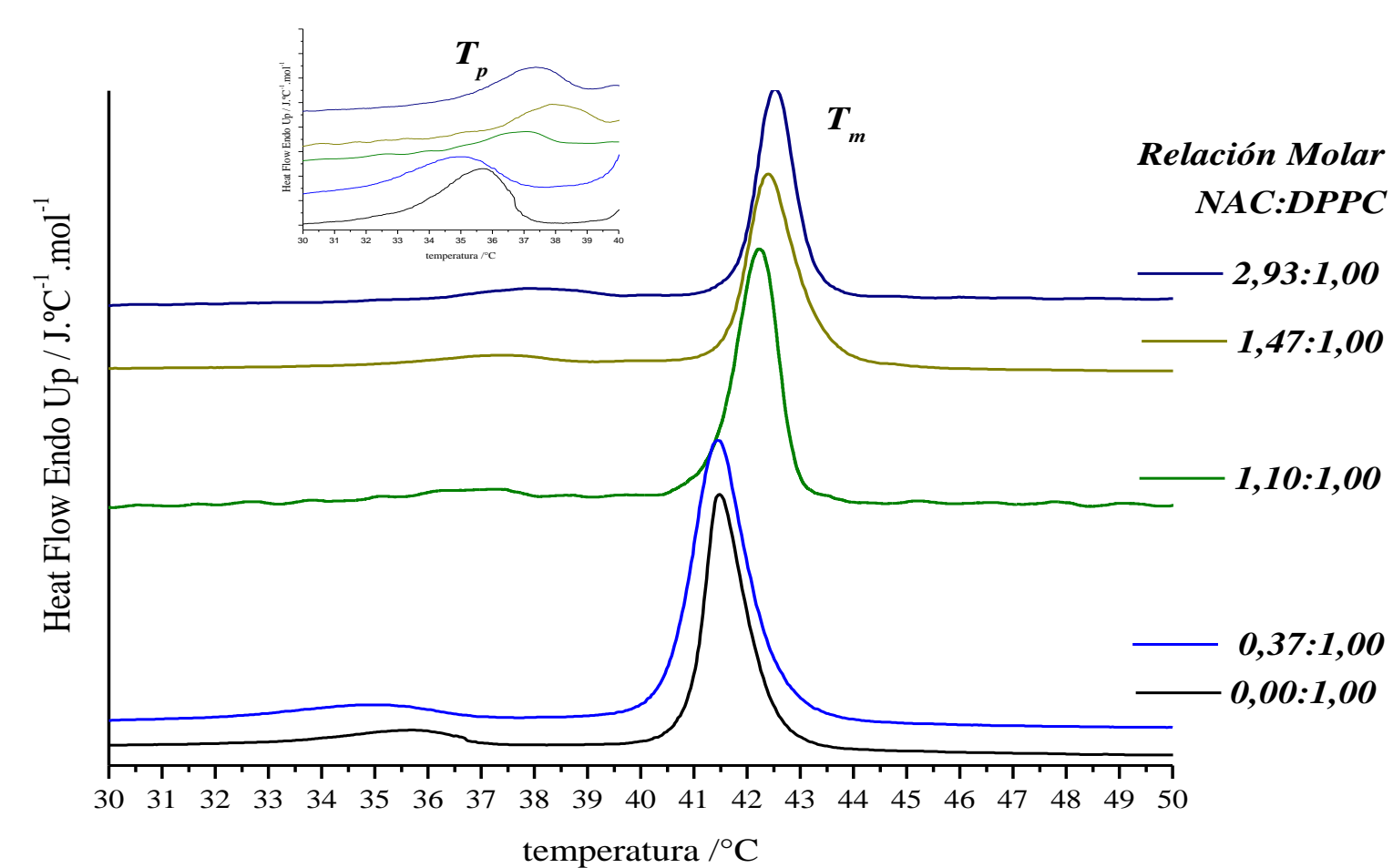
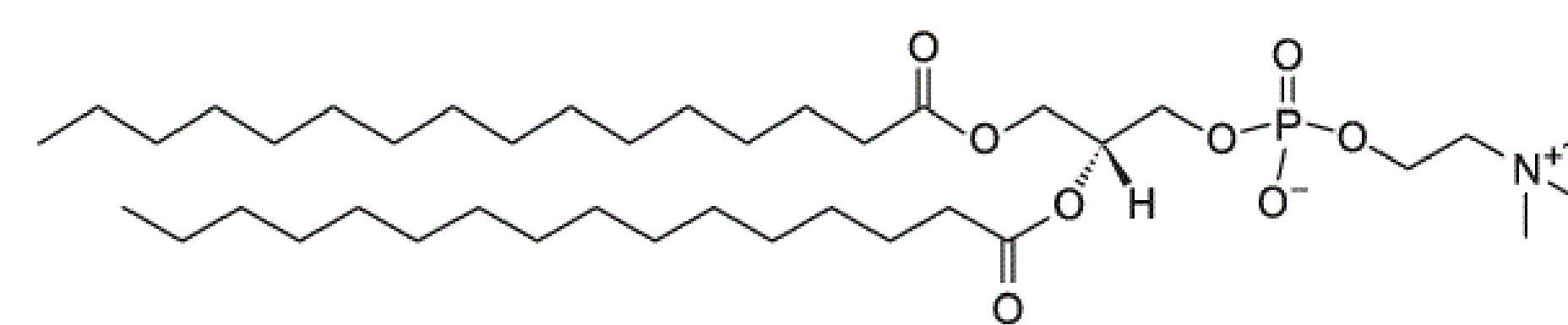
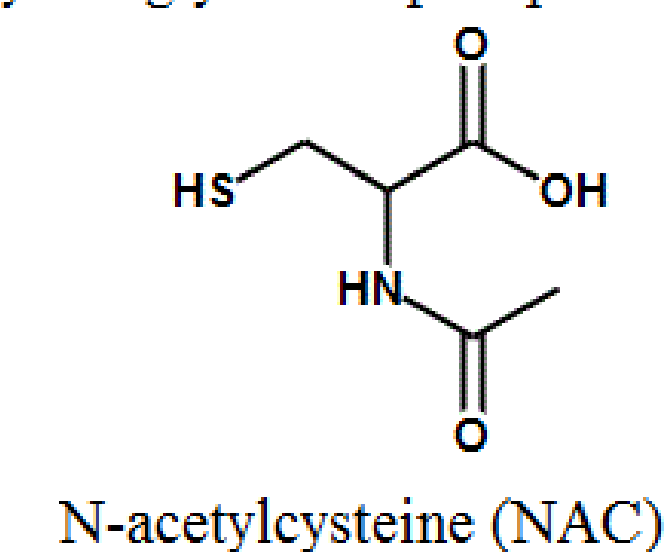


Figura 1. Termogramas de liposomas hidratados de DPPC puro y en distintas relaciones molares con NAC.



1, 2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoโคลチン (DPPC)



N-acetylcysteína (NAC)

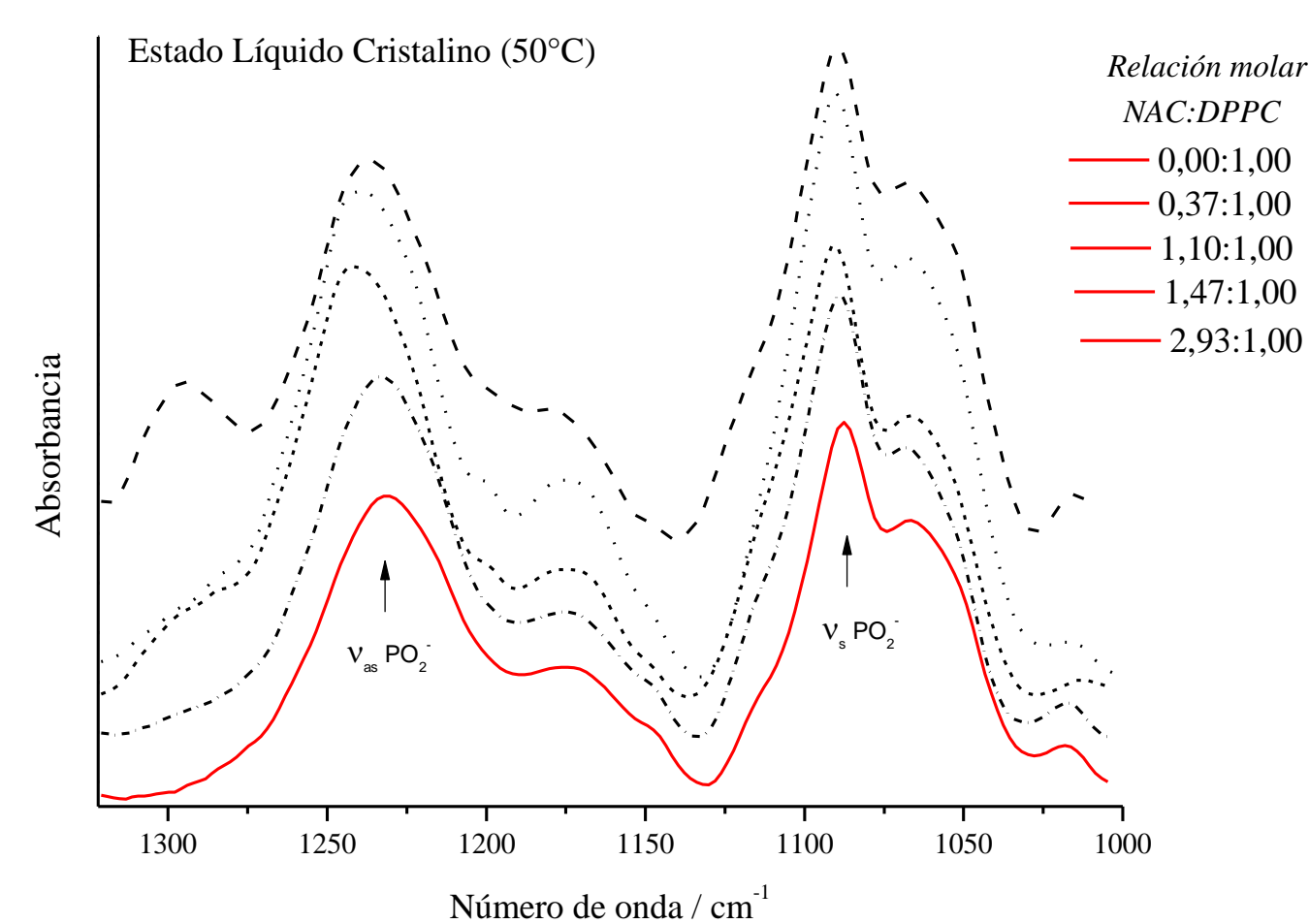


Figura 6. Región del espectro de infrarrojo correspondiente a los estiramientos simétrico y antisimétrico del grupo fosfato para el estado líquido cristalino a pH=7

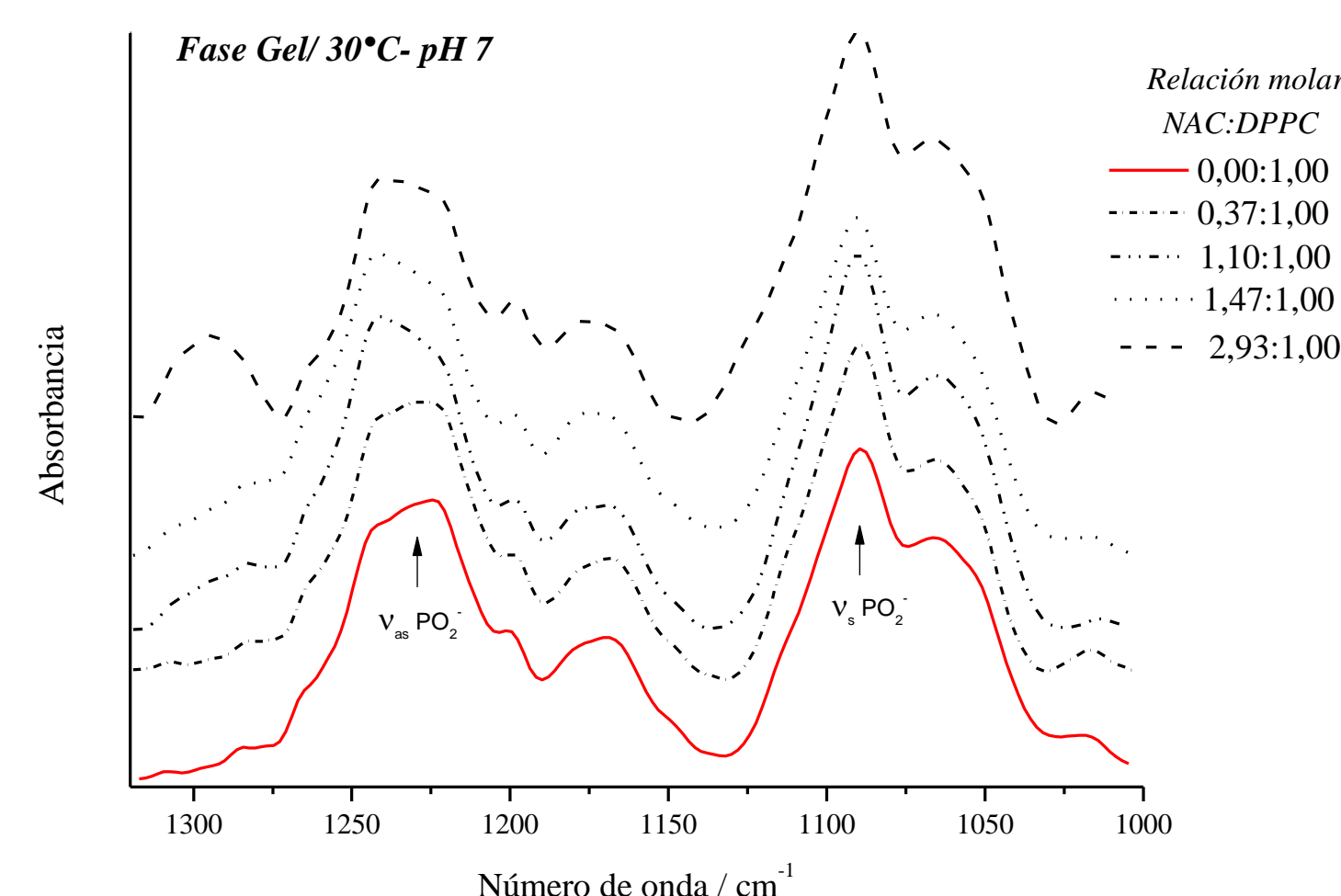


Figura 7. Región del espectro de infrarrojo correspondiente a los estiramientos simétrico y antisimétrico del grupo fosfato para el estado gel a pH=7

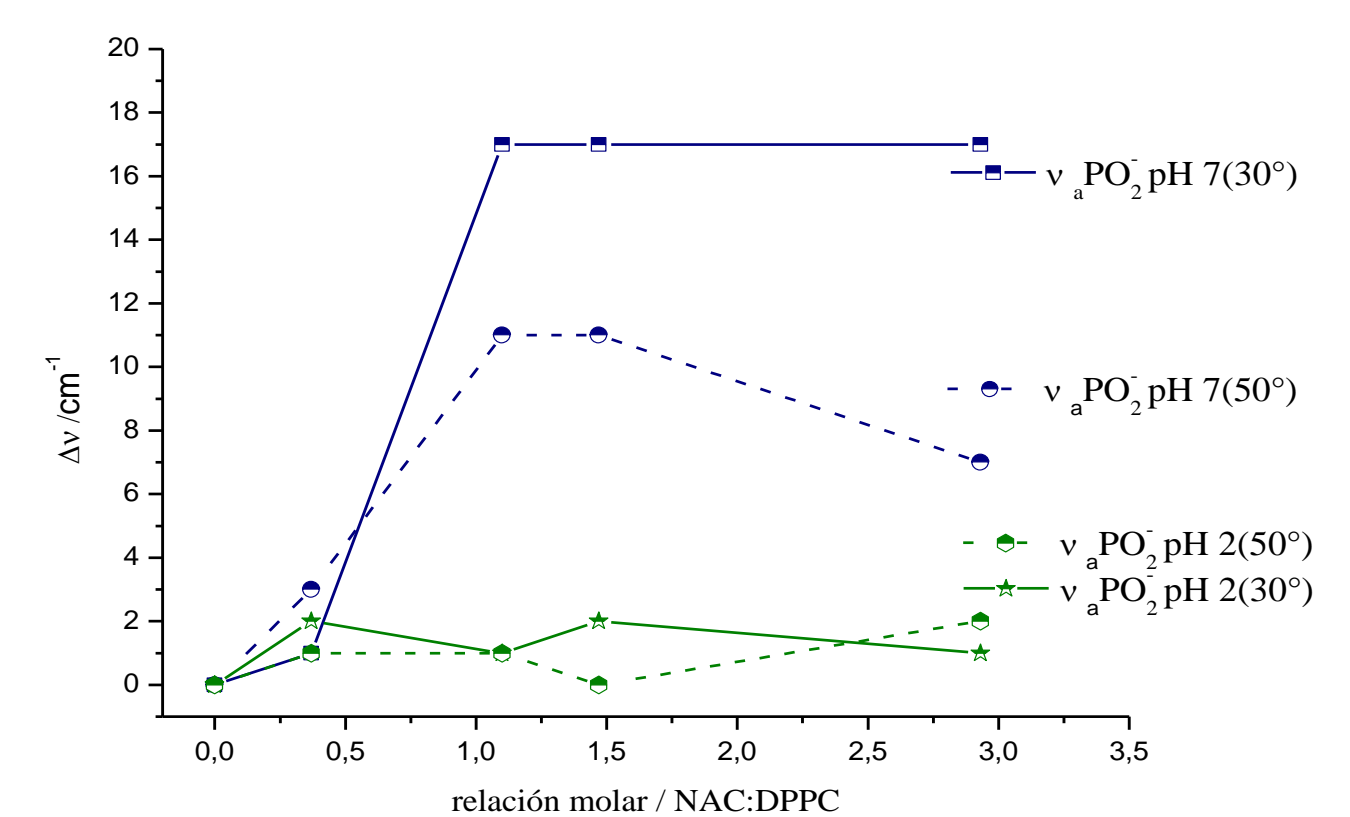


Figura 8. Variación de los números de onda de los estiramientos del grupo  $PO_2^-$  en función de relaciones molares crecientes de NAC:DPPC, en estados gel y líquido cristalino a pH=2 y pH=7.

En la región hidrofílica del lípido, la interacción de la NAC a pH fisiológico es mucho más importante que a pH ácido. Se observa un importante corrimiento hacia mayores frecuencias en la banda de estiramiento antisimétrico del grupo  $PO_2^-$ . Ésto indicaría una fuerte interacción de la NAC, eliminando el agua de hidratación en la cabeza del grupo fosfato (Figuras 6-8).

En las Figuras 9 y 10 se presentan los espectros Raman a pH 7 del lípido puro y de los complejos NAC:DPPC a diferentes relaciones molares y en la parte superior el de la NAC. Se puede ver que el sitio tiol se encuentra afectado por la interacción, donde los estiramientos SH y CS se desplazan a menores frecuencias.

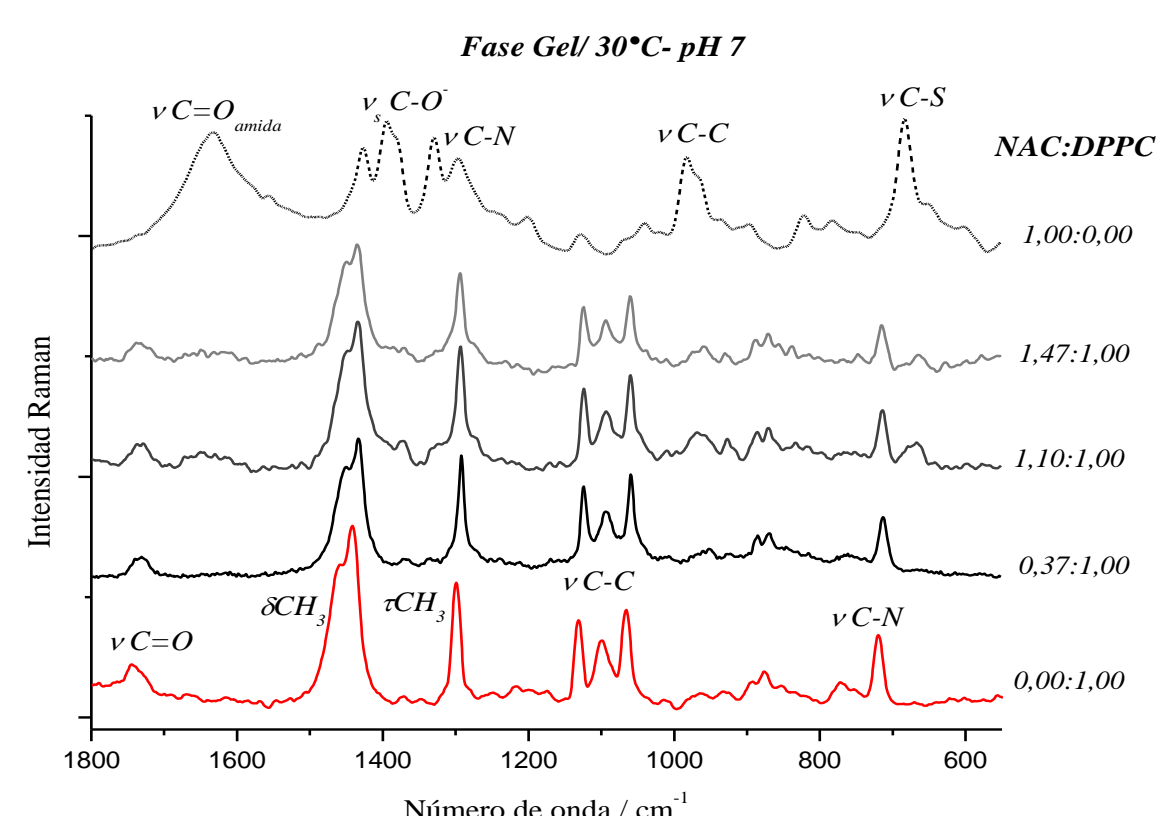


Figura 9. Espectro Raman de la DPPC, NAC y diferentes relaciones molares del complejo NAC:DPPC en estado de gel.

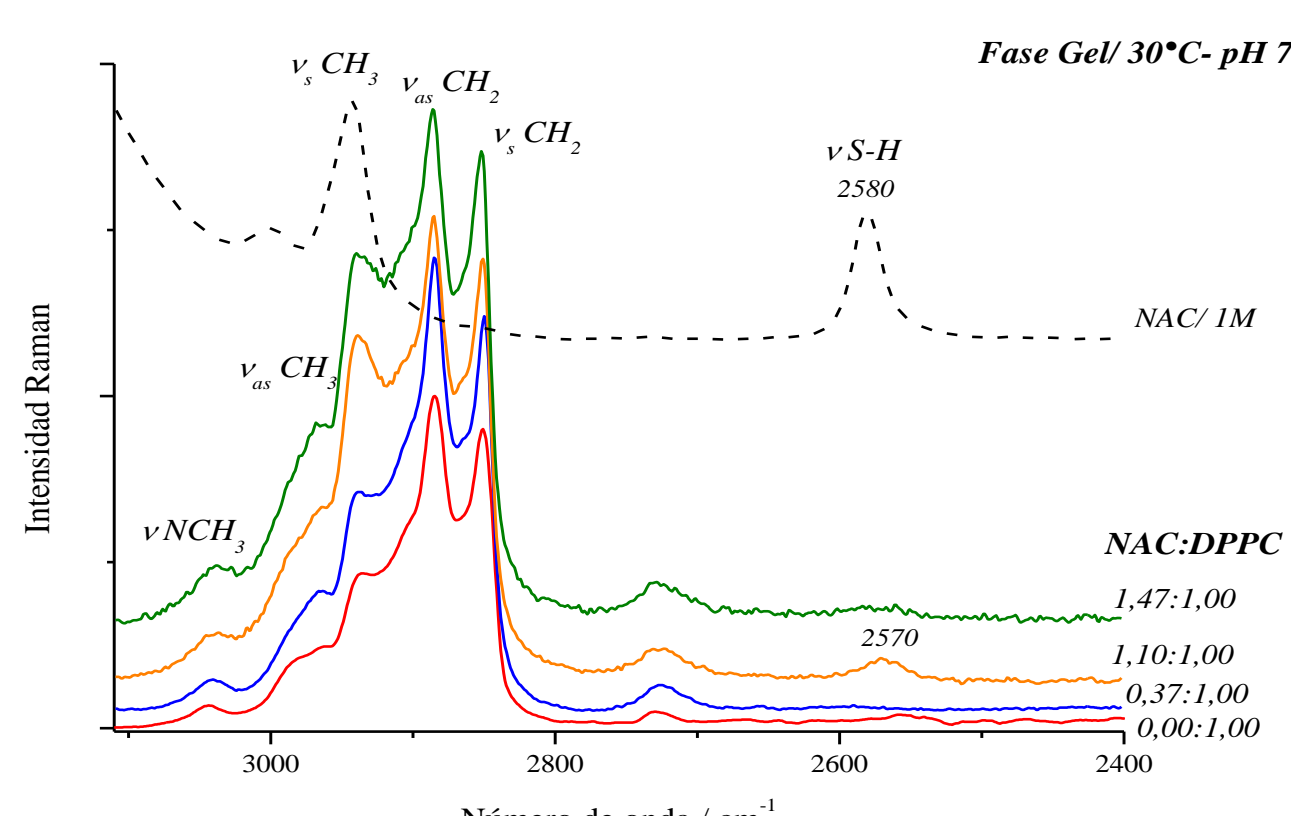


Figura 10. Espectros Raman de los modos de estiramiento de los grupos  $CH_2$  y  $CH_3$ , para NAC y DPPC puros y diferentes relaciones molares del complejo NAC:DPPC en estado gel.

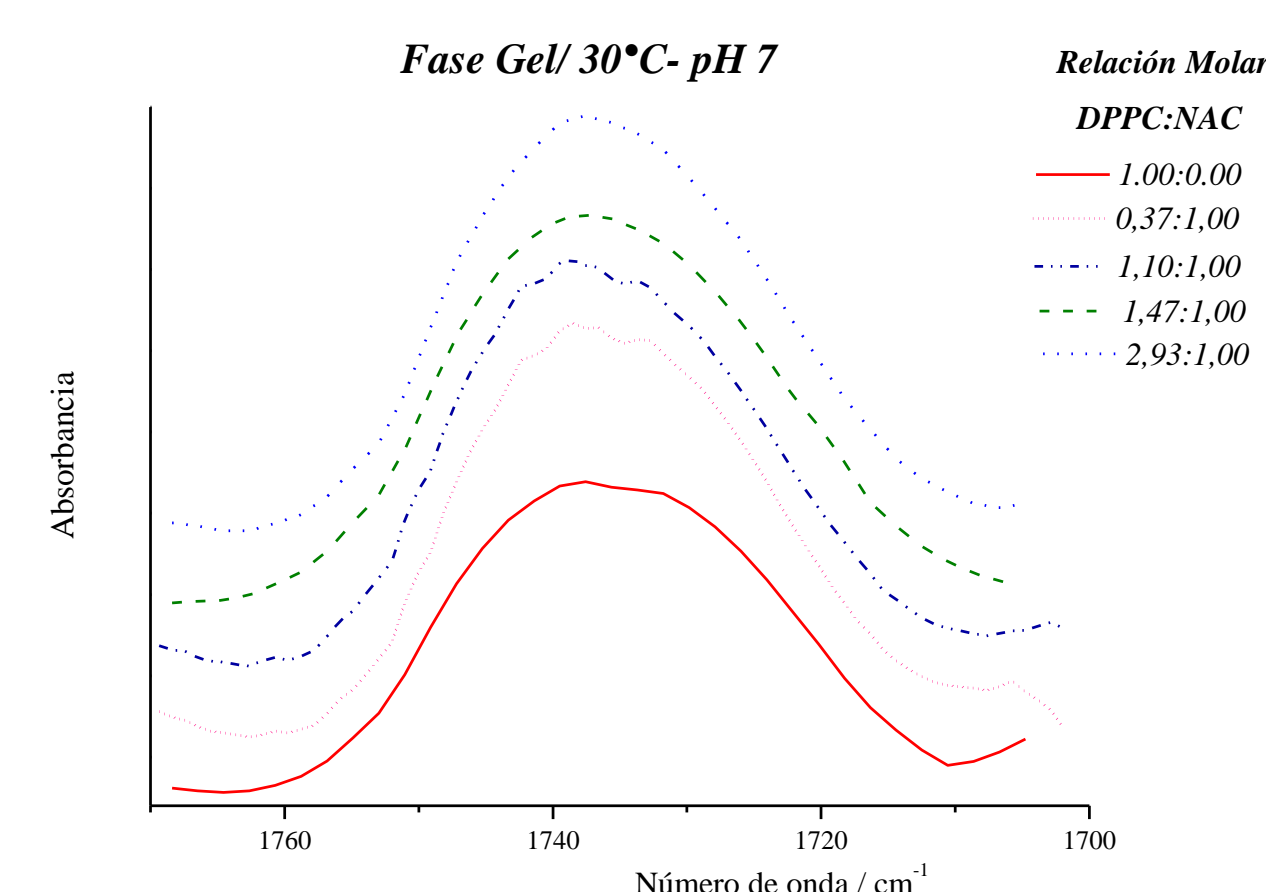


Figura 2. Bandas espectrales de FTIR de los grupos carbonilo de NAC:DPPC a diferentes relaciones molares en estado gel.

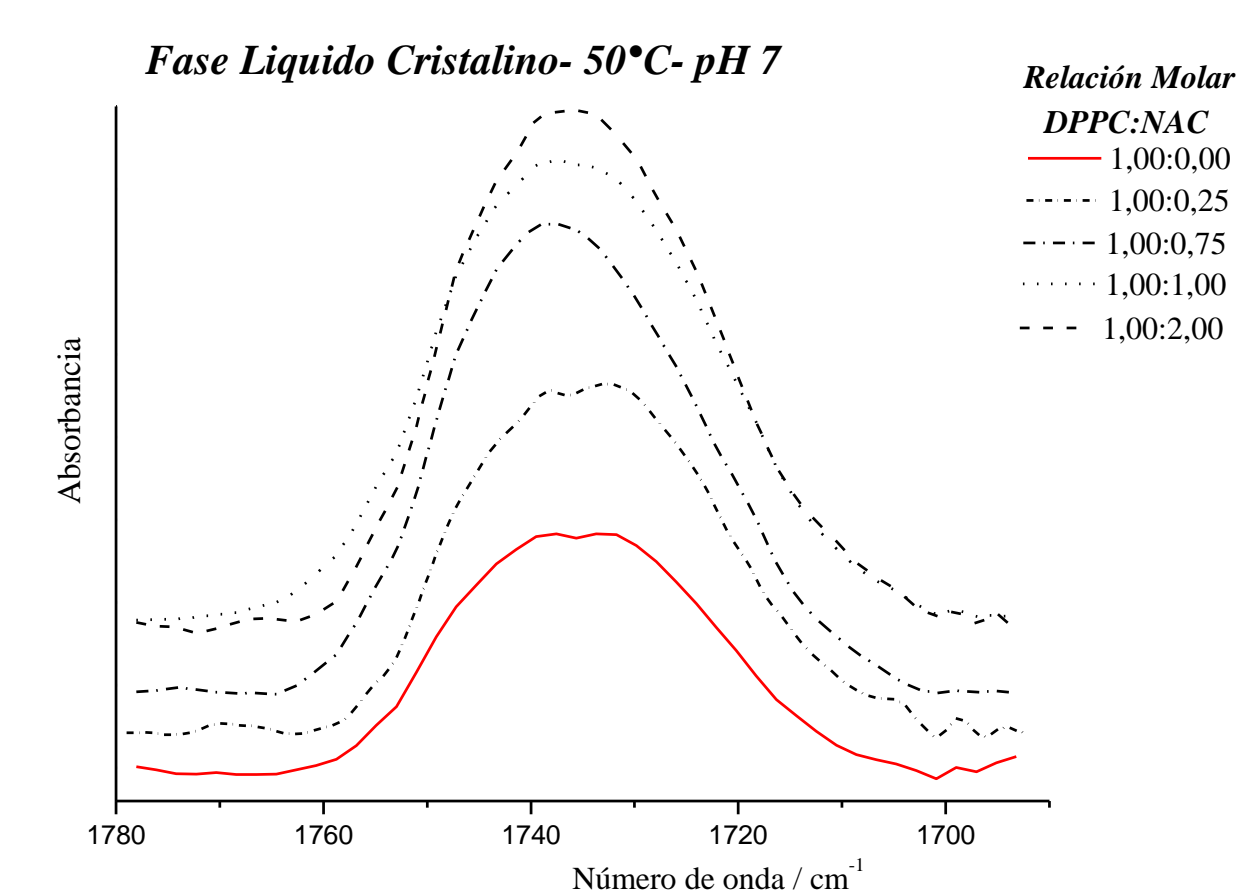


Figura 3. Bandas espectrales de FTIR de los grupos carbonilo de NAC:DPPC a diferentes relaciones molares en estado líquido cristalino

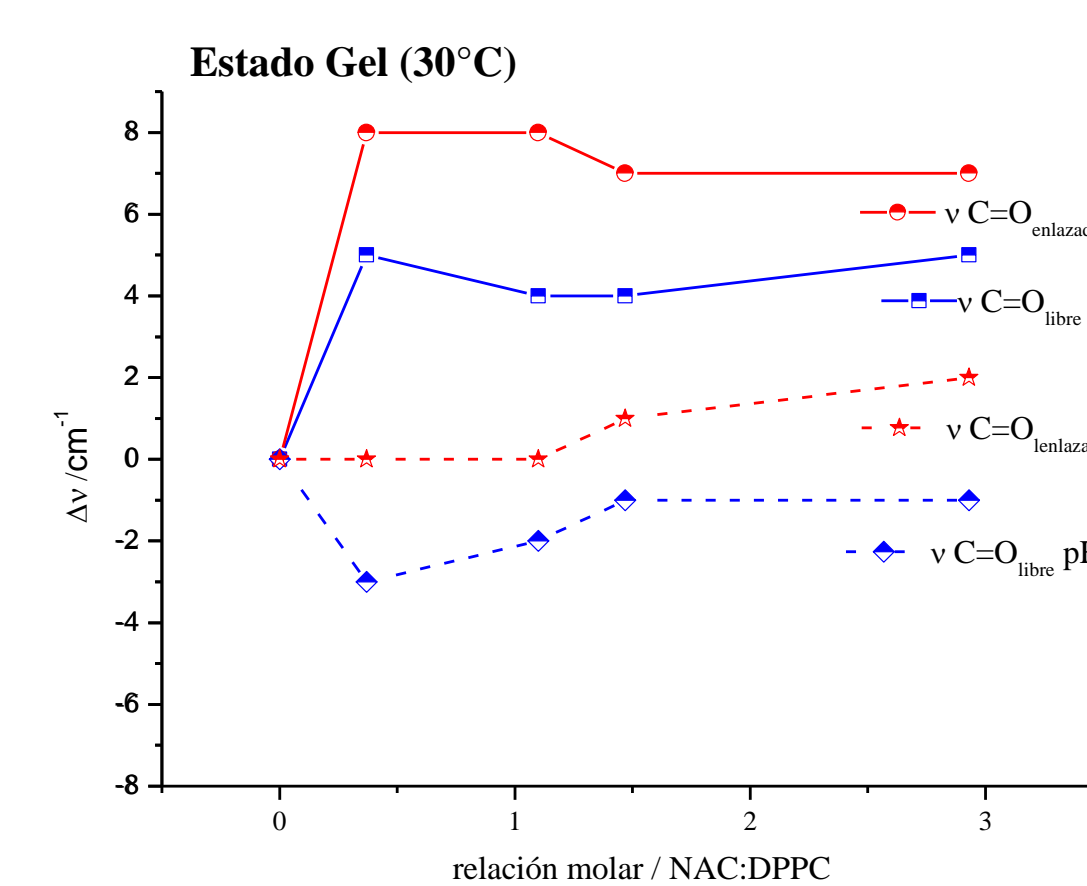


Figura 4. Variación de los números de onda del estiramiento del grupo CO en estado gel a pH=2 y pH=7

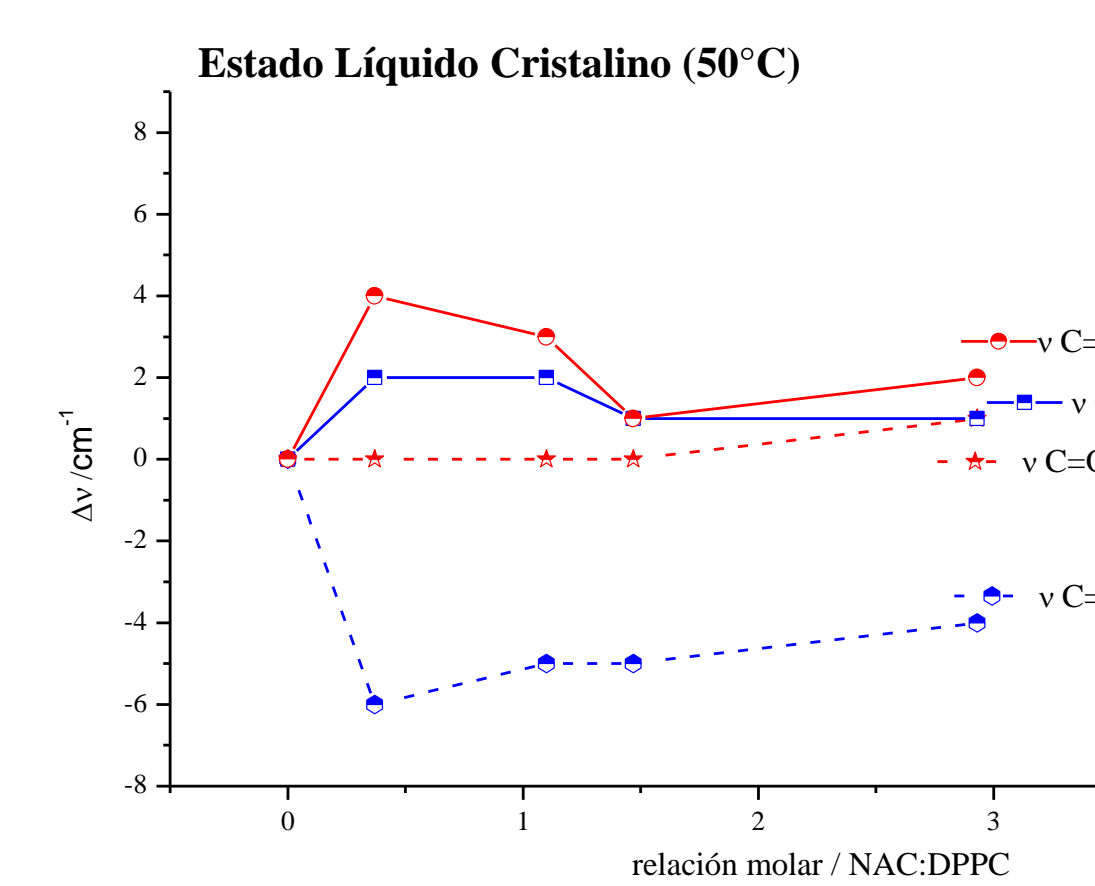


Figura 5. Variación de los números de onda del estiramiento del grupo CO en estado líquido cristalino a pH=2 y pH=7

En la interfaz del lípido se encuentran las poblaciones de los grupos carbonilo. En estado gel a pH ácido se observa una deshidratación en ambas poblaciones del grupo carbonilo, y una leve interacción a pH fisiológico (Figuras 2 y 4). En estado líquido cristalino, a pH ácido se mantiene el comportamiento antes observado en estado gel para ambas poblaciones de carbonilo. Mientras que a pH fisiológico, la población del grupo carbonilo libre presenta una importante interacción NAC...DPPC, lo que indicaría formación de uniones de hidrógeno. (Figuras 3 y 5)

## Conclusiones

- # Se puede inferir que a pH fisiológico, NAC altera la capa de hidratación en la cabeza polar de la membrana lipídica, así como la fluidez de la misma. Este comportamiento explicaría el efecto como fuerte agente mucolítico.
- # En el espectro Raman, se observa que las bandas del grupo tiol,  $\nu$  S-H y  $\nu$  C-S, en el complejo NAC:DPPC, a partir de la relación molar 1.10:1.00, se desplazan hacia menores números de onda, indicando una fuerte interacción de este grupo con el lípido.

## Referencias

- 1) Bagatolli, L. A.; Ipsen, J. H.; Simonsen, A. C.; Mouritsen, O. G., *Progress in Lipid Research*, **2010**, 49(4), 378-389.
- 2) Arias J. M., Tuttolomondo M. E., Díaz S. B. Ben Altabef A., *J. Phys. Chem. B*, **2018**, 122, 5193-5204.