

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
**PAULA DIAS BARBOZA**

ESTUDO PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE ELETRODOS  
MODIFICADOS COMO SENSORES DE CISPLATINA

RIO DE JANEIRO  
2017

Paula Dias Barboza

## ESTUDO PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS COMO SENSORES DE CISPLATINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química - com Atribuições Tecnológicas (QAT) - do Instituto de Química – IQ, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

**Orientadores:**

**Priscila Tamiasso Martinhon**

Universidade Federal do Rio de Janeiro

**Paramaconi Rodriguez**

University of Birmingham

RIO DE JANEIRO

2017

PAULA DIAS BARBOZA

ESTUDO PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE ELETRODOS  
MODIFICADOS COMO SENSORES DE CISPLATINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
Curso de Química - com Atribuições Tecnológicas  
(QAT) - do Instituto de Química – IQ, da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ,  
como parte dos requisitos necessários para a  
obtenção do grau de Bacharel em Química.

Aprovada em 25 de agosto de 2017.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Priscila Tamiasso-Martinhon (Orientadora)

Instituto de Química – UFRJ

---

Paramaconi Rodriguez (Orientador)

University of Birmingham

---

Angela Sanches Rocha

Instituto de Química – UERJ

---

Célia Regina Sousa da Silva

Instituto de Química – UFRJ

RIO DE JANEIRO

2017

**BARBOZA, PAULA DIAS**

**ESTUDO PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS COMO SENSORES DE CISPLATINA.**

**xiii, 47p. il.**

**Trabalho de conclusão de curso: Bacharelado em Química (QAT)**

**1. Cisplatina 2. Guanina 3. Nanopartícula**

**I. Universidade Federal do Rio de Janeiro – IQ**

**II. Título**

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e ao programa Ciência sem Fronteiras, pela oportunidade única concedida de cursar a Graduação Sanduiche no exterior, com todo o suporte necessário, promovendo a minha ampla aprendizagem acadêmica.

À Universidade de Birmingham e School of Chemistry, pelo acolhimento, suporte e ajuda na minha adaptação em um país estrangeiro, sempre preocupados com meu bem-estar.

Ao professor Paramaconi Rodriguez, pela orientação, compreensão e palavras de apoio durante o desenvolvimento do projeto.

Ao Javier Monzó, por todo apoio e ajuda durante os experimentos.

À professora Priscila Tamiasso Martinhon, pela orientação, acolhimento e por ter aceitado me orientar para que pudesse apresentar esse projeto.

Aos professores do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por, além de contribuírem com a minha formação, servirem de inspiração e exemplo de profissionais.

Ao Felippo D'Angelis, pelo companheirismo e todo incentivo dado durante a graduação.

A todas as amizades que adquiri durante a graduação, principalmente, Guilherme Rabelo, Julio Wysard, Mariana do Casal e Roger Correa. Obrigada por toda ajuda nos estudos e pelos momentos de alegria em meio a tantas preocupações.

À minha família, por todo apoio e por sempre estarem ao meu lado, mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço pelo amor e felicidade que vocês me proporcionaram.

Este trabalho contém informações confidenciais e protegidas de divulgação. Qualquer divulgação ou uso de seus conteúdos é estritamente proibido. O mesmo foi estritamente preparado para a avaliação acadêmica da aluna Paula Dias Barboza, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

## RESUMO

BARBOZA, Paula Dias. **ESTUDO PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS COMO SENSORES DE CISPLATINA**. Rio de Janeiro, 2017. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

A cisplatina é largamente utilizada no tratamento quimioterápico de diversos tipos de câncer, com chances de cura de mais de 90%, porém sua eficiência é limitada por seus efeitos colaterais, já que a cisplatina não é seletiva para células cancerígenas, atacando também células saudáveis. Para diminuir os efeitos colaterais do medicamento foi averiguada a possibilidade de monitoramento e remoção de átomos de platina de forma eletroquímica por controle de potencial, utilizando sua reatividade com nitrogênio e enxofre de moléculas como guanina e glutathione, moléculas pelo qual a afinidade pela platina já foi averiguada. Para isso foram estudadas a modificação por adsorção de guanina e glutathione na superfície de eletrodos de ouro. A adsorção foi observada por voltametria cíclica, sendo obtidos diferentes picos de corrente para os eletrodos de ouro antes e depois da sua imersão nas soluções contendo guanina e glutathione. Essa diferença foi associada à adsorção dessas moléculas na superfície do eletrodo. Também foi observada a diferença dos voltamogramas obtidos com e sem a presença de cisplatina no sistema, utilizando o eletrodo de ouro modificado com glutathione, indicando a interação da platina com a glutathione adsorvida. Tal diferença pode ser utilizada para o uso desse sistema como sensor de cisplatina.

**Palavras-chave:** Cisplatina. Guanina. Glutathione. Voltametria cíclica. Nanopartículas de ouro. Eletrodos de ouro.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura da Cisplatina .....	16
<b>Figura 2</b> - Hidrólise da Cisplatina .....	17
<b>Figura 3</b> - Estruturas da Guanina e Adenina .....	18
<b>Figura 4</b> - Possíveis sítios de ligação DNA-Cisplatina .....	18
<b>Figura 5</b> - Estrutura da glutathione (GSH) .....	20
<b>Figura 6</b> - Esquemas de células eletroquímicas formadas por um eletrodo de cobre mergulhado em uma solução eletrolítica de $\text{Cu}^{2+}$ e um eletrodo de prata mergulhado em solução eletrolítica de $\text{Ag}^+$ . A ponte salina é formada por uma solução saturada de KCl. Exemplos (a) célula eletrolítica formada por um eletrodo de cobre como catodo e um eletrodo de prata como anodo; (b) célula galvânica, onde agora o eletrodo de cobre funciona como anodo e o eletrodo de prata como catodo .....	22
<b>Figura 7</b> - Gráfico de varredura de potencial .....	24
<b>Figura 8</b> - Voltamograma de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 6,0 mmol $\text{L}^{-1}$ em $\text{KNO}_3$ 1,0 mol $\text{L}^{-1}$ . Varredura iniciada em 0,8 V versus SCE a 50 $\text{mV s}^{-1}$ . Fonte: Kissinger & Heineman, 1983. ....	25
<b>Figura 9</b> - Arranjo dos átomos de ouro nas superfícies <100> e <111> dos eletrodos .....	26
<b>Figura 10</b> - Padrão obtido por Difração de Raio-X e imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão das nanopartículas. Fonte: Monzó <i>et al.</i> , 2015 .....	27
<b>Figura 11</b> - Esquema de formação dos eletrodos modificados de ouro com MPA-GHS .....	28
<b>Figura 12</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<100> em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 $\text{mV s}^{-1}$ .....	32
<b>Figura 13</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<111> em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 $\text{mV s}^{-1}$ .....	33
<b>Figura 14</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<100> com adsorção de Guanina em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 $\text{mV s}^{-1}$ .....	34
<b>Figura 15</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<111> com adsorção de Guanina em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 $\text{mV s}^{-1}$ .....	35

<b>Figura 16</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino com adsorção de Guanina em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s <sup>-1</sup> .....	36
<b>Figura 17</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino com diferentes tempos de imersão na solução de Guanina. Em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s <sup>-1</sup> .....	37
<b>Figura 18</b> - Voltametria cíclica com nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s <sup>-1</sup> .....	38
<b>Figura 19</b> - Voltametria cíclica com nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo, com diferentes tempos de imersão na solução de Guanina. Em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s <sup>-1</sup> .....	39
<b>Figura 20</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino modificado com MPA-GHS. Em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV.s <sup>-1</sup> .....	40
<b>Figura 21</b> - Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino modificado com MPA-GHS. Em PBS/Cisplatina (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s <sup>-1</sup> .....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	- Picos observados nos voltamogramas utilizando Au<100> e Au<111> como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> como eletrodo de referência .....	33
<b>Tabela 2</b>	- Picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos Au<100> e Au<111> modificados com guanina como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> como eletrodo de referência .....	35
<b>Tabela 3</b>	- Picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos policristalinos de ouro, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> como eletrodo de referência .....	37
<b>Tabela 4</b>	- Picos observados nos voltamogramas utilizando nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> como eletrodo de referência .....	40
<b>Tabela 5</b>	- Picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos policristalinos de ouro, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> como eletrodo de referência .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>A</b>	Adenina
<b>AAPH</b>	2,2-Azobis(2-metilpropionamida)
<b>Au&lt;100&gt;</b>	Eletrodo de ouro de cristal único com superfície <100>
<b>Au&lt;111&gt;</b>	Eletrodo de ouro de cristal único com superfície <111>
<b>Au-Nps</b>	Nanopartículas de ouro
<b>C</b>	Citosina
<b>CP</b>	Cisplatina
<b>CV</b>	Voltametria Cíclica
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>G</b>	Guanina
<b>GSH</b>	Glutathiona
<b>MOPS</b>	n-morpholino propanosulfônico
<b>MPA</b>	Ácido 3-mercaptopropiônico
<b>NHS</b>	n-hidroxisuccinimida
<b>PBS</b>	Solução tampão fosfato
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>SCE</b>	Eletrodo Saturado de Calomelano
<b>T</b>	Timina
<b>TEM</b>	Microscopia eletrônica de transmissão
<b>XRD</b>	Difração de Raios-x

## SUMÁRIO

<b>PRELÚDIO</b> .....	<b>14</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>19</b>
1.1. USO DE CISPLATINA NO TRATAMENTO DE CÂNCER .....	19
1.2. INTERAÇÃO DA CISPLATINA COM DNA .....	20
1.3. EFEITOS COLATERAIS DA CISPLATINA.....	22
1.4. GLUTATIONA.....	23
<b>2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS</b> .....	<b>25</b>
2.1. MÉTODOS ELETROQUÍMICOS .....	25
2.1.1. Voltametria Cíclica.....	25
2.1.2. Eletrodo de ouro monocristalino e policristalino.....	28
2.1.3. Nanopartículas de ouro.....	29
2.2. MODIFICAÇÃO NA SUPERFÍCIE DE ELETRODOS POR ADSORÇÃO .....	29
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	<b>31</b>
3.1. PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA.....	31
3.2. MONTAGEM DO EXPERIMENTO .....	31
3.3. PREPARO DAS SOLUÇÕES .....	32
3.4. DEPOSIÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	32
3.5. ADSORÇÃO DE GUANINA NOS ELETRODOS DE OURO.....	33
3.6. ADSORÇÃO DE GUANINA EM NANOPARTÍCULAS DE OURO .....	33

3.7. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE ELETRODO DE OURO POLICRISTALINO E ADSORÇÃO DE GLUTATIONA .....	33
<b>4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>35</b>
4.2. ADSORÇÃO DE GUANINA EM ELETRODO DE OURO POLICRISTALINO .	38
4.3. ADSORÇÃO DE GUANINA NA SUPERFÍCIE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO.....	41
4.4. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE ELETRODO DE OURO POLICRISTALINO E ADSORÇÃO DE GLUTATIONA.....	44
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>PERSPECTIVAS E SUGESTÕES .....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>48</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>51</b>

## PRELÚDIO

Meu interesse pela Química surgiu quando comecei meus estudos no Instituto Federal do Rio de Janeiro em 2006, onde, além de cursar o ensino médio, também cursava técnico em química. Foi a primeira vez em que eu havia entrado em um laboratório de verdade e estava admirada de ver acontecendo em prática tudo o que aprendia na sala de aula.

Durante o curso eu tive a oportunidade de realizar um estágio de um ano no Cenpes – Centro de Pesquisa da Petrobrás. Essa experiência me ajudou a entender o dia a dia de um laboratório de pesquisa, onde surgem problemas que devem ser avaliados e vencidos. Trabalhar em um grupo de pesquisa foi muito importante para mim, pois me ajudou a perceber o caminho que gostaria de seguir como carreira.

Esse caminho me levou até o curso de Química com Atribuições Tecnológicas do Instituto de Química da UFRJ, que me promoveu uma fundação sólida para minha vida acadêmica.

Em meu segundo ano de graduação eu comecei minha iniciação científica, orientada pelo professor Pierre Esteves. Com o projeto que eu realizava, enviei meu primeiro trabalho para um congresso científico, a 36ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química, em 2013. Essa experiência foi fascinante, já que pude conversar e expor meu trabalho para químicos de todo o país. Essa experiência me ajudou a construir minha confiança em falar em público e defender minhas ideias. Participar deste congresso foi fundamental para meus planos de continuar investindo nos meus estudos, para que pudesse realizar meu sonho de me tornar uma cientista.

Durante minha graduação também participei da organização da Semana da Química do Instituto de Química da UFRJ, evento que oferece diversos cursos e palestras e chega a contar com quase mil participantes. Todas as dificuldades e problemas encontrados durante a organização de um evento desse porte tornam gratificante a felicidade recebida com a realização de um evento bem feito, com cada mensagem de agradecimento dos participantes.

Em 2014 tive a oportunidade de realizar um intercâmbio pelo programa Ciência Sem Fronteira para a Universidade de Birmingham, no Reino Unido. Foi um período muito desafiador para mim, pois foi a primeira vez em que saí do país, ficando fora por

um ano. Porém estava bastante motivada a aproveitar cada oportunidade concedida. Procurei cursar disciplinas que pudessem complementar meu curso de graduação da UFRJ e participei em um projeto de pesquisa no grupo do professor Paramaconi Rodriguez, que apresento neste trabalho.

Após voltar do intercâmbio, comecei a estagiar no Instituto SENAI/SESI de Inovação em Química Verde e Higiene Ocupacional, onde pude desenvolver conhecimentos tecnológicos complementar conhecimentos teóricos que obtive no curso de graduação. É muito interessante trabalhar em um centro de pesquisa e inovação fora da Universidade, onde o desenvolvimento tem uma demanda e aplicação direta na indústria.

Agora, finalizando meu curso de graduação e já iniciando meu curso de mestrado em química, me sinto cada vez mais certa do caminho que escolhi, e também sei que ainda tenho muito a percorrer, mas sigo tranquila, confiante no futuro.

## INTRODUÇÃO

Após a descoberta da ação citotóxica da cisplatina no final da década de 60<sup>1</sup>, esse composto passou a ser largamente utilizado para o tratamento quimioterápico de diferentes tipos de câncer. Porém a falta de seletividade da cisplatina perante as células cancerígenas causam diversos efeitos colaterais, como náusea, vômito, diarreia, dores e outras desordens gastrointestinais e renais<sup>2</sup>. Devido a esses efeitos colaterais, a dose administrada ao paciente não pode ser elevada, limitando a eficácia do medicamento.

Algumas formas de aumentar a concentração da cisplatina administradas aos pacientes enquanto se diminui os efeitos colaterais causados foram propostas.

Uma forma de aumentar a seletividade da cisplatina é a sua aplicação regional, onde a concentração da droga é maior na proximidade do tumor, diminuindo sua exposição no resto do corpo<sup>3</sup>. Porém, ainda pode ocorrer a introdução da cisplatina na corrente sanguínea, causando os efeitos colaterais mencionados.

Outra abordagem está em diversos estudos que vêm sendo realizados no intuito de descobrir drogas que, associadas à cisplatina possam evitar ou diminuir seus efeitos tóxicos, sem, no entanto, diminuir sua eficácia antineoplásica, a exemplo dos agonistas da adenosina, do extrato de ginko biloba, da vitamina E e da aminofostina<sup>4</sup>.

Outra possibilidade seria a remoção da cisplatina do organismo após o tratamento quimioterápico. Dessa forma após a aplicação local do medicamento, a corrente sanguínea poderia ser filtrada por um meio externo adsorvente, promovendo a remoção da cisplatina antes do retorno da corrente sanguínea ao organismo. Um método eficiente pode ser empregado utilizando eletroquímica, que pode oferecer uma interação específica com a cisplatina, realizando sua extração de forma rápida,

---

<sup>1</sup> Rosenberg *et al.*, 1969.

<sup>2</sup> Astolfi *et al.*, 2013.

<sup>3</sup> Collins, 1984.

<sup>4</sup> Mota *et al.*, 2007.

utilizando-se da interação específica da cisplatina com as superfícies de diferentes eletrodos sob controle de potencial. Além disso, métodos eletroquímicos oferecem uma forma de extrair e detectar cisplatina, por sua deposição por voltametria cíclica.

Para esse fim, sugeriu-se realizar a deposição de moléculas que tenham afinidade por platina na superfície de eletrodos, como guanina e glutathione, por adsorção com controle de potencial, de forma seletiva. Foram utilizados eletrodos de ouro monocristalino, policristalino e nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo. As nanopartículas foram sintetizadas e caracterizadas previamente pelo grupo do professor Paramaconi Rodriguez<sup>5</sup>. As modificações nas superfícies dos eletrodos foram realizadas por adsorção e monitoradas por voltametria cíclica, verificando mudanças no sinal voltamétrico quando comparados aos eletrodos antes da adsorção.

Com a verificação de adsorção de guanina e glutathione em eletrodos de ouro, é possível estudar a viabilidade de um sensor e filtro de platina para sua remoção da corrente sanguínea, diminuindo os efeitos colaterais da cisplatina, podendo aumentar sua dosagem e, assim, sua eficiência. Nessa perspectiva, dentre os objetivos específicos do presente trabalho, destacam-se: (i) Realizar a adsorção de guanina na superfície de diferentes eletrodos de ouro (eletrodos de ouro de monocristal com superfícies <100> e <111>, nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo e eletrodo de ouro policristalino); (ii) investigar esse processo por meio da técnica eletroquímica de voltametria cíclica; (iii) realizar a modificação na superfície de um eletrodo de ouro policristalino, por adsorção formando uma monocamada auto-organizada de MPA (ácido 3-mercaptopropiônico) e adicionando GSH (glutathione) ao seu terminal carbonila; (iv) caracterizar essa modificação por voltametria cíclica.

Para tal, no capítulo 1 será apresentado uma breve revisão bibliográfica que irá abranger desde o uso da cisplatina no tratamento de diferentes tipos de câncer, sua interação com o DNA, até seus efeitos colaterais. O capítulo 2 apresenta alguns fundamentos teóricos de eletroquímica que nortearam essa pesquisa. O capítulo 3 trata da metodologia adotada para o desenvolvimento do trabalho. A análise e

---

<sup>5</sup> Monzó *et al.*, 2015.

discussão dos resultados será apresentada no capítulo 4. E na sequência a conclusão, perspectivas e as referências bibliográficas.

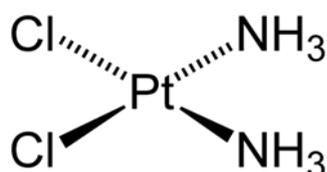
## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentado uma breve revisão bibliográfica que irá abranger o uso da cisplatina no tratamento de diferentes tipos de câncer, como ocorre sua ação citotóxica e seus efeitos colaterais e como ocorre.

### 1.1. USO DE CISPLATINA NO TRATAMENTO DE CÂNCER

O uso de quimioterapia no tratamento de câncer vem sendo estudado nas últimas décadas devido à descoberta das propriedades citotóxicas dos complexos de platina em 1969<sup>1</sup>. Atualmente, drogas a base de platina ocupam um papel central no tratamento de câncer e são utilizadas na quimioterapia de cerca de metade dos pacientes diagnosticados<sup>6</sup>.

A cisplatina (cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]) é um agente citotóxico que contém o metal pesado platina, complexado com os ligantes cloreto e amônia, como ilustra a Figura 1. Ela tem se mostrado um agente antitumoral muito efetivo, e é muito utilizada no tratamento de carcinomas de células escamosas, tumores de testículos, ovários, bexiga, câncer cervical e pulmonar<sup>7</sup>. No tratamento de câncer de testículo, por exemplo, a taxa de cura com o uso da cisplatina é de 90%, quando o tumor é diagnosticado cedo<sup>8</sup>.



**Figura 1** - Estrutura da Cisplatina.

---

<sup>6</sup> Klein & Hambley, 2009.

<sup>7</sup> Jung & Lippard, 2007; Sobral *et al.*, 2001.

<sup>8</sup> Klein & Hambley, 2009.

Uma grande preocupação relacionada ao uso da cisplatina no tratamento de câncer é a necessidade de superar os efeitos colaterais causados. Para isso é necessário entender como ocorre a ação da cisplatina em uma célula cancerosa.

## 1.2. INTERAÇÃO DA CISPLATINA COM DNA

Fora da célula, na corrente sanguínea, a alta concentração de íons cloreto (cerca de  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ ) mantém a cisplatina em sua forma neutra,  $[\text{Pt}(\text{Cl})_2(\text{NH}_3)_2]$ . Uma vez dentro da célula, a concentração de cloreto diminui drasticamente (de  $2 \text{ mmol.L}^{-1}$  a  $30 \text{ mmol L}^{-1}$ ), a cisplatina é hidrolisada para sua forma ativa (Figura 2),  $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ , que rapidamente reage com o ácido desoxirribonucleico (DNA)<sup>9</sup>.

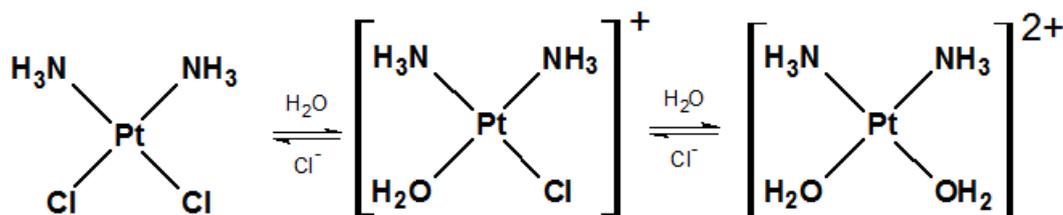


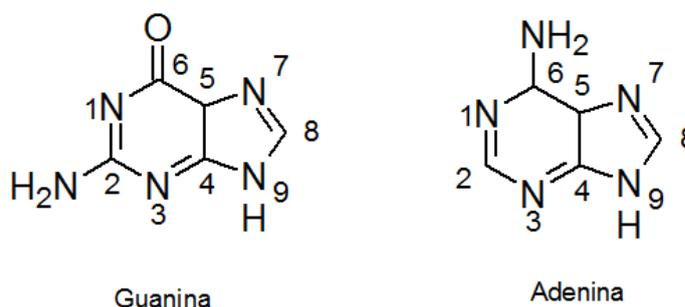
Figura 2 - Hidrólise da Cisplatina.

A molécula de DNA é um polímero longo que possui apenas quatro unidades básicas, chamadas monômeros, também conhecidas como nucleotídeos. Do ponto de vista estrutural, os nucleotídeos são formados por um grupo fosfato, ( $\text{PO}_4^-$ ), um açúcar do tipo pentose, e uma base nitrogenada. Os nucleotídeos diferem entre si apenas nas bases nitrogenadas. No caso do DNA, as quatro bases nitrogenadas são: adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C). A adenina (A) e a guanina (G) são semelhantes em sua estrutura química, sendo denominadas de purinas, enquanto a timina (T) e a citosina (C) são denominadas pirimidinas<sup>10</sup>.

<sup>9</sup> Fuertes *et al.*, 2003.

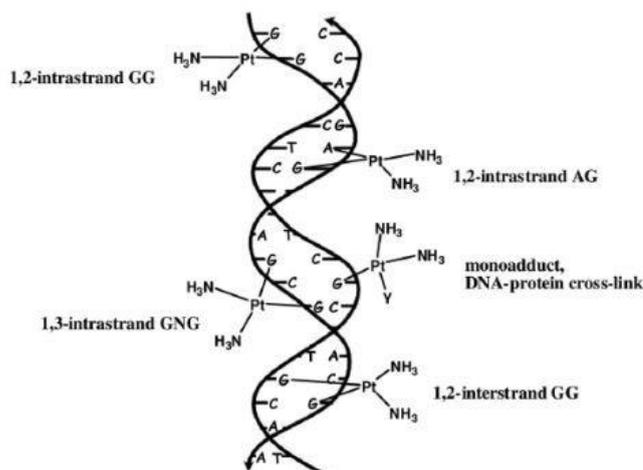
<sup>10</sup> Crisafuli, 2012.

Dentro do núcleo da célula, a platina presente no complexo pode se ligar ao DNA de diferentes formas. Estudos mostram que os átomos de nitrogênio na posição 7 nas bases nitrogenadas guanina e adenina (Figura 3) são os pontos preferenciais de coordenação com a platina<sup>11</sup>, já que possuem elevada densidade eletrônica e estão mais acessíveis, quando comparados com outros átomos de nitrogênio presentes nessas bases.



**Figura 3** - Estruturas da Guanina e Adenina.

A formação de complexo da platina com essas bases nitrogenadas causa uma grande distorção na dupla-hélice do DNA (Figura 4), impedindo a transcrição ou replicação do DNA, levando a apoptose celular (morte celular programada)<sup>12</sup>.



**Figura 4** - Possíveis sítios de ligação DNA-Cisplatina. Fonte: Pizarro & Sadler, 2009.

<sup>11</sup> Pizarro & Sadler, 2009.

<sup>12</sup> Fuertes *et al.*, 2003.

### 1.3. EFEITOS COLATERAIS DA CISPLATINA

Apesar de ser um antineoplásico bastante eficaz e da alta eficiência da cisplatina na terapia de vários tumores, seu uso é limitado por seus efeitos colaterais, como nefrotoxicidade e neurotoxicidade. Seu alto grau de toxicidade pode causar alterações renais, auditivas, hepatotoxicidade, mielossupressão, neuropatia periférica e efeitos gastrointestinais, como náuseas e vômitos<sup>13</sup>. Esses efeitos colaterais surgem devido à não seletividade da cisplatina pelas células tumorosas, levando-a a atacar células saudáveis também, então sua dose deve ser cuidadosamente monitorada, para não exceder os limites tolerados pelo paciente.

Uma forma de aumentar a seletividade da cisplatina é a sua aplicação regional, onde a concentração da droga é maior na proximidade do tumor, diminuindo sua exposição no resto do corpo<sup>14</sup>. Uma delas seria para o tratamento de câncer de fígado<sup>15</sup>, onde se faria a restrição da corrente sanguínea da veia hepática, seguida da administração da cisplatina por infusão na artéria hepática, que leva a corrente sanguínea diretamente para o fígado. Assim, o medicamento agiria somente no fígado, onde se encontram as células cancerosas. As moléculas de cisplatina não reagidas seriam filtradas pelo próprio fígado. Com essa aplicação regional, seria possível aumentar a quantidade de medicamento administrada minimizando a toxicidade sistêmica do medicamento nas outras regiões do corpo. Porém esse método não obteve sucesso, devido à baixa capacidade de extração de cisplatina pelo fígado, onde suas concentrações depois do tratamento ainda eram altas o suficiente, causando efeitos colaterais, não reduzindo a toxicidade sistêmica.

Diversos estudos vêm sendo realizados no intuito de descobrir drogas que, associadas à cisplatina possam evitar ou diminuir seus efeitos tóxicos, sem, no

---

<sup>13</sup> Fuertes *et al.*, 2003; Mota *et al.*, 2007.

<sup>14</sup> Collins, 1984.

<sup>15</sup> Civalleri *et al.*, 1991

entanto, diminuir sua eficácia antineoplásica, a exemplo dos agonistas da adenosina, do extrato de ginkgo biloba, da vitamina E e da aminofostina<sup>16</sup>.

Outra forma proposta de melhorar a remoção de cisplatina após sua aplicação localizada, acopla ao método de isolamento da veia hepática discutido acima com a remoção do medicamento utilizando um dispositivo externo contendo carvão como adsorvente<sup>17</sup>, e tiosulfato de sódio, utilizado por sua reatividade com a cisplatina. Assim, a cisplatina restante que não agiu contra as células cancerosas pode ser removida da corrente sanguínea, e o sangue, livre de cisplatina, pode ser retornado ao corpo. Com esse método foi reportado remoções de até 80% da cisplatina em humanos<sup>18</sup>.

Porém, como o carvão não interage fortemente com a cisplatina, é necessária uma grande quantidade de carvão para se obter essa eficiência na extração. Outras abordagens podem ser utilizadas.

Um método mais eficiente pode ser empregado utilizando eletroquímica, que pode oferecer uma interação específica com a cisplatina, tornando esse sistema de remoção menor. Também pode se esperar atingir maiores taxas de extração da cisplatina de forma mais rápida, comparada com o sistema a base de carvão, utilizando-se da interação específica da cisplatina com as superfícies de diferentes eletrodos sob controle de potencial.

#### 1.4. GLUTATIONA

Além de se ligar ao DNA, a cisplatina pode reagir com diversas moléculas comumente encontrada em células de animais, como ácido ribonucleico (RNA), proteínas, entre outros. Existem pesquisas defendendo que uma das formas em que células cancerosas resistem à ação da cisplatina se dá com a inativação da platina

---

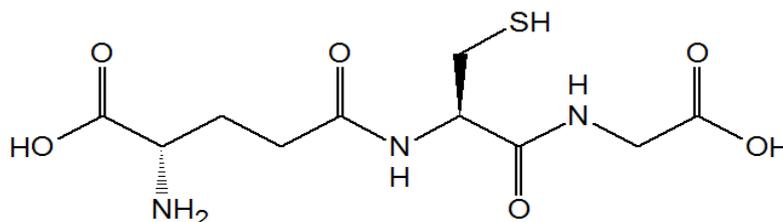
<sup>16</sup> Mota *et al.*, 2007.

<sup>17</sup> Kusunoki *et al.*, 2001

<sup>18</sup> Ambrus *et al.*, 2000

antes de sua complexação com DNA via ligação covalente com o enxofre da cisteína presente no tripeptídeo glutathiona<sup>19</sup> no citoplasma.

Glutathiona (GSH) é um tripeptídeo composto por um ácido glutâmico, cisteína e glicina. Dentro da célula, o GSH é mantido em sua forma tiol (Figura 5).



**Figura 5** - Estrutura da glutathiona (GSH).

A ligação entre a platina e o átomo de enxofre da glutathiona é forte o suficiente para ocorrer a troca de ligante, substituindo o cloreto complexado com a platina na corrente sanguínea<sup>20</sup>.

A afinidade da platina por tiols e a formação da ligação irreversível Pt-S, assim como a ligação da platina com a guanina do DNA, podem ser usadas como sensores ou como captura do excesso de cisplatina na corrente sanguínea, como forma de diminuir os efeitos colaterais do medicamento.

---

<sup>19</sup> Perez, 1998.

<sup>20</sup> Shoeib & Sharp, 2013.

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Neste capítulo são abordados alguns fundamentos teóricos de eletroquímica que irão embasar as discussões e as análises dos resultados experimentais.

### 2.1. MÉTODOS ELETROQUÍMICOS

É interessante o uso da eletroquímica para, simultaneamente, remover e detectar cisplatina na corrente sanguínea, onde é possível a aplicação de potenciais específicos, obtendo controle sobre os processos que ocorrem na interface entre eletrodo e solução, como por exemplo a adsorção específica de cisplatina na corrente sanguínea.

#### 2.1.1. Voltametria Cíclica

A Voltametria cíclica é uma importante ferramenta para o estudo de reações eletroquímicas. Por sua versatilidade, ela é usada em diversas áreas, como química inorgânica, química orgânica e bioquímica, e geralmente é utilizada como primeira abordagem experimental em estudos eletroquímicos de um composto, material biológico ou superfície de eletrodos<sup>21</sup>.

Na voltametria cíclica, provoca-se a variação de potencial em um eletrodo de trabalho imerso em uma solução sem agitação versus um eletrodo de referência. A variação de potencial é feita linearmente partindo de um valor potencial inicial  $E_1$ , até um valor limite  $E_2$ , onde a direção da varredura é invertida, retornando ao valor  $E_1$ , concluindo um ciclo. A taxa de varredura é dada como a inclinação da curva na Figura 6. Esse ciclo de varredura pode ser repetido diversas vezes<sup>22</sup>.

---

<sup>21</sup> Kissinger & Heineman, 1983.

<sup>22</sup> Mabbott, G. A., 1983.

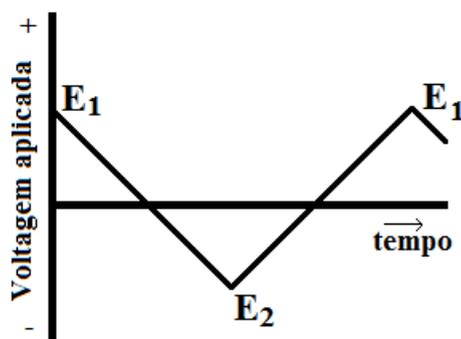


Figura 6 - Gráfico de varredura de potencial

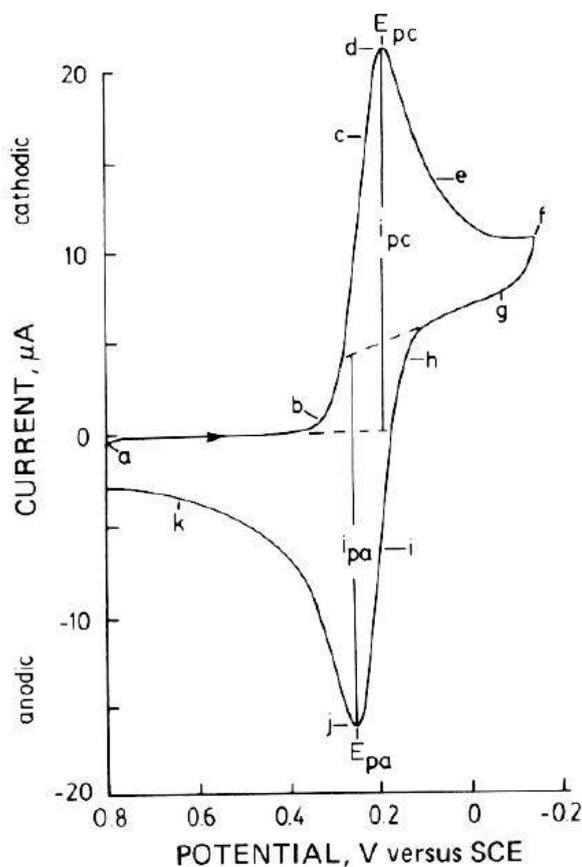
O valor de corrente associado a cada valor de potencial pode ser medido, gerando uma curva de Corrente *versus* Voltagem (voltamograma). Então a corrente é considerada um sinal de resposta. Por exemplo, na figura 7 é mostrado o voltamograma obtido<sup>23</sup> por um eletrodo de trabalho de platina em uma solução contendo  $K_3Fe(CN)_6$   $6,0 \text{ mmol L}^{-1}$  em  $KNO_3$   $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  e eletrodo saturado de calomelano (SCE) como eletrodo de referência. A varredura de potencial foi realizada partindo de  $0,8 \text{ V}$  até  $-0,15 \text{ V}$ , voltando para  $0,8 \text{ V}$ .

O potencial é reduzido até o ponto em que ocorre a redução do ferricianeto para ferrocianeto na superfície do eletrodo, resultando num pico de corrente, chamada de corrente catódica  $i_{pc}$ . Quando o potencial volta a aumentar, atinge o ponto em que o eletrodo se torna oxidante o suficiente para oxidar o ferrocianeto de volta a ferricianeto, causando o pico de corrente chamado de corrente anódica  $i_{pa}$ . O potencial aplicado no eletrodo de trabalho controla a razão entre  $Fe(CN)_6^{3-}$  e  $Fe(CN)_6^{4-}$  na superfície do eletrodo de acordo com a equação de Nernst:

$$E = E_{Fe(CN)_6^{4-}, Fe(CN)_6^{3-}}^{0'} + \frac{0,059}{1} \log \frac{[Fe(CN)_6^{3-}]}{[Fe(CN)_6^{4-}]} \quad (5)$$

Onde  $E^{0'}$  é o potencial de redução padrão da reação. A relação logarítmica entre  $E$  e  $[Fe(CN)_6^{3-}] / [Fe(CN)_6^{4-}]$  causa a variação brusca de corrente durante a varredura.

<sup>23</sup> Kissinger & Heineman, 1983.



**Figura 7** - Voltamograma de  $K_3Fe(CN)_6$  6,0 mmol  $L^{-1}$  em  $KNO_3$  1,0 mol  $L^{-1}$ . Varredura iniciada em 0,8 V versus SCE a 50  $mV s^{-1}$ . Fonte: Kissinger & Heineman, 1983.

A corrente do pico pode ser relacionada com a concentração de um analito pela equação de Randles-Sevcik<sup>11</sup> para o primeiro ciclo:

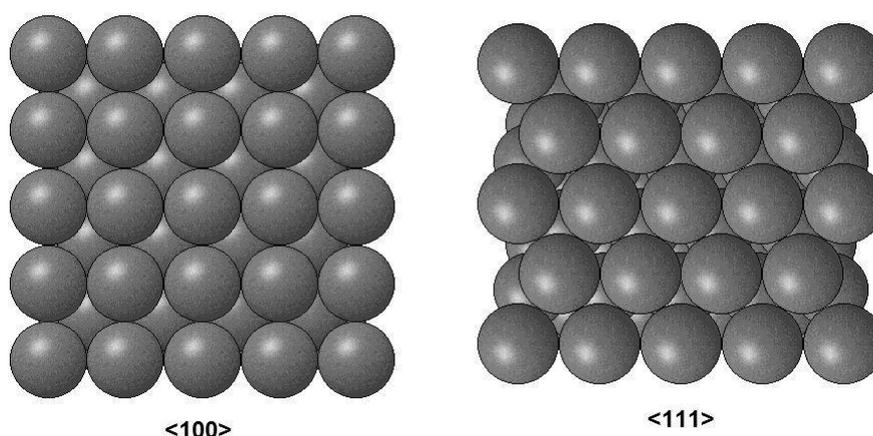
$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{(3/2)} A D^{(1/2)} C v^{(1/2)} \quad (1)$$

Onde  $i_p$  é a corrente do pico (A),  $n$  é o número de elétrons envolvidos,  $A$  é a área da superfície do eletrodo ( $cm^2$ ),  $D$  é o coeficiente de difusão ( $cm^2 s^{-1}$ ),  $C$  é a concentração (mol  $cm^{-3}$ ) e  $v$  é a taxa de variação do potencial ( $V s^{-1}$ ). Sabendo as outras variáveis, é possível obter a concentração do analito a partir da resposta de corrente obtida, tornando a voltametria cíclica uma importante técnica analítica.

### 2.1.2. Eletrodo de ouro monocristalino e policristalino

O uso de cristais únicos bem orientados é importante para estudar a sensibilidade superficial da interação entre o substrato e o eletrodo, pois possuem uma superfície bem definida e organizada.

Os átomos em um monocristal estão arranjados em retículo tridimensional periódico, que são formados pelo resfriamento controlado de uma fase fluida. Para a exposição de um plano específico, o cristal único é modelado e polido para remoção dos defeitos da superfície<sup>24</sup>. O ouro apresenta uma estrutura cristalina cúbica de face centrada e os arranjos dos átomos das faces  $\langle 100 \rangle$  e  $\langle 111 \rangle$  estão indicados na figura 8.



**Figura 8** - Arranjo dos átomos de ouro nas superfícies  $\langle 100 \rangle$  e  $\langle 111 \rangle$  dos eletrodos.

Os eletrodos policristalinos são bastante utilizados por serem uma alternativa mais barata que os eletrodos monocristalinos<sup>25</sup>. Possuem uma superfície heterogênea, expondo planos cristalográficos distintos. Com isso, possuem uma superfície complexa, que não é bem definida<sup>21</sup>.

---

<sup>24</sup> Perez *et al.*, 1997.

<sup>25</sup> Choi *et al.*, 2010

### 2.1.3. Nanopartículas de ouro

Nanopartículas de ouro (Au-Nps) são aplicadas em diversas áreas, devido às suas propriedades únicas e fácil funcionalização de sua superfície com nucleotídeos, anticorpos e proteínas. Essa característica proporciona seu extenso uso em bionanotecnologia. Em soluções aquosas, o tamanho das nanopartículas varia de 1 a 100nm<sup>26</sup>.

## 2.2. MODIFICAÇÃO NA SUPERFÍCIE DE ELETRODOS POR ADSORÇÃO

A modificação dos eletrodos e nanopartículas de ouro pode ser realizada pela adsorção de guanina na superfície dos eletrodos. Estudos mostram que a guanina pode ser quimissorvida por uma de suas quatro ligações N-H, formando uma estrutura em monocamada<sup>27</sup>.

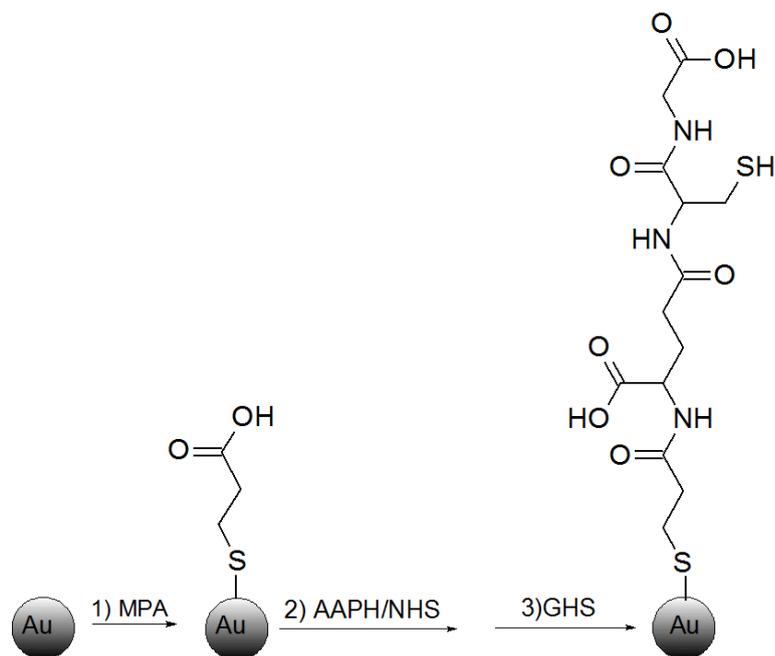
A modificação dos eletrodos de ouro com glutathione pode ser realizada com a formação de uma camada única auto-organizada do ácido 3-mercaptopropionico (MPA) na superfície do ouro. Não é interessante adsorver diretamente a glutathione na superfície do eletrodo, já que o grupo tiol, responsável pela monocamada, também é responsável pela ligação com a platina. A ligação MPA-GSH é realizada via ativação carbodiimina na presença de éster succinimida<sup>28</sup>. Pode ser utilizado dicloridrato de 2,2-Azobis(2-amidinopropano) (AAPH), n-hidroxisuccinimida (NHS) e ácido n-morfolino propanosulfônico (MOPS) como tampão. A carbodiimina ativa o MPA ligando com o grupo carbonila do NHS, que fica mais suscetível a um ataque nucleofílico pela amina presente na glutathione.

---

<sup>26</sup> Yeh *et al.*, 2012

<sup>27</sup> Tao *et al.*, 1993.

<sup>28</sup> Chow *et al.*, 2005.



**Figura 9** - Esquema de formação dos eletrodos modificados de ouro com MPA-GHS.

### 3. METODOLOGIA

A seguir estão descritos os procedimentos experimentais realizados durante o trabalho.

#### 3.1. PROCEDIMENTOS DE LIMPEZA

Antes de realizar cada experimento, toda a vidraria utilizada foi mantida durante a noite mergulhada em solução ácida de permanganato de potássio. Após isso, a vidraria foi rinsada diversas vezes com água miliQ (resistividade de 18,2 MΩcm) e lavada com uma solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3:1. A vidraria foi então rinsada com água miliQ e aquecida diversas vezes para remoção de quaisquer sulfatos contaminantes. Todos os eletrodos, exceto o eletrodo de carbono vítreo, foram rinsados com água miliQ e levados a chama até coloração avermelhada. O eletrodo de carbono vítreo foi limpo por polimento com sílica, conforme recomendação do fabricante. Essa limpeza é realizada para a remoção de compostos adsorvidos na superfície dos eletrodos.

#### 3.2. MONTAGEM DO EXPERIMENTO

Os ensaios eletroquímicos foram realizados em uma célula eletroquímica padrão usando uma configuração de três eletrodos. Foi utilizado um potenciostato Autolab PGSTAT12. Foi utilizado como eletrodo de referência eletrodo de mercúrio - sulfato de mercúrio (Hg/Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); foi utilizado um eletrodo de ouro como eletrodo auxiliar e foram utilizados diversos eletrodos como eletrodos de trabalho (Au<110>, Au<111>, Au-Nps e Au policristalino). A solução eletrolítica utilizada foi um tampão fosfato (PBS) (Lonzam DPBS), com pH 7.4, para mimetizar as condições fisiológicas. Após a adição da solução eletrolítica à célula eletroquímica, foi borbulhado argônio na solução por cinco minutos, para remoção de oxigênio.

### 3.3. PREPARO DAS SOLUÇÕES

Todas as soluções foram preparadas usando água miliQ ultrapura.

- MPA 10 mmol L<sup>-1</sup>: A solução foi preparada solubilizando 0,1061 g de MPA (Aldrich, >99%) em 75 ml em etanol absoluto e 25 ml de água.
- AAPH 20 mmol L<sup>-1</sup>: A solução foi preparada solubilizando 0,5604 g de AAPH (Aldrich, 97%) em 100 ml de água.
- NHS 4 mmol L<sup>-1</sup>: A solução foi preparada solubilizando 0,0465 g de NHS (Aldrich, 87%) em 100 ml de água.
- MOPS 25 mmol L<sup>-1</sup>: A solução tampão foi preparada solubilizando 0,5254 g de MOPS (ICN, pureza desconhecida) em 100 ml de água.
- MOPS 100 mmol L<sup>-1</sup>: A solução tampão foi preparada solubilizando 0,5254 g de MOPS (ICN, pureza desconhecida) em 25 ml de água.
- GSH 50,6 g L<sup>-1</sup>: A solução foi preparada solubilizando 0,2530 g de GSH em 5 ml de MOPS 25 mmol L<sup>-1</sup>.
- Guanina 0,84 g L<sup>-1</sup>: A solução foi preparada solubilizando 0,0210 g de guanina em 25 ml de água.
- Cisplatina 4,26 × 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>: A solução foi preparada solubilizando 3,2 mg de cisplatina (Aldrich) em 25 ml de água.

### 3.4. DEPOSIÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

Uma solução aquosa contendo as nanopartículas em suspensão foi deixada em banho de ultrassom por 1 minuto para homogeneização e então, com uma micropipeta, 10 µL da suspensão foi depositada na superfície do eletrodo de carbono vítreo. Foi então posicionada uma corrente de argônio em cima do eletrodo para ajudar a evaporação da água, porém de baixa vazão para não remover as nanopartículas.

Após observado que o eletrodo estava seco, foi então adicionado mais 10  $\mu\text{L}$  da suspensão. Este procedimento foi repetido quatro vezes.

### 3.5. ADSORÇÃO DE GUANINA NOS ELETRODOS DE OURO

Os eletrodos ouro comerciais - monocristal e policristalino - foram rinsados com água miliQ e levados a chama até coloração avermelhada. Em seguida, foram mergulhados na solução de guanina  $0,84 \text{ g L}^{-1}$  por 20 segundos. Os eletrodos foram rinsados com água miliQ e inseridos na célula eletroquímica como eletrodo de trabalho.

### 3.6. ADSORÇÃO DE GUANINA EM NANOPARTÍCULAS DE OURO

As nanopartículas de ouro, sintetizadas previamente pelo grupo, foram depositadas em um eletrodo de carbono vítreo limpo. O eletrodo foi então imerso na solução de guanina  $0,84 \text{ g L}^{-1}$  por 20 segundos, tempo suficiente para ocorrer adsorção segundo dados prévios do grupo. O eletrodo foi rinsado com água miliQ e inserido na célula eletroquímica como eletrodo de trabalho.

### 3.7. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE ELETRODO DE OURO POLICRISTALINO E ADSORÇÃO DE GLUTATIONA

O eletrodo de ouro policristalino foi imerso na solução de MPA  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  durante a noite a  $4^\circ\text{C}$ . No dia seguinte, o eletrodo foi transferido para uma solução contendo  $0,5 \text{ mL}$  de AAPH  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $0,5 \text{ mL}$  de NHS  $4 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $0,5 \text{ mL}$  de MOPS  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ . Após uma hora, o eletrodo foi transferido para a solução de GSH  $50,6 \text{ g L}^{-1}$  em MOPS  $25 \text{ mmol L}^{-1}$  e deixado durante a noite a  $4^\circ\text{C}$ . Após isso, o eletrodo foi removido da solução, rinsado com água miliQ e inserido na célula eletroquímica como

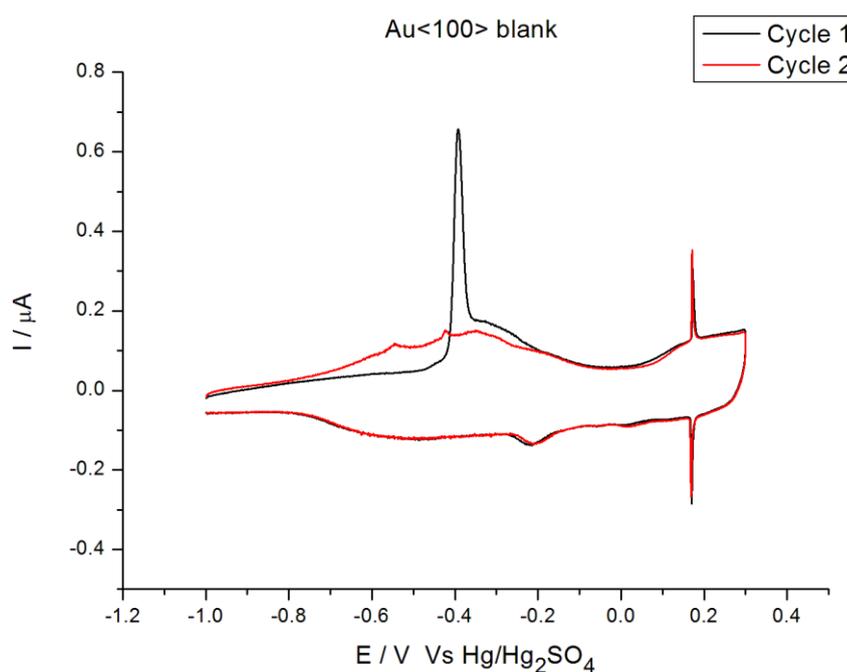
eletrodo de trabalho. Depois da voltametria dos eletrodos modificados, foi adicionado 1,6mL da solução de cisplatina  $4,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  à célula eletrolítica, seguida de novas análises de voltametria cíclica.

#### 4. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A seguir, estão descritos os resultados obtidos durante os experimentos, seguidos da interpretação e discussão desses resultados.

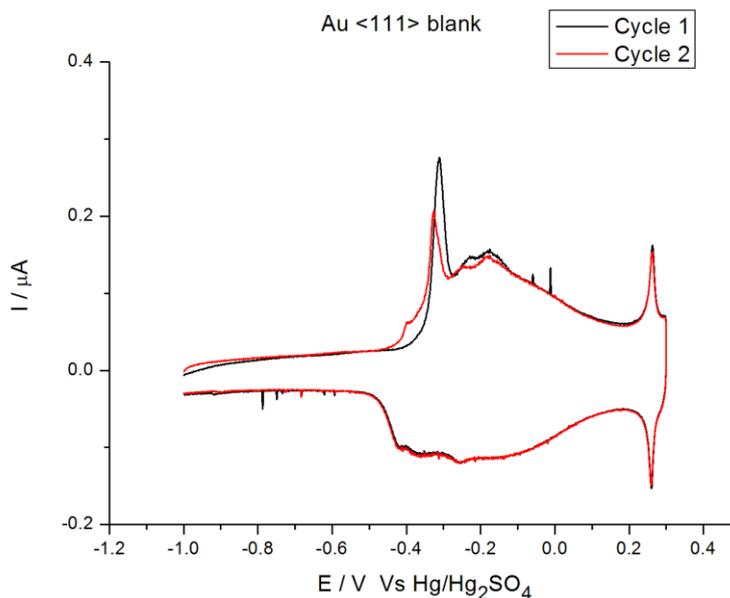
##### 4.1. ADSORÇÃO DE GUANINA EM ELETRODO DE CRISTAL ÚNICO

Antes da modificação da superfície do eletrodo com guanina, foram realizadas voltametria cíclicas dos eletrodos Au<100> (Figura 12) e Au<111> (Figura 13), para serem utilizadas como branco.



**Figura 10** Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<100> em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>.

É importante observar a diferença na escala da corrente nos gráficos obtidos para cada eletrodo.



**Figura 11** Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<111> em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>.

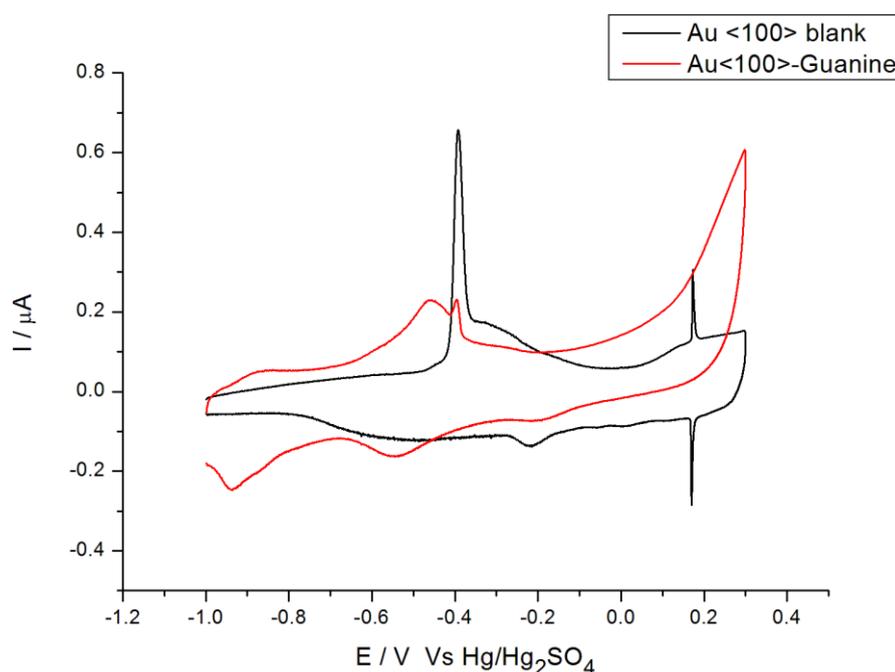
Os dois eletrodos apresentam o pico definido ( -0,4 V para Au<100> e -0,3 V para Au<111>) no primeiro ciclo, característico do levantamento da reconstrução da superfície após a exposição à chama, como mostra as figuras 11 e 12, cujos valores de potencial estão descritos na Tabela 1. Essa reconstrução acontece devido à reorganização dos átomos na superfície dos eletrodos, devido às altas temperaturas atingidas pela chama. No segundo ciclo a intensidade do pico diminui, indicando que a reconstrução da superfície foi concluída. Também foi observado o pico reversível por volta de 0,2 V para Au<100> e por volta de 0,3 V para o Au<111>, correspondendo à deposição de sulfato na superfície dos eletrodos, indicando uma contaminação, com sulfato.

**Tabela 1** Picos observados nos voltamogramas utilizando Au<100> e Au<111> como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como eletrodo de referência.

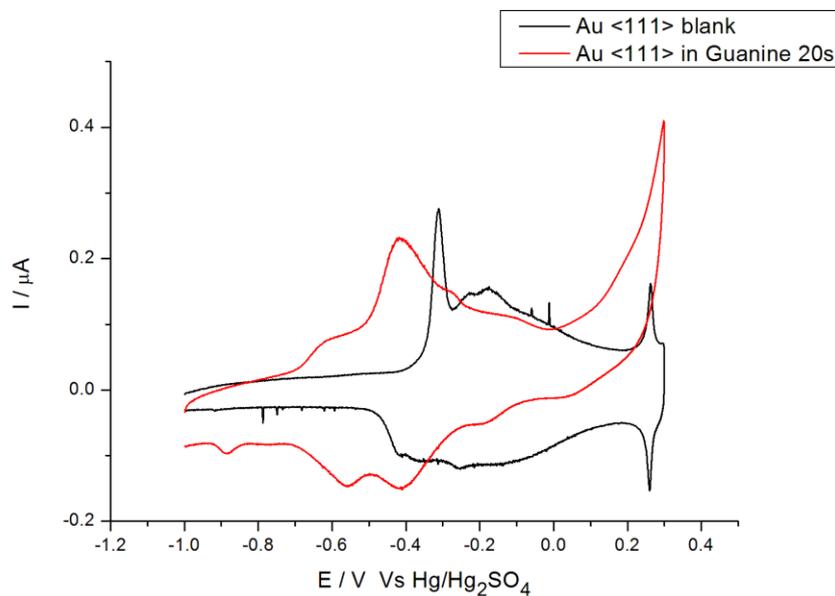
Au<100>	Au<111>
-0,4V	-0,3V
0,2V	0,3V

Após as medidas com os eletrodos, procedeu-se a adsorção com guanina e realizou-se novas análises de voltametria cíclica.

É possível observar um pico reversível entre  $-0,6$  V e  $-0,4$  V que não estava presente no branco. Também foi observada a presença de um pico em  $0,3$  V que não estava presente no ensaio em branco. Esses picos podem ser relacionados com processos de oxirredução da guanina, indicando sua adsorção na superfície dos eletrodos de ouro. Na voltametria do eletrodo Au<100> (Figura 14) é possível observar um pico largo em  $-0,9$  V presente com menos intensidade na voltametria do eletrodo Au<111> (Figura 15). Esse pico pode indicar uma organização diferente das moléculas de guanina na superfície dos dois eletrodos, relacionados a diferença na disposição dos átomos entre essas superfícies.



**Figura 12** Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<100> com adsorção de Guanina em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 13** Voltametria cíclica com eletrodo de cristal único Au<111> com adsorção de Guanina em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>.

Os resultados dos picos observados nas Figuras 14 e 15 são apresentados na Tabela 2.

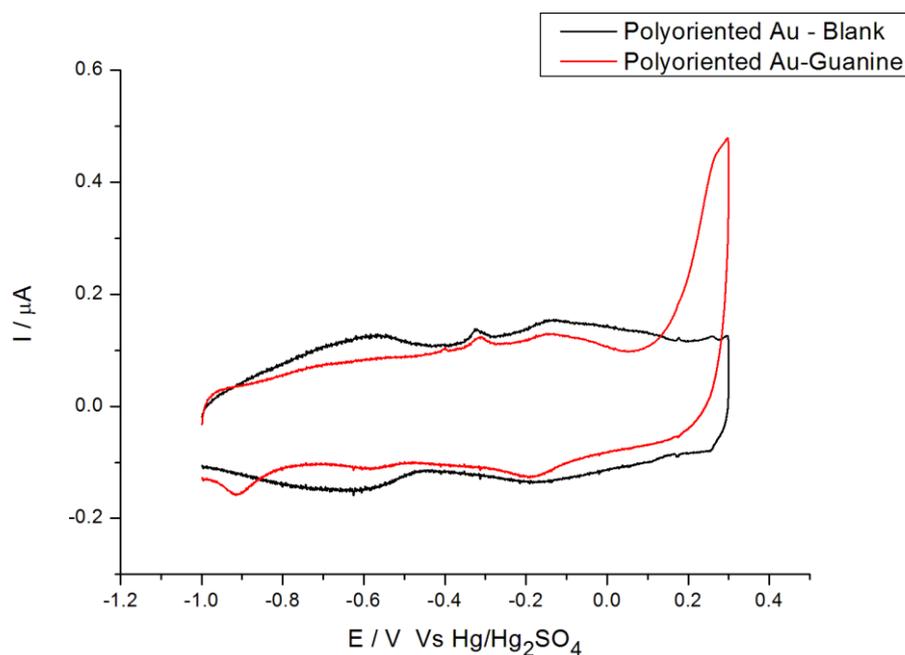
**Tabela 2** Picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos Au<100> e Au<111> modificados com guanina como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como eletrodo de referência.

Au<100> - guanina	Au<111> - guanina
-0,9V	-0,9V
De -0,6 até -0,4V	De -0,6 até -0,4V
0,3V	0,3V

#### 4.2. ADSORÇÃO DE GUANINA EM ELETRODO DE OURO POLICRISTALINO

Foi realizada a voltametria em branco do eletrodo de ouro policristalino. Após isso, o eletrodo foi imerso na solução de guanina por 20 segundos. Após esse tempo

o eletrodo foi rinsado com água miliQ para remover o excesso de solução e inserido na célula eletroquímica. Foi observado o pico em  $-0,9$  V, associado à adsorção de guanina no eletrodo Au<100> (Figura 16).

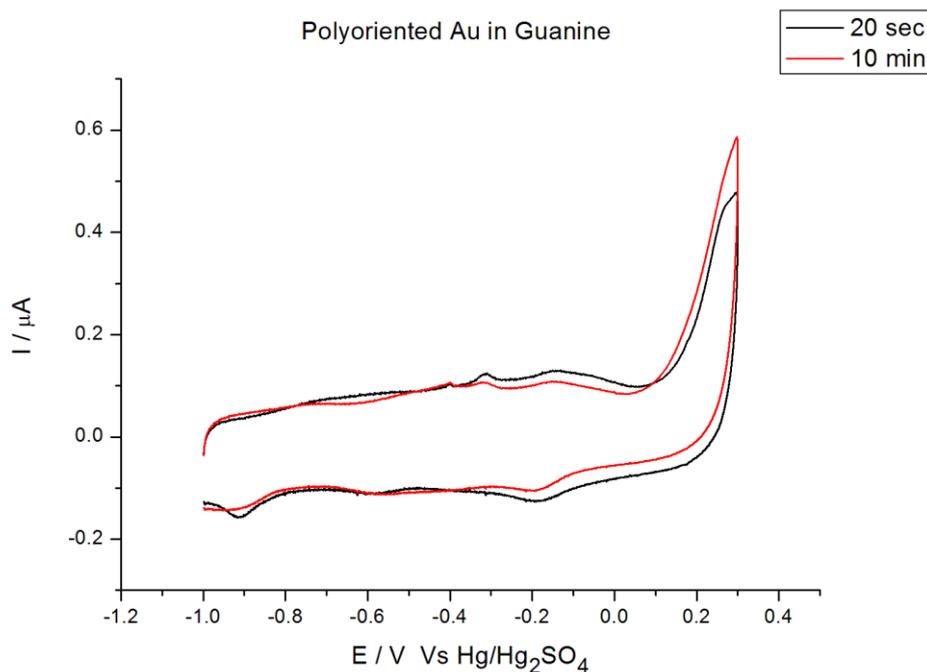


**Figura 14** Voltametria cíclica do primeiro ciclo com eletrodo de ouro policristalino com e sem adsorção de Guanina em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

Isso acontece pois o eletrodo policristalino possui diversos arranjos em sua superfície, entre eles, o arranjo <100>.

Além disso, é possível observar que o pico reversível entre  $-0,6$  V e  $-0,4$  V presente no ensaio com o eletrodo de cristal único não estava tão expressivo no gráfico obtido pelo eletrodo policristalino.

Então o experimento foi repetido, mas a adsorção foi realizada durante o período de 10 minutos o tempo em que o eletrodo de ouro policristalino permaneceu imerso na solução de guanina, o resultado está representado na Figura 17. Foi observado resultado semelhante ao anterior, a não ser o pequeno aumento do pico em  $0,3$  V.



**Figura 15** Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino com diferentes tempos de imersão na solução de Guanina. Em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

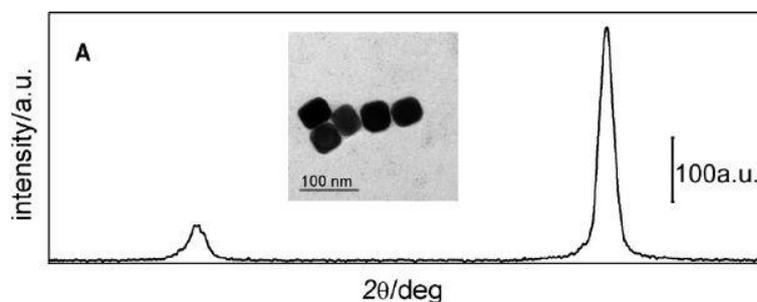
Os picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos policristalinos de ouro, antes e depois da adsorção de guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como eletrodo de referência (Figuras 16 e 17) estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos policristalinos de ouro, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo Hg/Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como eletrodo de referência.

Au	Au-guanina
-0,2V	0,3V
-0,3V	-0,2V
-0,6V	-0,3V
---	-0,9V

#### 4.3. ADSORÇÃO DE GUANINA NA SUPERFÍCIE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO

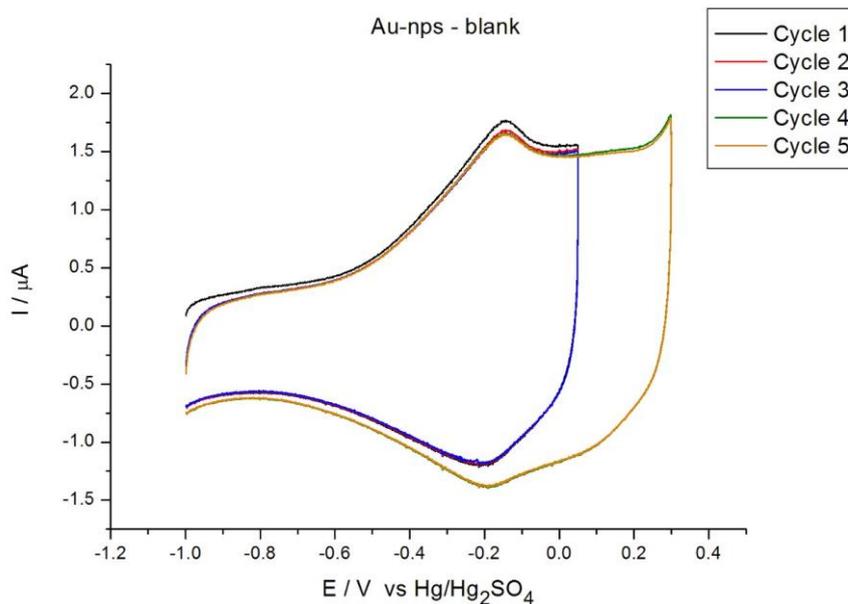
As nanopartículas de ouro (Au-Nps) usadas neste trabalho foram preparadas pelo grupo de pesquisa do Dr. Paramaconi Rodriguez, orientador deste trabalho<sup>29</sup>. As nanopartículas foram caracterizadas por difração de raio-x (DRX), microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e por voltametria cíclica, e apresentam estruturas cúbicas com a presença de faces (100). Os tamanhos das partículas estão entre 45 e 50 nm.



**Figura 16** - Padrão obtido por Difração de Raio-X e imagem obtida por Microscopia Eletrônica de Transmissão das nanopartículas. Fonte: Monzó *et al.*, 2015.

Para obter a voltametria do branco, as nanopartículas foram depositadas na superfície do eletrodo de carbono. Após isso, o eletrodo foi inserido na célula eletroquímica para a realização do ensaio. Foi possível observar um pico reversível em  $-0,2$  V (Figura 18). O eletrodo foi então imerso na solução de guanina por 20 segundos, rinsado com água miliQ e inserido de volta na célula eletroquímica. A voltametria cíclica obtida não apresentou muitas diferenças quando comparada com o branco, então o ensaio foi repetido, aumentando o tempo da imersão do eletrodo na solução de guanina, para 2 minutos e novamente para 20 minutos.

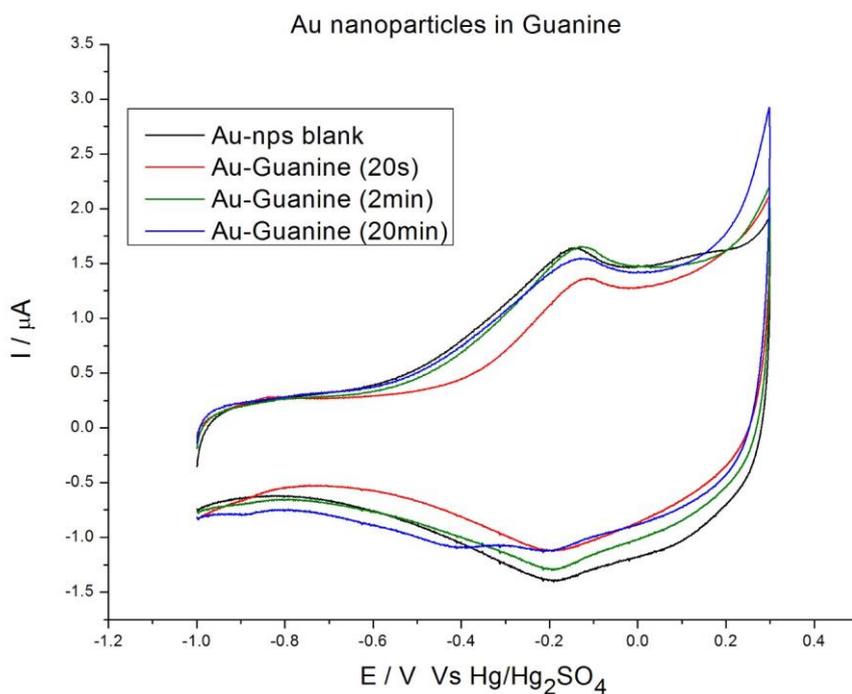
<sup>29</sup> Monzó *et al.*, 2015.



**Figura 17** Voltametria cíclica com nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

Com o eletrodo imerso na solução de guanina por 20 minutos, foi possível observar o aparecimento de um pequeno pico em  $-0,9 \text{ V}$ , característico do eletrodo de superfície  $\langle 100 \rangle$ , confirmando a caracterização das nanopartículas com superfície  $\langle 100 \rangle$ . Também foi observado um aumento do pico em  $0,3 \text{ V}$ , também observado no eletrodo de ouro policristalino (Figura 19).

Por ter uma área superficial maior, era esperado picos de maior intensidade na voltametria das nanopartículas com adsorção de guanina, porém isso não foi observado. Pode ser que fosse necessário uma ativação da superfície das nanopartículas, levando-as a potenciais mais elevados.



**Figura 18** Voltametria cíclica com nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo, com diferentes tempos de imersão na solução de Guanina. Em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

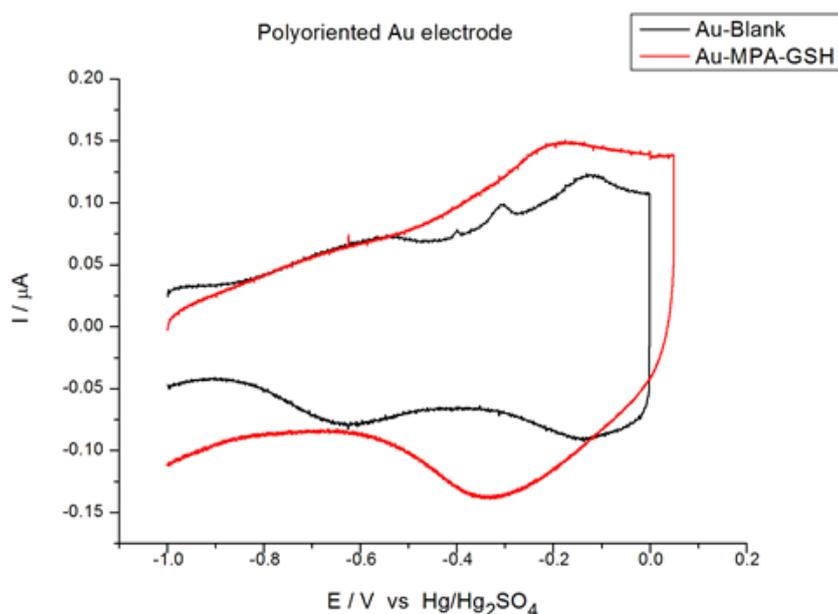
Picos observados nos voltamogramas utilizando nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo  $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$  como eletrodo de referência (Figuras 18 e 19) são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4** Picos observados nos voltamogramas utilizando nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo  $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$  como eletrodo de referência.

Au-Nps	Au-Nps-guanina
-0,2V	-0,9V
0,2V	-0,4V
---	0,2V

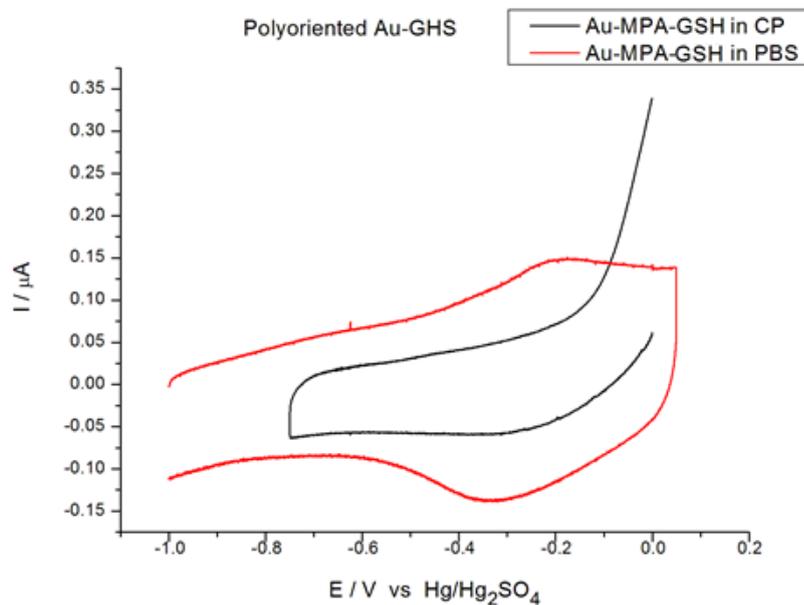
#### 4.4. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE ELETRODO DE OURO POLICRISTALINO E ADSORÇÃO DE GLUTATIONA

Após a obtenção da voltametria do branco, foram realizadas as modificações do eletrodo, com a adição de MPA-GSH e a voltametria foi novamente realizada (Figura 20). É possível observar o pico reversível entre  $-0,4$  V e  $-0,2$  V que não estava presente no branco, que pode ser inferido a processos de oxirredução do grupo MPA-GSH adsorvido na superfície do eletrodo.



**Figura 19** Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino modificado com MPA-GSH. Em PBS (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

Após isso, foi investigada a interação da cisplatina com esse eletrodo modificado (Figura 21), onde  $1,6 \text{ mL}$  da solução de cisplatina  $4,26 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , para obter a concentração total de  $2,6 \text{ mg L}^{-1}$ , que representa a concentração máxima da dose administrada da droga.



**Figura 20** Voltametria cíclica com eletrodo de ouro policristalino modificado com MPA-GHS. Em PBS/Cisplatina (pH 7,4) e taxa de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

Pode-se observar a mudança do sinal obtido na ausência de cisplatina, em que não existe a presença do pico reversível entre  $-0,4 \text{ V}$  e  $-0,2 \text{ V}$  e com o aumento da intensidade com a voltagem menor que  $-0,2 \text{ V}$ . Essa diferença no sinal da corrente obtida nesse potencial pode ser explorada para a montagem de sensores específicos para cisplatina.

A Tabela 5 apresenta os dados referentes aos picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos policristalinos de ouro, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo  $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$  como eletrodo de referência.

**Tabela 5** - Picos observados nos voltamogramas utilizando eletrodos policristalinos de ouro, antes e depois de modificados com guanina, como eletrodos de trabalho e eletrodo  $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$  como eletrodo de referência.

Au	Au-MPA-GHS
0,1V	De -0,2 até -0,4V
-0,3V	---
-0,6V	---

## CONCLUSÃO

Foi possível observar significativa adsorção de guanina na superfície dos eletrodos de ouro de cristal único e policristalino. Tal adsorção foi constatada por meio da mudança no padrão dos voltamogramas obtidos utilizando voltametria cíclica, antes e depois da imersão dos eletrodos na solução de guanina.

A adsorção de guanina não foi observada nas nanopartículas de ouro depositadas em eletrodo de carbono vítreo, já que não houveram mudanças significativas no padrão dos voltamogramas obtidos antes e depois da imersão do eletrodo contendo as nanopartículas na solução de guanina. Porém, com o aumento do tempo de imersão do eletrodo, foi observado o surgimento de um pico de baixa intensidade em  $-0,9V$ . Para verificar a adsorção de guanina, seriam necessários mais estudos com aplicação de maiores faixas de potencial, para a ativação na superfície das nanopartículas.

Foi possível modificar a superfície do eletrodo de ouro policristalino com MPA-GHS com a ativação via carbodiimina, verificado por voltametria cíclica, onde foram obtidos picos correspondentes a processos de oxirredução no eletrodo modificado que não estava presente no eletrodo antes da modificação.

Com a adição de cisplatina na solução eletrolítica, foi observado o desaparecimento dos picos obtidos com o eletrodo policristalino de ouro modificado com MPA-GSH. Tal diferença pode ser explorada para a detecção de cisplatina.

## **PERSPECTIVAS E SUGESTÕES**

Seria interessante averiguar a resposta dos eletrodos modificados por adsorção de guanina em solução contendo cisplatina, para observar se ocorrem mudanças na voltametria, como foi observado com a modificação por adsorção com MPA-GSH.

Também seria interessante realizar a modificação por adsorção de MPA-GSH pela rota proposta com as nanopartículas de ouro e sua voltametria em solução contendo cisplatina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBRUS, C M; KARAKOUSIS, C; KHAN, S; STADLER, A. Removal of excess cisplatin from blood using an extracorporeal device with immobilized adsorbent. **ASAIO Journal**, v. 46, n. 2, p. 228, 2000.
- ASTOLFI, Laura; GHISELLI, Sara; GUARAN, Valeria; CHICCA, Milvia; SIMONI, Edi; OLIVETTO, Elena; LELLI, Giorgio; MARTINI, Alessandro. Correlation of adverse effects of cisplatin administration in patients affected by solid tumours: A retrospective evaluation. **Oncology Reports**, v. 29, n. 4, p. 1285-1292, 2013.
- CIVALLERI, Dario; ESPOSITO, Mauro; FULCO, Rosa Anna; VANNOZZI, Maria; BALLETTTO, Nadia; DECIAN, Franco; PERCIVALE, Pier Luigi; MERLO, Franco. Liver and tumor uptake and plasma pharmacokinetic of arterial cisplatin administered with and without starch microspheres in patients with liver metastases. **Cancer**, v. 68, p. 988-994, 1991.
- CHOW, Edith; HIBBERT, D. Brynn; GOODING, J. Justin. Voltammetric detection of cadmium ions at glutathione-modified gold electrodes. **The Analyst**, v. 130, n. 6, p. 831-837, 2005.
- COLLINS, Jerry M. Pharmacologic rationale for regional drug delivery. **Journal of Clinical Oncology**, v. 2, n. 5, p. 498-504, 1984.
- CRISAFULI, Fabiano Augusto de Paula. **Caracterização da interação DNA-cisplatina usando pinça óptica e videomicroscopia**. Viçosa, 2012. 98 f. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) – Universidade Federal de Viçosa, 2012.
- FUERTES, Miguel A.; ALONSO, Carlos; PÉREZ, José M. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and

circumvention of drug resistance. **Chemical Reviews**, v. 103, n. 3, p. 645-662, 2003.

JUNG, Yongwon; LIPPARD, Stephen J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 5, p. 1387-1407, 2007.

KISSINGER, Peter T.; HEINEMAN, William R. Cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 9, p. 702, 1983.

KLEIN, Alice V.; HAMBLEY, Trevor W. Platinum drug distribution in cancer cells and tumors. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 10, p. 4911-4920, 2009.

KUSUNOKI, Nobuya; KU, Yonson; TOMINAGA, Masahiro; IWASAKI, Takeshi; FUKUMOTO, Takumi; MURAMATSU, Sanshiro; SUGIMOTO, Takemi; TSUCHIDA, Shinobu; TAKAMATSU, Manabu; SUZUKI, Yasuyuki; KURODA, Yoshikazu. Effect of Sodium Thiosulfate on Cisplatin Removal With Complete Hepatic Venous Isolation and Extracorporeal Charcoal Hemoperfusion: A Pharmacokinetic Evaluation. **Annals of Surgical Oncology**. v. 8, n. 5, p. 449–457, 2000.

MABBOTT, G. A. An introduction to cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 9, p 697-702, 1983

MONZÓ, Javier; MALEWSKI, Yvonne; VIDAL-IGLESIAS, Francisco J.; SOLLA-GULLON, Jose; RODRIGUEZ, Paramaconi. Electrochemical oxidation of small organic molecules on Au nanoparticles with preferential surface orientation. **ChemElectroChem**, v. 2, n. 7, p. 958-962, 2015.

MOTA, Luiz Alberto Alves; MELO, Marília Silvino Iglésias; SANTOS, Maria Heloísa Pedrosa; ALBUQUERQUE, Kátia Maria Gomes de; TAVARES, Cristiana de Limas. Ototoxicidade da cisplatina: série de casos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 53, n. 4, p. 370-373, 2007.

- PEREZ, Joelma; VILLULLAS, Hebe M.; GONZALEZ, Ernesto R. Preparação e caracterização de eletrodos monocristalinos. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 555-559, 1997.
- PEREZ, R. P. Cellular and molecular determinants of cisplatin resistance. **European Journal of Cancer**, v. 34, n. 10, p. 1535-1542, 1998.
- PIZARRO, Ana M.; SADLER, Peter J. Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. **Biochimie**, v. 91, n. 10, p. 1198-1211, 2009.
- ROSENBERG, Barnett; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, v. 222, n. 5191, p. 385-386, 1969.
- SHOEIB, Tamer; SHARP, Barry L. Monomeric cisplatin complexes with glutathione: Coordination modes and binding affinities. **Inorganica Chimica Acta**, v. 405, p. 258-264, 2013.
- SOBRAL, Renata Afonso; DALECK, Carlos Roberto; MELO, Wanderley José de. Estudo in vivo de um sistema de liberação de drogas constituído por hidroxiapatita e cisplatina. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 128-132, 2001.
- TAO, N. J.; DEROSE, J. A.; LINDSAY, S. M. Self-assembly of molecular superstructures studied by in situ scanning tunneling microscopy: DNA bases on gold (111). **The Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 4, p. 910-919, 1993.
- YEH, Y.-C., CRERAN, B., ROTELLO, V. M. Gold Nanoparticles: Preparation, Properties, and Applications in Bionanotechnology. **Nanoscale**, v. 4, n. 6, p. 1871–1880. 2012.

## APÊNDICE

Este projeto foi realizado como Projeto de Verão durante meu período cursando Graduação Sanduiche na Universidade de Birmingham, no Reino Unido, pelo programa Ciência Sem Fronteiras.

Durante minha estadia, fui orientada pelo Dr. Paramaconi Rodriguez, que coordena o grupo de pesquisa *Ampere – Advanced Materials and Electrochemistry Research*. Dr Rodriguez atua na área de eletrocatalise, síntese de nanomateriais e bioeletroquímica, focando no desenvolvimento de novas tecnologias eletroquímicas, design de novos nanomateriais funcionais e desenvolvimento de nanosensores para aplicação em medicina.

Mais informações podem ser encontradas em:

<http://www.ampere.technology/>.