

Interação entre Albumina do Soro Humano (HSA) e o Antifúngico Anfotericina B por Espectrofluorimetria Fotoestacionária

Déborah de Alencar Simoni (PG)^{1*}, Francisco B. T. Pessine (PQ)²

1, 2. Instituto de Química – UNICAMP

e-mail: dsimoni@iqm.unicamp.br

Palavras Chave: interação, Albumina do Soro Humano, Anfotericina B, espectrofluorimetria, equação de Hill.

Introdução

A Anfotericina B (AnfB) é o fármaco de escolha, aplicado parenteralmente, no combate a infecções fúngicas sistêmicas que acometem pacientes imunossuprimidos, em decorrência de diferentes tratamentos quimioterápicos^{1,2}.

A albumina do soro é uma proteína que representa 60 % da quantidade total de proteína encontrada no sangue^{4, 5, 6}. Assim, sua abundância no soro humano a torna determinante no comportamento farmacocinético de diversos fármacos³.

Quando a interação da HSA com ligantes leva a alterações na estrutura conformacional, que podem ser detectadas pela da HSA uma supressão a na fluorescência de seu único resíduo de triptofano^{3,4}.

A contribuição da HSA albumina do soro no mecanismo de ação da AnfB ainda não foi elucidado³ e, o primeiro passo para o esclarecimento da influência desta proteína na atividade da AnfB reside no entendimento das interações entre estas espécies.

Resultados e Discussão

Os espectros de emissão da Figura 1 mostram o efeito de supressão na fluorescência de emissão do Trp-214, e um deslocamento do máximo desta banda para comprimentos de onda maiores, como efeito da interação entre HSA e AnfB.

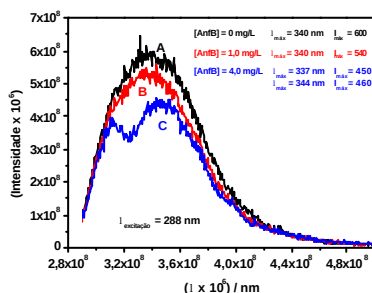


Figura 1: espectros de emissão de HSA ($3,40 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹) em tampão fosfato pH 7,4, 37 °C. Os resultados para demais concentrações de AnfB foram omitidos para melhor visualização.

Esse efeito indica maior exposição do Trp-214 ao meio aquoso, já que o Trp-214 é altamente sensível ao ambiente em que se encontra, e seu espectro de emissão depende muito do grau de exposição da cadeia triptofanil lateral ao solvente aquoso, e de sua proximidade a grupos supressores específicos^{3,4}.

A constante de equilíbrio de dissociação, K_d, para a ligação entre HSA e AnfB pode ser obtida pela Equação de Hill⁴: $a = K_d / [\text{fármaco}] + 1$, onde $a = 1 / (1 - I/I_0)$, I e I₀ representam a fluorescência do Trp-214 da HSA na presença e ausência do fármaco, respectivamente, para uma dada concentração do fármaco. De acordo com este modelo, se $a = 1$ considera-se que a droga se liga apenas a um único sítio espectrofluorimetricamente ativo da HSA⁴.

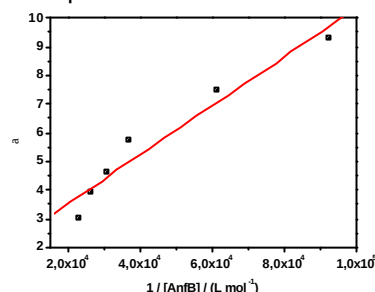


Figura 2: variação de a com o inverso da concentração de AnfB ($[HSA] = 3,40 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹).

O gráfico da Figura 2 mostra que os pontos não são bem ajustados pela equação de Hill. Ainda assim, se correlacionados de acordo com essa equação, as constantes têm valores de $a \sim 2$ e $K_d \sim 1 \times 10^{-4}$ M, onde o valor de a sugere que a AnfB interage com mais de um sítio espectrofluorimetricamente ativo da HSA, o que pode ter relação com o desdobramento da banda de emissão observado no espectro da Figura 1C.

Conclusões

A interação entre HSA e AnfB foi comprovada através da supressão e desdobramento da banda de emissão de fluorescência do Trp-214 da HSA.

Tal interação foi quantitativamente tratada, podendo-se constatar que a mesma se estabelece através de mais de um sítio espectrofluorimetricamente ativo da HSA.

Agradecimentos

À UNICAMP, pela bolsa institucional.

¹ Scott, C. H., et al, *Pharmaceutical Research* **2001**, 9, 1305.

² Gruszecki, W. I., et al, *Cellular & Molecular Biology Letters* **2003**, 8, 161.

³ Kandagal, P. B., et al., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2006**, 179, 161

⁴Bocedi, A., et al, *IUBMB Life* **2004**, 56, 609.

² Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3335.