

Determinação da constante de ligação entre *p*-hidroxibenzoatos de alquila e Albumina por Eletroforese Capilar (“*Partial Filling*”)

Maressa D. Dolzan (PG), Luciano Vitalli (PG), Gustavo A. Micke* (PQ)

Departamento de Química da UFSC, 88040-900, Florianópolis/SC – [*gustavomicke@gmc.ufsc.br](mailto:gustavomicke@gmc.ufsc.br)

Palavras Chave: Eletroforese Capilar, Parabenos, Albumina, Constante de associação

Introdução

Os *p*-hidroxibenzoatos de alquila, ou parabenos, são conservantes antimicrobianos adicionados a uma gama de cosméticos e medicamentos. Apesar de serem amplamente utilizados, principalmente o metil (MP), etil (EP), propil (PP) e butilparabeno (BP), há indícios científicos de que estejam relacionados a formação de tumores de mama, desde que foram detectados em células neoplásicas deste tipo, e portanto a sua capacidade de bioacumulação¹. Diante desta problemática percebe-se a necessidade de estudar as interações destes compostos com biomoléculas. Para isto, foi desenvolvido um método rápido por Eletroforese Capilar (EC) para determinar as constantes de associação - K_a entre MP, EP, PP, BP e a albumina de soro bovino (BSA), que é considerada a principal proteína responsável pelo carregamento de compostos exógenos dentro do organismo.

Procedimento experimental

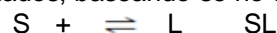
Os experimentos foram realizados em equipamento de EC, Agilent Technologies, HP 3DCE equipado com detector de arranjo de diodos. As análises foram efetuadas a 36,5°C em um capilar de 40 cm, 8,5 cm de tamanho efetivo e 50 μm de diâmetro interno. Foi utilizado eletrólito de corrida com 30 mM de fosfato, pH = 7,3, a tensão aplicada foi de 25 kV e a detecção em 297 nm. Para as análises foram preparadas soluções aquosas individuais de MP, EP, PP e BP com concentração de 50 mgL^{-1} e soluções de BSA que variaram entre 0 e 350 μM . Os experimentos foram idênticos para todos os parabenos. Primeiramente foi injetada a proteína, 50 mBar/10s, e em seguida a solução do ligante, 30 mBar/3s.

Resultados e Discussão

A formação do complexo parabeno-BSA foi determinada por eletroforese a partir da diferença entre as mobilidades da espécie do composto livre e ligado à proteína, que foi calculada a partir da equação² $\Delta\mu = (1/t_l - 1/t_f) \cdot L \cdot I / V$, onde t_l e t_f são os tempos de migração do ligante e o fluxo, respectivamente, L, o comprimento total do capilar,

o comprimento até o detector e V a voltagem aplicada.

A partir dos dados obtidos foi possível calcular os valores de K_a (Tabela 1) entre a proteína e os compostos estudados, baseando-se no equilíbrio:



utilizando a equação³ $\mu_{\text{obs}} = ([L]/([L]+K_d)) \cdot \mu_{\text{SL}}$, onde S e L são, o parabeno e a BSA, respectivamente, μ_{obs} é a mobilidade observada experimentalmente, μ_{SL} a mobilidade do complexo parabeno-BSA e [L] a concentração molar de BSA.

Tabela 1: Valores das constantes de associação (K_a) obtidos entre os diferentes parabenos e a BSA.

	MP	EP	PP	BP
$K_a (\text{Lmol}^{-1})$	3×10^3	4×10^3	6×10^3	11×10^3

Na Figura 1 estão apresentados os eletroferogramas obtidos da análise de interação entre o PP e a BSA.

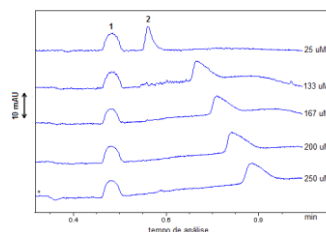


Figura 1: Eletroferogramas obtidos para a interação da PP com BSA, usando diferentes concentrações de proteína. Todos foram alinhados pelo fluxo e a escala é baseada no eletroferograma indicado pelo asterisco. Legenda: 1- fluxo eletroosmótico, 2- complexo PP-BSA.

Conclusões

Foi desenvolvido um método rápido e de baixo custo por EC para análise da interação entre BSA e diferentes parabenos. Os resultados de K_a sugerem uma possível relação entre a hidrofobicidade dos compostos e sua ligação à proteína.

Agradecimentos

UFSC, CAPES, INCT – catálise, CNPq, FARMA SERVICE Bioextract LTDA.

¹Darbre, P.; Harvey, P. W. *Applied Toxicology*, **2004**, 24, 167-176.

²Gomez, F. A. *et al. Anal. Chem.*, **1994**, 66, 1785-1791.

³Bellini, M. S. *et al. Chromatography A*. **2001**, 924, 483-491.