Influência na supressão da fluorescência da albumina humana e análise eletroquímica de um metalofármaco de dirutênio e cetoprofeno

Rodrigo Luis S. R. Santos^{1*} (PG), Márcia K. Tanimoto² (PG), Sofia Nikolaou² (PQ), Denise de Oliveira Silva¹ (PQ)

¹ Instituto de Química - Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 748 – São Paulo (SP)

² Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP – Av. do Café, s/nº – Ribeirão Preto (SP)

* rluis@iq.usp.br

Palavras Chave: dirutênio(II,III), cetoprofeno, albumina humana, fluorescência, voltametria cíclica.

Introdução

Complexos de rutênio são uma alternativa promissora para o tratamento do câncer, sendo que alguns já se encontram em fase de testes clínicos [1]. Pesquisas sobre complexos de Ru₂(II,III) com fármacos anti-inflamatórios não-esteróides tem sido um dos focos do nosso grupo [2]. Em comunicação anterior, reportamos a síntese e a caracterização espectroscópica do Ruceto, [Ru₂(ceto)₄Cl]·2H₂O (Hceto = cetoprofeno), além de resultados preliminares sobre sua interação com albumina humana (HSA) [3]. Neste trabalho, apresentamos resultados de estudos sobre a influência na supressão da fluorescência da HSA e o comportamento eletroquímico deste complexo.

Resultados e Discussão

Os experimentos de eletroquímica foram efetuados para soluções do Ruceto em DMSO (1 x 10⁻³ mol L⁻¹) contendo TBAPF₆ 0,1 mol L⁻¹, à temperatura ambiente. O voltamograma cíclico indica a ocorrência de dois processos principais, que são caracterizados pelos aparecimentos de um par de ondas reversível (E_{1/2} = 0,18 V vs Ag/AgCl, ΔE = 70 mV, 200 mV s⁻¹) e um par de ondas quase-reversível (E_{1/2} = -1,65 V vs Ag/AgCl, ΔE = 100 mV, 200 mV s⁻¹). O primeiro pode ser atribuído a um processo redox envolvendo o núcleo dimetálico (Ru₂) enquanto o segundo deve-se a um processo centrado no ligante cetoprofeno coordenado.

Estudos prévios de discroísmo circular indicaram que o Ruceto interage com a HSA, abundante proteína transportadora de diversas espécies no organismo, modificando sua conformação [3]. Para tentar elucidar este comportamento, investigou-se neste trabalho a influência da presença do complexo e do fármaco não-coordenado na supressão da fluorescência da albumina. As amostras foram dissolvidas em misturas de etanol/tampão fisiológico (pH 7,4) e a variação espectral foi monitorada em 340 nm, empregando-se dois comprimentos de onda de excitação (λ_{exc}): 295 nm, no qual ocorre, ao redor de 350 nm, apenas a emissão do triptofano (TRP); e 280 nm, em que a tirosina (TIR) também

emite [4]. Parâmetros determinados indicam que o complexo interage com a proteína por meio de um mecanismo estático até a razão molar HSA/complexo de 1:5. As constantes de Stern-Volmer (K_{SV}) e de quelação bimolecular (K_Q) (Tabela 1) são bastante próximas para os dois λ_{exc}, tanto para o Hceto quanto para o Ruceto, indicando que os resíduos de ambos os aminoácidos podem estar envolvidos nas interações dos compostos com a HSA. Entretanto, a comparação das ordens de grandeza destas constantes dá indícios de que o metalofármaco interage mais fortemente do que o Hceto com a proteína.

Tabela 1. Constantes de Stern-Volmer e de quelação bimolecular para HSA:composto

Composto	K _{SV} (L mol ⁻¹)		K _Q (L mol ⁻¹ s ⁻¹)	
	λ _{exc}		λ _{exc}	
	280 nm	295 nm	280 nm	295 nm
Hceto	3,0 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁴	3,0 x 10 ¹²	1,5 x 10 ¹²
Ruceto	1,6 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵	2,4 x 10 ¹³	1,7 x 10 ¹³

Conclusões

O Ruceto exhibe dois processos eletroquímicos: oxidação do núcleo Ru₂ e redução do ligante cetoprofeno. Os estudos de fluorescência indicam um mecanismo estático para a interação complexo/HSA e a participação dos resíduos de TRP e TIR nesta interação.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES, CNPq/IM²C.

Ao doutorando Lucas C. V. Carvalho e ao Prof. Dr. Hermi F. Brito pelos ensaios de fluorescência realizados.

¹ Kostova, I. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 1085.

² Ribeiro, G.; Benadiba, M.; Colquhoun, A.; de Oliveira Silva, D. *Polyhedron.* **2008**, *27*, 1131.

³ Santos, R.L.S.R.; Santos, R.R.P.; de Oliveira Silva, D. *In: 31ª RASBQ*, **2008**, Q1-066.

⁴ Xie, M.X.; Xu, X.Y.; Wang, Y.D. *Biochim. Biophys. Acta.* **2005**, *1724*, 215.