

## Artigo

## Esfingolipídios: Metabólitos Bioativos e Modelos para o Planejamento de Fármacos

Fredi, A. R. O.; Tinoco, L. W.\*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (4), 1384-1401. Data de publicação na Web: 25 de maio de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

### Sphingolipids: Bioactive Metabolites and Models for Drug Design

**Abstract:** Thudichum discovered the first sphingolipids in 1880 and since then, more than 300 types have been identified. Sphingolipids are ubiquitous constituents of membrane in eukaryotic cells, with a large structural diversity in the different species. Sphingolipid modulate several cellular events as proliferation, differentiation, cell survival, immune system, vascular epithelial integrity, being particularly important in inflammatory processes and cancer. The involvement of sphingolipids with diverse diseases suggests that their metabolic pathways can be considered important therapeutic targets. Production of sphingoide base-like compounds may lead to new antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, anticancer, and immunosuppressant. One of the major discoveries involving the sphingolipids was FTY720, an analogue of sphingosine amending control of the immune system and is already used clinically for the treatment of multiple sclerosis. Our goal is to introduce some basic concepts of this class of molecules and put clear the interest on its use in the search for new targets and therapeutic agents.

**Keywords:** Sphinganine; ceramides; metabolism; safingol; FTY720 (fingolimod).

### Resumo

Os primeiros esfingolipídios foram descobertos por Thudichum em 1880 e, desde então, mais de 300 tipos já foram identificados. Os esfingolipídios são ubíquos em células eucarióticas, possuindo uma grande diversidade estrutural para as diferentes espécies. Muitas destas moléculas foram identificadas como sinalizadores celulares cruciais, envolvidas nos processos de regulação do crescimento celular, sobrevivência das células, sistema imune, integridade vascular e epitelial, sendo particularmente importantes nos processos inflamatórios e câncer. O envolvimento dos esfingolipídios com diversas doenças sugere que suas vias metabólicas possam ser consideradas importantes alvos terapêuticos. A produção de substâncias análogas às bases esfingoides pode levar a novos agentes antibacterianos, antifúngicos, anticâncer, anti-inflamatórios e imunossupressores. Uma das maiores descobertas envolvendo os esfingolipídios foi a do FTY720, um análogo da esfingosina que altera o controle do sistema imune e já está sendo usado clinicamente para o tratamento da esclerose múltipla. O objetivo deste trabalho é apresentar alguns conceitos básicos sobre esta classe de substâncias e despertar o interesse sobre seu uso na busca de novos agentes terapêuticos.

**Palavras-chave:** Esfinganina; ceramidas; metabolismo; safingol; FTY720 (fingolimode).

\* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais Walter Mors, Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais, Cidade Universitária, Centro de Ciências da Saúde, Av. Carlos Chagas Filho, 373 – Bloco H, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ [lwtinoco@nppn.uff.br](mailto:lwtinoco@nppn.uff.br) ou [luzitinoco@hotmail.com](mailto:luzitinoco@hotmail.com)

DOI: [10.5935/1984-6835.20150076](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150076)

## Esfingolipídios: Metabólitos Bioativos e Modelos para o Planejamento de Fármacos

**André Roberto de Oliveira Fredi, Luzineide Wanderley Tinoco\***

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais Walter Mors, Programa de Pós-Graduação em Química de Produtos Naturais, Cidade Universitária, Centro de Ciências da Saúde, Av. Carlos Chagas Filho, 373 – Bloco H, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

\* [lwtinoco@nppn.ufri.br](mailto:lwtinoco@nppn.ufri.br); [luzitinoco@hotmail.com](mailto:luzitinoco@hotmail.com)

*Recebido em 19 de novembro de 2014. Aceito para publicação em 21 de maio de 2015*

1. Introdução
2. O que são esfingolipídios?
3. Nomenclatura e Diversidade Estrutural dos Esfingolipídios
  - 3.1. Bases esfingoides
  - 3.2. Ceramidas
4. Biossíntese *de novo* dos Esfingolipídios
5. Esfingolipídios como agentes terapêuticos
6. Conclusões e Perspectivas

### 1. Introdução

O cientista alemão Johann Ludwig Wilhelm Thudichum, conhecido como o fundador da neuroquímica, identificou, por volta de 1880, os primeiros esfingolipídios. Através da análise química de cérebros humanos e de diversos animais, Thudichum isolou e caracterizou diversos compostos deste órgão. Seus resultados foram publicados no livro “Um Tratado da Constituição Química do Cérebro”, o qual foi amplamente criticado e rejeitado pela comunidade científica naquela época.<sup>1</sup> Somente após a morte de Thudichum, em 1901, que suas descobertas passaram a ser

consideradas como importantes contribuições científicas para o estudo da composição química do cérebro. Dentre os compostos identificados por Thudichum estão a cefalina, a esfingomielina, a galactose, o ácido láctico e a esfingosina. A esfingosina recebeu este nome por analogia com a esfinge, devido a sua natureza química enigmática, não sendo possível naquela época elucidar sua estrutura. Nos anos seguintes, muitos pesquisadores tentaram, sem sucesso, determinar a estrutura da esfingosina. Somente em 1947, após a obtenção de vários derivados da molécula, Herbert E. Carter e seus colaboradores publicaram a estrutura correta da esfingosina como 2S,3R,4E-2-amino-octadec-4-ene-1,3-

diol.<sup>2</sup>

Apesar dos grandes avanços nas pesquisas com os esfingolipídios desde aquela época, esta classe de lipídios revela, a cada ano, novas e surpreendentes funções.<sup>3-5</sup> Os esfingolipídios são ubíquos em células eucarióticas, sendo metabólitos bioativos de grande importância em muitos processos de sinalização celular e com várias funções patológicas. Dentre as diversas classes de esfingolipídios descritos, podemos citar a esfingosina e suas bases esfingoides relacionadas (envolvidas na regulação da actina no citoesqueleto, no ciclo celular e na apoptose), a ceramida (*N*-acil-esfingosina) que media muitas respostas das células ao estresse, incluindo apoptose e senescência, a ceramida-1-fosfato (C1P), recentemente incluída na família dos esfingolipídios bioativos (envolvida na inflamação e transporte através de vesículas) e a esfingosina-1-fosfato (S1P), que tem importância crucial na sobrevivência da célula, migração celular e inflamação. Muitas destas moléculas foram identificadas como sinalizadoras celulares cruciais, envolvidas nos processos de regulação do crescimento celular, sobrevivência das células, sistema imune, integridade vascular e epitelial, sendo particularmente importantes nos processos inflamatórios e câncer.<sup>6-9</sup>

Uma nova classe de esfingolipídio, a esfingosina hidroxilada na posição 6, foi recentemente identificada na pele humana. Níveis anormais das ceramidas hidroxiladas na posição 6 vem sendo frequentemente identificadas nas dermatites atópicas. Contudo, os processos biossintéticos destas moléculas no organismo humano ainda são desconhecidos.<sup>10</sup>

Muitas das descobertas a respeito da importância dos esfingolipídios como sinalizadores celulares surgiram nas últimas décadas, quando muitas proteínas e enzimas envolvidas no metabolismo dos esfingolipídios e dos receptores da S1P puderam ser clonadas. Com isto, foi possível produzir animais onde estas enzimas podiam ser inativadas ou não expressas (*knockout*), gerando informações importantes sobre as

funções metabólicas dos esfingolipídios. Com o avanço da espectrometria de massas, novos esfingolipídios puderam ser identificados e quantificados. Foram desenvolvidos agonistas e antagonistas dos receptores de S1P e inibidores de enzimas de sinalização. Uma das maiores descobertas envolvendo os esfingolipídios foi a do FTY720, um análogo da esfingosina que altera o controle do sistema imune e já está sendo usado clinicamente para o tratamento da esclerose múltipla.<sup>11</sup>

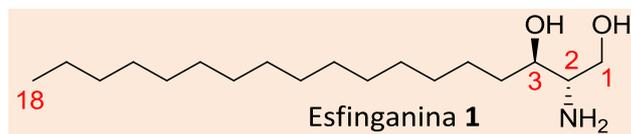
## 2. O que são esfingolipídios?

Os esfingolipídios pertencem à classe dos lipídios, sendo substâncias que possuem como uma das características a insolubilidade em água.<sup>12</sup> Os lipídios abrangem uma grande variedade de tipos estruturais (ácidos graxos, triacilgliceróis, glicolipídios, gorduras, ceras, terpenos, esteroides e os esfingolipídios), com diferentes funções biológicas, sendo, frequentemente, classificados como de armazenamento ou estruturais. Os lipídios de armazenamento são os derivados dos ácidos graxos, como as gorduras ou óleos e são classificados desta forma por serem responsáveis pelo armazenamento de energia nos organismos vivos. Os esfingolipídios, os glicofosfolipídios e os esteróis, normalmente encontrados nas membranas biológicas, pertencem ao grupo dos lipídios estruturais. Este grupo é formado por substâncias anfipáticas, as quais possuem porções hidrofílicas e lipofílicas, que se organizam como bicamadas ou micelas em meio aquoso.<sup>12</sup>

Os esfingolipídios possuem uma grande diversidade estrutural para diferentes espécies, com mais de 300 tipos já identificados e com milhares de possíveis estruturas. Estando presentes em todos os eucariontes e em alguns procariontes, com grande variedade das classes encontradas nos diversos organismos.<sup>3-5,13</sup> Porém, é possível classificá-los a partir de modificações de uma estrutura básica, que consiste de um

aminoálcool (porção hidrofílica) com uma cadeia longa de carbonos (porção lipofílica). Sua estrutura básica apresenta um grupo amina no carbono 2, dois grupos hidroxila nos carbonos 1 e 3 e uma cadeia carbônica

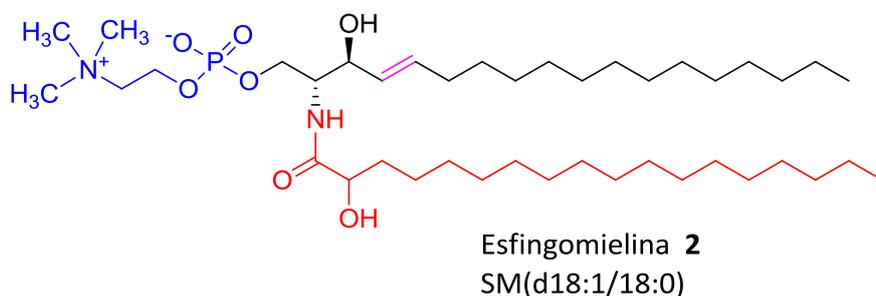
composta por 18 átomos, encontrada no esqueleto da esfinganina (1), que é o esfingolípido que apresenta a estrutura mais simples e é precursor de todos os esfingolípídios (Figura 1).<sup>14</sup>



**Figura 1.** Estrutura da esfinganina 1, [(2*S*,3*R*)-2-aminooctadecano-1,3-diol], também chamada de diidroesfingosina

As glicosilceramidas e as esfingomielinas (Figura 2), que constituem grande parte da bainha de mielina (estrutura reveste o axônio de neurônios), são as classes de esfingolípídios predominantes nos mamíferos. Nos humanos já foram identificados cerca de 60 esfingolípídios nas membranas celulares, sendo a esfingomielina (2) o principal constituinte, correspondendo a aproximadamente 85% de todos os esfingolípídios.<sup>12</sup> Nas plantas, os esfingolípídios correspondem a 40% dos lípidios das membranas, sendo encontrados também nos tonoplastos (membrana que delimita os vacúolos de células vegetais) e

nas endomembranas.<sup>14</sup> A glicosilceramida é esfingolípido predominante nos extratos dos tecidos vegetais, onde também são encontrados glicofosfoesfingolípídios (espécies de inositolfosforilceramida glicosiladas).<sup>13</sup> Nas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* os esfingolípídios correspondem a aproximadamente 30% dos fosfolípídios e 7% da massa da membrana plasmática. Também foram encontrados nas membranas do retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomas e endossomas e em menor quantidade nas mitocôndrias, mas ainda não foram identificados na membrana nuclear deste microorganismo.<sup>15</sup>



**Figura 2.** Estrutura da esfingomielina (*N*-octadecanoil-esfing-4-enina-1-fosfocolina) (2).  
Descoberta em 1874 pelo Dr. Johann L. W. Thudichum

### 3. Nomenclatura e Diversidade Estrutural dos Esfingolipídios

A nomenclatura dos esfingolipídios segue normas definidas pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*) e da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB - *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) que adotam os termos genéricos: **esfingolipídio** – para qualquer lipídio contendo uma base esfingoide, **ceramida** – para uma base esfingoide *N*-acilada, **esfingomielina** – para a ceramida-1-fosfolina e **glicoesfingolipídio** – para lipídios contendo uma base esfingoide e um ou mais açúcares. Os nomes triviais para os esfingolipídios podem ser dados a partir do esfingolipídio que o origina, incorporando-se ao nome, os carbonos adicionais da cadeia carbônica (por exemplo, uma esfingosina com cadeia carbônica de 20 átomos é chamada de eicosesfingosina (**3**)). Para uma melhor identificação do esfingolipídio, a posição e a estereoquímica da ligação dupla (*E/Z* é preferível a *trans/cis*) e a posição das hidroxilas, metilas etc., também devem ser adicionadas ao nome de forma explícita.<sup>16,17</sup>

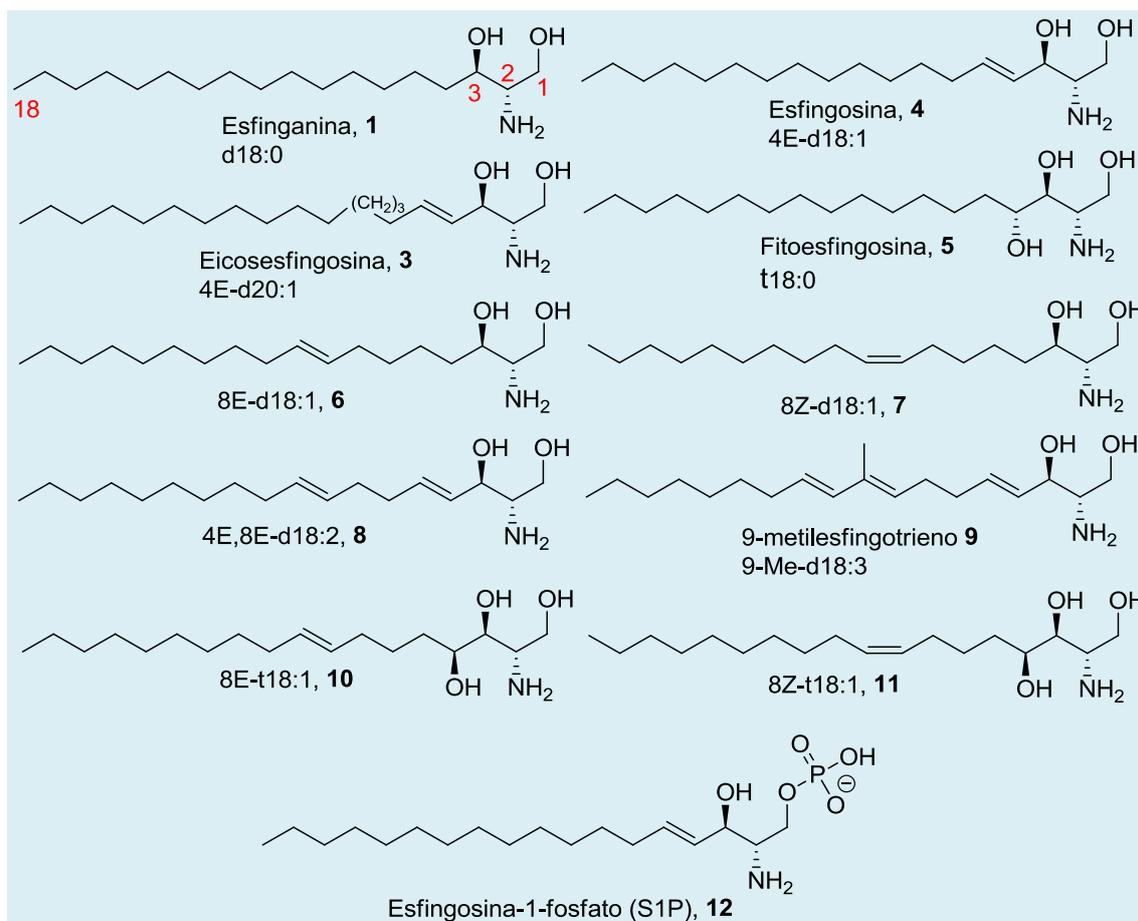
Em tabelas e listas onde vários esfingolipídios estão envolvidos podem ser usadas abreviações, sendo usado um número para indicar a localização da dupla ligação, seguido pela indicação *E* ou *Z*, quando colocado como prefixo, ou com o uso do símbolo  $\Delta$  sobrescrito, seguido pelo número da posição da dupla ligação e da configuração, quando usado como sufixo. O número de hidroxilas é representado em seguida, por letras como “d” ou “t”, para duas ou três hidroxilas, respectivamente. Por

exemplo, a esfingosina e a esfinganina por terem duas hidroxilas, aparecem na abreviação como “d”. O número de hidroxilas é seguido pelo número de átomos de carbono da cadeia carbônica e do número de ligações duplas. Assim, a esfingosina (**4**) [(2*S*,3*R*)-2-aminooctadec-4-ene-1,3-diol] é designada com 4E-d18:1 (ou d18:1 <sup>$\Delta$ 4t</sup>) e a fitoesfingosina (**5**) [(2*S*,3*S*,4*R*)-2-amino-1,3,4-octadecanotriol] como t18:0 (Figura 3).<sup>17,18</sup>

Os esfingolipídios são divididos em 4 subclasses: base esfingoides, ceramidas, glicosilceramidas (GlcCer) e glicosilinositolfosforilceramidas (GIPCs). Esta divisão pode se estender ainda mais se considerarmos mais a fundo as mais diversas estruturas dos esfingolipídios.

#### 3.1. Bases esfingoides

Os esfingolipídios de base esfingoide são os estruturalmente mais simples e precursores dos esfingolipídios mais complexos. Os mais comuns são encontrados com uma cadeia carbônica composta por 18 átomos de carbono. Porém, outros tamanhos de cadeia carbônica, de 12 a 26 carbonos podem ser encontrados.<sup>18-20</sup> A variação de cadeia mais comum encontrada em mamíferos é a eicosesfingosina **3** (4E-d20:1), identificada em amostras de gangliosídios do cérebro.<sup>21</sup> A partir da esfinganina **1**, ocorrem diversas variações estruturais (Figura 3), como insaturações entre os carbonos 4 e 5 (como na esfingosina, **4**), entre os carbonos 8 e 9 (**6**, **7**), dienos (**8**), trienos (**9**), triidroxil saturados (como a fitoesfingosina, **5**) ou insaturados (**10**, **11**). Também pode ocorrer adição do grupo fosfato no carbono 1, como na esfingosina-1-fosfato (S1P) **12**.



**Figura 3.** Estruturas mais comuns para as bases esfingoides de esfingolipídios de plantas e mamíferos

Outras bases esfingoides menos comuns encontradas em plantas, mamíferos, fungos, insetos e organismos marinhos estão ilustradas na Figura 4. A 4E,14Z-esfingodienina (**12**) pode ser encontrada no plasma, no cérebro e na aorta humana<sup>22</sup> e a 6-hidroxi esfingosina (**13**) foi encontrada na pele.<sup>19,20,23</sup> Uma esfingosina incomum, com ligação dupla entre os carbonos 3 e 4 (5-hidroxi, 3E-esfingosina; **14**)<sup>24</sup> foi encontrada em extratos ácidos do cérebro. Bases esfingoides com ramificações e variações do tamanho da cadeia carbônica (**15**, **16**) foram identificadas no leite e nos rins bovinos.<sup>25</sup>

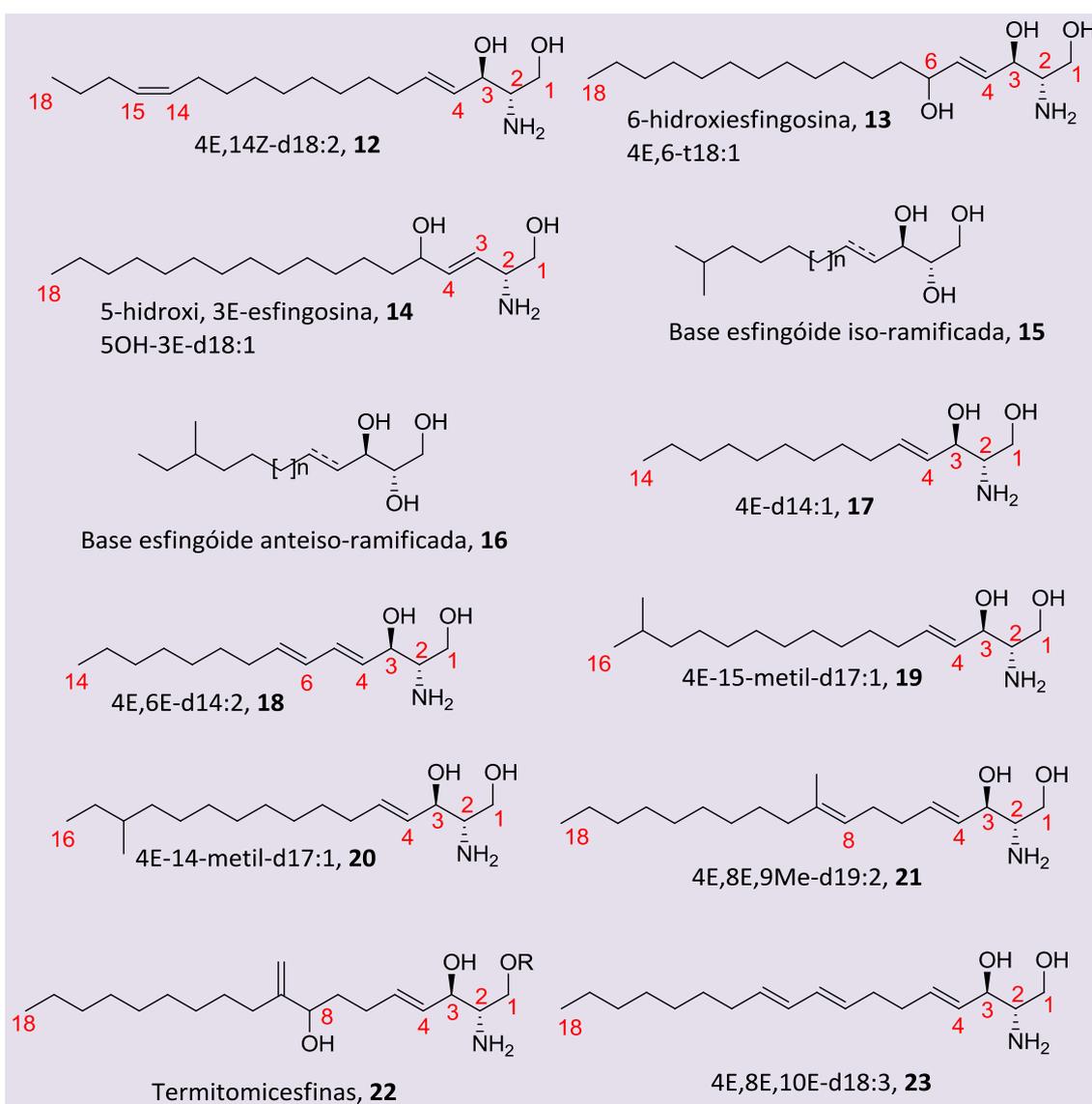
Os insetos têm principalmente, bases esfingoides com cadeia de 14 e 16 carbonos,<sup>26,27</sup> tal como 4E-d14:1 (**17**) e o dieno conjugado 4E,6E-d14:2 (**18**) encontrado na *Drosophila*.<sup>27</sup> Nematoides apresentam tanto

iso-ramificação (4E-15-metil-d17:1) quanto anteiso-ramificação (4E-14-metil-d17:1) nas suas bases esfingoides (**19**, **20**) (Figura 4).<sup>28,29</sup> Essas ramificações foram relatadas em nematoides *Onchocerca volvulus*<sup>30</sup> e *Ascaris suum*, com o último também contendo sulfatidos (que não é comum em invertebrados).<sup>31</sup> Uma fitoesfingosina com 15 átomos de carbonos foi encontrada na urina de fêmeas de caranguejos peludos, *Erimacrus isenbeckii*, e serve como um feromônio sexual.<sup>32</sup>

Nas plantas, apesar da grande diversidade na composição dos esfingolipídios nas diferentes espécies, as variações ocorrem a partir da base esfingóide mais simples, a esfinganina (**1**). As bases esfingoides predominantes nas plantas são a fitoesfingosina e seus análogos mono-

insaturados ( $\Delta^4$  e  $\Delta^8$ ).<sup>33</sup> Existem relatos de algumas outras variações incomuns da base esfingóide, presentes em menor proporção nos esfingolípídios de plantas, com diferentes tamanhos da cadeia carbônica, número de hidroxilas, posição e configuração estereoquímica da ligação dupla.<sup>3</sup> Os esfingolípídios de plantas com insaturações nas posições 4 e 8 podem apresentar uma ramificação na cadeia com um grupo metil (ou hidroxilas em outras posições).<sup>33</sup> As bases esfingóides ramificadas, como 4E,8E,9-metil-d19:2 **21** são consideradas mais típicas para

esfingolípídios de fungos.<sup>34</sup> Os fungos são fontes para uma ampla variedade de bases esfingóides únicas, como a termitomicesfina **22** do cogumelo chinês *Termitomyces albuminosu*.<sup>35</sup> Existem bases esfingóides com três ligações duplas como a (4E,8E,10E)-2-amino-4,8,10-octadecatriene-1,3-diol (4E,8E,10E-d18:3) **23** encontrada na estrela do mar *Asterias amurensis*<sup>36</sup> e um análogo ramificado, com uma metila no carbono 9, encontrado na esfingomiéline de nervo de lula.<sup>37</sup>



**Figura 4.** Estruturas incomuns para bases esfingóides de esfingolípídios de plantas, mamíferos, fungos, insetos e organismos marinhos

Além dos compostos descritos aqui, também podem ser encontradas muitas formas acetiladas, que são intermediários da biossíntese *de novo*, como a 3-cetoesfinganina, que não são detectados nos organismos, porque é rapidamente reduzida

a esfinganina (**1**). Também existe uma fascinante série de compostos denominados  $\alpha,\omega$ -esfingoides (Figura 5), que são conectadas pelo final da cadeia carbônica de cada esfingolípido (cauda-cauda).<sup>38</sup>

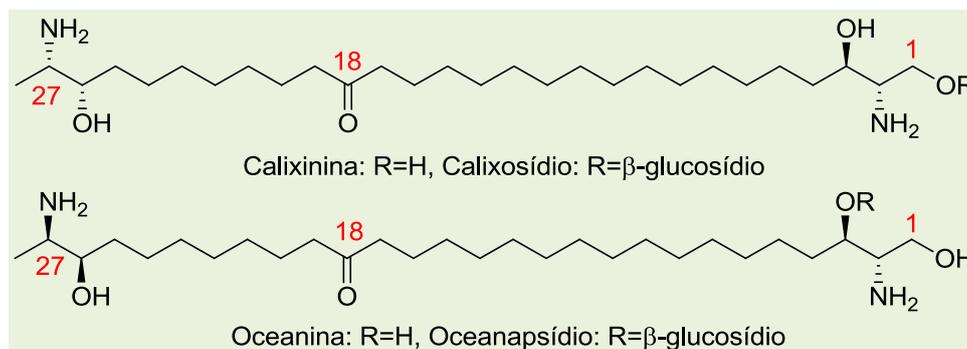


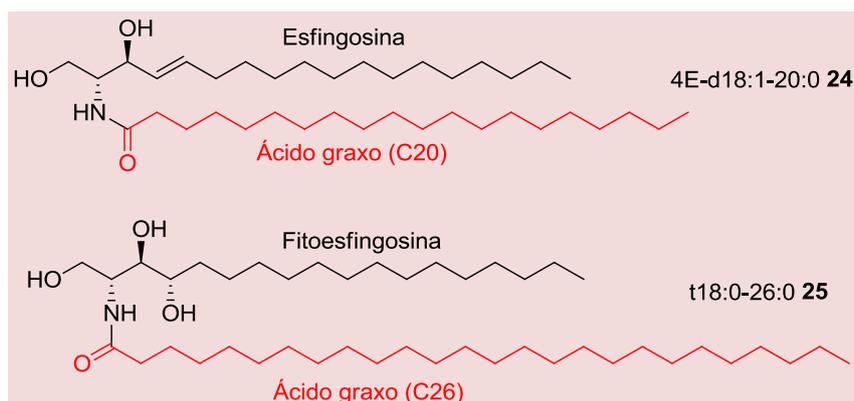
Figura 5. Exemplos de compostos do tipo  $\alpha,\omega$ -esfingoides

### 3.2. Ceramidas

As ceramidas são produtos da condensação entre uma base esfingóide e um ácido graxo (Figuras 6 e 7), formadas como intermediários para a biossíntese de todos os esfingolípídios complexos, nos quais poderá ocorrer a ligação de carboidratos ou fosfatos a hidroxila primária terminal. Os ácidos graxos de cadeia longa (14 a 26 átomos) se ligam a uma variedade de bases esfingoides di ou tri-hidroxiladas através de uma ligação amídica. Estes ácidos podem ser hidroxilados na posição 2 e insaturados na posição 9 (Figura 7), mas raramente são poli-insaturados.<sup>14</sup> A combinação de bases esfingoides com diferentes ácidos graxos gera milhares de possíveis estruturas de ceramidas, sendo conhecidas mais de 200 estruturas distintas em células de mamíferos.<sup>39</sup> Embora a ceramida sirva como precursor de outros esfingolípídios complexos, elas também atuam em diversas funções celulares, tanto como mensageiros intracelulares ou extracelulares, ou ainda,

como moléculas reguladoras, que desempenham um papel essencial nas inflamações, angiogênese, neurodegeneração e terapia para câncer.<sup>40-45</sup>

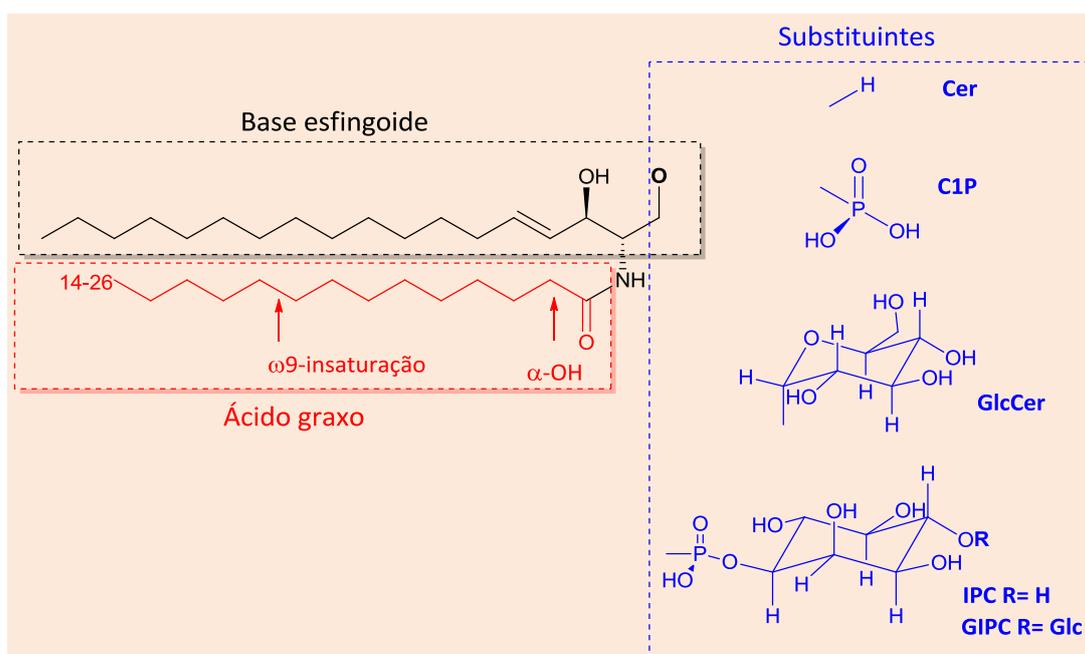
A nomenclatura abreviada para as ceramidas utiliza a combinação das bases esfingoides com a dos ácidos graxos. Por exemplo, uma esfingosina e um ácido graxo com cadeia carbônica de 20 átomos formam uma ceramida designada como d18:1-20:0 [*N*-(eicosanoil)-esfing-4-enina] **24** e uma fitoesfingosina com um ácido graxo de 26 átomos formam uma ceramida designada como t18:0-26:0 [*N*-(hexacosanoil)-4R-hidroxi esfinganina] **25** (Figura 6).<sup>17</sup> Também são usadas nomenclaturas simplificadas baseadas na combinação da nomenclatura convencional dos ácidos graxos com as das bases esfingoides. Assim, a ceramida d18:1-16:0 também é chamada de *N*-palmitoil-esfingosina. As ceramidas contendo esfinganina podem ser chamadas de diidroceramidas, enquanto as que contêm uma esfingosina comumente são chamadas de esfingoceramidas.



**Figura 6.** Estruturas de ceramidas mais comuns encontradas em plantas e mamíferos

As ceramidas também podem ser encontrados como fosfoceramidas (C1P) glicosilceramidas (GlcCer), inositolfosfoceramida (IPC) ou glicosilinositolfosforilceramidas (GIPC). Nestas subclasses, um grupo polar é ligado no carbono 1 da base da ceramida (Figura 7). Na GlcCer os grupos polares podem ser a glicose (glicosilceramidas), galactose (galactosilceramidas) ou globosídeo. A adição de carboidratos nas estruturas dos esfingolípídios leva a um aumento na sua complexidade e variedade. As GIPC só ocorrem em plantas e fungos, a

galactosilceramida é restrita a fungos e animais e a glicosilceramida é comum a todos os eucariontes, incluindo fungos, plantas e animais. A glicosilceramida desempenha um papel central no metabolismo dos esfingolípídios de mamíferos, uma vez que representa um intermediário biossintético para a formação de mais de 300 diferentes glicoesfingolípídios complexos.<sup>13</sup> A partir dessas quatro subclasses de esfingolípídios, milhares de variações são possíveis, formando assim os mais diversos esfingolípídios complexos.



**Figura 7.** Estruturas base para as diferentes subclasses das ceramidas. Cer: ceramida, C1P: ceramida-1-fosfato, GlcCer: glicosilceramida, IPC: inositolfosfoceramida, GIPC: glicosilinositolfosforilceramida

#### 4. Biossíntese *de novo* dos Esfingolipídios

A biossíntese de esfingolipídios em mamíferos, plantas e fungos é muito similar. O que indica que eles possuem uma ancestralidade eucariótica. Centenas de milhares de anos de evolução resultaram, surpreendentemente, em apenas algumas diferenças.<sup>38</sup> Mamíferos dispõem de uma grande diversidade de bases esfingoides, prevalecendo a esfingosina e a esfingomielina. Já nas plantas, a quantidade de bases esfingoides é um pouco menor e

são encontradas predominantemente nove bases esfingoides-C18, que estão presentes em proporções diferentes. Porém, as plantas, diferentemente dos mamíferos, possuem a  $\Delta 8$ -desaturase que introduz uma ligação dupla entre os carbonos 8 e 9, nas duas configurações (E/Z).<sup>46</sup>

A biossíntese dos esfingolipídios ocorre no retículo endoplasmático e inicia com a condensação da serina com a palmitoil-CoA, pela ação da serina palmitoil-CoA transferase (SPT), resultando na 3-ceto-esfinganina que é reduzida pela ação da 3-ceto-esfinganina redutase dependente de NADPH à esfinganina (Figura 8).<sup>14</sup>

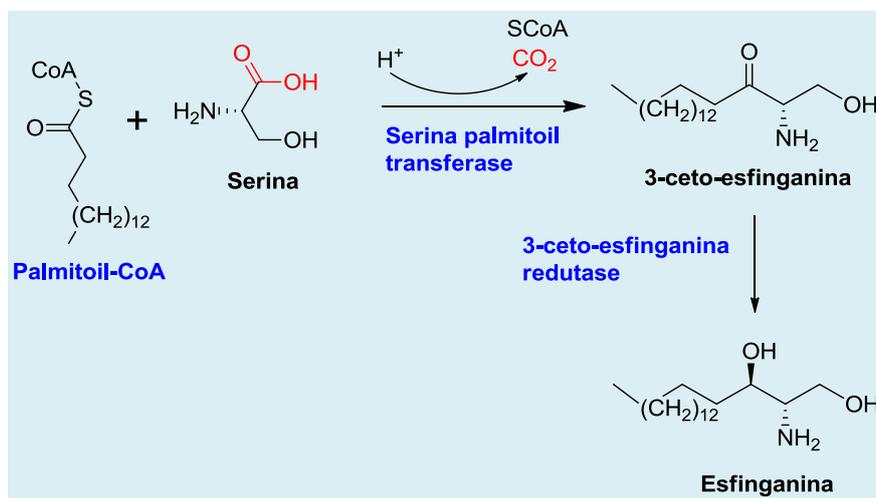
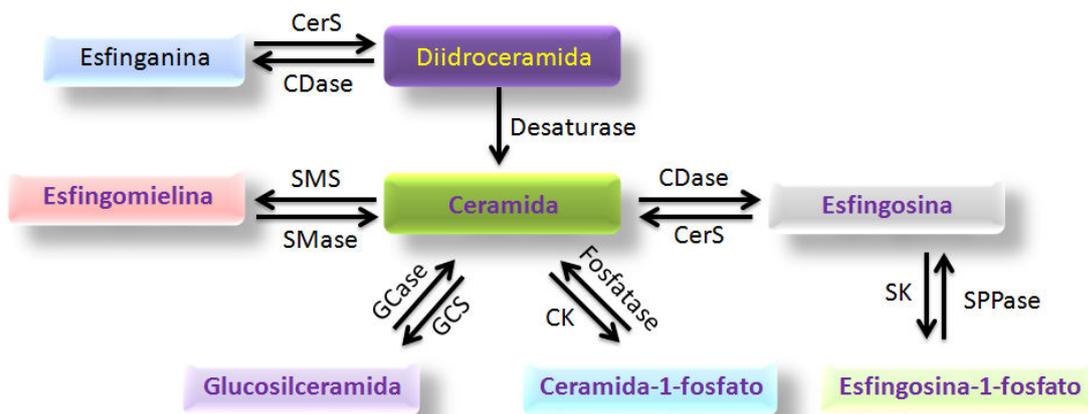


Figura 8. Início da rota biossintética dos esfingolipídios

A partir da esfinganina todos os outros esfingolipídios são sintetizados, iniciando pela acilação por uma diidroceramida sintase (CerS), podendo sofrer a ação de uma desaturase e formar a ceramida (Figura 9). A ceramida pode ser fosforilada pela ceramida quinase, glicosilada pela glicosil ou galactosil ceramida sintase, ou pode receber na cabeça polar uma fosocolina e formar fosfatidilcolina, formando a esfingomielina pela ação da esfingomielina sintase. A quebra de esfingolipídios complexos ocorre pela ação de hidrolases formando glicosil- ou galactosilceramidas. Estas, por sua vez, podem sofrer a ação de  $\beta$ -glicosilases ou galactosidases para regerar as ceramidas. As

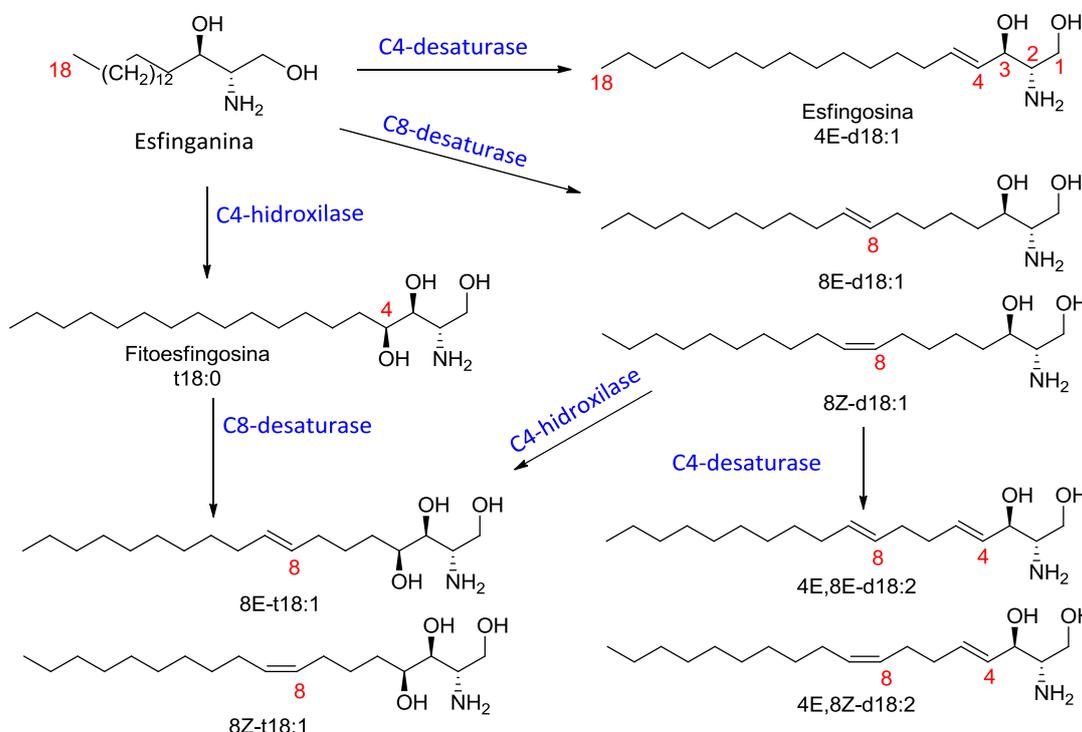
ceramidas podem ser convertidas à esfingosina pela ação das ceramidases. A esfingosina pode ser fosforilada pelas esfingosinas quinsases gerando S1P, que pode ser desfosforilada, regenerando esfingosina, pela ação das fosfatases.<sup>39</sup> As glicosilceramidas e os outros esfingolipídios são formados exclusivamente no retículo endoplasmático. Por outro lado, para a formação das glicosilinositolfosforilceramidas é necessário que a ceramida seja transportada até o complexo de Golgi, onde o grupo inositolfosforil será condensado a esta ceramida, formando a glicosilinositolfosforilceramida.<sup>47</sup>



**Figura 9.** Metabolismo dos esfingolípídios: interconversão dos esfingolípídios bioativos. **CerS** – ceramida sintase, **CDase** – ceramidase, **CK** – ceramida quinase, **GCase** – glucosilceramidase, **GCS** – glucosilceramida sintase, **SK** – esfingosina quinase, **SMase** – esfingomielinase, **SMS** – esfingomielina sintase, **SPPase** – esfingosina fosfato fosfatase<sup>39</sup>

As reações que envolvem modificações na base esfingoide são catalisadas por ação de enzimas e podem levar a insaturações na cadeia carbônica ou adição de hidroxilas, fosfato, glicose e/ou ácidos graxos  $\alpha$ -

insaturados. A Figura 10 mostra algumas das reações de esfingolípídios com base esfingoide que ocorrem nas plantas e mamíferos.<sup>4,14</sup>



**Figura 10.** Principais reações biossintéticas para a formação das bases esfingoides encontradas em plantas e mamíferos

## 5. Esfingolípídios como agentes terapêuticos

A presença ubíqua dos esfingolípídios nas membranas de células eucarióticas, onde atuam com importantes mediadores de vários eventos celulares como proliferação, diferenciação e apoptose, desperta o interesse de como alterações na produção destas moléculas poderiam ser usadas no controle e tratamento de doenças. Além disso, os esfingolípídios podem formar, juntamente com o colesterol, microdomínios de membrana conhecidos como *rafts*. Os *rafts* são pequenos (10-200 nm) e heterogêneos domínios de membrana, enriquecidos de colesterol e esfingolípídios, altamente dinâmicos que direcionam processos celulares.<sup>48</sup> Estes microdomínios modulam eventos de sinalização, podendo promover respostas a diferentes estímulos. Os *rafts* são importantes para sinalização inicial de células T, possibilitando a interação entre antígenos e receptores. Tem sido demonstrado que algumas funções biológicas de neurotransmissores e seus receptores, como os receptores de acetilcolina e serotonina, são altamente dependentes dos esfingolípídios e do colesterol nos *rafts* de membrana. Estes lípidios podem atuar como chaperonas, alterando a conformação destes receptores, regulando a ligação dos neurotransmissores e as funções de transdução de sinal e outros eventos.<sup>49</sup> Os *rafts* de membrana podem mediar a internalização de bactérias, vírus e parasitas nas células do hospedeiro, iniciando a morte celular programada e promovendo a liberação moléculas de sinalização. Já foi demonstrado que lípidios encontrados em vírus são originários das membranas das células do hospedeiro. Os lípidios encontrados no HIV, por exemplo, são enriquecidos em esfingolípídios específicos de *rafts*. Estes lípidios são essenciais para a infectividade do vírus, mas também podem atuar na defesa da infecção pela ativação de fatores de transcrição e liberação de

citocinas. De uma forma geral, os *rafts* das células do hospedeiro servem como plataformas para a sinalização e entrada de parasitas intracelulares. Algumas doenças autoimunes pós-infecção são causadas pela produção de anticorpos decorrentes de reações cruzadas com os esfingolípídios dos mamíferos. As diferenças entre o metabolismo de esfingolípídios dos parasitas e do hospedeiro podem ser usadas para o planejamento de novos fármacos para o tratamento de doenças infecciosas.<sup>50</sup>

O envolvimento dos esfingolípídios com diversas doenças sugere que suas vias metabólicas possam ser consideradas importantes alvos terapêuticos. A produção de substâncias análogas às bases esfingoides pode levar a novos agentes antibacterianos, antifúngicos, anticâncer, anti-inflamatórios, imunossupressores, entre outros. Sob esta perspectiva, já foram desenvolvidas compostos análogos às bases esfingoides para atuarem como fármacos ou como ferramentas para o estudo das funções dos esfingolípídios, modulando suas vias metabólicas.

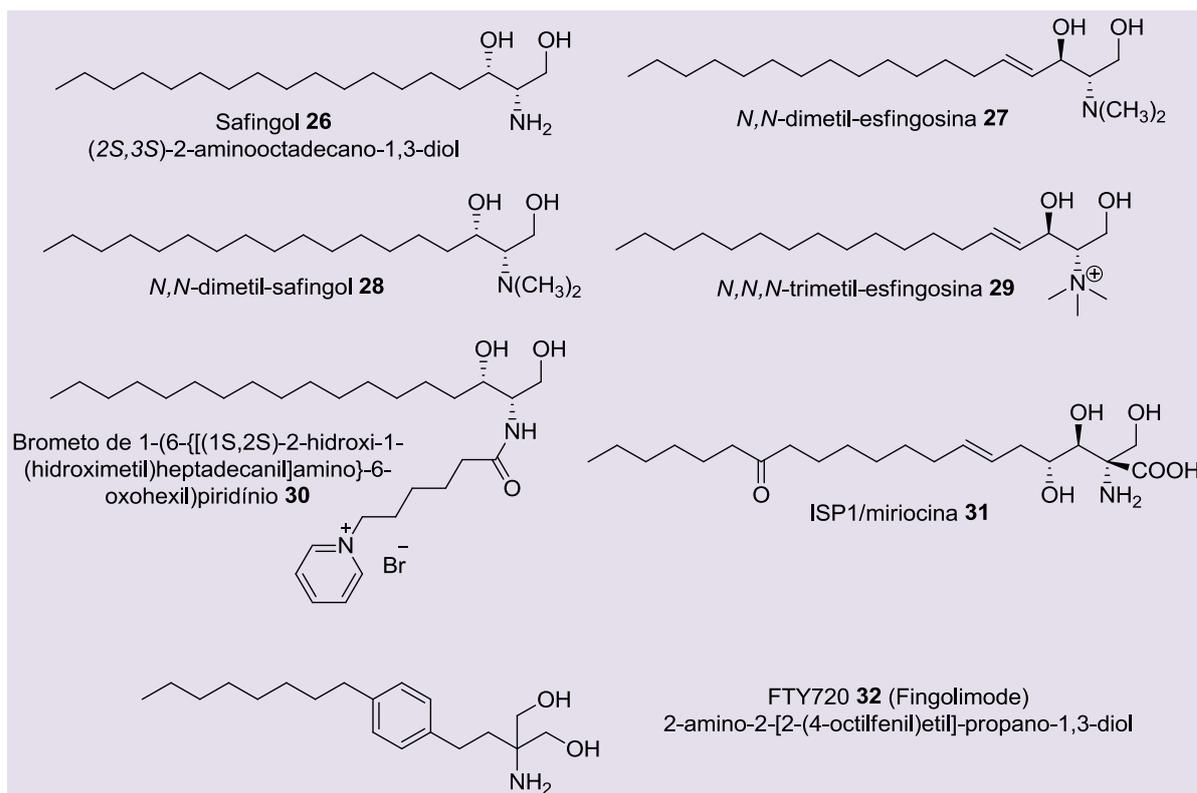
O safingol [L-*treo*-esfinganina ou (2*S*,3*S*)-2-aminooctadecano-1,3-diol, **26**] (Figura 11) está em avaliações de fase clínica I, como inibidor competitivo da esfingosina quinase (SK). Devido ao balanço pró-apoptótico entre ceramida e produção de esfingosina-1-fosfato (S1P), a SK é um alvo racional para o tratamento de câncer. Vem sendo demonstrado que o safingol puro ou em combinação com outros agentes como a mitomicina C,<sup>51</sup> ferrentinida,<sup>52,53</sup> ou cisplatina<sup>54</sup> apresenta atividade antitumoral. O safingol é acetilado pela ceramida sintase dos mamíferos e pode sofrer *N*-metilação, gerando derivados mono, di- ou trimetilados. Esta etapa de metilação é favorável para a produção de compostos anticâncer, pois foi demonstrado que a *N,N*-dimetil-esfingosina (**27**) (Figura 11) é citotóxica para muitas linhagens celulares de câncer e o mesmo pode ocorrer com a formação do *N,N*-dimetil-safingol (**28**) (Figura 11). Além disso, foi verificado que a

administração intravenosa de *N,N,N*-trimetil-esfingosina (**29**) (Figura 11), no início da isquemia, reduz o infarto do miocárdio e melhora a função cardíaca. Apesar das suas atividades promissoras, o uso clínico do safingol é limitado em função da sua baixa solubilidade em água. Para melhorar a solubilidade em água e a biodisponibilidade foi sintetizado um análogo catônico do safingol [Brometo de 1-(6-{{(1*S*,2*S*)-2-hidroxi-1-(hidroximetil)heptadecanil}amino}-6-oxohexil)piridínio, **30**] (Figura 11), que isolado ou em combinação com gemcitabina apresentou atividade inibitória do crescimento de linhagens celulares de câncer de cabeça e pescoço.<sup>55</sup> Mais recentemente, foi desenvolvida uma formulação lipossomal do safingol, visando um aumento na sua biodisponibilidade, que apresentou uma maior eficácia no tratamento da leucemia mieloide aguda.<sup>56</sup>

A serina-palmitoil-transferase (SPT) é um dos alvos mais estudados para a interrupção do metabolismo dos esfingolipídios. A maioria dos inibidores conhecidos desta enzima é produzida por diversos tipos de fungos, sendo compostos com base esfingoide.<sup>38</sup> O mais estudado deles, devido a sua alta atividade ( $IC_{50}$  na faixa de

nanomolar) e por estar disponível comercialmente, é o ISP-1/mirosina (**31**) de *Isaria sinclairii* (Figura 11). O potencial farmacêutico dos inibidores de SPT vem da capacidade do ISP-1/mirosina inibir a produção de ceramidas citotóxicas produzidas por uma ampla variedade de estresse,<sup>57</sup> suprimir a infectividade por vírus,<sup>58,59</sup> alterar as amins cerebrais<sup>60</sup> e de eliminar lesões arterioescleróticas.<sup>61,62</sup>

O FTY720 (ou fingolimode) [2-amino-2-[2-(4-octilfenil)etil]propano-1,3-diol, **32**] (Figura 11) é um dos análogos de base esfingoide mais estudados, tendo sido desenvolvido para ser um inibidor da SPT menos tóxico que o ISP-1/mirosina (**31**). Porém, o FTY720 não inibe esta enzima, mas é fosforilado pela esfingosina quinase gerando um agonista para os receptores de S1P, mas que também atua como um antagonista, dessensibilizando os receptores de S1P, resultando em imunossupressão. Além de ter sido testado com sucesso na prevenção de rejeição nos casos de transplante, o fingolimode já é usado no tratamento da esclerose múltipla. Devido ao seu alto custo (em torno de R\$ 6.000,00/mês por paciente) este medicamento foi incluído recentemente na lista de distribuição gratuita do SUS.<sup>63</sup>



**Figura 11.** Exemplos de esfingolípídios usados como agentes terapêuticos

## 6. Conclusões e Perspectivas

Apesar de a base esfingoide ser comum aos esfingolípídios, as variações nos substituintes da cabeça polar, no tamanho da cadeia e presença e posição de ligações duplas, levam a uma grande variedade de esfingolípídios. Os avanços nas técnicas de biologia molecular e nos métodos analíticos levaram a descoberta de centenas de novas estruturas no último século, mas ainda há muito o que ser explorado nesta classe de substâncias. A maioria dos estudos buscando a compreensão das alterações metabólicas, provocadas por interferência no metabolismo dos esfingolípídios, tem recebido um maior enfoque para os efeitos farmacológicos visando o tratamento do câncer e de doenças inflamatórias. Além destas áreas ainda terem muito a ser investigado e compreendido, o estudo dos esfingolípídios pode ser ainda muito ampliado para o tratamento das

doenças infecciosas. Considerando que a maioria dos patógenos necessita das células do hospedeiro para a infecção, os esfingolípídios das células do hospedeiro podem ser modulados, de forma que tratamentos mais eficientes e menos tóxicos sejam desenvolvidos. Um exemplo desta possibilidade foi verificado quando linhagens de células CD4<sup>+</sup> humanas foram tratadas com ceramidas de cadeias longas ou compostos que levaram ao aumento das ceramidas endógenas. Este tratamento levou a inibição da infecção destas células por várias cepas de HIV, além de ter apresentado baixa toxicidade.<sup>50</sup>

Outra questão importante a ser considerada é sobre a interferência no metabolismo dos patógenos. Apesar de ainda serem poucas as enzimas já caracterizadas experimentalmente, já há evidências de que em *Leishmania sp.*, por exemplo, muitas etapas do metabolismo dos fosfolípídios e esfingolípídios são críticas para a viabilidade

ou virulência destes microorganismos.<sup>50</sup> Isto abre um caminho para a identificação de novos alvos. Além disso, estudos sobre os genes envolvidos na síntese (*de novo* e no armazenamento) e degradação de fosfolipídios e esfingolipídios poderão fornecer importantes diretrizes para o controle da patogênese.

A enorme diversidade estrutural de esfingolipídios oriundos dos fungos, plantas e organismos marinhos pode ser usada como uma rica biblioteca para a produção de novos fármacos, como ocorreu com o FTY720 (fingolimode). Este fármaco produzido sinteticamente para ser um inibidor da SPT e ser menos tóxico que o inibidor já conhecido (ISP1/miriocina) isolado de um fungo, não atingiu seu propósito inicial por não inibir a SPT, mas foi apresentada atividade imunossupressora que o colocou no mercado como medicamento para o tratamento da esclerose múltipla. Com tudo isto, fica a certeza de que muitos avanços no conhecimento dos esfingolipídios, principalmente no que se refere à descoberta de novas estruturas, melhor compreensão das vias metabólicas e efeitos dos genes envolvidos. Certamente, estes avanços irão ser fundamentais para a descoberta de fármacos mais eficientes e menos tóxicos.

## Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de mestrado do André R. O. Fredí, ao CNPq pela bolsa de produtividade de Luzineide W. Tinoco e a FAPERJ pelo auxílio financeiro.

## Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Thudichum, J. L. W. *Complete Dictionary of Scientific Biography* 2008. Disponível em <<http://www.encyclopedia.com/doc/1G2-2830906147.html>> Acesso em: 07 novembro 2014.

<sup>2</sup> Carter, H. E.; Glick, F. J.; Norris, W. P. and Phillips, G. E. *Biochemistry of the*

sphingolipids. III. Structure of sphingosine. *The Journal of Biological Chemistry* **1947**, *170*, 285. [Link]

<sup>3</sup> Lynch, D. V.; Dunn, T. M. An introduction to plant sphingolipids and a review of recent advances in understanding their metabolism and function. *New Phytologist* **2004**, *3*, 677. [CrossRef]

<sup>4</sup> Pata, M.; Hannun, Y.; Ng, C. K. Y. Plant sphingolipids: decoding the enigma of the Sphinx. *New Phytologist* **2010**, *185*, 611. [CrossRef] [PubMed]

<sup>5</sup> Spassieva, S.; Hille, J. Plant Sphingolipids Today-Are They Still Enigmatic? *Plant Biology* **2003**, *5*, 125. [CrossRef]

<sup>6</sup> Hannun, Y. A. and Obeid, L. M. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2008**, *9*, 139. [CrossRef] [PubMed]

<sup>7</sup> Spiegel, S. and Milstien, S. The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. *Nature Reviews Immunology* **2011**, *11*, 403. [CrossRef] [PubMed]

<sup>8</sup> Maceyka, M. and Spiegel, S. Sphingolipid metabolites in inflammatory disease. *Nature* **2014**, *58*. [CrossRef] [PubMed]

<sup>9</sup> Spiegel, S.; Merrill, A. Sphingolipid metabolism and cell growth regulation. *FASEB Journal* **1996**, *10*, 1388. [PubMed]

<sup>10</sup> Kováčik, A.; Roh, J.; Vávrová K. The chemistry and biology of 6-hydroxyceramide, the youngest member of the human sphingolipid family. *Chembiochem* **2014**, *15*, 1555. [CrossRef] [PubMed]

<sup>11</sup> Brinkmann, V.; Billich, A.; Baumruker, T.; Heining, P.; Schmouder, R.; Francis, G.; Aradhye, S.; Burtin, P. Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. *Nature Review Drug Discovery* **2010**, *9*, 883. [CrossRef] [PubMed]

<sup>12</sup> Nelson, D. L. and Cox, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 3rd edition, Worth Publishers: New York, 2000.

<sup>13</sup> Warnecke, D.; Heinz, E. Recently discovered functions of glucosylceramides in plants and fungi. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2003**, *60*, 919. [CrossRef] [PubMed]

<sup>14</sup> Markham, J.; Lynch, D.; Napier, J.; Dunn, T.; Cahoon, E. Plant sphingolipids: function follows form. *Current Opinion in Plant Biology* **2013**, *16*, 350. [CrossRef] [PubMed]

- <sup>15</sup> Dickson, R.; Lester, R. Sphingolipid functions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica et biophysica acta – Molecular and Cell Biology of Lipids* **2002**, 1583, 13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>16</sup> IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. The nomenclature of lipids (recommendations 1976). *Journal of Lipid Research* **1978**, 19, 114. [[PubMed](#)]
- <sup>17</sup> Chester, M. A. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) Nomenclature of glycolipids. Recommendations 1997. *European Journal of Biochemistry* **1998**, 257, 2, 293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>18</sup> Chen, D.-Z.; Xiong, H.-B.; Tian, K.; Guo, J.-M.; Huang, X.-Z.; Jiang, Z.-Y. Two New Sphingolipids from the Leaves of Piper betle L. *Molecules* **2013**, 18, 11241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>19</sup> Stewart, M.; Downing, D. Free sphingosines of human skin include 6-hydroxysphingosine and unusually long-chain dihydrosphingosines. *The Journal of Investigative Dermatology* **1995**, 105, 613. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>20</sup> Stewart, M. E. and Downing, D. T. A new 6-hydroxy-4-sphingenine-containing ceramide in human skin. *Journal of Lipid Research* **1999**, 40, 1434. [[PubMed](#)]
- <sup>21</sup> Sonnino, S.; Chigorno, V. Ganglioside molecular species containing C18- and C20-sphingosine in mammalian nervous tissues and neuronal cell cultures. *Biochimica et Biophysica Acta* **2000**, 1469, 63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>22</sup> Panganamala, R.; Geer, J.; Cornwell, D. Long-chain bases in the sphingolipids of atherosclerotic human aorta. *Journal of Lipid Research* **1969**, 10, 445. [[PubMed](#)] [[Link](#)]
- <sup>23</sup> Jiong, C.; Hoe-Sup, B.; Robert, B. First Asymmetric Synthesis of 6-Hydroxy-4-Sphingenine-Containing Ceramides. Use of Chiral Propargylic Alcohols To Prepare a Lipid Found in Human Skin. *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, 348. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>24</sup> Kadowaki, H.; Bremer, E. G.; Evans, J. E.; Jungalwala, F. B.; Mc Cluer, R. H. Acetonitrile-hydrochloric acid hydrolysis of gangliosides for high performance liquid chromatographic analysis of their long chain bases. *Journal of Lipid Research* **1983**, 24, 1389. [[PubMed](#)]
- <sup>25</sup> Morrison, W. Long-chain bases in the sphingolipids of bovine milk and kidney, rumen bacteria, rumen protozoa, hay and concentrate. *Biochimica et Biophysica Acta* **1973**, 316, 98. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>26</sup> Wiegandt, H. Insect glycolipids. *Biochimica et Biophysica Acta* **1992**, 1123, 117. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>27</sup> Fyrst, H.; Herr, D. R.; Harris, G. L.; Saba, J. D. Characterization of free endogenous C14 and C16 sphingoid bases from *Drosophila melanogaster*. *Journal of Lipid Research* **2003**, 45, 54. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>28</sup> Chitwood, D.; Lusby, W.; Thompson, M.; Kochansky, J.; Howarth, O. The glycosylceramides of the nematode *Caenorhabditis elegans* contain an unusual, branched-chain sphingoid base. *Lipids* **1995**, 30, 567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>29</sup> Gerdt, S.; Dennis, R. D.; Borgonie, G.; Schnabel, R.; Geyer, R. Isolation, characterization and immunolocalization of phosphorylcholine-substituted glycolipids in developmental stages of *Caenorhabditis elegans*. *European Journal of Biochemistry* **1999**, 266, 952. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>30</sup> Wuhrer, M.; Rickhoff, S.; Dennis, R.D.; Lochnit, G.; Soboslay, P.T.; Baumeister, S.; Geyer, R. Phosphocholine-containing, zwitterionic glycosphingolipids of adult *Onchocerca volvulus* as highly conserved antigenic structures of parasitic nematodes. *Biochemical Journal* **2000**, 348, 417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>31</sup> Lochnit, G.; Nispel, S.; Dennis, R. D.; Geyer, R. Structural analysis and immunohistochemical localization of two acidic glycosphingolipids from the porcine, parasitic nematode, *Ascaris suum*. *Glycobiology* **1998**, 8, 891. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>32</sup> Asai, N.; Fusetani, N.; Matsunaga, S. Sex pheromones of the hair crab *Erimacrus isenbeckii*. II. Synthesis of ceramides. *Journal of Natural Products* **2001**, 64, 1210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- <sup>33</sup> Sperling, P.; Heinz, E. Plant sphingolipids: structural diversity, biosynthesis, first genes and functions. *Biochimica et Biophysica Acta* **2003**, *1632*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>34</sup> Barreto-Bergter, E.; Pinto, M.; Rodrigues, M. Structure and biological functions of fungal cerebrosides. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2004**, *76*, 67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>35</sup> Qi, J.; Ojika, M.; Sakagami, Y. Neuritogenic cerebrosides from an edible Chinese mushroom. Part 2: Structures of two additional termitomycesphins and activity enhancement of an inactive. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2001**, *9*, 2171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>36</sup> Irie, A.; Kubo, H.; Hoshi, M. Glucosylceramide having a novel tri-unsaturated long-chain base from the spermatozoa of the starfish, *Asterias amurensis*. *The Journal of Biochemistry* **1990**, *107*, 578. [[PubMed](#)]
- <sup>37</sup> Ohashi, Y.; Tanaka, T.; Akashi, S.; Morimoto, S.; Kishimoto, Y. Nagai, Y. Squid nerve sphingomyelin containing an unusual sphingoid base. *Journal of Lipid Research* **2000**, *41*, 1118. [[PubMed](#)] [[Link](#)]
- <sup>38</sup> Pruett, S.; Bushnev, A.; Hagedorn, K.; Adiga, M.; Haynes, C.; Sullards, M.; Liotta, D.; Merrill, A. Biodiversity of sphingoid bases ("sphingosines") and related amino alcohols. *Journal of lipid Research* **2008**, *49*, 1621. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>39</sup> Hannun, Y. A.; Obeid, L. M. Many Ceramides. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, *286*, 27855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>40</sup> Holland, W.; Miller, R.; Wang, Z.; Sun, K.; Barth, B.; Bui, H.; Davis, K.; Bikman, B.; Halberg, N.; Rutkowski, J.; Wade, M.; Tenorio, V.; Kuo, M.-S.; Brozinick, J.; Zhang, B.; Birnbaum, M.; Summers, S.; Scherer, P. Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. *Nature Medicine* **2011**, *17*, 55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>41</sup> Nixon, G. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets. *British Journal of Pharmacology* **2009**, *158*, 982. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>42</sup> Huang, W.-C.; Chen, C.-L.; Lin, Y.-S.; Lin, C.-F. Apoptotic sphingolipid ceramide in cancer therapy. *Journal of Lipids* **2011**, *2011*, 565316. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>43</sup> Modrak, D.; Gold, D.; Goldenberg, D. Sphingolipid targets in cancer therapy. *Molecular Cancer Therapeutics* **2006**, *5*, 200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>44</sup> Li, X.; Becker, K. A.; Zhang, Y. Ceramide in redox signaling and cardiovascular diseases. *Cellular Physiology and Biochemistry* **2010**, *26*, 41. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>45</sup> Stancevic, B.; Kolesnick, R. Ceramide-rich platforms in transmembrane signaling. *FEBS letters* **2010**, *584*, 1728. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>46</sup> Sperling, P.; Zähringer, U.; Heinz, E. A Sphingolipid Desaturase from Higher Plants. Identification of a New Cytochrome B5 Fusion Protein. *Journal of Biological Chemistry* **1998**, *273*, 28590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>47</sup> Chen, M.; Markham, J. E.; Cahoon, E. B. Sphingolipid  $\Delta 8$  unsaturation is important for glucosylceramide biosynthesis and low-temperature performance in Arabidopsis. *The Plant Journal* **2012**, *69*, 769. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>48</sup> Pike, L. J. The challenge of lipid rafts. *Journal of Lipid Research* **2009**, *50*, S323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>49</sup> Riethmuller, J.; Riehle, A.; Grassmé, H.; Gulbins, E. Membrane rafts in host-pathogeninteractions. *Biochimica et Biophysica Acta* **2006**, *1758*, 2139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>50</sup> Hanada, K. Sphingolipids in Infectious Diseases. *Japanese Journal of Infectious Diseases* **2005**, *58*, 131. [[PubMed](#)] [[Link](#)]
- <sup>51</sup> Schwartz, G. K.; Haimovitz-Friedman, A.; Dhupar, S. K.; Ehleiter, D.; Maslak, P.; Lai, L.; Loganzo, F. Jr.; Kelsen, D. P.; Fuks, Z.; Albino, A. P. Potentiation of apoptosis by treatment with the protein kinase C-specific inhibitor safingol in mitomycin C-treated gastric cancer cells. *Journal of the National Cancer Institute* **1995**, *87*, 1394. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>52</sup> Maurer, B. J.; Melton, L.; Billups, C.; Cabot, M. C.; Reynolds, C. P. Synergistic cytotoxicity in solid tumor cell lines between N-(4-hydroxyphenyl)retinamide and modulators of ceramide metabolism. *Journal of the National*

- Cancer Institute* **2000**, *92*, 1897. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>53</sup> Wang, H.; Maurer, B. J.; Reynolds, C. P.; Cabot, M. C. N-(4-Hydroxyphenyl)retinamide elevates ceramide in neuroblastoma cell lines by coordinate activation of serine palmitoyltransferase and ceramide synthase. *Cancer Research* **2001**, *61*, 5102. [[PubMed](#)]
- <sup>54</sup> Dickson, M. A.; Carvajal, R. D.; Merrill, A. H. Jr.; Gonen, M.; Cane, L. M.; Gary K. Schwartz, G. K. A Phase I Clinical Trial of Safingol in Combination with Cisplatin in Advanced Solid Tumors *Clinical Cancer Research* **2011**, *17*, 2484. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>55</sup> Senkal, C. E.; Ponnusamy, S.; Rossi, M.J.; Sundararaj, K.; Szulc Z.; Bielawski, J.; Bielawska, A.; Meyer, M.; Cobanoglu, B.; Koybasi, S.; Sinha, D.; Day, T. A.; Obeid, L. M.; Hannun, Y.A.; Ogretmen, B. Potent antitumor activity of a novel cationic pyridinium-ceramide alone or in combination with gemcitabine against human head and neck squamous cell carcinomas in vitro and in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2006**, *317*, 1188. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>56</sup> Tan, K. B.; Ling, L. U.; Bunte, R. M.; Chng, W. J.; Chiu, G. N. C. *In vivo* efficacy of a novel liposomal formulation of safingol in the treatment of acute myeloid leukemia. *Journal of Controlled Release* **2012**, *160*, 290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>57</sup> Petrache, I.; Natarajan, V.; Zhen, L.; Medler, T. R.; Richter, A. T.; Cho, C.; Hubbard, W. C.; Berdyshev, E. V.; Tudor, R. M. Ceramide upregulation causes pulmonary cell apoptosis and emphysema-like disease in mice. *Nature Medicine* **2005**, *11*, 491. [[PubMed](#)]
- <sup>58</sup> Amemiya, F.; Maekawa, S.; Itakura, Y.; Kanayama, A.; Matsui, A.; Takano, S.; Yamaguchi, T.; Itakura, J.; Kitamura, T.; Inoue, T.; Sakamoto, M.; Yamauchi, K.; Okada, S.; Yamashita, A.; Sakamoto, N.; Itoh, M.; Enomoto, N. Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection. *The Journal of Infectious Diseases* **2008**, *197*, 361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>59</sup> Umehara, T.; Sudoh, M.; Yasui, F.; Matsuda, C.; Hayashi, Y.; Chayama, K.; Kohara, M. Serine palmitoyltransferase inhibitor suppresses HCV replication in a mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communication* **2006**, *346*, 67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>60</sup> Osuchowski, M. F.; Johnson, V. J.; He, Q.; Sharma, R. P. Myriocin, a serine palmitoyltransferase inhibitor, alters regional brain neurotransmitter levels without concurrent inhibition of the brain sphingolipid biosynthesis in mice. *Toxicology Letters* **2004**, *147*, 87. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>61</sup> Hojjati, M. R.; Li, Z.; Zhou, H.; Tang, S.; Huan, C.; Ooi, E.; Lu, S.; Jiang, X.C. Effect of myriocin on plasma sphingolipid metabolism and atherosclerosis in apoE-deficient mice. *The Journal of Biological Chemistry* **2005**, *280*, 10284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>62</sup> Glaros, E. N.; Kim, W. S.; Quinn, C. M.; Jessup, W.; Rye, K. A.; Garner, B. Myriocin slows the progression of established atherosclerotic lesions in apolipoprotein E gene knockout mice. *Journal of Lipid Research* **2008**, *49*, 324. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>63</sup> Portaria Nº 24/2014 - Publicada em 01/07/2014 no Diário Oficial da União, 123, pág. 11. [[Link](#)]