



DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL DE REDUÇÃO DO PAR $\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^{\bullet-}$ DERIVADO DE NITROFURAL UTILIZANDO BIOCSENSOR DE GLICOSE

José Vinicius Martins¹ (IC), Glauca Freitas Menino¹ (IC), Murilo Sérgio da S. Julião^{1,2} (PQ), Mauro Aquiles La-Scalea³ (PQ) e Silvia H. P. Serrano¹ (PQ)

¹Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP; ²Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, CE e

³Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brasil.

vinicius@iq.usp.br

OBJETIVO

A ação biológica dos nitrocompostos (RNO_2), com grande importância para fins terapêuticos¹, depende da redução do grupo nitro e a ação citotóxica deles tem sido atribuída a dois intermediários desta redução: o nitroradical aniônico e o derivado hidroxilamínico.

Neste trabalho, substituiu-se o O_2 molecular, envolvido no ciclo enzimático da glicose oxidase (Figura 1), pelo nitrofural (NFZ, Figura 2). Espera-se que o nitroradical aniônico, $\text{RNO}_2^{\bullet-}$, seja gerado enzimaticamente em um biossensor de glicose, construído a partir da modificação de um eletrodo de ouro por monocamadas organizadas de ácido 3-mercaptopropiônico, MPA².

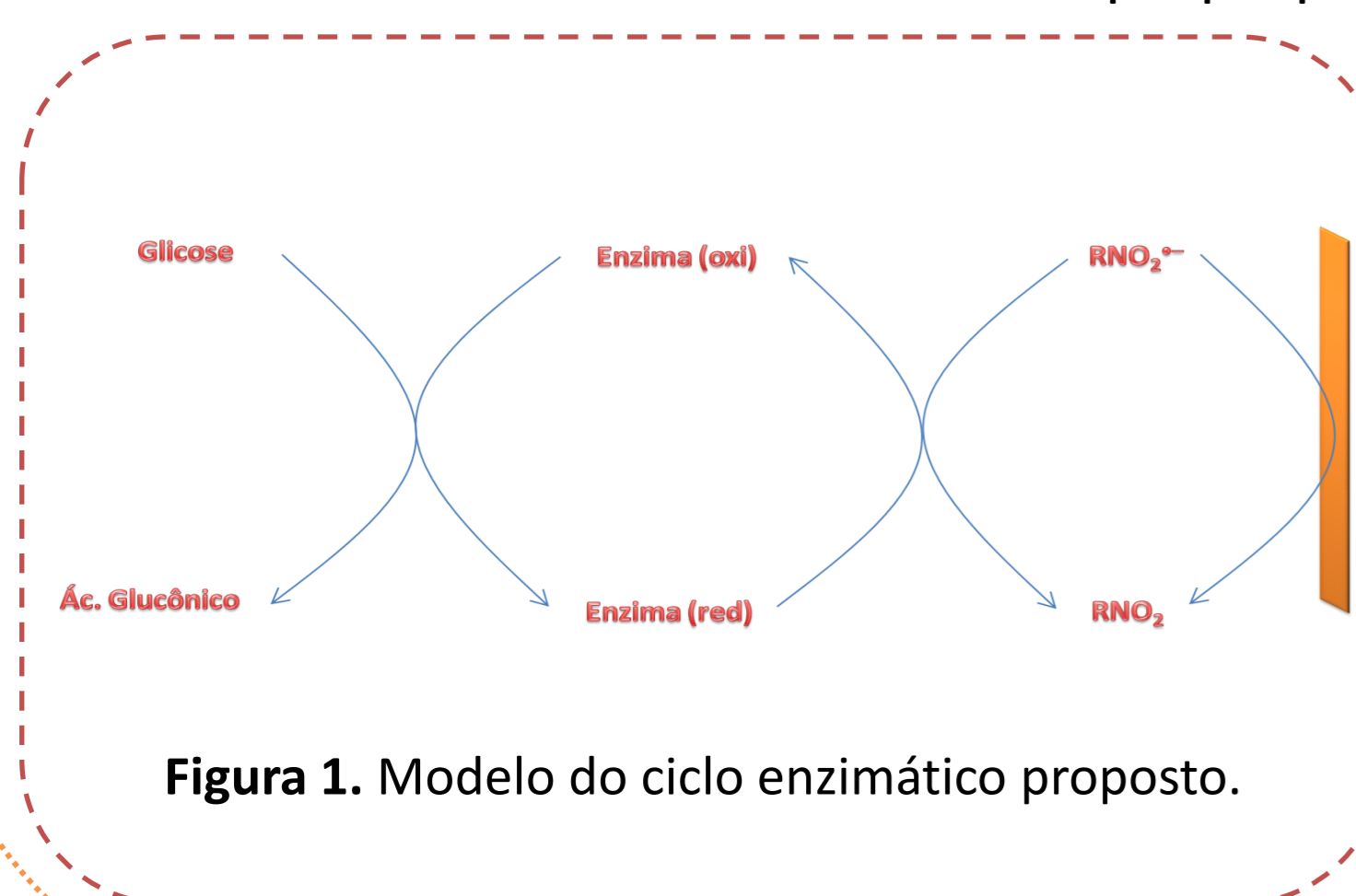


Figura 1. Modelo do ciclo enzimático proposto.

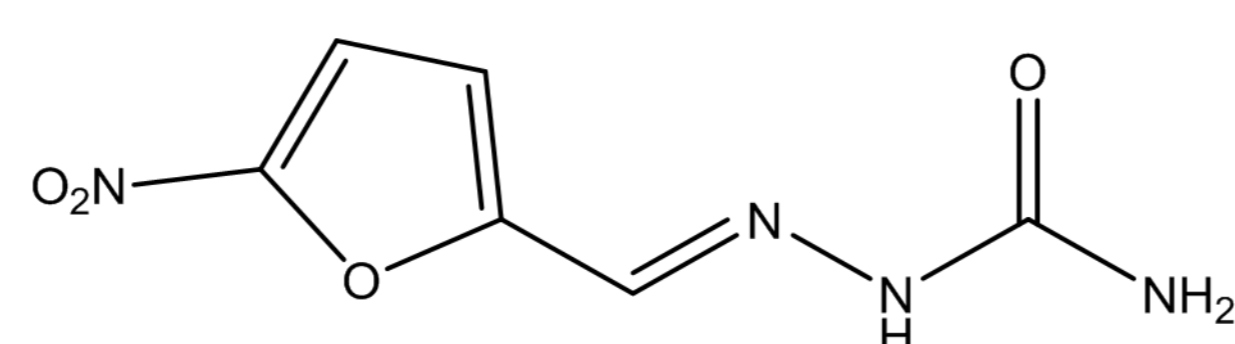


Figura 2. Estrutura da Nitrofurazona (NFZ).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

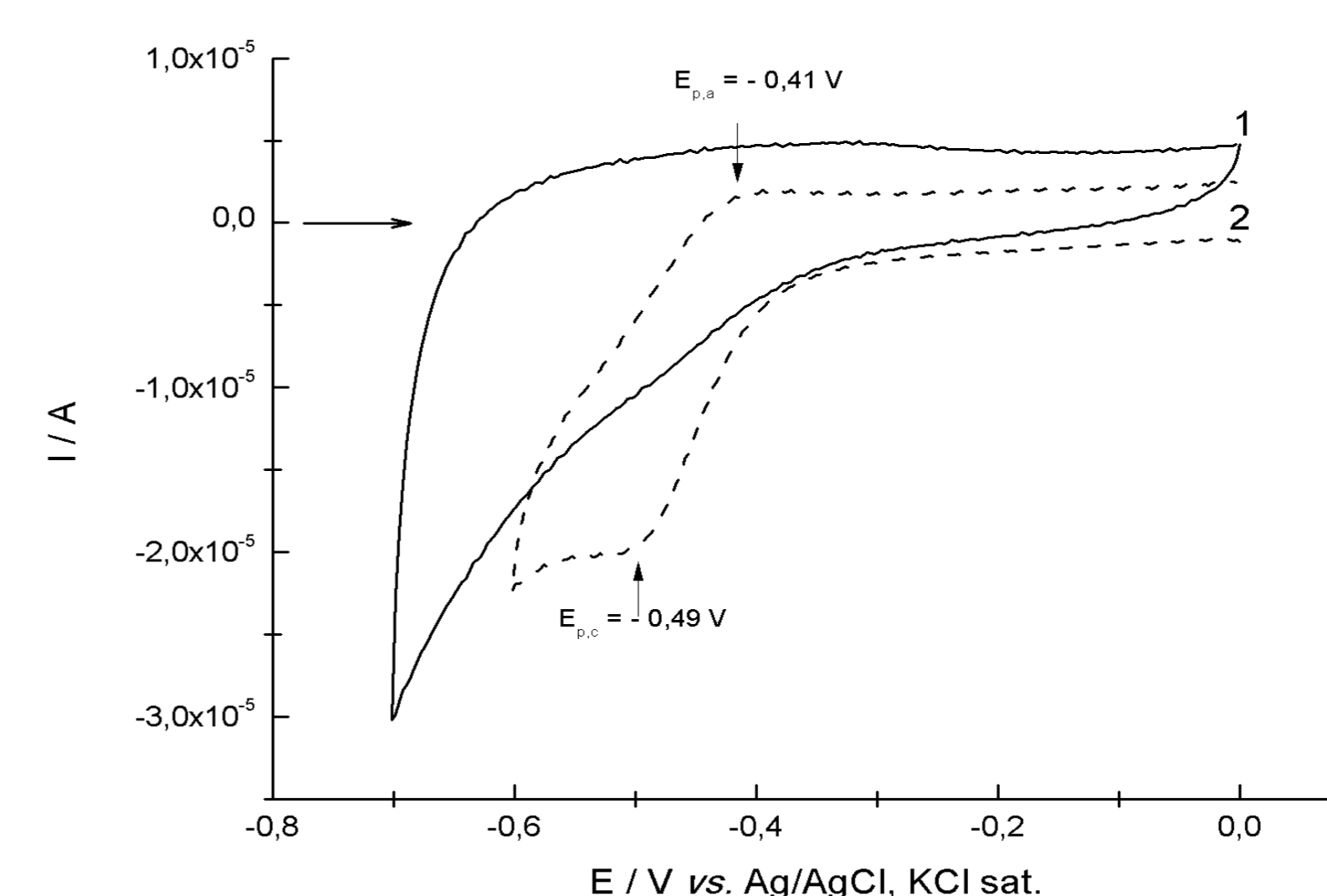


Figura 4. Voltamograma cíclico registrado com o biossensor na solução contendo 0,5 mM de nitrofural em tampão BR pH 8,0. (1): com o biossensor recém-preparado; (2): com o biossensor após 24 h de hidratação em tampão fosfato pH 5,1 (tempo não otimizado). Condições experimentais: (1): $E_i = 0,0$ V, $E_\lambda = -0,7$ V, $E_f = 0,0$ V, $v = 700$ mV s⁻¹; (2): $E_i = 0,0$ V, $E_\lambda = -0,6$ V, $E_f = 0,0$ V, $v = 700$ mV s⁻¹. $E_{\text{RNO}_2/\text{RNO}_2^{\bullet-}} = -0,45$ V.

A Figura 5 traz informações sobre a saturação do modelo enzimático. Após certa concentração de substrato, mesmo aumentando a concentração de NFZ, o sinal já não pode ser mais aumentado. O potencial redox do par NFZ/NFZ^{•-} detectado no biossensor (-0,450 V vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}) para o nitrofural está em ótima concordância com aquele registrado em eletrodo de diamante altamente dopado com boro³ (-0,451 V vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}).

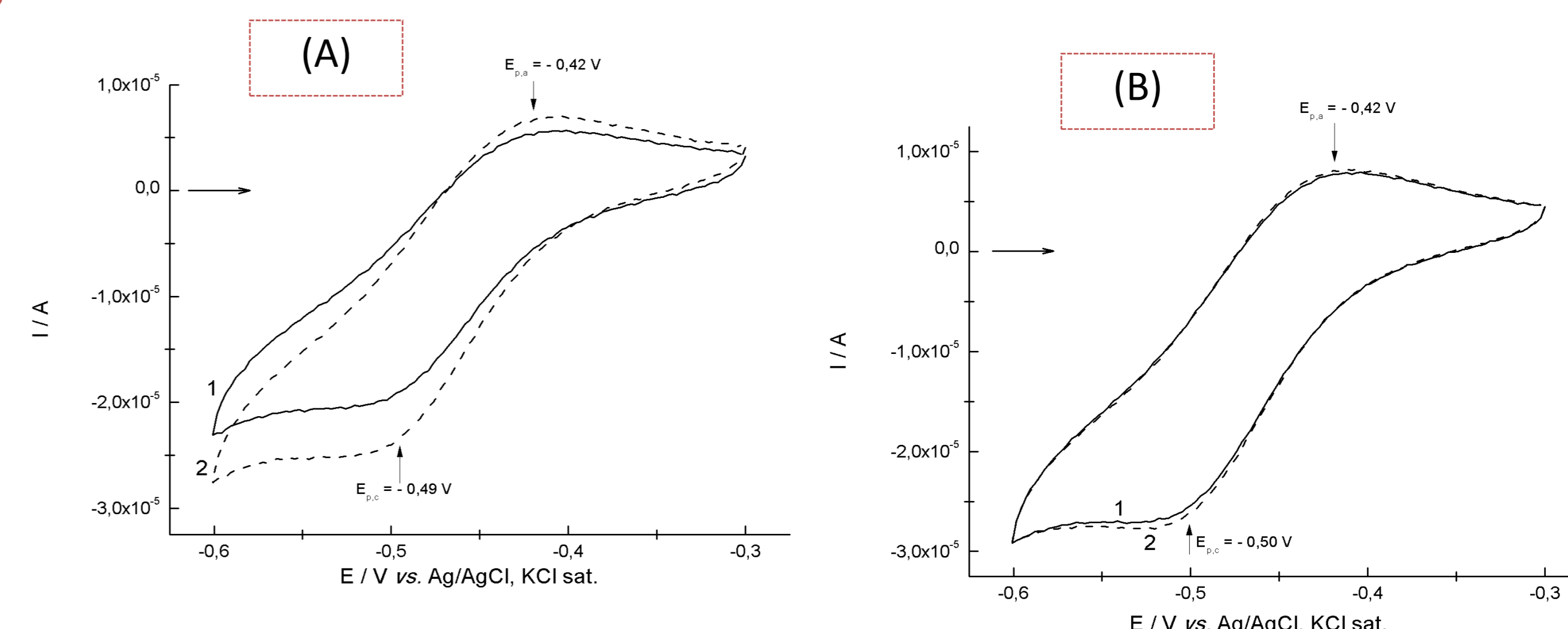


Figura 5. Voltamogramas cíclicos registrados com o biossensor hidratado em solução contendo concentrações crescentes de nitrofural (NFZ) e glicose em tampão BR pH 8,0. (A1): [NFZ] = 0,91 mM em 0,45 mM de glicose; (A2): [NFZ] = 0,91 mM em 0,91 mM de glicose. (B1): [NFZ] = 1,25 mM em 0,83 mM de glicose; (B2): [NFZ] = 1,25 mM em 1,25 mM de glicose. Condições experimentais: $E_i = -0,3$ V, $E_\lambda = -0,6$ V, $E_f = -0,3$ V, $v = 700$ mV s⁻¹. Solução da célula previamente des aerada por borbulhamento de N_2 por 15 min.

PARTE EXPERIMENTAL

Método de preparação do biossensor

- Polimento com suspensão de diamante
- Lavagem com DCM (sonicar 10 min.)
- Modificação da superfície do eletrodo:

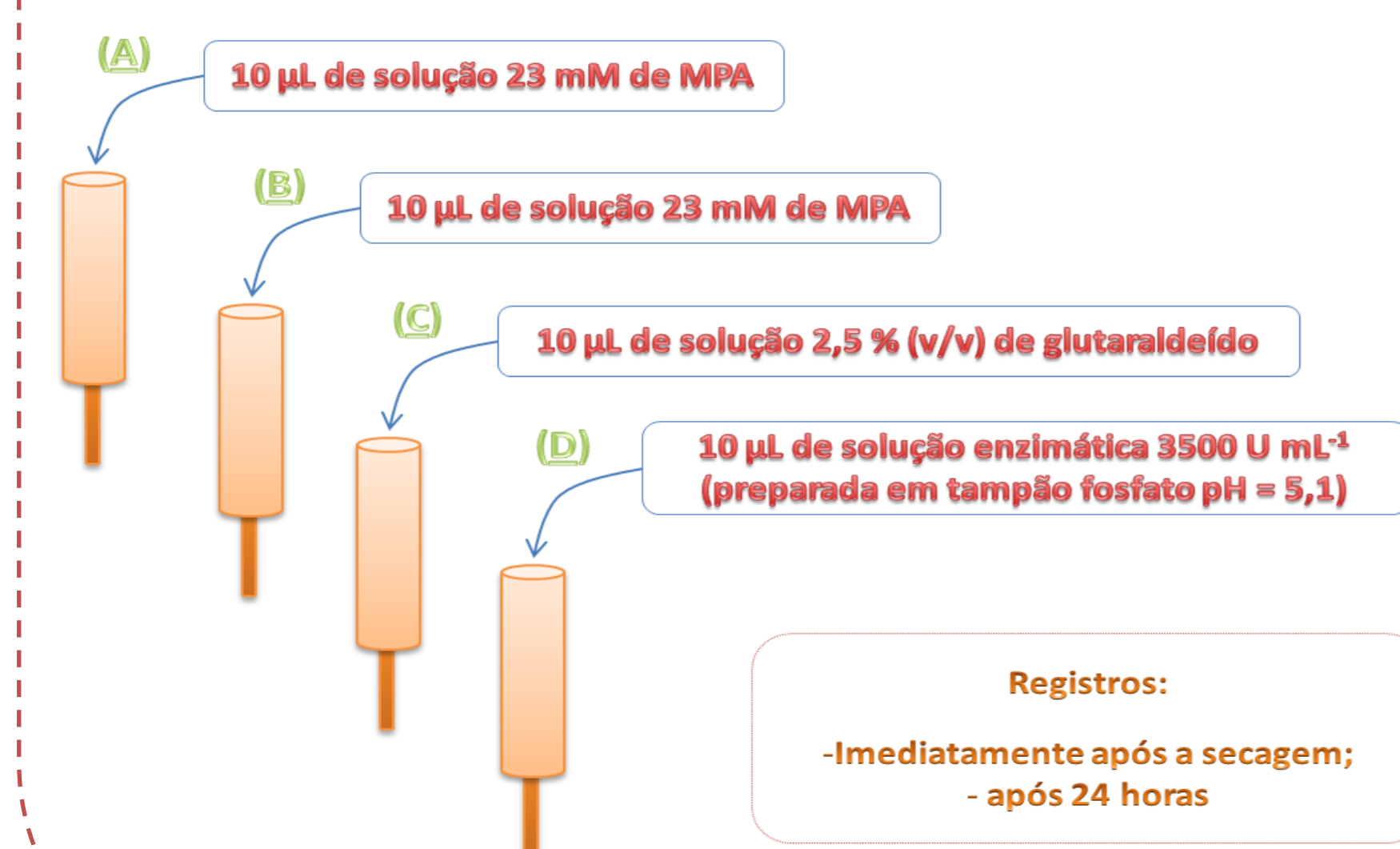


Figura 3. Procedimento de modificação do eletrodo.

Técnica utilizada:

Voltametria Cíclica.

✓ Equipamento:

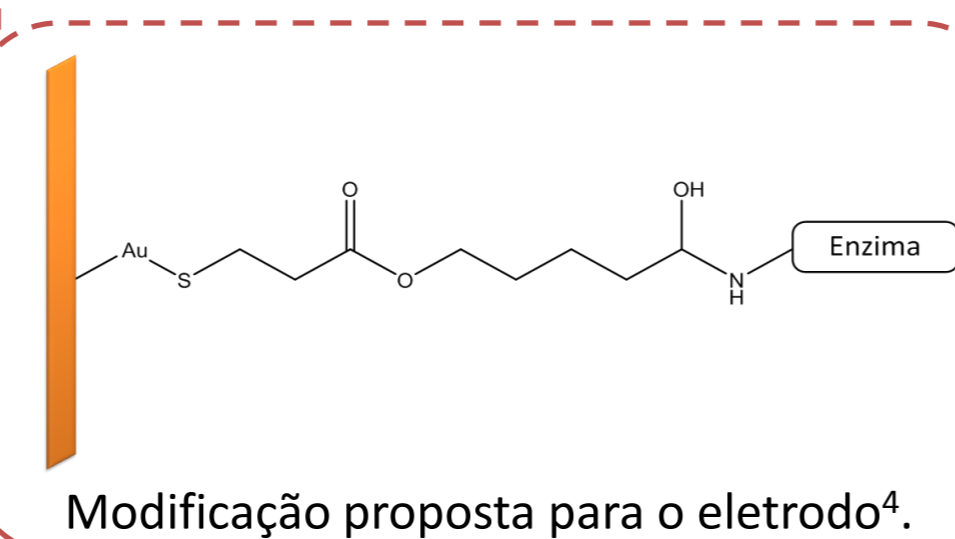
Autolab PGSTAT20, Eco

Chemie.

✓ Eletrodos:

ET: Ouro (modificado), EA:

platina, ER: Ag/AgCl, KCl_{sat}.



Modificação proposta para o eletrodo⁴.

CONCLUSÕES

O biossensor construído permitiu a determinação do potencial de redução, em meio preponderantemente aquoso, do par NFZ/NFZ^{•-} usado como composto modelo. O mesmo procedimento pode ser aplicado na determinação do potencial de redução de outros nitro derivados, pois a metodologia desenvolvida utilizou um biossensor cuja superfície se assemelha ao meio biológico encontrado *in vivo* dispensando, portanto, a necessidade de se efetuar medições em meio misto ou não aquoso.

O sinal detectado na ausência do substrato (glicose) em solução, Figura 1, demonstrou que o processo de modificação superficial do eletrodo criou um ambiente hidrofóbico local, adequado à formação e detecção do radical, em meio preponderantemente aquoso e pH próximo ao fisiológico, independentemente do ciclo enzimático estar ativo ou não.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LA-SCALEA M. A., "Comportamento voltamétrico e Mecanismos de Ação Biológica de Nitroimidazóis", *Rev. Farm. Bioquím. Univ. São Paulo* 34(2): 59-75, 1998.
- CHAKI N. K., VIJAYAMOHANAN K., "Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensor applications", *Biosens. Bioelectron.* 17:1-12, 2002.
- SILVA-JULIÃO M., ALMEIDA E. C., LA-SCALEA M. A., FERREIRA N. G., COMPTON R. G., SERRANO S. H. P., "Voltammetric behavior of nitrofurazone at highly boron doped diamond electrode", *Electroanalysis*, 17(3): 269-274, 2005.
- GUILBAULT G. G., "Analytical uses of immobilized enzymes", p. 102, MARCEL DEKKER, INC., New York, 1984.

AGRADECIMENTOS

IQ-USP; Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA); FAPESP (Processos: 2001/01192-3 e 2006/00763-0) e CNPq.