

Desenvolvimento de um MIP-hemina cataliticamente ativo capaz de mimetizar o sítio ativo da HRP para o reconhecimento da serotonina.

Wilney J. R. Santos¹ (PG), Phabyanno R. Lima¹ (PG), César R. T. Tarley² (PQ) e Lauro T. Kubota¹ (PQ)*

¹Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP 13084-971, Brasil, *kubota@iqm.unicamp.br

²Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG 37130-000, Alfenas-MG, Brasil.

Palavras Chave: Polímero com impressão molecular, hemin, serotonina, Michaelis-Menten.

Introdução

O emprego dos MIP ("Molecularly Imprinted Polymers") como materiais catalíticos vem adquirindo destaque, pois oferecem alto grau de seletividade quando comparado com outro tipo de polímeros sintetizados sem monômeros funcionais como sítios ativos. Neste estudo, é proposto o uso de ferriprotoporfirina IX (Hemina) para obtenção de um MIP cataliticamente ativo para mimetizar a peroxidase. O seu uso é justificado pelo fato da hemina atuar como grupo prostético da enzima, além de possuir grupos vinílicos necessários para polimerização e fazer interação com a molécula molde (serotonina – 5-HT). Esta característica garante boa seletividade e alta afinidade de ligação para o polímero a base de hemina em comparação à aqueles que fazem uso apenas do MAA como monômero funcional. Assim, este trabalho propõe um novo tipo de polímero cataliticamente ativo preparado pela tecnologia de impressão molecular, contendo a hemina como o centro catalítico para mimetizar a peroxidase.

Resultados e Discussão

A síntese do MIP foi realizada de acordo com o procedimento descrito na literatura¹. Analogamente a esta síntese, foi preparado o polímero NIP (polímero preparado na ausência da molécula serotonina). Após a síntese, o polímero foi triturado e peneirado até obtenção de partículas com diâmetro = 106 μm . A remoção da serotonina retida no polímero foi realizada com a mistura metanol/ácido acético (4:1, v/v). As partículas do MIP e NIP foram caracterizadas pelas técnicas de IR, TGA, DTA, MEV e BET. Estas análises confirmaram o sucesso da síntese mostrando que o MIP possui propriedades atraentes como reator catalítico. Investigações foram feitas para avaliar a impressão do MIP, bem como a atividade catalítica do material. As medidas foram realizadas com amperometria em associação com FIA. Inicialmente, os sítios do MIP foram ativados (oxidação do Fe^{3+} a Fe^{4+}) percolando peróxido pela mini-coluna de polietileno (3 cm de comprimento) contendo 35 mg do MIP. Posteriormente, uma solução padrão do template (5-HT) foi percolada através do mesmo sistema. O template foi oxidado

pelos sítios ativos do MIP regenerado posteriormente e, em seguida, bombeado para o sistema de detecção amperométrica, sendo monitorado pela corrente de redução. É possível observar, Figura 1A, uma pequena corrente de redução sem uso de coluna, justificada pela interação entre o peróxido e analito. Por outro lado, quando o MIP ou o NIP é utilizado na coluna, uma corrente de redução de maior intensidade é verificada. Entretanto, o efeito catalítico é mais pronunciado quando o MIP é empregado ou seja, maior intensidade de corrente de redução do analito é detectada em detrimento ao uso do NIP. Isto se justifica, provavelmente, tanto pela melhor ativação dos grupos prostético quanto pela maior interação entre o substrato e suas cavidades, ou seja, maior grau de reconhecimento molecular.

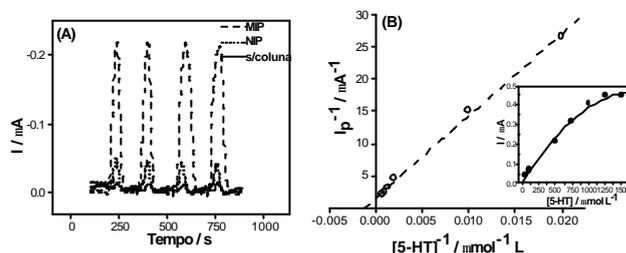


Figura 1. (A) Amperogramas de detecção das espécies reduzidas de 5-HT. (B) Gráfico Lineweaver-Burk para a determinação dos parâmetros cinéticos K_m e $V_{m\max}$.

Parâmetros cinéticos incluindo valores de K_m (0,82 mmol L^{-1}) e $V_{m\max}$ (0,64 μA) foram obtidos a partir de um gráfico duplo-recíproco da corrente versus a concentração de substrato conhecido como o gráfico de Lineweaver-Burk (Figura 1B). Estes valores quando comparados com da enzima horseradish peroxidase-HRP, mostram-se similares para oxidação do 5-HT.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho para MIP-hemina demonstraram o potencial da tecnologia de impressão molecular para reconhecimento de 5-HT bem como sua atuação na mimetização do sítio ativo da peroxidase.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e FAPEMIG.

¹ Santos, W. J. R.; Lima, P. R.; Tarley, C. R. T. e Kubota, L. T.
Anal Bioanal Chem **2007**, 389, 1919.