

Uso de Biossensor de DNA no estudo do Berenil, um Agente intercalante de DNA. Efeito da concentração e do tempo de exposição.

Fabiane Caxico de Abreu (PQ)^{*1,2}, Valberes Bernardo Nascimento (PQ)², Francine Santos de Paula (PG)¹, Danielle Cristhina Melo Ferreira (PG)¹, Juliana Zeymer Auad (IC)¹, Marília Oliveira Fonseca Goulart (PQ)¹ fabiane@ufrpe.br

¹Departamento de Química/CCEN, Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, Tabuleiro do Martins, 57072-970, Maceió, AL, Brazil. ²Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brazil.

Palavras Chave: Berenil, biossensor de dsDNA.

Introdução

A interação de drogas com DNA é um dos aspectos mais importantes nos estudos de descobertas de drogas e processos de desenvolvimento farmacêuticos¹. Muitos compostos se ligam e interagem com DNA causando mudanças na sua estrutura e nas seqüências de bases, levando a perturbações na replicação e transcrição de DNA, com conseqüências benéficas ou nocivas.

Resultados e Discussão

Em meio aquoso tamponado (pH = $4,5 \pm 0,1$ tampão acetato) acondicionou-se o eletrodo de carbono vítreo através de várias varreduras na faixa de 0 a +1,4 V, por voltametria de pulso diferencial (VPD). Aplicaram-se 50 μ L do gel de dsDNA (18,75 mg em 0,5 mL de tampão acetato) na sua superfície. Após 24 horas, o biossensor seco foi imerso em tampão acetato e submetido a novo condicionamento, onde se avaliou a possível interação desse biossensor de dsDNA com o Berenil por dois procedimentos diferentes.

No primeiro deles, adicionou-se ao gel de dsDNA, sobre o eletrodo, 50 μ L de uma solução de Berenil nas concentrações: $1,94 \times 10^{-3}$, $1,0 \times 10^{-4}$, $1,0 \times 10^{-5}$, $5,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, permanecendo em contato por 24 horas adicionais. Após esse tempo observou-se a presença de dois picos principais, Ia em 0,84 V e um pico composto Ila. Apesar da presença do pico original do Berenil, sua interação com o biossensor de dsDNA é claramente demonstrada na figura 1, onde é possível visualizar a oxidação das nucleobases de DNA, guanina e adenina.

O segundo método consistiu em adicionar à cela, contendo o biossensor de dsDNA, direcionado para cima, 10 mL de solução tamponada de berenil, $c = 1,0 \times 10^{-3}$, $1,0 \times 10^{-4}$, $1,0 \times 10^{-5}$, e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, deixando-os em contato por algumas horas, com observação da alteração do voltamograma com o tempo de exposição. Após 5 horas de contato, somente um pico anódico (Ia) tornou-se evidente. Ia aumenta e sofre deslocamento anódico com o

aumento da concentração. Quando se aumenta o tempo de exposição para 24 horas, observou-se a presença do pico de oxidação da guanina na curva C = $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Isso mostra que há interação, porém, o dano ao DNA ocorre lentamente e é dependente da concentração do berenil.

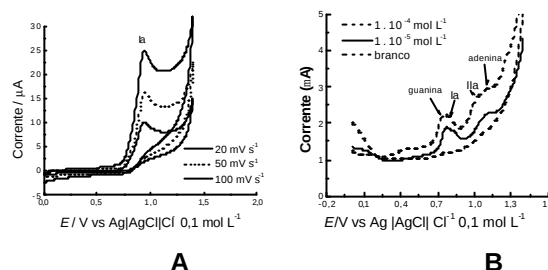


Figura 1. (A) VC do Berenil, tampão acetato, carbono vítreo, $c = 2,0$ mmol L⁻¹. **(B)** VPD de Berenil em diferentes concentrações no biossensor de dsDNA, após 24 horas de contato.

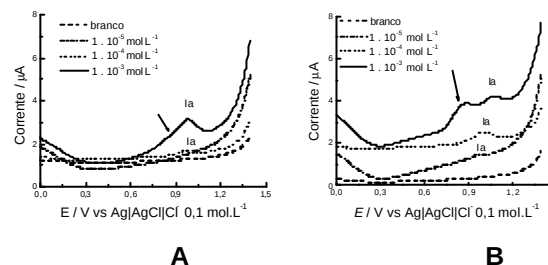


Figura 2. Voltametria de pulso diferencial de soluções de concentrações diferentes de Berenil, em tampão acetato, biossensor de dsDNA. **(A)** após 5 horas de contato, **(B)** após 24 horas de contato.

O berenil interage com o dsDNA, alterando sua conformação com conseqüente exposição das bases que ficam agora disponíveis para sofrer oxidação, em processo dependente da concentração e do tempo de exposição.

Conclusões

Com o Berenil incorporado ao gel de dsDNA foi possível observar picos diagnósticos da oxidação da guanina a partir de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (método de escolha). O método com o Berenil em solução mostrou-se menos sensível, com picos evidentes a partir de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Recomenda-se tempo de exposição de 24 horas.

Agradecimentos

À CAPES, CNPq/Neoplasias e FAPESP.¹

Rauf, S. *et al. J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, 37, 205-217.