



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

RENATA COSTA DOS SANTOS

**ESTUDOS BIOELETROQUÍMICOS DE DERIVADOS DO 5-NITROTIOFENO-
TIOSEMICARBAZÔNICO VISANDO ENTENDIMENTO DE SUA AÇÃO
BIOLÓGICA E AUMENTO DE SOLUBILIDADE**

MACEIÓ – AL

2020

RENATA COSTA DOS SANTOS

**ESTUDOS BIOELETROQUÍMICOS DE DERIVADOS DO 5-NITROTIOFENO-
TIOSEMICARBAZÔNICO VISANDO ENTENDIMENTO DE SUA AÇÃO
BIOLÓGICA E AUMENTO DE SOLUBILIDADE**

Dissertação de Mestrado apresentado
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciências pela Universidade
Federal de Alagoas.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiane Caxico
de Abreu Galdino

MACEIÓ-AL

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237e Santos, Renata Costa dos.
Estudos bioeletroquímicos de derivados de 5-nitrotiofenotiossemicarbazônico visando entendimento de sua ação biológica e aumento de solubilidade / Renata Costa dos Santos. – 2020.
70 f.: il.

Orientadora: Fabiane Caxico de Abreu Galdino.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 67-70.

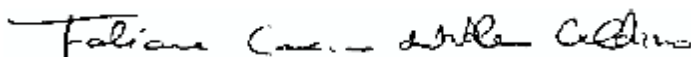
1. Nitrocompostos. 2. 2 Hidroxipropil-beta-ciclodextrina. 3. Eletroquímica.
I. Título.

CDU: 544.6

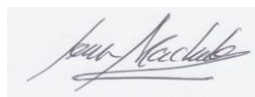
FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de dissertação da mestranda **RENATA COSTA DOS SANTOS** intitulada: “**ESTUDOS BIOELETROQUÍMICOS DE DERIVADOS DO 5-NITROTIOFENO-TIOSSEMICARBAZÔNICO VISANDO ENTENDIMENTO DE SUA AÇÃO BIOLÓGICA E AUMENTO DE SOLUBILIDADE**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 30 de setembro de 2020, às 9h, por meio de videoconferência.

Comissão Examinadora:



Profa. Dr. FABIANE CAXICO DE ABREU GALDINO,
UFAL Presidente – Orientadora



Profa. Dra. SONIA SALGUEIRO MACHADO, UFAL
Examinador(a) Externo(a) ao Programa



Prof. Dr. DIOGENES MENESES DOS SANTOS,
UFAL Examinador(a) Interno(a)



RENATA COSTA DOS SANTOS
Mestranda

♥ Ao meu pai, Antonio Caetano (*in memoria*),
que sempre me apoiou e acreditou em mim,
que se orgulhava a cada passo meu. A ele
dedico todo meu amor e minha gratidão.

AGRADECIMENTO

À Deus, por estar comigo diariamente, por permitir que eu sinta tua presença em minha vida, por todas as vezes que eu quis fraquejar Ele me deu forças e coragem para lutar.

À minha mãe, minha fortaleza, meu pedaço de céu aqui na terra, meu porto seguro, de onde tiro forças diariamente para seguir, onde encontro inspiração para lutar pelo que acredito, onde me espelho para tentar ser humano melhor.

Ao meu pai (in memoria), por seu amor que transborda os limites do espaço e do tempo, da vida e da morte, que carrego comigo e sinto presente, que me faz lembrar a cada tropeço e principalmente e a cada conquista que eu sou capaz de vencer.

A minhas irmãs, Luciana e Claudia, meus anjos que cuidam de mim em cada detalhe, que são o meu sustento nas lutas diárias.

Aos meus irmãos, Luciano e Claudemir e a toda minha família, por ter se mantido unida e fortalecendo um ao outro, em todos os momentos.

Ao meu esposo, Williams, por ser calma no meio da tempestade, pela paciência, dedicação e amor.

Aos meus amigos de laboratório por todas as aventuras, choros e risadas compartilhadas e por todo conhecimento compartilhado durante essa jornada. Em especial ao trio: Marílya, Carol e Samaysa, por tantos momentos partilhados, no laboratório e na vida, e a Monyk que traz leveza aos meus dias.

Ao meu amigo Ygor, que escuta meus choros e desabafos, que me motiva e me anima, que se alegra com minhas conquistas e contribuí para elas, poder tê-lo como amigo é um privilégio.

À minha orientadora, Fabiane, a quem sou eternamente grata, por todo carinho, cuidado e pelo acolhimento que sempre recebi, por todo o tempo dedicado em contribuir com o meu crescimento pessoal e profissional, pelas longas conversas e pelo apoio nos dias ruins.

Ao CNPq e a UFAL pela bolsa concedida durante o desenvolvimento deste trabalho. E as agências financiadoras FAPEAL, CAPES E CNPq, pelo apoio financeiro ao grupo.

RESUMO

No planejamento e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, os compostos nitro-heterocíclicos são de grande importância, possibilitando a introdução de vários radicais substituintes, o que confere aos compostos diferentes atividades e propriedades químicas e biológicas. Seu mecanismo de biorredução pode ser reproduzido e identificado por métodos eletroquímicos. Uma característica comum a muitos nitrocompostos (como os estudados) é a baixa solubilidade em água, o que justifica sua associação com substâncias versáteis como a ciclodextrina, que pode formar complexos de inclusão com uma variedade de moléculas. No presente estudo, um “enxerto” de β -ciclodextrina-aminada foi realizado em eletrodos de carbono vítreo, por meio da eletrooxidação da amina, sem a necessidade de ligantes ou intermediários adicionais; então, a formação de complexos de inclusão entre derivados 5-nitrotiofeno-tiossemibazônico (LNN) e β -ciclodextrina (β -CD) foi avaliada usando voltametria de pulso diferencial (VPD). O sistema eletroquímico foi composto por 3 eletrodos: Ag / AgCl / Cl^-_{sat} (referência), platina (auxiliar), carbono vítreo (CV) com β -ciclodextrina amino imobilizada (trabalho), em meio tamponado a pH 7,00 com etanol como co-solvente. Estudos de UV-Vis também foram realizados em meio aquoso contendo 5% de etanol, variando a concentração de β -ciclodextrina. A plataforma CV-amino- β -ciclodextrina possibilitou a análise da interação dos derivados 5-nitrotiofeno-tiossemibazônico com β -CD, que foi identificado pelo aumento linear da corrente de pico do analito em função do aumento da concentração do mesmo até o ponto de saturação entre as substâncias. Através da β -CD imobilizada na superfície do eletrodo foi possível calcular a constante de equilíbrio entre os derivados estudados e a ciclodextrina com valores de $5,87 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$ para LNN01, $2,199 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ para LNN03, $7,61 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ para LNN05 e $2,33 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$ para o LNN06. Calculada também por métodos espectrofotométricos, as constantes médias foram $2,107 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ para o LNN01, $2,174 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$ para o LNN03 e $2,223 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ para o LNN05. Ambas as constantes demonstram boa formação dos complexos entre o LNN: β -CD. A ciclodextrina já é considerada um excipiente farmacêutico, utilizado em medicamentos, por isso seus bons resultados via eletroquímica com os derivados estudados são bastante esperançosos em uma futura associação e desenvolvimento de um medicamento.

Palavras Chave: Nitrocompostos, Ciclodextrina, Eletroquímica.

ABSTRACT

The planning and development of new therapeutic agents, nitroheterocyclic compounds are of great importance, enabling the introduction of various substituent radicals, which gives the compounds different activities and properties, both chemical and biological. Its bioreduction mechanism can be reproduced in electroanalytical cells and identified via electrochemical methods. A characteristic common to many nitrocomposites (such as those under study) is the low solubility in water, which justifies its association with versatile substances such as cyclodextrin, which can form inclusion complexes with a variety of molecules. In the present study, an amino β -cyclodextrin graft was performed on glassy carbon electrodes, through the amine electrooxidation, without the need for additional ligands or intermediates; then, the formation of inclusion complexes between 5-nitrothiophene-thiosemibazonic derivatives (LNN) and β -cyclodextrin (β -CD) was evaluated using Differential Pulse Voltammetry (VPD). The electrochemical system was composed of 3 electrodes, Ag / AgCl / Cl-saturated (reference), platinum (auxiliary), glassy carbon (CV) with immobilized β -cyclodextrin amino (work), in buffered medium pH 7.00 with ethanol as co-solvent. UV-Vis studies were also carried out in an aqueous medium containing 5% – ethanol, varying the concentration of β -Cyclodextrin. The CV-amino- β -cyclodextrin platform made it possible to analyze the interaction of 5-nitrothiophene-thiosemibazonic derivatives with β -CD, which was identified by linearly increasing the peak current of the analyte as a function of the increase in the concentration of the same until the saturation point between the substances. Through the β -CD immobilized on the electrode surface, it was possible to calculate the equilibrium constant between the studied derivatives and the cyclodextrin with values of $5.87 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$ for LNN01, $2.199 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ for LNN03, $7.61 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ for LNN05 and $2.33 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$ for the LNN06. Also calculated by spectrophotometric methods, the average constants were $2.107 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ for LNN01, $2.174 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$ for LNN03 and $2.223 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ for LNN05. Both constants demonstrate good formation of the complexes between the LNN: β -CD. Cyclodextrin is already considered a pharmaceutical excipient, used in drugs, so its good results via electrochemistry with the studied derivatives are quite hopeful in a future association and development of a drug.

Keywords: Nitrocomposites, Cyclodextrin, Electrochemical.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Biorredução do grupo nitro.....	18
Figura 2 - Estrutura do anel tiofeno.....	19
Figura 3 - Estrutura química básica das tiossemicarbazonas.	20
Figura 4 - Estrutura dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico.	21
Figura 5 - Estrutura molecular e propriedades de α -, β - e γ -CD.	22
Figura 6 - Representação esquemática da ciclodextrina livre (hóspede) e do substrato (hospedeiro) para formar o complexo substrato-CD.	23
Figura 7 - Mecanismo geral de compostos contendo amina.	24
Figura 8 - Níveis de energia eletrônica e transições.....	25
Figura 9 - Voltamograma cíclico para um sistema reversível de $K_3Fe(CN)_6$ 6 mmol L ⁻¹ e KNO_3 1 mol L ⁻¹ , com destaque para os parâmetros mais importantes.....	28
Figura 10 - (a) Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em voltametria de pulso diferencial, a corrente é amostrada em 1 e 2 e a diferença entre elas é que é registrada: $\Delta I = I(2) - I(1)$. (b) Voltamograma de VPD.	29
Figura 11 - Sistema com os três eletrodos para análises eletroquímicas.....	34
Figura 12 - Representação esquemática da imobilização da β -CD-NH ₂ no eletrodo de carbono vítreo.	35
Figura 13 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN01 (10 μ mol L ⁻¹) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação.	38
Figura 14 - Determinação da constante de equilíbrio do complexo LNN01: β -CD, de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand, para vários comprimentos de onda; [LNN01] = 1,0 μ mol L ⁻¹ (5 % EtOH). Tempo de contato de 2h.	39
Figura 15 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN03(10 μ mol L ⁻¹) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação.	40
Figura 16 - Determinação da constante de equilíbrio do complexo LNN03: β -CD, de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand, para vários comprimentos de onda; [LNN03] = 1,0 μ mol L ⁻¹ (5 % EtOH). Tempo de contato de 2h.	41
Figura 17 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN05 (10 μ mol L ⁻¹) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação.	42
Figura 18 - Determinação da constante de equilíbrio do complexo LNN05: β -CD, de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand, para vários comprimentos de onda; [LNN05] = 10 μ mol L ⁻¹ (5 % EtOH). Tempo de contato de 2h.	43

Figura 19 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN06 (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação	44
Figura 20 - Soluções em 5 % (v/v) EtOH de derivados do 5-nitrotiofenotiossemicarbazônicos (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$). a) LNN01; b) LNN03; c) LNN05; d) LNN06	45
Figura 21 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN01 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN01.....	46
Figura 22 - (a)Voltamogramas cíclicos do LNN01 em várias velocidades de varredura; [LNN01] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.	47
Figura 23 - (a) gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pa} vs. v ; [LNN01] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.....	48
Figura 24 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN03 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN03.....	49
Figura 25 - Voltamogramas cíclicos do LNN03 em várias velocidades de varredura; [LNN03] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.	50
Figura 26 - (a) gráfico de I_{pc} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pc} vs. v ; [LNN03] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.....	51
Figura 27 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN05 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN05.....	52
Figura 28 - Voltamogramas cíclicos do LNN05 em várias velocidades de varredura; [LNN05] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.	53
Figura 29 - (a) gráfico de I_{pc} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pc} vs. v ; [LNN05] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.....	54
Figura 30 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN06 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN06	55
Figura 31 - Voltamogramas cíclicos do LNN06 em várias velocidades de varredura; [LNN06] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV	56
Figura 32 - (a) gráfico de I_{pc} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pc} vs v ; [LNN06] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.....	57

Figura 33 - Voltametria Cíclica com a sonda ferri/ferrocianeto de potássio (1:1) 1,0 mmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹ nos potenciais de -0,3 à 0,6 V (a) antes da modificação e (b) após modificação com β-CD-NH ₂ ..	58
Figura 34 - (a) Voltamogramas cíclicos para K ₃ [Fe(CN) ₆] (—), Fe-CO ₂ H (---) em eletrodo de carbono vítreo modificado com β-CD-NH ₂ em tampão fosfato como eletrólito de suporte a 0,05 v s ⁻¹	59
Figura 35 - Representação da interação do eletrodo de carbono vítreo modificado com β-CD-NH ₂ com K ₃ [Fe(CN) ₆] e com Fe-CO ₂ H.	59
Figura 36 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN01 (2 μmol L ⁻¹ a 12 μmol L ⁻¹) em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície.	61
Figura 37 - (a) Curva analítica para LNN01 em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN01: β-CD.	61
Figura 38 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN03 (1 μmol L ⁻¹ a 10 μmol L ⁻¹) em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície.	62
Figura 39 - (a) Curva analítica para LNN03 em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN03: β-CD.	63
Figura 40 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN05 (1 μmol L ⁻¹ a 10 μmol L ⁻¹) em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície.	63
Figura 41: (a) Curva analítica para LNN05 em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN05: β-CD.	64
Figura 42 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN06 (10 μmol L ⁻¹ a 40 μmol L ⁻¹) em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície.	64
Figura 43 - (a) Curva analítica para LNN06 em eletrodo de carbono vítreo com β-CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN06: β-CD.	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de Reagentes utilizados.	31
Tabela 2 - Estruturas químicas dos derivados 5-nitrotiofeno-tiosemicarbazônicos.....	32
Tabela 3 - Protocolo do método das variações contínuas (Job's Plot) para determinação da estequiometria dos complexos LNN:β-CD.	33
Tabela 4 - Constante de dissociação e formação do complexo LNN01: β-CD para 2 h de contato.	39
Tabela 5 - Constante de dissociação e formação do complexo LNN03: β-CD para 2 h de contato.	41
Tabela 6 - Constante de dissociação e formação do complexo LNN05: β-CD para 2 h de contato.	43
Tabela 7 - Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN01 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag AgCl Cl ⁻ (sat.).	47
Tabela 8 - Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN03 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag AgCl Cl ⁻ (sat.).	50
Tabela 9 - Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN05 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag AgCl Cl ⁻ (sat.).	53
Tabela 10: Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN06 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag AgCl Cl ⁻ (sat.).	56

LISTA DE ABREVIATURAS

α -CD	alfa-ciclodextrina
β -CD	beta-ciclodextrina
β -CD-NH ₂	beta-ciclodextrina aminada
γ -CD	gama-ciclodextrina
A	Ampère
a	Termo independente (equação da reta)
b	Coeficiente angular (equação da reta)
CD(s)	ciclodextrina(s)
E	Potencial
E _{1/2}	Potencial de meia onda
E _{pa}	Potencial de pico anódico
E _{pc}	Potencial de pico catódico
Eq.	Equação
H ₂ O	Água
h	Hora
I	Corrente
I _{max}	Corrente de pico máxima
I _{pa}	Corrente de pico anódica
I _{pc}	Corrente de pico catódico
K _D	Constante de Dissociação
K _F	Constante de formação
v.s ⁻¹	Volts por segundo
P.A.	Pureza Analítica

pH	Potencial hidrogeniônico
R ²	Coeficiente de determinação
rpm	Rotação por minuto
UV-Vis	ultravioleta visível
V	Volts
VC	Voltametria Cíclica
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial

LISTA DE SIMBOLOS E SIGLAS

ΔI	Diferença entre a corrente da linha base e da de pico no voltamograma
ΔA	Variação da absorvência
$\Delta \epsilon$	Variação da absortividade molar
λ	Comprimento de onda
ν	Velocidade de varredura de potencial
μA	Microampère
μL	Microlitro
μm	Micrometro
e^-	Elétron
g	Gramas
mL	Mililitro
mg	Miligrama
nm	Nanômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Nitro-heterocíclicos e anel tiofeno	17
1.2	Tiossemicarbazonas	20
1.3	Derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico.....	20
1.4	Ciclodextrinas.....	21
1.5	Técnicas Espectroscópicas	25
1.6	Técnicas Eletroquímicas.....	26
1.6.1	Voltametria cíclica.....	27
1.5.2	Voltametria de pulso diferencial.....	28
2	OBJETIVOS	30
2.1	Geral.....	30
2.2	Específico	30
3	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	Reagentes e Solventes	31
3.1.1	Compostos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos	31
3.2	Estudos Espectroscópicos	32
3.6.1	Análise Espectroscópica dos Complexos LNN: β -CD	32
3.6.2	Estequiometria de interação entre LNN: β -CD por espectrofotometria no UV-vis	32
3.3	Estudos Eletroquímico	33
3.3.1	Condições das medidas eletroquímicas	33
3.3.2	Estudo de velocidade	34
3.3.3	Imobilização de β -Ciclodextrina aminada em eletrodo de carbono vítreo	35
3.3.4	Caracterização do Eletrodo modificado com β -CD-NH ₂	35
3.3.5	Estudo dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazonicos com β -CD imobilizada na superfície do carbono vítreo.....	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	Estudos espectroscópicos	37

4.1.1 Avaliação da formação do complexo de interação entre LNN- β -CD por espectrofotometria no UV-vis.	37
4.1.2 Estequiometria de interação entre LNN: β -CD por espectrofotometria no UV-vis	44
4.2 Estudos Eletroquímicos.....	46
4.2.1 Perfil eletroquímico e estudo de Velocidade	46
4.2.2 Caracterização do Eletrodo modificado com β -CD-NH ₂	58
4.2.3 Cálculo da constante de Formação (K _F) dos derivados do 5-nitrotiofenotiosemicarbazonicos com β -CD imobilizada na superfície do carbono vítreo.	60
5 CONCLUSÃO.....	66
REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos disponíveis no mercado são eficazes para o tratamento de diversas doenças, porém seu uso está associado a diversos efeitos colaterais. A pesquisa por novos agentes terapêuticos encontra-se em constante desenvolvimento, no entanto, mesmo com todos os esforços para sintetizar novas substâncias e comprovar suas ações biológicas, o caminho a ser percorrido para que essas substâncias sejam disponibilizadas no mercado na forma de um medicamento é muito longo e esbarra em algumas problemáticas que precisam ser contornadas.

Nesse contexto a solubilidade é um fator muito importante a ser avaliado, uma vez que a baixa solubilidade dificulta a biodisponibilidade dessas substâncias, impactando desde sua absorção até a eliminação. Sendo este um fator de extrema importância no processo de desenvolvimento de fármacos, torna-se relevante o estudo e a busca por alternativas que contornem essa problemática, aumentando a solubilidade dos compostos sem interferir em sua atividade farmacológica. A literatura apresenta diversas possibilidades de complexação entre moléculas orgânicas lipofílicas, com íons inorgânicos, além de outras espécies como lipossomos e ciclodextrinas (CD).

Ciclodextrinas são oligossacarídeos macrocíclicos compostos por 6, 7 ou 8 unidades glicosídicas, possuindo estrutura média de um cone truncado com uma cavidade de característica hidrofóbica, onde moléculas geralmente menores podem entrar e formar complexos de inclusão, já sua face externa é hidrofílica, o que torna os complexos formados facilmente solúveis em água. São receptores moleculares para diversos compostos, orgânicos, inorgânicos, organometálicos e metalo-orgânicos que podem ser neutros, catiônico, aniônico ou até radicalar (DODZIUK, 2006). Além da melhora na solubilidade ainda é possível destacar melhoras na estabilidade e aumento na biodisponibilidade de composto biologicamente ativos. Devido a estas características específicas, o uso de ciclodextrinas possibilita uma variedade de aplicações, em destaque para indústria farmacêutica (CEBORSKA; ZIMNICKA; TRO, 2016). Atualmente podemos encontrar mais de 35 medicamentos disponíveis no mercado com formulações contendo ciclodextrina (ELEAMEN et al., 2017).

Algumas técnicas podem ser empregadas no estudo da formação de complexos (*host-guest*) com ciclodextrinas, entre elas podemos destacar as técnicas eletroquímicas, onde a confirmação da formação desses complexos é realizada através das mudanças observadas na corrente de pico, bem como no potencial de redução e/ou oxidação após inclusão do substrato e as técnicas espectroscópicas no qual é possível acompanhar e

avaliar mudanças no perfil do espectro de absorbância do substrato em função da adição de concentrações de ciclodextrinas, relacionados ao processo de encapsulação.

No decorrer deste trabalho pretende-se avaliar o aumento da solubilidade de derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicabazônicos, compostos com atividade antifúngica e antitumoral, porém com baixa solubilidade em água. Será avaliado o processo de inclusão desses compostos frente a CD imobilizada covalentemente na superfície do eletrodo de carbono vítreo e o equilíbrio em solução utilizando de técnica de espectroscopia no UV-Visível.

1.1 Nitro-heterocíclicos e anel tiofeno

No planejamento e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, os compostos heterocíclicos são de grande importância, devido a facilidade de síntese, a possibilidade de adição de heteroátomos e introdução de vários radicais substituintes, conferindo aos compostos diferentes atividades e propriedades tanto químicas quanto biológicas. Entre os grupos possíveis de serem associados à estrutura do anel heterocíclico, destacam-se o grupo nitro, amplamente empregado na obtenção de pró-fármacos (MARQUES, 2017).

O emprego desses nitrocompostos na terapêutica vem tomando papel de destaque nos últimos anos tendo em vista grande variedade de aplicações, devido suas características que incluem mutagênese, toxicidade, carcinogênese. Após o primeiro emprego na década de 40, inúmeros compostos desta classe foram sintetizados e testados com sucesso frente a várias doenças como: hipertensão, leishmaniose, infecções bacterianas, câncer, doença de chagas, entre outras (SILVA, 2017).

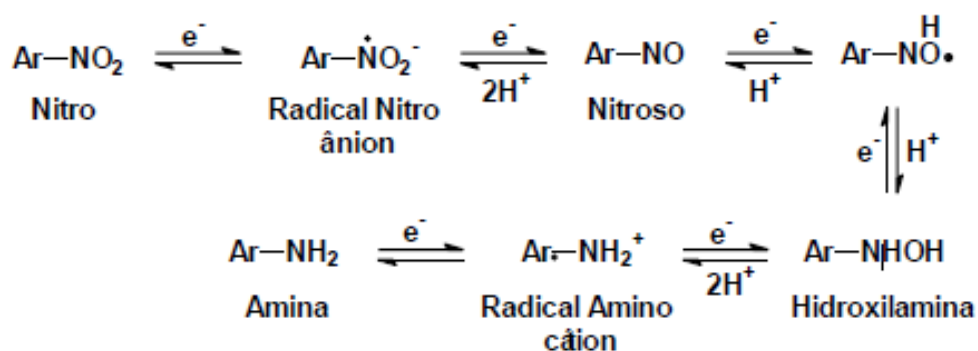
Os nitrocompostos são aplicados atualmente em diversas classes da terapêutica clínica, entre elas: antianginosos (dinitrato de isossorbida, nitroglicerina), anti-hipertensivos (nifedipina, nitredipina e nisoldipina), anticoagulante (acenocumarol), sedativo hipnótico (nitrazepan), analgésico narcótico (clonitiazina), anti-inflamatório (nimesulida), anti-histamínico H-2 (ranitidina), antibacterianos (cloranfenicol, metronidazol, nitrofurais, nifuroxazida), antineoplásicos (nitacrina, 1-(1,5-dicloropentano-3-il)-4-nitrobenzeno) e antiparasitários (metronidazol, tinidazol, secnidazol, benzinidazol e nifurtimox) (OLIVEIRA, 2014; PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009).

Quando o nitro está ligado a um anel aromático, este apresenta um forte efeito retirador de elétrons, causando uma diminuição da densidade de elétrons no anel, este efeito é provocado pelo excesso de carga eletrônica localizada principalmente nos átomos de oxigênio, enquanto o átomo de nitrogênio é deficiente de elétrons. Assim os nitroaromáticos apresentam alta reatividade para o ataque nucleofílico para reações com agentes redutores (YAN et al., 2005). Sendo esta redução do grupo nitro fundamental para as atividades biológicas.

O processo de biorredução enzimática do grupo nitro é o provável mecanismo de ação para a atividade antineoplásica, antiparasitária e antibacteriana da maioria dos nitrocompostos, tornando esse um requisito para o desempenho da atividade biológica destes compostos. No entanto estudos relatam que o mecanismo de ação dos nitrocompostos, em nível molecular, ainda não está totalmente elucidado, pois este pode sofrer variações a depender das diferenças estruturais dos compostos (PAULA; SERRANO; TAVARES, 2009).

Deste modo, o mecanismo de ação dos nitrocompostos *in vivo* pode ser descrito como decorrente da redução do grupo nitro envolvendo diferentes intermediários e derivados reativos, como por exemplo, o ânion-radical nitro, nitroso, hidroxilamina e cátion-radical amino. A figura 1 mostra o processo de redução completa do grupo nitro até o grupo amino, onde seis elétrons estão envolvidos e a hidroxilamina é o produto da biorredução (NASCENTE, 2009).

Figura 1 - Biorredução do grupo nitro.



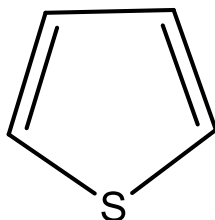
Fonte: NASCENTE, 2009.

A redução dos nitrocompostos pode ocorrer tanto em meio aeróbio quanto em meio anaeróbio, em ambas as situações a primeira etapa leva a formação do

ânion-radical nitro, processo que envolve um elétron. Sob condições anaeróbicas, o ânion-radical nitro pode ser transformado no correspondente nitroso. Sob condições aeróbicas, o ânion-radical nitro reage com o oxigênio de acordo com o ciclo fútil para formar ânion superóxido, que são transformados em peróxido de hidrogênio pela reação da superóxido dismutase. Caso o peróxido de hidrogênio se acumule, poderá gerar radicais hidroxila, altamente prejudiciais à célula (VIODÉ et al., 1999).

Outros compostos que merecem destaque devido sua à versatilidade e estrutura molecular simples são os tiofenos que pertencem a classe de compostos heterocíclicos contendo enxofre (Figura 2). Esses compostos são capazes de fornecer ligantes para diversos alvos. Inúmeros relatos na literatura confirmam que substituições na estrutura do tiofeno resultam em grandes perfis biológicos e farmacológicos. As propriedades desses compostos incluem atividades anti-inflamatória, anticonceptivo, anticonvulsivante e antitumoral. Essa classe pode ser naturalmente encontrada em raízes, na estrutura de carvão, em metabólitos de fungos e plantas. Estudos mais recentes, ainda relatam que alguns derivados de tiofeno extraídos de plantas são eficazes contra as formas promastigotas de *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum*, *Leishmania braziliensis* e *L. amazonensis* (REFAT; FADDA, 2013; RODRIGUES et al., 2015).

Figura 2 - Estrutura do anel tiofeno.



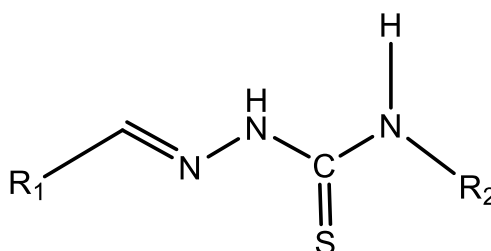
Fonte: Autora, 2020.

Compostos ligados a um grupo nitro, em especial na porção 5-nitrotiofeno, tem apresentado atividades biológicas melhoradas com destaque para potentes agentes antifúngicos (ARAÚJO NETO et al., 2017). No entanto o grande interesse do estudo dos derivados tiofênicos está relacionado com suas atividades citotóxicas frente a diversas linhagens de células cancerígenas (VENKATARAMIREDDY et al., 2018).

1.2 Tiossemicarbazonas

As tiossemicarbazonas (TSC) são compostos orgânicos nitrogenados que pertencem à família das iminas (Figura 3). Devido à sua grande versatilidade química e promissoras aplicações biológicas, as tiossemicarbazonas recebem destaque no campo da medicina química. Importantes características com potencial farmacológico já foram relatadas, dentre elas: antiproliferativo, atividades antiparasitárias, antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicos (ARAÚJO NETO et al., 2017) e antitumoral (ALMEIDA et al., 2015).

Figura 3 - Estrutura química básica das tiossemicarbazonas.



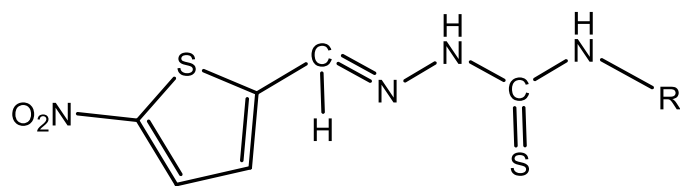
Fonte: Autora, 2020.

Além disso, as TSC são compostos que apresentam versatilidade de obtenção, ampla aplicação como intermediários de núcleos importantes, principalmente na síntese de heterocíclicos, além de não necessitarem de armazenagem especial e não serem sensíveis à luz (MARQUES, 2017). Em função do seu largo espectro de ação tornam esta classe muito importante para pesquisa de novos fármacos. Na literatura existem diversas atribuições à suas propriedades biológicas, no entanto esse mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado e pode acontecer através da inibição de múltiplos alvos (TENÓRIO et al., 2005).

1.3 Derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico

Tendo em vista a importância biológica das classes supracitadas, foram sintetizados derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico (Figura 4) no Laboratório de Química em Inovação Terapêutica (LQIT/UFPE). Estes derivados foram estudados a fim de avaliar o potencial antifúngico por ensaios *in vitro* contra cepas de *Candida sp.* e *Cryptococcus neoformans*. Os compostos apresentaram atividade antifúngica promissora especialmente contra as formas de *Candida*, associada a uma citotoxicidade moderada (ARAÚJO NETO et al., 2017).

Figura 4 - Estrutura dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico.



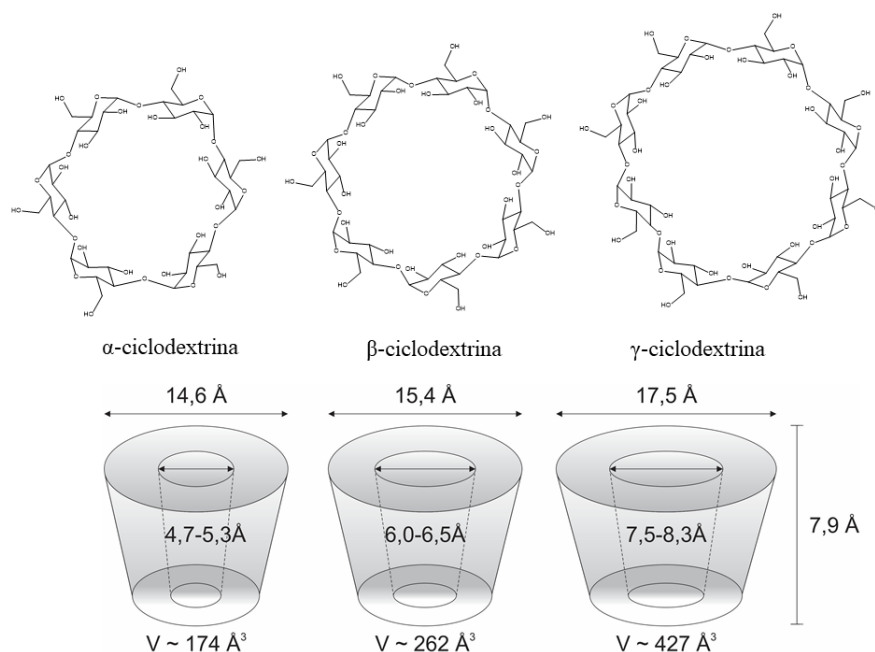
Fonte: Adaptado de Araújo Neto et al., 2017.

Em seu estudo Marques e colaboradores (2019) avaliaram a citotoxicidade e atividade antitumoral de nove dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico sintetizados por Araújo Neto e colaboradores (2017) contra sete linhagens de células tumorais, o qual demonstrou que os derivados são uma classe promissora de compostos para terapia do câncer. O grupo nitro que está associado a esses derivados promove um aumento significativo da atividade antitumoral, possivelmente favorecendo reações de oxi-redução, já descritas como um dos principais mecanismos de ação dos nitro-heterocíclicos (MARQUES et al., 2019). No entanto esses compostos apresentam uma limitação devido sua baixa solubilidade em meio aquoso, que precisa ser contornada.

1.4 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas são polímeros cíclicos formados por moléculas de glicose ligadas por meio de ligações α 1-4. Elas podem conter unidades variáveis de glicose, e são classificadas em: α -CD quando apresenta seis unidades de glicose, β -CD quando apresenta sete unidades de glicose e γ -CD quando apresenta oito (Figura 5). Sua estrutura forma uma cavidade em forma de cone que permite a acomodação na parte apolar de inúmeras moléculas, o que pode levar a formação de complexos de inclusão estáveis ou nanoestruturas supramoleculares organizadas por meio de interações não covalentes (PINTO et al., 2005; SILVA et al., 2017).

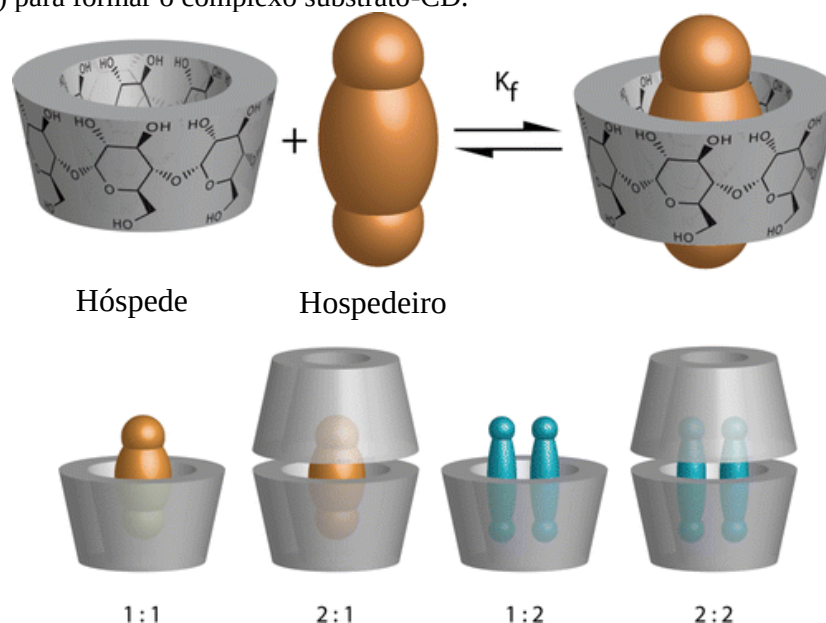
Figura 5 - Estrutura molecular e propriedades de α -, β - e γ -CD.



Fonte: Adaptado de Silva, 2017.

Constituindo uma nova classe de excipientes terapêuticos, a complexação com CD é alvo de muitos estudos, pois suas características aumentam a biodisponibilidade, a segurança e a estabilidade dos medicamentos, levando em alguns casos ao aumento do índice terapêutico de muitas substâncias. A orientação dos grupos hidroxila das CD conferem à molécula propriedades físico-químicas especiais, capaz de reter moléculas hidrofóbicas em seu interior, enquanto os grupos hidroxila externos formam ligações de hidrogênio com as moléculas de água, levando a hidratação ao redor da molécula de CD dissolvida. Além disso, as CDs têm sido amplamente utilizadas como sistema hospedeiro (*host-guest*) para complexar com produtos naturais não polares (Figura 6) (RODRIGUES et al., 2017).

Figura 6 - Representação esquemática da ciclodextrina livre (hóspede) e do substrato (hospedeiro) para formar o complexo substrato-CD.



Fonte: Adaptado de CRINI, 2014.

Inúmeras aplicações são descritas para a utilização de complexos formados com ciclodextrinas, quando fármacos lipofílicos são utilizados como moléculas hospedeiras, o uso das CD pode aumentar a solubilidade aquosa, sem causar alteração na capacidade intrínseca desses fármacos de permear membranas lipofílicas. Além de poder prolongar e aumentar a duração e intensidade dos medicamentos (QUINTANS, et al., 2013). Outra aplicação de destaque refere-se ao reconhecimento quiral, destacando-se como parte crucial para estudo desses compostos, pois seu arranjo de átomos contribui para a formação de estruturas estereoquímicas únicas, conferindo as CDs capacidade de se ligar seletivamente a algumas moléculas (WANG et al., 2019). É possível citar ainda aplicações como a diminuição da volatilidade de perfumes, redução ou eliminação de gostos e/ou odores desagradáveis presente em fármacos e alimentos, a redução na irritabilidade (ocular ou gastrointestinal), diminuindo a toxicidade e possibilitando a liberação *in loco* de compostos biologicamente ativos, prevenindo interações e incompatibilidades (FERREIRA et al., 2010).

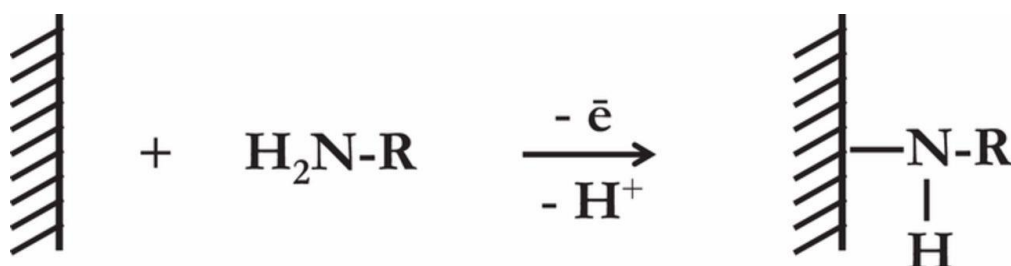
Devido à sua estrutura peculiar, as CDs passaram a ser amplamente utilizadas em sensores eletroquímicos. A fim de se obter imobilizações robustas e duráveis, a metodologia preferível é através de ligações covalentes. Diversas metodologias foram aplicadas para imobilizar as CDs na superfície do ouro (FERREIRA et al., 2010; LOZANO et al., 2017). Porém, materiais de carbono são preferíveis devido sua maior

possibilidade de aplicações, em virtude da alta estabilidade mecânica, boa condutividade elétrica e altas janelas de potenciais, associado ainda ao seu baixo custo quando comparado a metais nobres. Porém, na maioria dos casos a imobilização da CD em materiais de carbono é realizada com a utilização de um mediador ou através de eletrodeposição, estes procedimentos são demorados e exige muitas etapas que por vezes inviabiliza a utilização (KWON; WILSON, 2010).

Além disso, é possível associar as ciclodextrinas a possibilidade de funcionalização através da substituição de suas hidroxilas por outro grupo funcional, como: grupos amino, tióis e outros, expandindo o escopo de aplicações (WANG et al., 2019).

Recentemente Silva e Colaboradores (2019) propuseram a imobilização covalente de β -CD-aminada na superfície do eletrodo de carbono vítreo (ECV) sem a utilização de mediadores ou ligantes adicionais. O procedimento foi realizado por meio de duas etapas que envolvem uma etapa de oxidação em meio ácido como pré-tratamento da superfície do ECV e a eletro-oxidação da amina em meio aquoso, levando a formação de uma ligação covalente, através do grupo amina com os grupos funcionais que contém oxigênio presentes na borda do ECV (Figura 7), permitindo que as cavidades da β -CD fiquem expostas a solução.

Figura 7 - Mecanismo geral de compostos contendo amina.



Fonte: SILVA; MARCO; YAÑEZ, 2019.

O mecanismo de oxidação anódica envolve a geração de radicais, que reagem com a superfície do ECV polido, que leva a formação dessa ligação covalente estável entre a superfície e a CD. Além de uma excelente cobertura da superfície do eletrodo. (SILVA; MARCO; YAÑEZ, 2019).

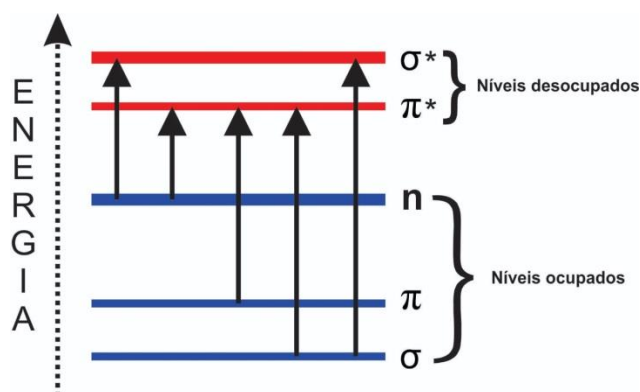
1.5 Técnicas Espectroscópicas

Técnicas espectroscópicas vem sendo aplicadas no estudo de interações entre moléculas biologicamente ativas e macromoléculas, aqui em destaque a técnica de espectroscopia no UV-Visível (UV-Vis) a qual é baseada na atenuação da radiação eletromagnética por uma substância absorvente. A partir da aplicação dos métodos é possível acompanhar alterações no perfil do espectro em função da interação entre moléculas. Essas alterações podem ser o aumento ou diminuição da absorção eletrônica e deslocamento seja para maiores comprimentos de onda (batocrômico), ou menores comprimentos de onda (hipsocrômico) (PASSOS; SARAIVA, 2019; SILVA, 2019).

A energia total de uma molécula compreende as energias eletrônicas, vibracionais e rotacionais. Ao absorver energia um elétron é promovido de um orbital ocupado para um orbital desocupado de maior energia potencial, promovendo alteração da energia eletrônica da molécula em consequência de transições desses elétrons de valência (PASSOS; SARAIVA, 2019).

É possível observar que na maioria das moléculas, os orbitais ocupados de menor energia são os σ , correspondente as ligações sigma; os orbitais π estão em níveis de energia um pouco mais alto, ou pares isolados ou orbitais não ligantes (n), em energia ainda mais altas. Já os orbitais desocupados ou antiligantes (π^* e σ^*) são os de maior energia, figura 8. (PAVIA et al., 2010).

Figura 8 - Níveis de energia eletrônica e transições.



Fonte: Adaptado de Pavia et al., 2010.

A transição mais provável é do orbital ocupado de maior energia (HOMO) para o orbital desocupado de menor energia (LUMO). A relação entre a energia absorvida em uma transição eletrônica e a frequência (ν), o comprimento de onda (λ) e o número de onda ($\bar{\nu}$) é:

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = h\bar{\nu}c \quad \text{Equação 1}$$

onde, h é a constante de Planck, c é a velocidade da luz e ΔE é a energia absorvida pela molécula na transição eletrônica de um estado de menor energia para um de maior energia. A energia absorvida depende da diferença entre os dois estados, quanto menor, maior será o comprimento de onda de absorção (SILVA, 2019).

A radiação apresenta uma faixa espectral, que diferem em termos de faixa de energia e tipo de excitação. Essa atenuação resulta da deflexão, dispersão, absorção ou interferências nos termos de faixas de energia e tipo excitação. No entanto medições precisas podem ser realizadas registrando apenas a absorvância, que embora apresente algumas limitações é proporcional à concentração do analito, esta relação é chamada de lei de Beer e é comumente escrita como $A = \varepsilon \times b \times c$, onde A significa absorbância, ε é o coeficiente de absortividade molar (dependente do comprimento de onda) em $\text{mol}^{-1} \text{L cm}^{-1}$, b é o comprimento do caminho em cm e c é a concentração do absorvedor em mol L^{-1} . Sendo assim, possível avaliar interações entre as moléculas através das mudanças no perfil do espectro (PASSOS; SARAIVA, 2019; SILVA, 2019).

Com a utilização da técnica de espectrofotometria no UV também é possível aplicar o método das variações contínuas (*job's plot*) que permite inferir sobre a estequiometria da formação de complexos. No método de Job, diferentes quantidades de soluções de uma molécula de interesse e um agente complexante são misturadas, variando a proporção molar dos reagentes de maneira compensatória que sua concentração molar total seja mantida constante. Sob determinadas circunstâncias, a quantidade máxima de complexo se formará na solução em que as duas espécies estão presentes na proporção de combinação correta, que pode ser constatada a partir da diferença de intensidade de absorção (ΔA) entre a solução contendo a molécula de interesse e misturas desta com o agente complexante (FACCHIANO; RAGONE, 2003; INGHAM, 1975; MELO et al., 2007).

1.6 Técnicas Eletroquímicas

Estudos eletroquímicos estão relacionados a fenômenos químicos associados ao processo de transferência de elétrons, que podem ocorrer em solução ou na superfície do eletrodo. A eletroquímica é de grande importância para o meio biológico, tendo em

vista que muitos dos processos fisiológicos envolvem processos de transferência de elétrons. Em meio biológico, reações de transferência de elétrons são observados em células vivas, desde o seu metabolismo até sua defesa. Numerosos processos de transferências de elétrons no meio biológico são catalisados por enzimas, que para desempenharem sua função com eficiência necessitam de um ambiente muito ajustado. O ambiente redox é mantido ajustado por um complexo grupo de proteínas, peptídeos e genes, regido por transformações redox e não-redox, que podem ser catalisadas por enzimas, envolvendo transferência de elétrons e átomos. Qualquer alteração nesse sistema pode gerar um desequilíbrio no ambiente celular (PAULA, 2006; SILVA, 2019).

O processo eletroquímico é baseado na aplicação de um potencial capaz de provocar a oxidação ou redução de analitos de interesse, tornando as técnicas eletroquímicas o método padrão para estudo de reações redox (SILVA, 2019). Além disso, as técnicas eletroquímicas apresentam muitas vantagens quando comparadas a métodos, entre eles, baixo consumo de reagentes, possibilidade de miniaturização, facilidade no controle de variáveis e diversidade de técnicas (MOURA, 2008).

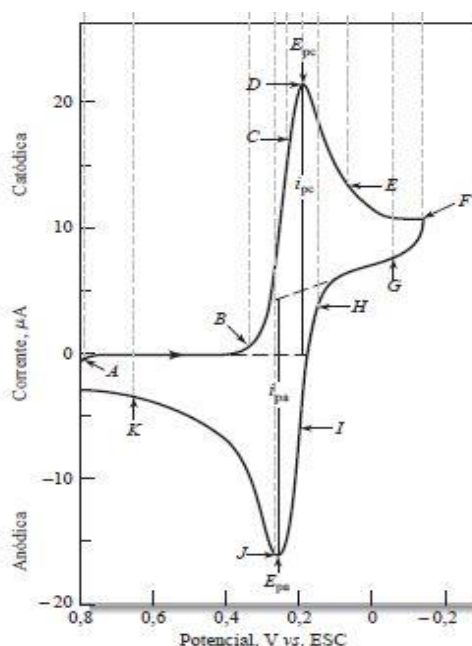
1.6.1 Voltametria cíclica

As diferentes técnicas eletroanalíticas desempenham um papel fundamental para o desenvolvimento de métodos de análise. Dentre esses métodos um dos mais utilizados e populares para obter informações sobre sistemas eletroquímicos é a voltametria cíclica (VC), devido sua ampla utilização e emprego no estudo qualitativo dos processos eletroquímicos, na detecção de intermediários de reação, na observação e no acompanhamento de reações envolvendo produtos formados nos eletrodos. Essa técnica permite obter informações rapidamente, sobre processos de transferência de elétrons, sobre a cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons, além da possibilidade de avaliar reações químicas acopladas a processos adsorptivo e auxiliar na elucidação do mecanismo eletródico aplicado (SILVA, 2017; SKOOG; WEST; HOLLER, 2009). A VC também é inestimável para o estudo de reações químicas iniciadas por transferência de elétrons.

A VC consiste em varrer o potencial (E) com o tempo e registrar a corrente versus o potencial, o E aplicado ao eletrodo é submetido a variação, em uma velocidade conhecida até atingir o potencial final pré-estabelecido, posteriormente essa varredura é

revertida ao valor inicial na mesma velocidade. A resposta obtida a essa perturbação é um par de picos catódico e anódico para uma transferência de elétrons reversível (Figura 9) e apenas um pico caso o processo seja irreversível (PALAGONIA et al., 2019; SKOOG; WEST; HOLLER, 2009).

Figura 9 - Voltamograma cíclico para um sistema reversível de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 6 mmol L⁻¹ e KNO_3 1 mol L⁻¹, com destaque para os parâmetros mais importantes.



Fonte: SKOOG; WEST; HOLLER, 2009

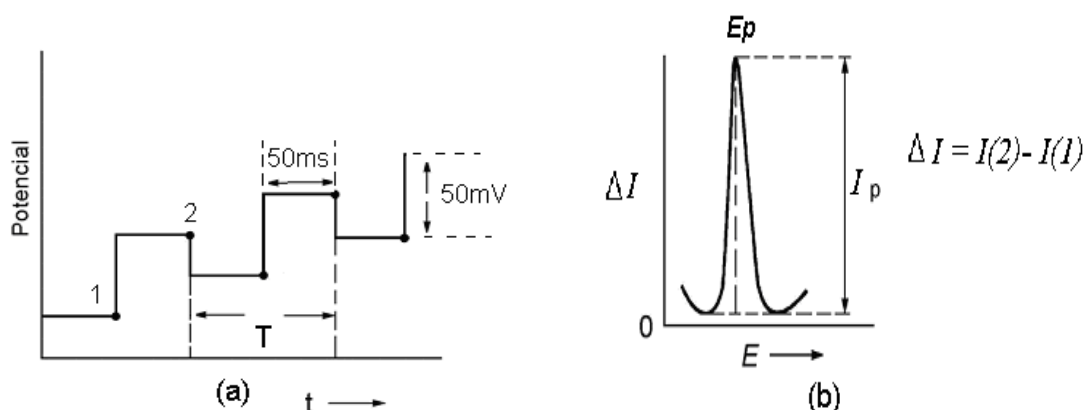
O processo eletródico pode ser avaliado através dos potenciais de pico catódico e anódico (E_{pc} e E_{pa}), as correntes de pico catódico e anódico (i_{pc} e i_{pa}) e os potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) ou de pico a meia altura de onda (E_{p2}). Através desses dados obtidos é possível avaliar se o processo de transferência de elétrons é reversível ou não, a presença de reações químicas acopladas, adsorção e fenômenos catalíticos, a caracterização do fenômeno que controla a corrente de pico, se a velocidade de varredura influencia no potencial e na corrente e também determinar a concentração de substâncias eletroativas (MOURA, 2008; SILVA, 2017).

1.5.2 Voltametria de pulso diferencial

A voltametria de pulso diferencial (VPD) é uma técnica muito semelhante à voltametria de pulso normal (VPN), amplamente utilizada em medidas eletroanalíticas envolvendo espécies orgânicas e inorgânicas. Em VPD é possível obter um baixo limite de detecção e assim como na VPN o degrau de potencial é a base da voltametria. Na

VPD, pulsos de amplitude fixos sobrepostos a uma rampa de E crescente são aplicados ao eletrodo de trabalho, normalmente onde não há reação faradáica. O aumento de amplitude dos pulsos é sempre igual e a corrente é medida no fim de cada pulso, cuja duração vai normalmente de 5 ms a 100 ms; o intervalo entre os pulsos é de 2 – 4 s (Figura 10)(BRETT; BRETT, 1996; SILVA, 2019).

Figura 10 - (a) Representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em voltametria de pulso diferencial, a corrente é amostrada em 1 e 2 e a diferença entre elas é que é registrada: $\Delta I = I(2) - I(1)$. (b) Voltamograma de VPD.



Fonte: (SKOOG; WEST; HOLLER, 2009)

Na VPD a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e ao final de cada pulso, as correntes obtidas são subtraídas, pois a primeira refere-se a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradáica, deste modo são apresentadas em forma de gráfico frente ao potencial da rampa linear, gerando o voltamograma. Devido sua sensibilidade já relatada, esta técnica possibilita uma diminuição da contribuição da corrente capacitiva no sinal obtido, pois esta não depende da concentração da espécie em estudo (SOUZA et al., 2003).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Empregar β -ciclodextrina (β -CD) em derivados do 5-nitrotiofenotiossemicarbazônico, visando maior biodisponibilidade de compostos ativos e avaliação espectroscópica e eletroquímica da interação entre eles.

2.2 Específico

Avaliar a interação entre β -ciclodextrina e derivados do 5-nitrotiofenotiossemicarbazônico por espectroscopia no UV-vis;

Modificar eletrodo de carbono vítreo com β -ciclodextrina aminada sem a utilização de intermediários;

Avaliar interação dos derivados do 5-nitrotiofenotiossemicarbazônico, por eletroquímica através de eletrodo modificado com β -CD;

Determinar constantes de interação pelas técnicas utilizadas, quando possível.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e Solventes

Todos os reagentes químicos utilizados nas análises e listados na tabela abaixo foram de grau analítico. Todas as soluções foram preparadas em água deionizada grau Milli-Q ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

Tabela 1 - Lista de Reagentes utilizados.

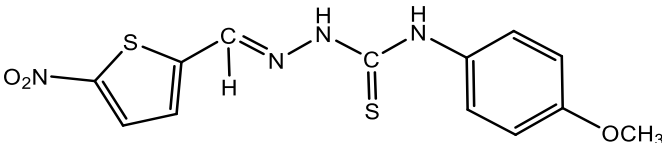
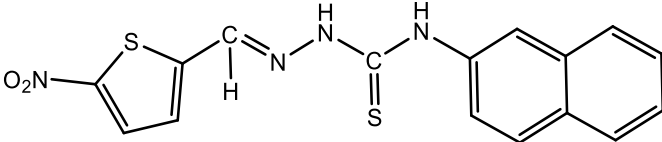
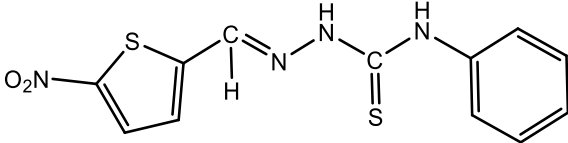
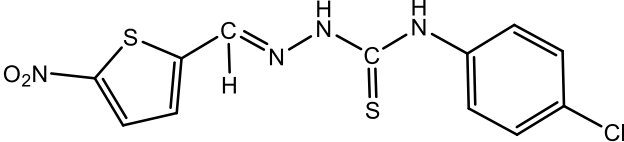
Reagentes	Aquisição
β -Ciclodextrina	Sigma Aldrich
β -Ciclodextrina aminada	
Ácido Ferroceno carboxílico	
Ferricianeto de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)	Êxodo®
Ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$)	
Etanol P.A.	Panreac®
Ácido sulfúrico (H_2SO_4)	
Fosfato de sódio diidratado (Na_2HPO_4)	Vetec Química Fina Ltda
Fosfato de sódio monoidratado (NaH_2PO_4)	
Cloreto de Potássio (KCl)	

Fonte: Autora, 2020.

3.1.1 Compostos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos

Os derivados 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos LNN01, LNN03, LNN05, LNN06, (Tabela 2) foram sintetizados no Laboratório de Química em Inovação Terapêutica LQIT/UFPE.

Tabela 2 - Estruturas químicas dos derivados 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos.

Composto	Estrutura
LNN01	
LNN03	
LNN05	
LNN06	

Fonte: Adaptado de ARAÚJO NETO et al., 2017.

3.2 Estudos Espectroscópicos

Os espectros no UV-vis foram registrados em um espectrofotômetro NanoDrop de arranjo de diodos Hewlett-Packard 8453A, utilizando uma cubeta de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

3.6.1 Análise Espectroscópica dos Complexos LNN: β -CD.

Soluções dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos (1 mmol L^{-1}) foram preparadas em 50% de etanol. Alíquotas dessas soluções foram retiradas, diluídas e misturadas à β -CD em quantidades apropriadas para obter concentrações de $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ das amostras de LNN, cujas concentrações variaram de $5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ a $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para β -CD. As soluções foram analisadas por espectroscopia no UV-Vis, no comprimento de onda 480 nm após 2h de agitação no Shaker à 200 rpm e $25 \text{ } ^\circ\text{C}$. Os valores de absorção foram medidos na faixa de comprimento de onda de 220 a 470 nm.

3.6.2 Estequiometria de interação entre LNN: β -CD por espectrofotometria no UV-vis

O método de Job plot foi adotado na tentativa de determinar a estequiometria dos complexos LNN: β -CD (MELO et al., 2007). Misturas de cada um dos complexos LNN: β -CD foram preparadas variando a fração molar de cada substância de 0,1 a 0,9,

mantendo a concentração total da solução $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ (Tabela 3) em água deionizada, protegidas da luz em todo o processo.

Tabela 3 - Protocolo do método das variações contínuas (*Job's Plot*) para determinação da estequiometria dos complexos LNN: β -CD.

β -CD	LNN	R	Estequiometria
9×10^{-5}	1×10^{-5}	0,1	1:9
8×10^{-5}	2×10^{-5}	0,2	1:4
7×10^{-5}	3×10^{-5}	0,3	2:2,33
6×10^{-5}	4×10^{-5}	0,4	1:1,5
5×10^{-5}	5×10^{-5}	0,5	1:1
4×10^{-5}	6×10^{-5}	0,6	1,5:1
3×10^{-5}	7×10^{-5}	0,7	2,33:1
2×10^{-5}	8×10^{-5}	0,8	4:1
1×10^{-5}	9×10^{-5}	0,9	9:1

Fonte: Autora, 2020.

Após 24h de agitação no Shaker à 200 rpm e 25°C as soluções são analisadas por espectroscopia no UV-Vis, no comprimento de onda 274 nm. É calculada a diferença de intensidade de absorção (ΔA) entre as soluções contendo apenas os derivados (LNN) e as misturas destes com o agente complexante (β -CD) multiplicada pela razão molar (R) da substância, esses valores encontrados são plotados em um gráfico versus a razão molar da substância onde o ponto de mudança na inclinação da curva corresponde à razão estequiométrica do complexo.

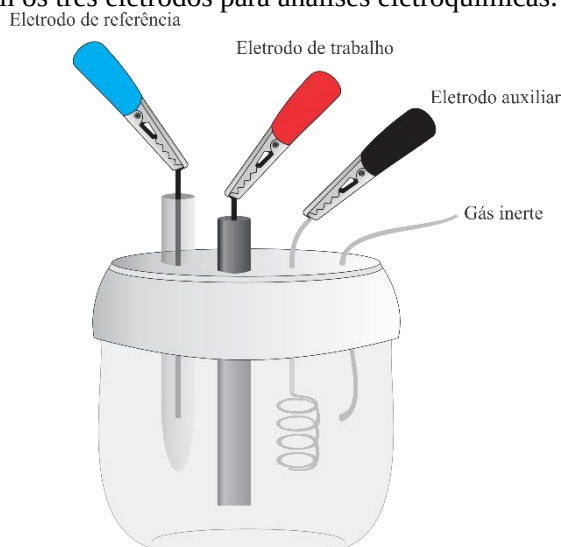
3.3 Estudos Eletroquímico

3.3.1 Condições das medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas através do equipamento potenciostato/galvanostato, PGSTAT12 (serial n° AUT73222) da Autolab® e o GPES como interface.

Para os estudos eletroquímicos utilizou-se um sistema de três eletrodos: eletrodo de carbono vítreo (CV) como eletrodo de trabalho; eletrodo de fio de platina, como auxiliar; e $\text{Ag}^+|\text{AgCl}|\text{Cl}^-$ (KCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$), como eletrodo de referência (Figura 11).

Figura 11 - Sistema com os três eletrodos para análises eletroquímicas.



Fonte: Autora, 2020.

Os gráficos processados foram tratados utilizando o programa Microlab Origin 9,0.

O eletrodo de trabalho passou por uma limpeza mecânica antes de cada varredura de potencial. Foi polido com alumina ($0,3\ \mu\text{m}$) e lavado com água, antes de ser levado ao ultrassom por 30 s em etanol, para remoção de possíveis partículas residuais.

Após o procedimento de limpeza, foi realizado o teste em Voltametria Cíclica com a sonda eletroquímica ferri/ferrocianeto de potássio (1:1) $1,0\ \text{mmol L}^{-1}$ em KCl $0,1\ \text{mol L}^{-1}$ nos potenciais de $-0,3$ à $0,6\ \text{V}$, para verificar a área eletroativa do eletrodo e a eficiência do polimento.

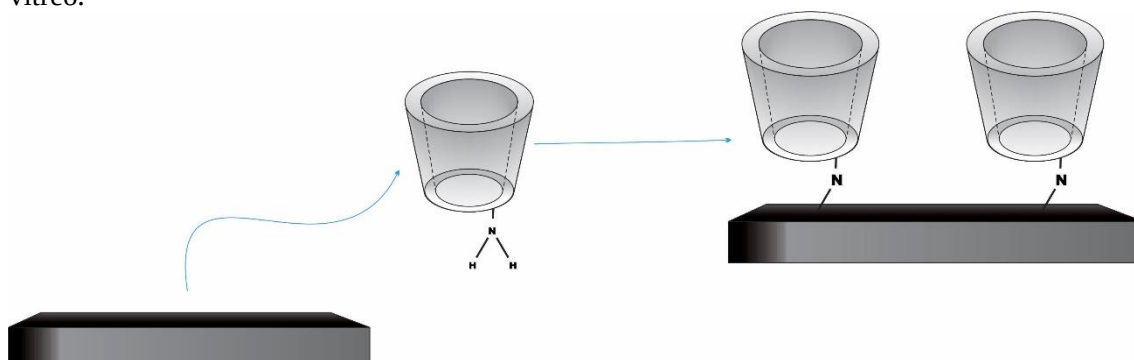
3.3.2 Estudo de velocidade

O estudo foi realizado utilizando técnica de voltametria cíclica variando a velocidade de varredura de $0,010$ a $1\ \text{V} \cdot \text{s}^{-1}$ e mantendo fixa as concentrações dos analitos em $40\ \mu\text{mol L}^{-1}$, utilizando como eletrólito de suporte tampão fosfato (pH 7,0 e força iônica $0,2\ \text{mol L}^{-1}$). Para o preparo do tampão, foram utilizados fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4) dissolvidos em água purificada em um sistema Milli-Q Millipore. O pH da solução foi determinado em pH-metro modelo Quimis Q400A.

3.3.3 Imobilização de β -Ciclodextrina aminada em eletrodo de carbono vítreo

Após a limpeza mecânica, o eletrodo de CV foi submetido a uma etapa de oxidação que consistiu em 5 ciclos de potencial entre -0,5 e 1,4 V em 0,5 mol L⁻¹ H₂SO₄ a uma taxa de varredura de 0,5 V, mantendo o ECV em 1,4 V por 10 s. Posteriormente, em uma segunda etapa, a imobilização eletroquímica da β -CD-NH₂ (Figura 12) no ECV foi realizada através de oxidação em um ciclo potencial entre 0,2 e 1,6 V em solução de β -CD-NH₂ 8 mmol L⁻¹ em tampão fosfato a uma velocidade varredura de 0,050 v.s⁻¹. Todas as soluções foram desgaseificadas com argônio antes dos experimentos (SILVA; MARCO; YAÑEZ, 2019).

Figura 12 - Representação esquemática da imobilização da β -CD-NH₂ no eletrodo de carbono vítreo.



Fonte: Autora, 2020.

3.3.4 Caracterização do Eletrodo modificado com β -CD-NH₂.

Para avaliar a cobertura da superfície do CV com a β -CD-NH₂, foram realizadas voltametrias cíclicas utilizando como analitos ácido ferroceno carboxílico (Fc-CO₂) (10 μ mol L⁻¹) e K₃[Fe(CN)₆] (1 mmol L⁻¹) tampão fosfato como eletrólito de suporte.

3.3.5 Estudo dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazonicos com β -CD imobilizada na superfície do carbono vítreo.

O estudo foi realizado através de técnica de VPD em atmosfera inerte sem a presença de oxigênio, utilizando como eletrólito de suporte tampão fosfato (pH 7,0 e força iônica 0,2 mol L⁻¹), variando a concentração das substâncias até a saturação do sistema.

Com base nas curvas obtidas por VPD foi possível calcular a constante de formação do complexo com β -CD, com o uso do eletrodo modificado, utilizando uma derivada da isoterma de Langmuir.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudos espectroscópicos

4.1.1 Avaliação da formação do complexo de interação entre LNN- β -CD por espectrofotometria no UV-vis.

A avaliação da formação do complexo de interação entre β -CD e moléculas biologicamente ativas pode ser realizada empregando a técnica de espectrofotometria. Através desse método é possível acompanhar e avaliar mudanças no perfil do espectro de absorbância do substrato em função da adição de concentrações de β -CD. As mudanças que podem ser avaliadas são aumento ou diminuição da absorção eletrônica e deslocamentos no comprimento de onda, relacionados ao processo de encapsulação do substrato pela β -CD (MELO et al., 2007). Por meio desta técnica foi possível determinar a constante de formação entre os derivados do 5-nitrotiofenossemicarbazônicos (LNN) e a β -CD.

A formação do complexo de interação entre os LNN e β -CD foi avaliada no UV-vis, onde a concentração de cada derivado (LNN) permaneceu fixa em 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e a concentração de β -CD variando de 5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Aplicando a equação de Benesi-Hildebrand (equação 2) (FERREIRA et al., 2010) foi possível calcular a constante de dissociação K_D e formação $K_F = 1/K_D$ para LNN: β -CD:

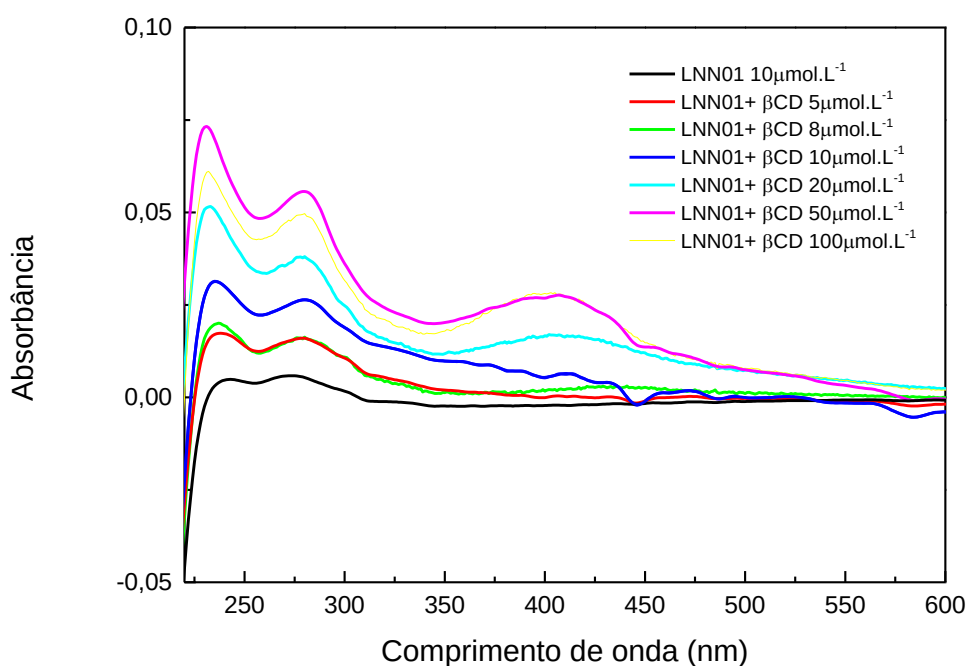
$$\frac{[\beta\text{-CD}][\text{LNN}]}{\Delta A} = \frac{K_D}{\Delta \epsilon} + \frac{[\beta\text{-CD}]}{\Delta \epsilon} \quad \text{equação 2}$$

Onde $\Delta \epsilon$ corresponde a variação da absortividade molar. Plotando os valores de $[\beta\text{-CD}][\text{LNN}]_0/\Delta A$ vs. $[\beta\text{CD}]$ obtém uma linha, $K_D = \text{intercepto} / \text{inclinação}$.

O espectro no UV-Vis da LNN01 em 5 % (v/v) EtOH (Figura 13) mostra três bandas de absorção onde sugere-se que a primeira banda em $\lambda = 241$ nm refere-se a energia média da transição $\pi \rightarrow \pi^*$ no anel aromático do metoxibenzeno presente na molécula, enquanto a segunda, em $\lambda = 275$ nm, é devida à transição $n \rightarrow \pi^*$ presente no grupo nitro e a banda em $\lambda = 404$ nm está relacionada à transição $n \rightarrow \pi^*$ na tiossemicarbazona.

O efeito hipercrômico observado na figura 13 para as três bandas de absorção após a adição da β -CD pode estar relacionado ao aumento da solubilidade do composto provocado pela interação da substância na cavidade da ciclodextrina. Os resultados nos sugerem que a relação estequiométrica entre o LNN01 e a β -CD é de 1:2, e que a β -CD pode interagir nas duas extremidades da molécula.

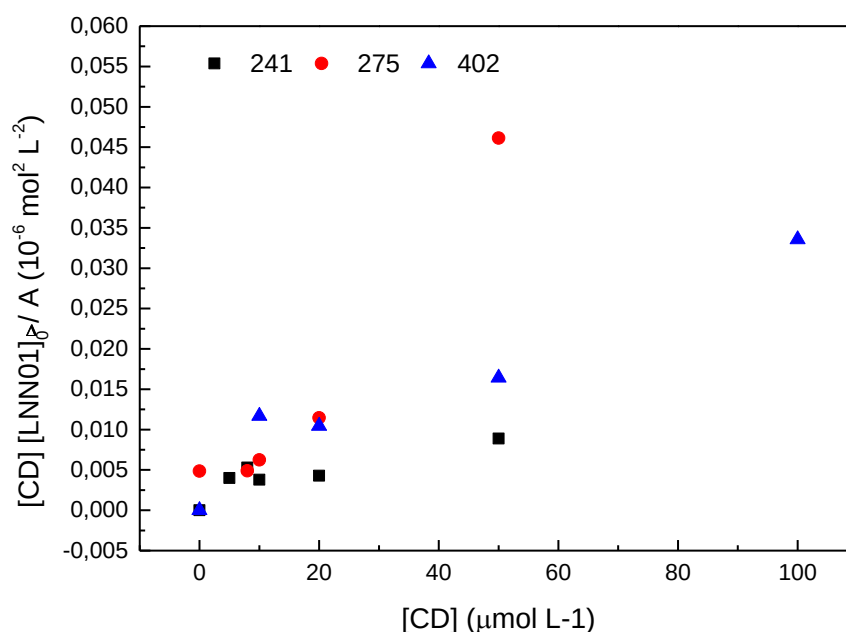
Figura 13 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN01 ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação.



Fonte: Autora, 2020.

Traçando o gráfico dos valores de $[\text{CD}] [\text{S}]_0 / \Delta A$ contra $[\text{CD}]$ foi possível traçar uma linha. Na qual o quociente entre os valores do intercepto do eixo y e da inclinação nos dá o valor de K_D . A figura 14 mostra os resultados em ajustamentos à equação de Benesi-Hildebrand em comprimentos de onda de 241 a 402nm após 2h de incubação.

Figura 14 - Determinação da constante de equilíbrio do complexo LNN01: β -CD, de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand, para vários comprimentos de onda; [LNN01] = $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (5 % EtOH). Tempo de contato de 2h.



Fonte: Autora, 2020.

A tabela 4 nos mostra os resultados obtidos para três comprimentos de onda no qual obtivemos valores de K_F na ordem de grandeza de 10^4 e 10^5 para 2h de contato, a depender do comprimento de onda, tendo como valor médio $2,107 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$.

Tabela 4 - Constante de dissociação e formação do complexo LNN01: β -CD para 2 h de contato.

λ / nm	$K_D / \text{mol. L}^{-1}$	$K_F / \text{L.mol}^{-1}$	R
241	$1,675 \times 10^{-5}$	$5,969 \times 10^4$	0,861
275	$2,011 \times 10^{-6}$	$4,973 \times 10^5$	0,958
402	$1,332 \times 10^{-5}$	$7,511 \times 10^4$	0,963

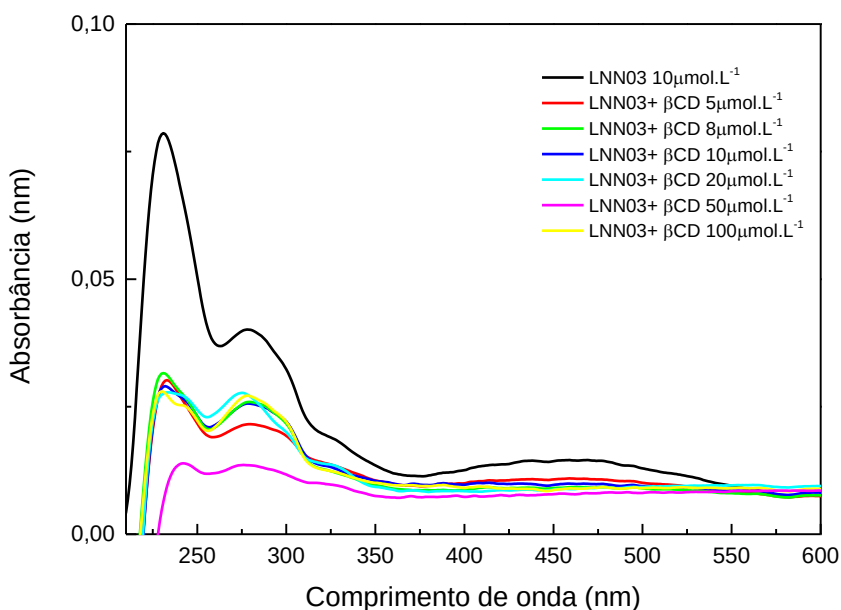
Fonte: Autora, 2020.

Lozano e colaboradores (2018) realizaram o estudo da complexação de Timol com β -CD e o valor encontrado para a constante de formação foi de $2,80 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$. Em outro estudo realizado por Silva e colaboradores (2017) a formação do complexo entre um nitrocomposto e a β -CD foi realizada, e o valor da constante calculado foi de $7,92 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$. De modo que o valor de constante calculada para o LNN01 apresenta ordem de grandeza semelhante aos exemplos descritos.

Os espectros no UV-Vis da LNN03 em 5 % (v/v) EtOH (Figura 15) mostram três bandas de absorção onde sugere-se que a primeira em $\lambda = 231$ nm pode ser atribuída a energia de transição $\pi \rightarrow \pi^*$ no anel aromático presente dos anéis do naftaleno, enquanto a segunda, em $\lambda = 275$ nm, é devida à transição $n \rightarrow \pi^*$ presente no grupo nitro e a banda em 470 nm é referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ presente no sistema de anel conjugado do radical naftaleno presente na molécula.

O efeito hipocrômico observado na figura 15 para as três bandas de absorção após a adição da β -CD, pode estar relacionado ao baixo valor calculado para K_D , que será apresentado a seguir, sugerindo assim uma baixa desagregação molecular. A partir destes resultados podemos sugerir que a relação estequiométrica entre o LNN03 e a β -CD é de 1:2, sugerindo assim que a β -CD interage nas duas extremidades da molécula.

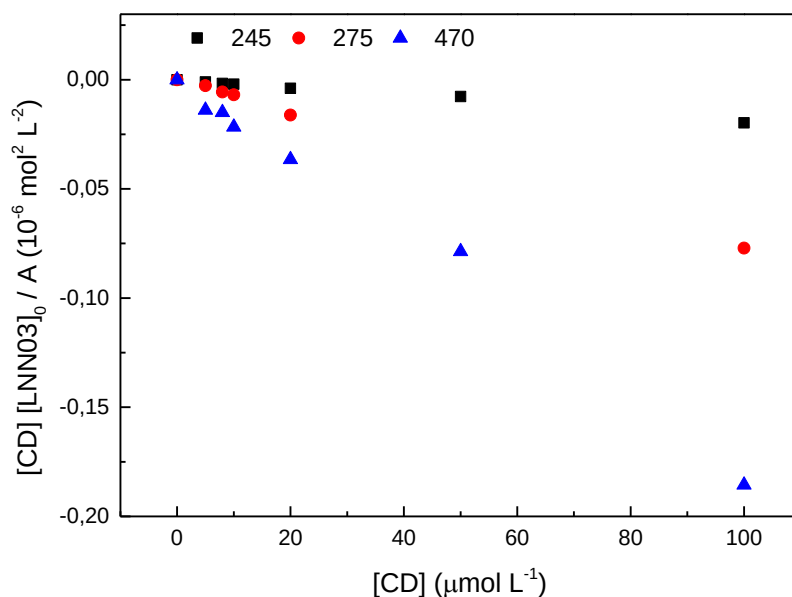
Figura 15 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN03($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação.



Fonte: Autora, 2020.

A partir dos dados obtidos podemos traçar o gráfico dos valores de $[CD] [S]_0 / \Delta A$ contra $[CD]$, assim foi possível calcular a K_D assim como para o LNN01. A figura 16 mostra os resultados em ajustamentos à equação de Benesi-Hildebrand em comprimentos de onda de 231 a 470 nm com um tempo de contato de 2h.

Figura 16 - Determinação da constante de equilíbrio do complexo LNN03: β -CD, de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand, para vários comprimentos de onda; [LNN03] = 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (5 % EtOH). Tempo de contato de 2h.



Fonte: Autora, 2020.

Para o LNN03 a absorvância diminuiu com o aumento da concentração de β -CD, esse efeito pode ser justificado pelo tamanho da cavidade da CD comparado ao grupo funcional naftaleno. Uma vez que o grupo não consegue passar pela cavidade menor da ciclodextrina, deste modo quando a substância está dentro da cavidade não é possível observar transições referente a esse grupo funcional.

A tabela 5 nos mostra os resultados obtidos para três comprimentos de onda no qual obtivemos valores de K_F na ordem de grandeza de 10^6 para 2h de contato a depender do comprimento de onda, tendo como valor médio $2,174 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$.

Tabela 5 - Constante de dissociação e formação do complexo LNN03: β -CD para 2 h de contato.

λ / nm	$K_D / \text{mol. L}^{-1}$	$K_F / \text{L.mol}^{-1}$	R
231	$5,017 \times 10^{-7}$	$1,993 \times 10^6$	0,993
275	$5,357 \times 10^{-7}$	$1,867 \times 10^6$	0,999
470	$3,755 \times 10^{-7}$	$2,663 \times 10^6$	0,996

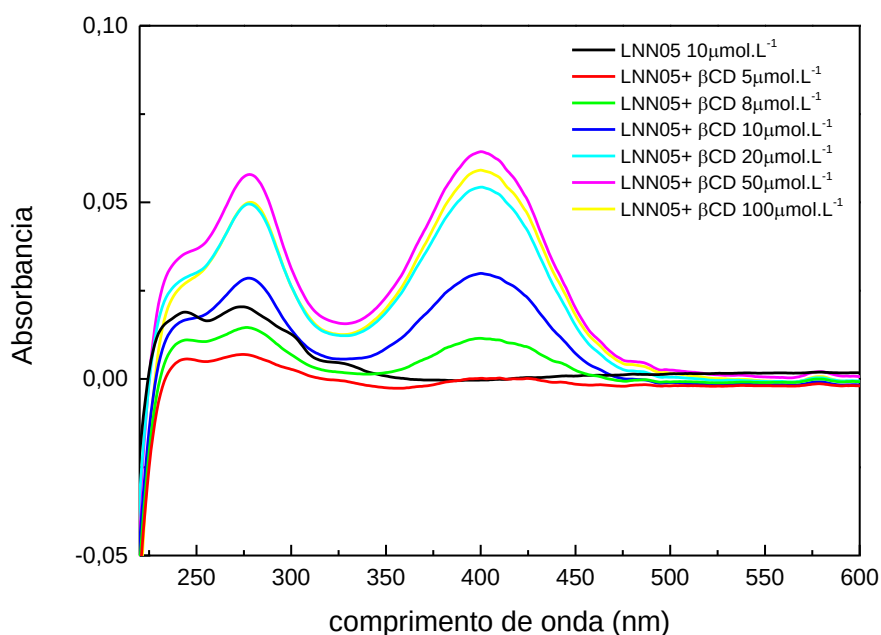
Fonte: Autora, 2020.

Ferreira e colaboradores (2010) estudaram a complexação de mangiferina com β -CD o valor médio encontrado de K_F foi de $1,6 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$. Comparando o valor da K_F do exemplo citado e nos casos mencionados anteriormente, os valores obtidos em outros estudos a K_F obtida para o LNN03: β -CD apresentou ordem de grandeza dez vezes superior.

O LNN05 apresenta três bandas de absorção obtidas através dos espectros no UV-Vis em 5 % (v/v) EtOH (Figura 17) onde podemos acompanhar a evolução do espectro em relação a adição de β -CD. A primeira banda em $\lambda = 245 \text{ nm}$ pode ser atribuída a energia média da transição $\pi \rightarrow \pi^*$ no anel benzeno presente na molécula, enquanto a segunda, em $\lambda = 275 \text{ nm}$, é devida à transição $n \rightarrow \pi^*$ presente no grupo nitro e a banda em $\lambda = 404 \text{ nm}$ está relacionada à transição $n \rightarrow \pi^*$ na tiossemicarbazona.

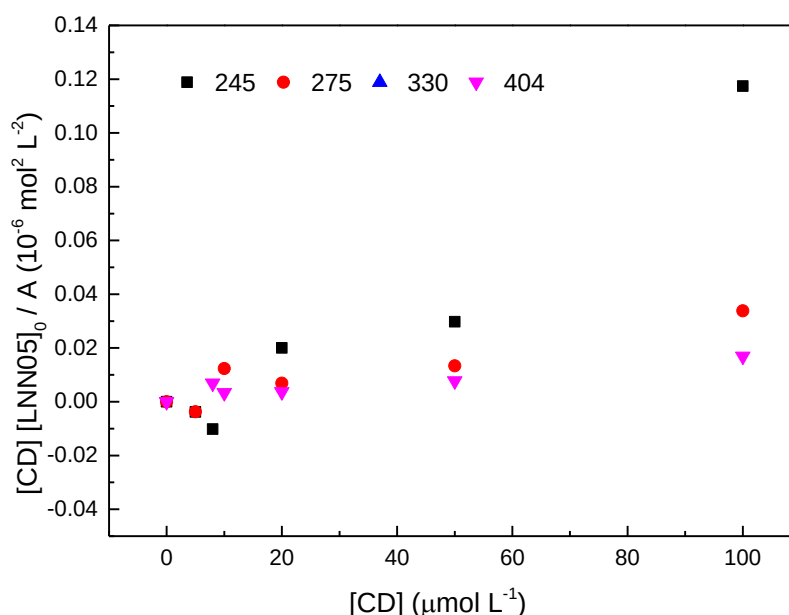
O efeito hipercrômico observado na figura 17 para as três bandas de absorção após a adição da β -CD pode estar associado ao aumento da solubilidade do composto, de modo similar ao que ocorrem para o LNN01 os resultados nos sugerem que a relação estequiométrica entre o LNN05 e a β -CD é de 1:2.

Figura 17 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN05 ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação.



Assim como realizado para o LNN01 e o LNN03 foi traçado um gráfico dos valores de $[CD] [S]_0 / \Delta A$ contra $[CD]$. Onde o quociente entre os valores do intercepto do eixo y e da inclinação nos fornece o valor de K_D . A figura 18 mostra os resultados em ajustamentos à equação de Benesi-Hildebrand em comprimentos de onda de 245 a 404 nm com um tempo de contato de 2h.

Figura 18 - Determinação da constante de equilíbrio do complexo LNN05: β -CD, de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand, para vários comprimentos de onda; $[LNN05] = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (5 % EtOH). Tempo de contato de 2h.



Fonte: Autora, 2020.

A tabela 6 nos mostra os resultados obtidos para os quatro comprimentos de onda no qual obtivemos valores de K_F na ordem de grandeza de 10^4 e 10^5 para 2h de contato a depender do comprimento de onda, tendo como valor médio $2,707 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$.

Tabela 6 - Constante de dissociação e formação do complexo LNN05: β -CD para 2 h de contato.

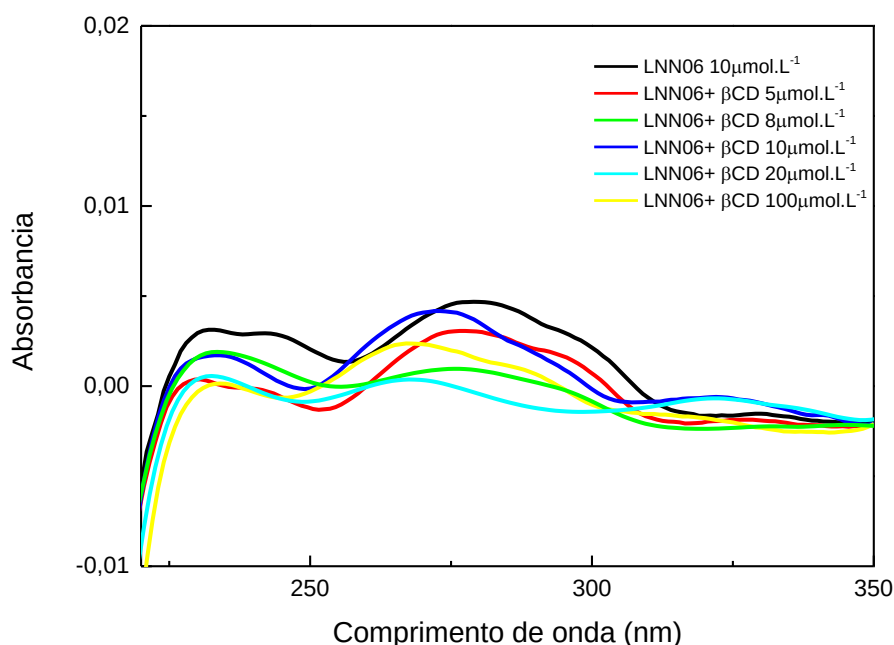
λ / nm	$K_D / \text{mol. L}^{-1}$	$K_F / \text{L.mol}^{-1}$	R
245	$9,106 \times 10^{-6}$	$1,098 \times 10^5$	0,968
275	$1,593 \times 10^{-6}$	$6,277 \times 10^5$	0,929
404	$1,339 \times 10^{-5}$	$7,470 \times 10^4$	0,933

Fonte: Autora, 2020.

Assim como relatado para o LNN01 e o LNN03, o valor de K_F observado para o LNN05 está em ordem de grandeza igual ou superior a trabalhos reportados na literatura.

Nos espectros de absorção obtidos por espectroscopia no UV-Vis em 5% (v/v) EtOH (Figura 19) para o LNN06 podemos acompanhar a evolução do espectro em relação a adição de β -CD. A primeira banda em $\lambda = 245$ nm pode ser atribuída a energia média da transição $\pi \rightarrow \pi^*$ no anel benzeno presente na molécula e a segunda, em $\lambda = 275$ nm, é devida à transição $n \rightarrow \pi^*$ presente no grupo nitro.

Figura 19 - Espectro de absorção de UV-VIS para a LNN06 ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e na presença de β -CD, após 2h de agitação



Fonte: Autora, 2020.

Como é possível observar nos espectros não há um comportamento linear em função das adições da β -CD, esse comportamento é atribuído a baixa solubilidade do composto. Esse comportamento impossibilita a determinação da constante de dissociação (K_D) e a constante de formação (K_F) através desta técnica.

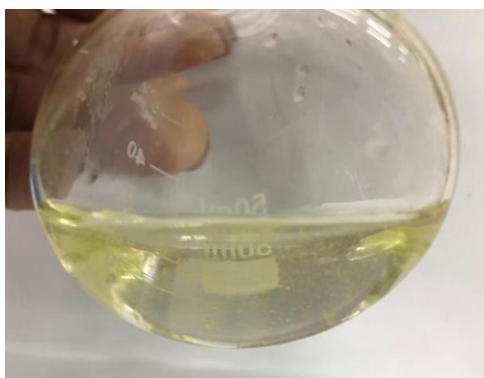
4.1.2 Estequiometria de interação entre LNN: β -CD por espectrofotometria no UV-vis

A fim de determinar a estequiometria de interação entre os derivados (LNN) e a β -CD o método das variações contínuas foi escolhido. A aplicação do método ao estudo da estequiometria de interação entre substâncias e agentes complexantes consiste

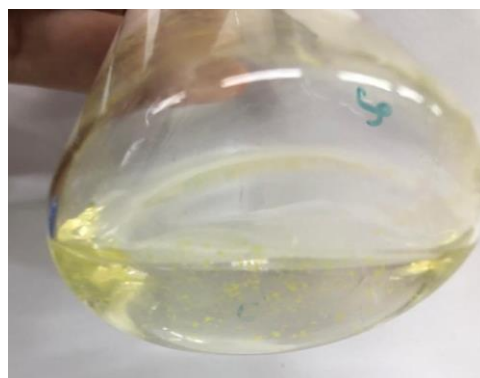
em calcular a diferença de intensidade de absorção (ΔA) entre as soluções contendo apenas a substância de interesse (LNN) e as misturas destes com o agente complexante (β -CD) multiplicada pela razão molar (R) da substância versus a razão molar da substância, e plotar um gráfico, onde o ponto de mudança na inclinação da curva corresponde à razão estequiométrica do complexo. No entanto para a menor concentração dos derivados (LNN) já houve precipitação (Figura 20).

Figura 20 - Soluções em 5 % (v/v) EtOH de derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$). a) LNN01; b) LNN03; c) LNN05; d) LNN06

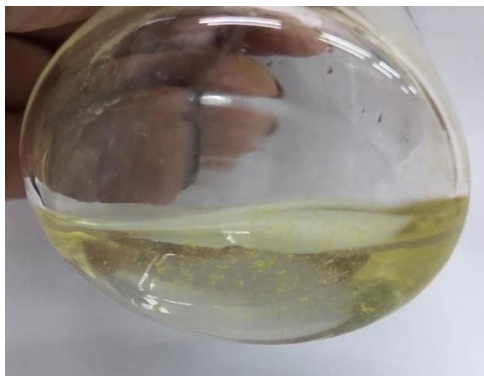
a)



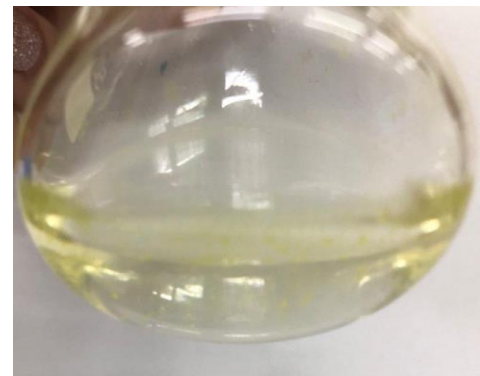
b)



c)



d)



Fonte: Autora, 2020.

A baixa solubilidade desses derivados associada a limitação da técnica de registrar alterações na absorbância em baixas concentrações, inviabilizou a determinação da estequiometria de interação.

4.2 Estudos Eletroquímicos

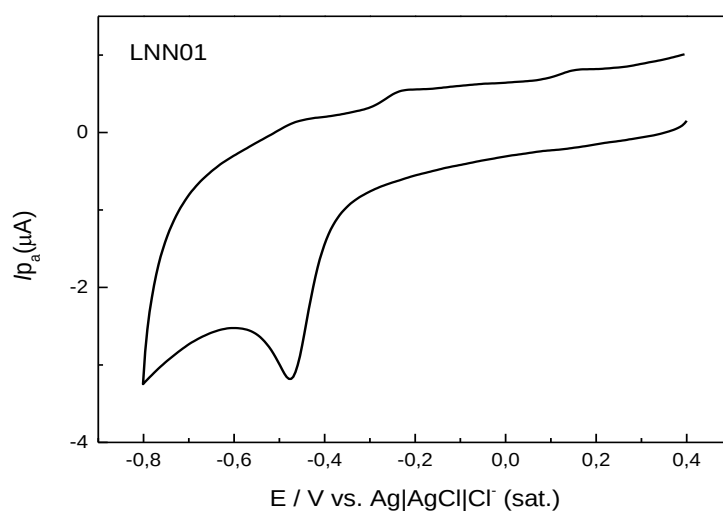
Para avaliação do perfil eletroquímico e para o estudo de velocidade de varredura os derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazonicos (LNN01, LNN03, LNN05 e LNN06) foram estudados em tampão fosfato pH 7,00 utilizando etanol como co-solvente na proporção de 7:3 em um eletrodo de carbono vítreo. Todas as medidas foram realizadas em atmosfera inerte, sem a presença de oxigênio.

4.2.1 Perfil eletroquímico e estudo de Velocidade

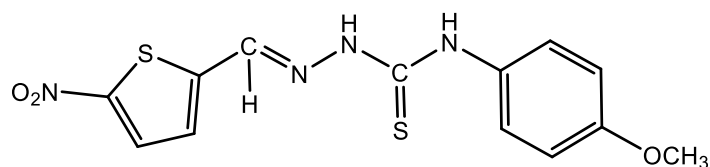
Para o LNN01 o voltamograma apresentou um pico de redução bem definido característico do grupo nitro E_{pc} em -0,45 V de caráter irreversível.

Figura 21 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN01 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN01.

a)



b)

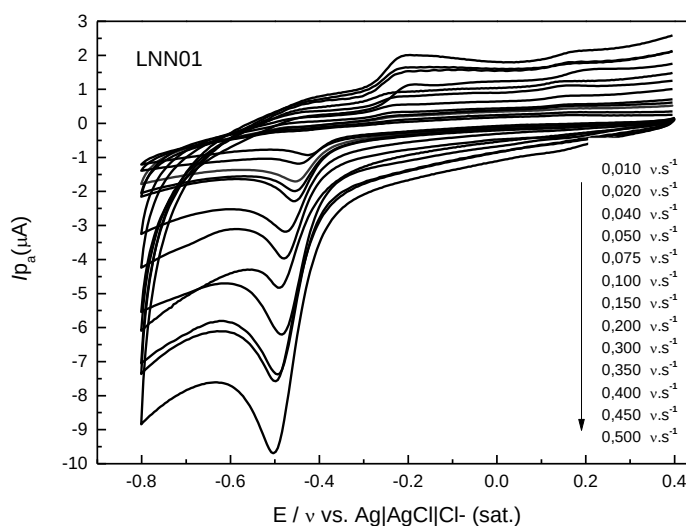


Fonte: Autora, 2020.

Com o aumento da velocidade de varredura é possível observar o deslocamento do pico de redução para potenciais mais negativos, corroborando para a irreversibilidade

do sistema (Figura 22). A partir dos dados extraídos nesse estudo a tabela 7 foi montada.

Figura 22 - (a) Voltamogramas cíclicos do LNN01 em várias velocidades de varredura; [LNN01] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.



Fonte: Autora 2020.

Tabela 7 - Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN01 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.).

v (v.s^{-1})	$v^{1/2}$ (v.s^{-1})	$\log v$	Epc (v)	Ipc (μA)
0,010	0,100	-2	-0,425	-0,933
0,020	0,141	-1,699	-0,445	-1,183
0,040	0,200	-1,398	-0,455	-1,708
0,050	0,223	-1,301	-0,455	-1,991
0,075	0,274	-1,125	-0,455	-2,285
0,100	0,316	-1,00	-0,475	-3,180
0,150	0,387	-0,824	-0,479	-3,971
0,200	0,447	-0,699	-0,488	-4,830
0,300	0,547	-0,523	-0,484	-6,207
0,350	0,592	-0,456	-0,494	-7,376
0,400	0,632	-0,398	-0,494	-7,584
0,500	0,707	-0,301	-0,503	-9,692

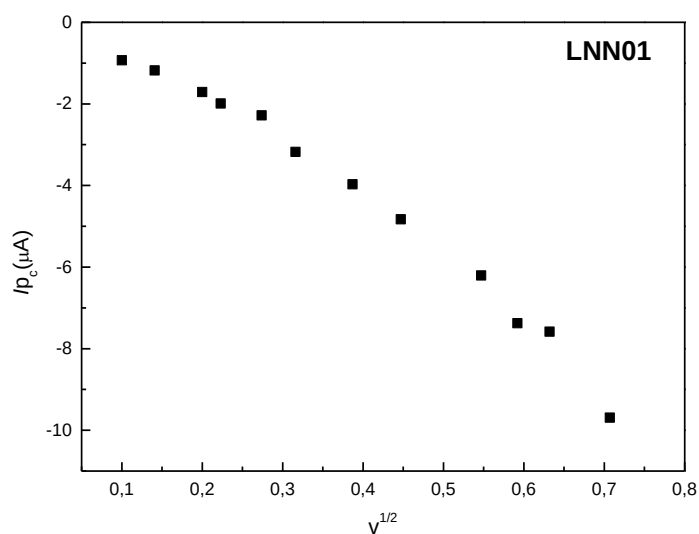
Fonte: Autora, 2020.

Os gráficos de I_{pc} versus v e I_{pc} versus $v^{1/2}$ mostram que o transporte de massa até a superfície eletródica é caracterizado por um processo misto, havendo competição

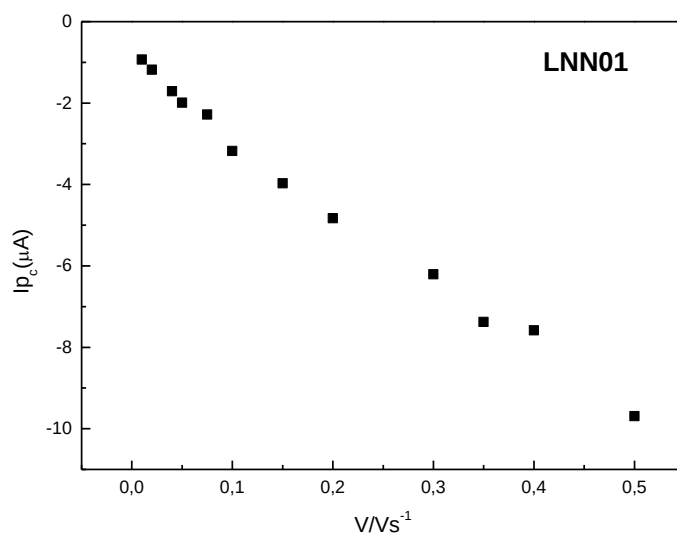
de processo difusional e adsorativo. Em algumas velocidades apresenta comportamento linear, característico de processos difusional, já em outras velocidades é possível observar a perda da linearidade, como pode ser observado nos gráficos (Figura 23 a e b), comportamento este característico de processo adsorativo.

Figura 23 - (a) gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pa} vs. v ; [LNN01] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.

a)



b)

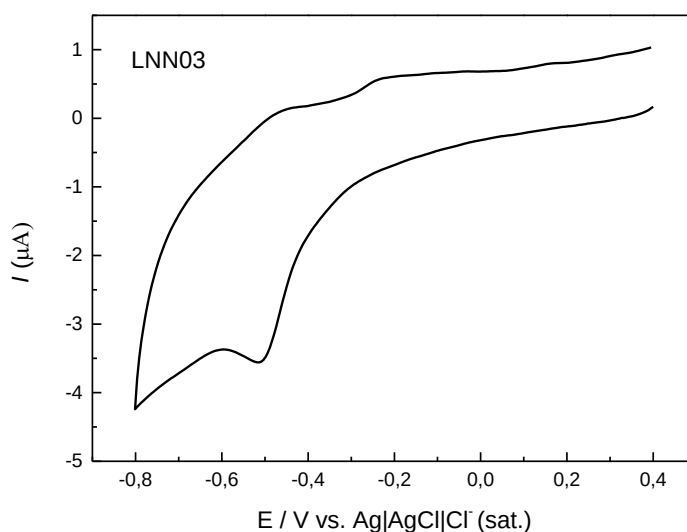


Fonte: Autora, 2020.

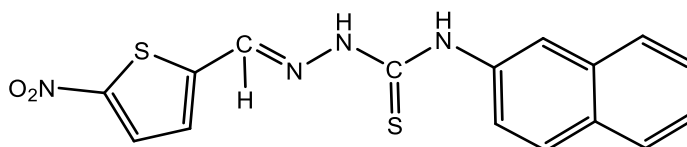
A Voltametria cíclica obtida para o LNN03 o apresentou um pico referente ao processo de redução do grupo nitro em E_{pc} - 0,51 V de caráter irreversível. É possível observar duas ondas anódicas referente a oxidação do produto da redução do LNN03.

Figura 24 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN03 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN03.

a)



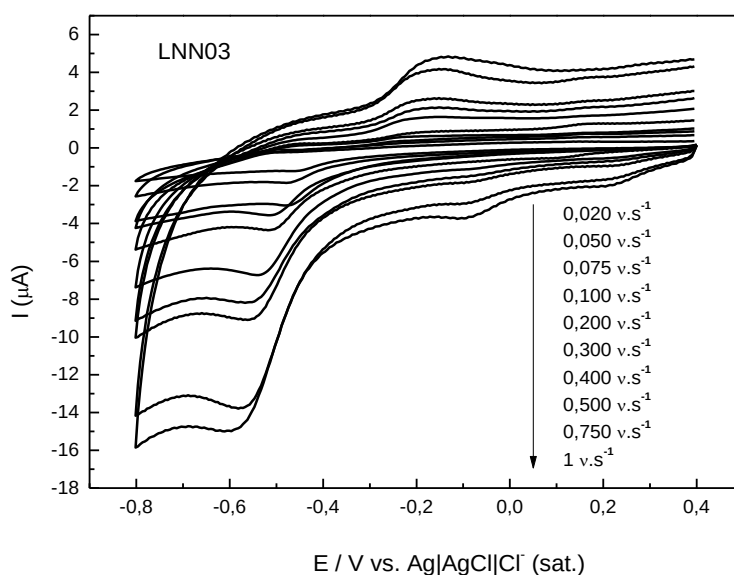
b)



Fonte: Autora, 2020.

Ao realizar o aumento da velocidade de varredura é possível observar o deslocamento do pico de redução para potenciais mais negativos, corroborando para a irreversibilidade do sistema (Figura 25). Ainda podemos observar em altas velocidades o surgimento de duas ondas devido a formação de algum intermediário possivelmente com baixa estabilidade, o que justifica não serem observados em baixas velocidades. Os dados extraídos nesse experimento foram organizados na tabela 8.

Figura 25 - Voltamogramas cíclicos do LNN03 em várias velocidades de varredura; [LNN03] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.



Fonte: Autora, 2020.

Tabela 8 - Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN03 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.).

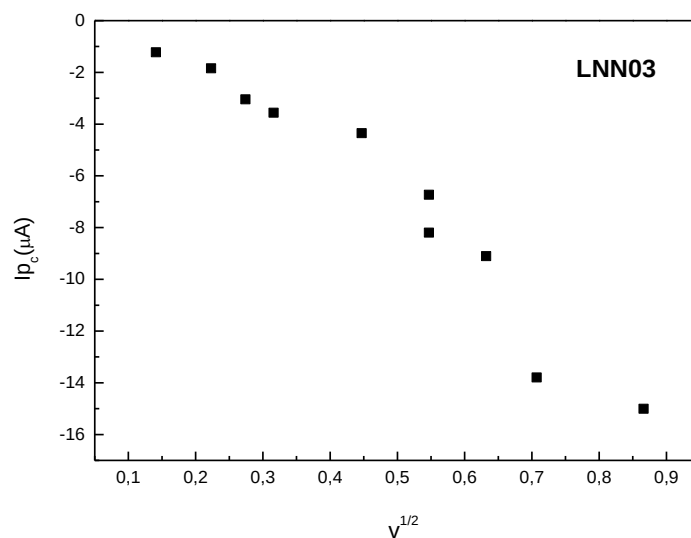
$v(\text{Vs}^{-1})$	$v^{1/2}(\text{Vs}^{-1})$	$\log V$	Epc (V)	Ipc (μA)
0,020	0,141	-1,699	-0,464	-1,226
0,050	0,223	-1,301	-0,478	-1,846
0,075	0,274	-1,125	-0,478	-3,042
0,100	0,316	-1,000	-0,518	-3,557
0,200	0,447	-0,699	-0,518	-4,353
0,300	0,547	-0,523	-0,542	-6,729
0,400	0,632	-0,398	-0,566	-8,197
0,500	0,707	-0,301	-0,571	-9,106
0,750	0,866	-0,125	-0,581	-13,793
1,00	1,00	0	-0,610	-15,005

Fonte: Autora, 2020.

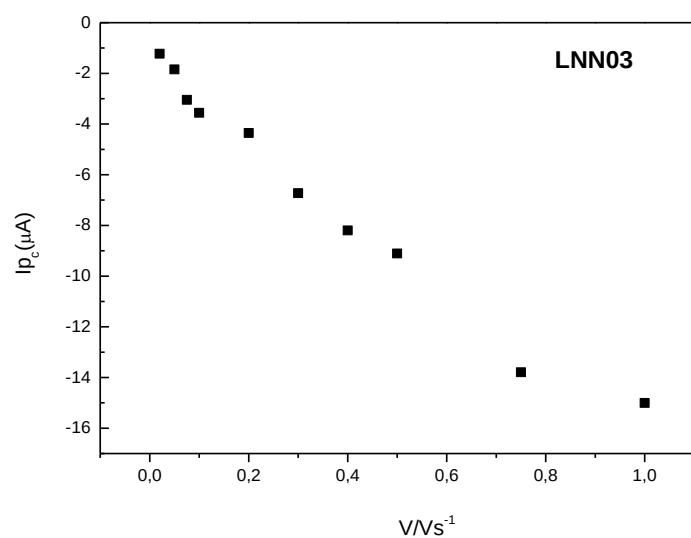
Os gráficos de I_{pc} versus v e I_{pc} versus $v^{1/2}$ (Figura 26) mostram que o transporte de massa até a superfície eletródica é caracterizado por um processo adsorptivo. Não apresentando comportamento linear para nenhuma faixa das velocidades avaliadas como é possível observar nas figuras abaixo, essa perda de linearidade está relacionada com o comportamento característico de processos adsorptivos.

Figura 26 - (a) gráfico de I_{pc} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pc} vs. v ; [LNN03] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.

a)



b)

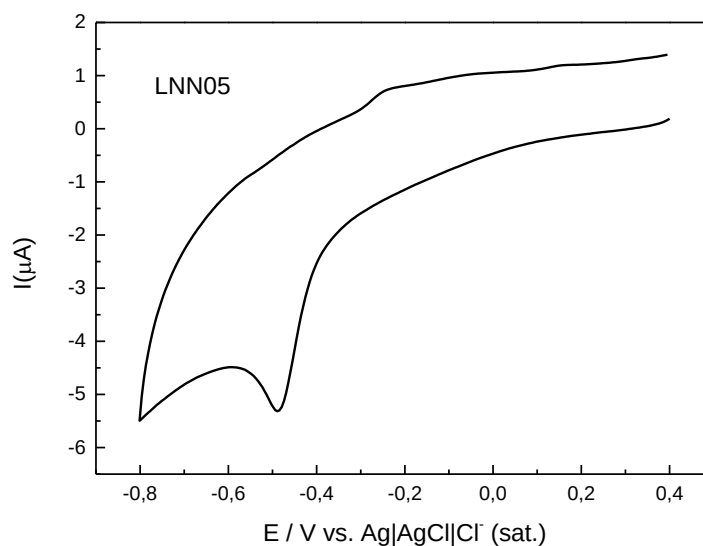


Fonte: Autora, 2020.

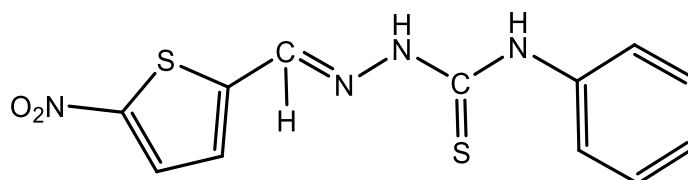
A Voltametria cíclica obtida para o LNN05 apresentou um pico referente ao processo de redução do grupo nitro em E_{pc} - 0,48 V de caráter irreversível. É possível observar uma onda anódica referente a oxidação do produto da redução do LNN05.

Figura 27 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN05 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN05.

a)



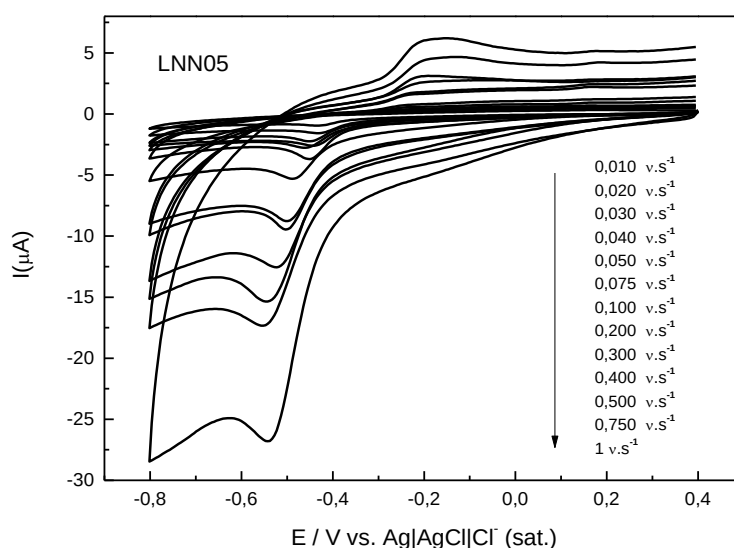
b)



Fonte: Autora, 2020.

Com o aumento da velocidade de varredura, ocorre um aumento da corrente de pico referente a redução do grupo nitro e um deslocamento não linear do potencial de redução. É possível também visualizar um aumento da corrente de pico referente a oxidação do produto de redução, em função da velocidade.

Figura 28 - Voltamogramas cíclicos do LNN05 em várias velocidades de varredura; [LNN05] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.



/Fonte: Autora, 2020.

A partir do estudo de velocidade foi possível extrair parâmetros eletroquímicos que foram organizados na tabela 9.

Tabela 9 - Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN05 em função do estudo de velocidade de varredura. E_{pc} vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{Cl}^-$ (sat.).

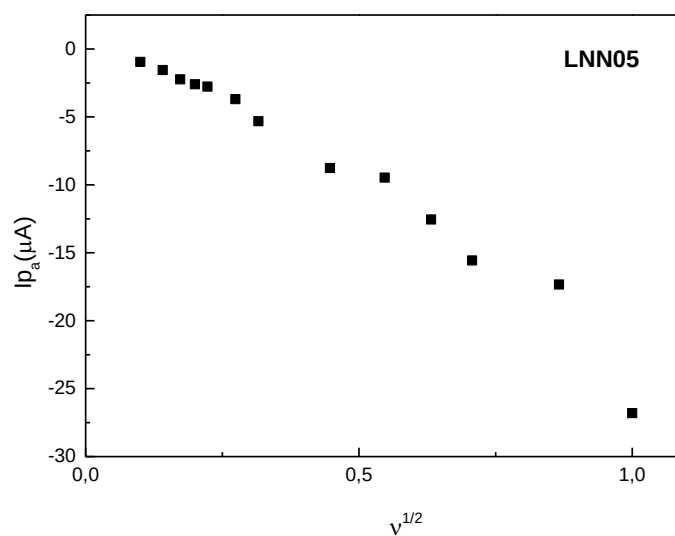
$v(\text{Vs}^{-1})$	$v^{1/2}(\text{Vs}^{-1})$	$\log V$	$E_{pc} \text{ (V)}$	$I_{pc} \text{ (}\mu\text{A)}$
0,010	0,100	-2	-0,435	-0,9515
0,020	0,141	-1,699	-0,439	-1,557
0,030	0,173	-1,522	-0,449	-2,236
0,040	0,200	-1,398	-0,444	-2,599
0,050	0,223	-1,301	-0,459	-2,768
0,075	0,274	-1,125	-0,450	-3,690
0,100	0,316	-1,00	-0,488	-5,316
0,200	0,447	-0,699	-0,494	-8,767
0,300	0,547	-0,523	-0,499	-9,465
0,400	0,632	-0,398	-0,513	-12,552
0,500	0,707	-0,301	-0,542	-15,565
0,750	0,866	-0,125	-0,547	-17,337
1,000	1,00	0	-0,552	-26,800

Fonte: Autora, 2020.

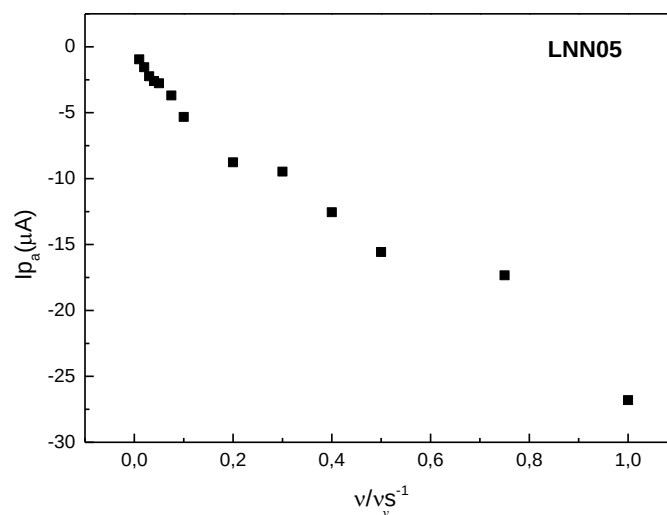
Ao plotar os gráficos de I_{pc} versus v e I_{pc} versus $v^{1/2}$ (Figura 29) podemos observar um comportamento adsorptivo de transporte de massa até a superfície eletródica, semelhante ao que ocorre no estudo de velocidade do LNN03.

Figura 29 - (a) gráfico de I_{pc} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pc} vs. v ; [LNN05] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.

a)



b)

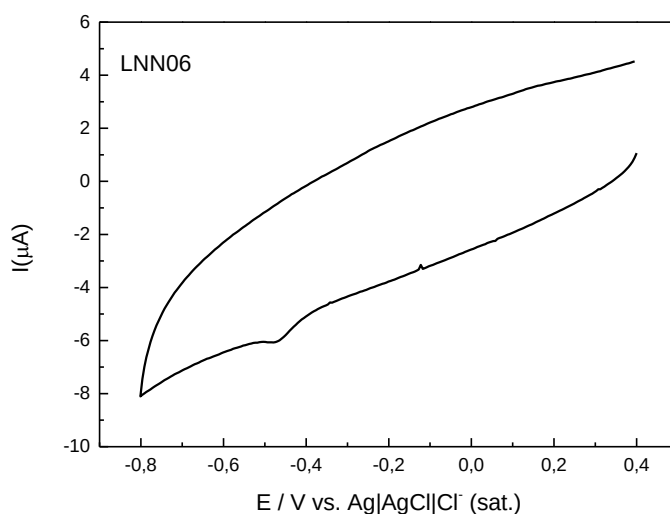


Fonte: Autora, 2020.

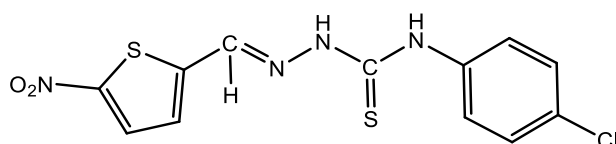
Diferente do comportamento apresentado nos outros derivados o LNN06 apresenta apenas o pico referente a redução do grupo nitro em E_{pc} -0,469 não sendo observados nenhum pico referente a oxidação de nenhum produto da redução (Figura 30).

Figura 30 - (a) Voltamograma cíclico do comportamento eletroquímico da LNN06 a $40 \mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato $0,2 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0; eletrodo de CV; $v = 0,100 \text{ v.s}^{-1}$; (b) Estrutura da LNN06

a)



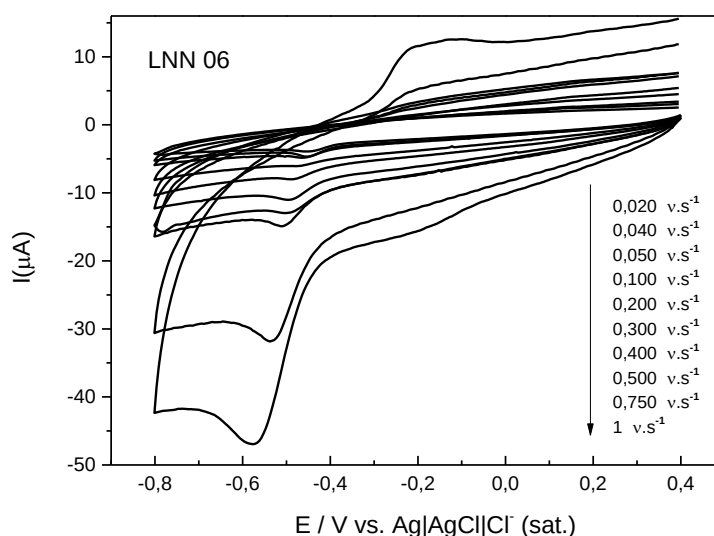
b)



Fonte: Autora, 2020.

Durante o estudo de velocidade podemos observar que com o aumento da velocidade de varredura ocorre um aumento da corrente de pico catódico referente ao processo de redução do grupo nitro, observa-se também o deslocamento do pico para potenciais mais negativos. Em altas velocidades ainda podemos observar uma segunda onda de redução, possivelmente relacionada a redução de um grupo com menor estabilidade, que não é possível observar em baixas velocidades, assim como uma onda referente a oxidação do produto de redução do grupo nitro (Figura 31).

Figura 31 - Voltamogramas cíclicos do LNN06 em várias velocidades de varredura; [LNN06] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV



Fonte: Autora, 2020.

A partir do estudo de velocidade para o LNN06 foi possível extrair parâmetros eletroquímicos que foram organizados na tabela 10

Tabela 10: Parâmetros eletroquímicos encontrados para LNN06 em função do estudo de velocidade de varredura. Epc vs. Ag|AgCl|Cl⁻ (sat.).

$v(\text{Vs}^{-1})$	$v^{1/2}(\text{Vs}^{-1})$	$\log V$	$E_{pc} \text{ (V)}$	$I_{pc} \text{ (}\mu\text{A)}$
0,020	0,141	-1,699	-0,454	-3,919
0,040	0,200	-1,398	-0,454	-4,673
0,050	0,223	-1,301	-0,464	-4,834
0,100	0,316	-1,00	-0,469	-6,030
0,200	0,447	-0,699	-0,488	-8,013
0,300	0,547	-0,523	-0,493	-11,017
0,400	0,632	-0,398	-0,503	-12,970
0,500	0,707	-0,301	-0,508	-14,901
0,750	0,866	-0,125	-0,537	-31,835
1,000	1,00	0	-0,576	-46,951

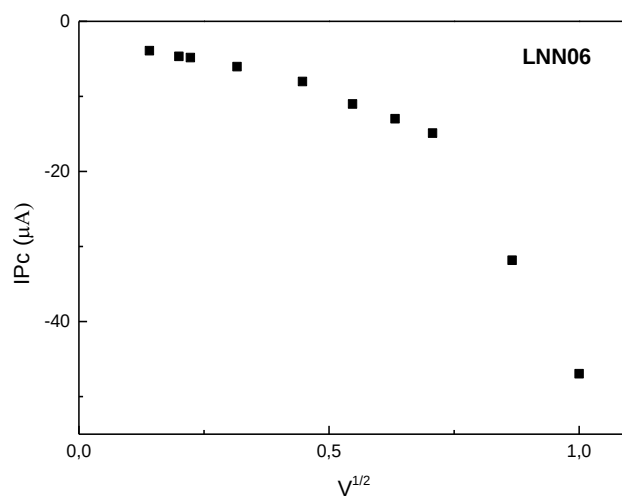
Fonte: Autora, 2020.

Ao traçarmos os gráficos de I_{pc} versus v e I_{pc} versus $v^{1/2}$ (Figura 32) podemos observar um comportamento misto de transporte de massa até a superfície eletródica,

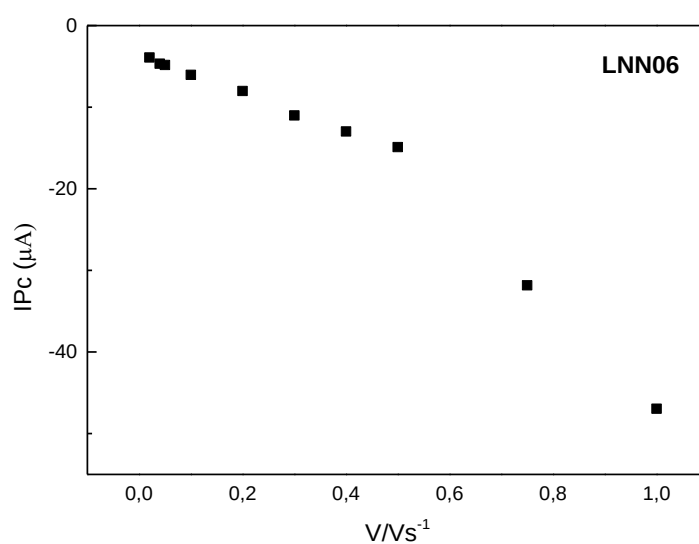
onde ocorre uma competição entre os processos difusional e adsorativo, semelhante ao processo que ocorre para LNN01.

Figura 32 - (a) gráfico de I_{pc} vs. $v^{1/2}$; (b) gráfico de I_{pc} vs v ; [LNN06] = 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Tampão fosfato 0,2 mol L^{-1} , pH 7,0; eletrodo de CV.

a)



b)



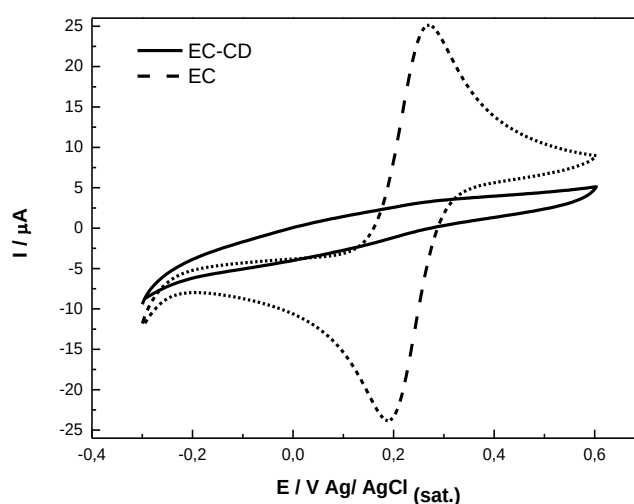
Fonte: Autora, 2020.

4.2.2 Caracterização do Eletrodo modificado com β -CD-NH₂

Uma possível limitação para utilização de eletrodos com superfícies modificadas é o mal recobrimento, o que pode mascarar a interpretação de dados, a utilização de intermediários nas modificações das superfícies eletródicas com ciclodextrinas é comum, esses intermediários além de mediar o processo de imobilização corroboram no recobrimento da superfície do eletrodo. No entanto no enxerto realizado no eletrodo de carbono vítreo não foi utilizado nenhum intermediário e havia a possibilidade que este não recobrisse de maneira eficiente a superfície eletródica.

Após a limpeza manual, antes do enxerto, avaliamos a área eletroativa utilizando uma sonda de Ferri/ferrocianeto de potássio, onde podemos avaliar a oxidação/redução do Ferro ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$), após a modificação repetimos o procedimento e não foi observar nenhuma resposta voltamétrica referente aos picos (catódico e anódico), uma vez que a cavidade da β -CD imobilizada é menor a estrutura do complexo de ferro, comprovando assim que a superfície do eletrodo estava recoberta (Figura 33).

Figura 33 - Voltametria Cíclica com a sonda ferri/ferrocianeto de potássio (1:1) 1,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ nos potenciais de -0,3 à 0,6 V (a) antes da modificação e (b) após modificação com β -CD-NH₂.

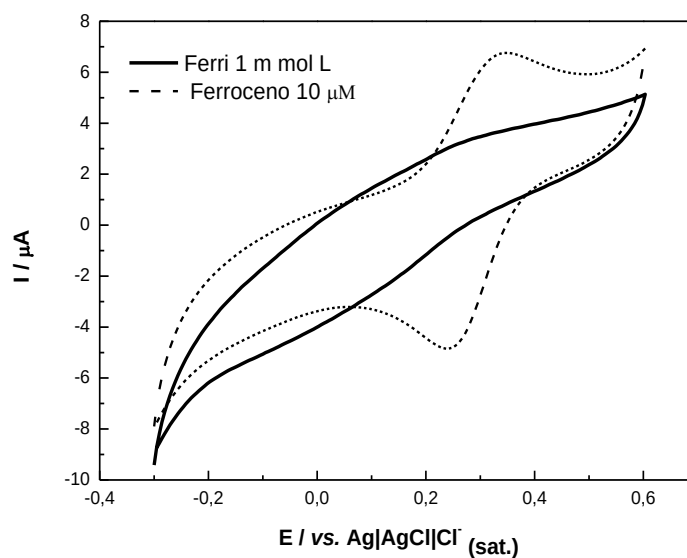


Fonte: Autora, 2020.

Para corroborar com o resultado descrito acima e para elucidar quaisquer dúvidas quanto a imobilização da β -CD, repetimos o procedimento utilizando ácido

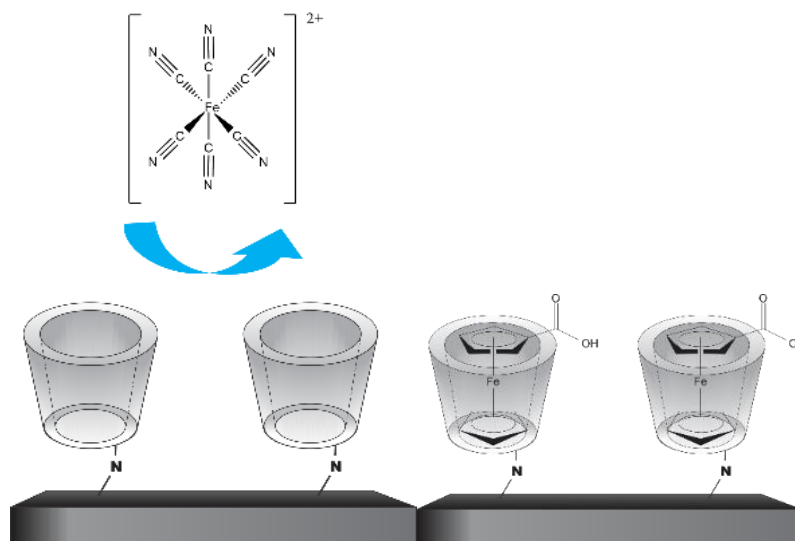
ferrocenocarboxílico e obtivemos uma resposta eletroquímica mensurável (Figura 34 e 35) devido ao encapsulamento do ácido na cavidade da β -CD.

Figura 34 - (a) Voltamogramas cíclicos para $K_3[Fe(CN)_6]$ (—), $Fe-CO_2H$ (---) em eletrodo de carbono vítreo modificado com β -CD- NH_2 em tampão fosfato como eletrólito de suporte a $0,05\text{ v s}^{-1}$



Fonte: Autora, 2020.

Figura 35 - Representação da interação do eletrodo de carbono vítreo modificado com β -CD- NH_2 com $K_3[Fe(CN)_6]$ e com $Fe-CO_2H$.



Fonte: Autora, 2020.

Em seu trabalho realizado Costa (2019), já havia destacado que estes derivados apresentam baixa solubilidade em água, associado a um mecanismo de transporte de massa de caráter predominantemente adsorptivo, fato este comprovado através do estudo de velocidade descrito anteriormente. Com a utilização do enxerto da β -CD-NH₂ na superfície do eletrodo as dificuldades envolvendo passivação da superfície do eletrodo foram contornadas e durante todos os estudos que serão descritos a seguir não houve a necessidade de realizar nenhuma limpeza de natureza mecânica, para remoção de substância adsorvida.

4.2.3 Cálculo da constante de Formação (K_F) dos derivados do 5-nitrotiofenotiossemicarbazonicos com β -CD imobilizada na superfície do carbono vítreo.

Foram construídas curvas para cada um dos complexos formados (LNN: β -CD) utilizando técnica de voltametria de pulso diferencial, variando as concentrações das substâncias. Foi possível observar o aumento da corrente de pico relacionado ao aumento da concentração de cada espécie estudada até o ponto de saturação da camada de ciclodextrina imobilizada. Tendo a corrente saturada, foi possível determinar a constante de formação (K_F) das substâncias, utilizando uma derivada da isoterma de Langmuir como mostrado na equação:

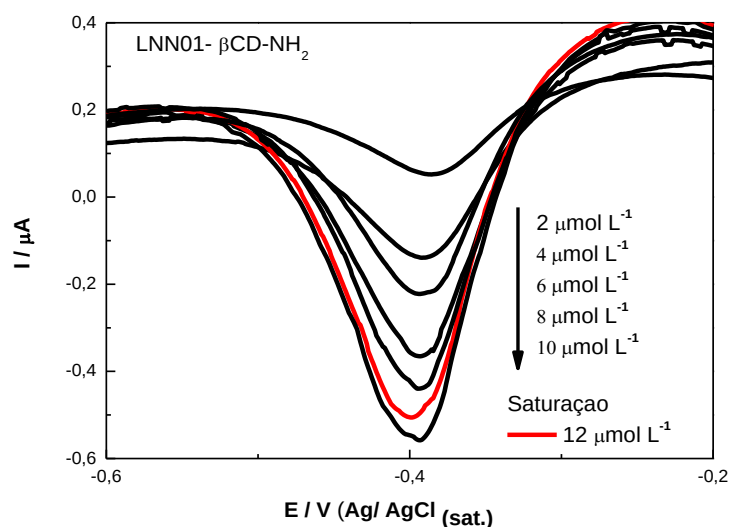
$$\frac{[H\acute{o}s p e d e]_0}{I} = \frac{1}{K_{H\acute{o}s p e d e} I_{max}} + \frac{[H\acute{o}s p e d e]_0}{I_{max}} \quad \text{Equação 3}$$

onde $[H\acute{o}s p e d e]$ é a concentração da espécie eletroativa, I é a corrente de pico medida para cada concentração da substância hóspede, I_{max} é a corrente de pico máxima, e $K_{H\acute{o}s p e d e}$ é a constante de formação da substância hospedeira com CD confinada na superfície do eletrodo (FERREIRA et al., 2010).

Os gráficos de $[H\acute{o}s p e d e] / I_{pc}$ vs. $[H\acute{o}s p e d e]$ para cada substância obedece à derivada da isoterma de Langmuir. Os valores das constantes de formação (K_F) para LNN01, LNN03, LNN05 e LNN06 foram calculados e discutidos a seguir.

Para o LNN01 podemos observar um aumento na corrente de pico relacionado ao aumento da concentração, ainda observamos um pequeno deslocamento do potencial do pico para valores mais negativos e em 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ocorre uma diminuição da corrente de pico em função da saturação do sistema (Figura 36).

Figura 36 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN01 ($2 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $12 \mu\text{mol L}^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície.

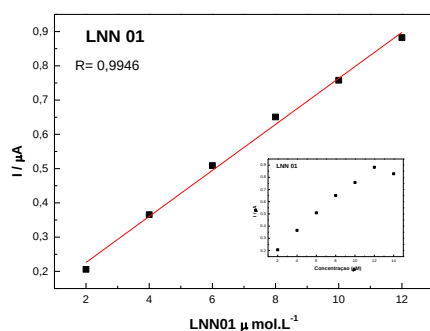


Fonte: Autora, 2020.

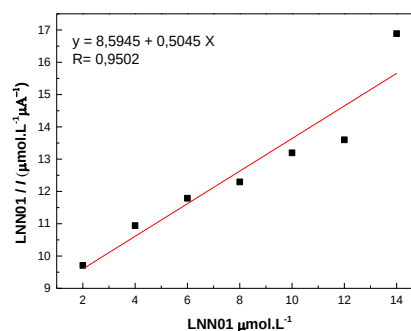
Através dos dados obtidos na voltametria foi possível plotar uma curva analítica para o sistema estudado, no qual observa-se uma relação linear entre a concentração da espécie e a corrente de pico (Figura 37 a). Traçando o gráfico de $[\text{LNN01}] / I_{\text{pc}}$ vs. $[\text{LNN01}]$ (Figura 37 b) foi possível calcular a constante de formação (K_F) com valor de $5,87 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$, que apresenta uma ordem de grandeza significativa e na mesma ordem que relatadas em outros trabalhos usando ciclodextrinas imobilizadas na superfície de eletrodos através de outras metodologias (LOZANO et al., 2018).

Figura 37 - (a) Curva analítica para LNN01 em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN01: β -CD

a)



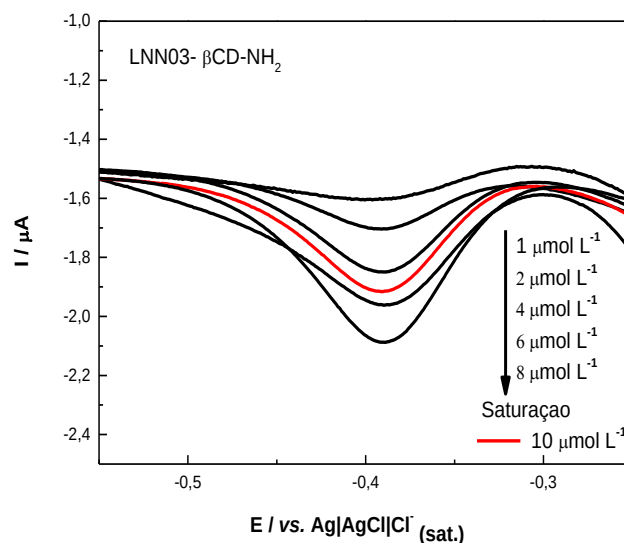
b)



Fonte: Autora, 2020.

No estudo da LNN03 é possível observar um aumento na corrente de pico correlacionada ao aumento na concentração da substância até atingir $8\mu\text{mol L}^{-1}$ após essa concentração ocorre um decréscimo na corrente ocasionado pela saturação da superfície (Figura 38).

Figura 38 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN03 ($1\mu\text{mol L}^{-1}$ a $10\mu\text{mol L}^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície.

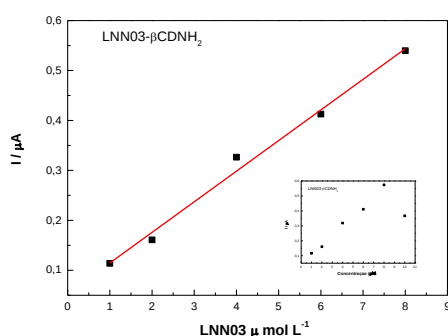


Fonte: Autora, 2020.

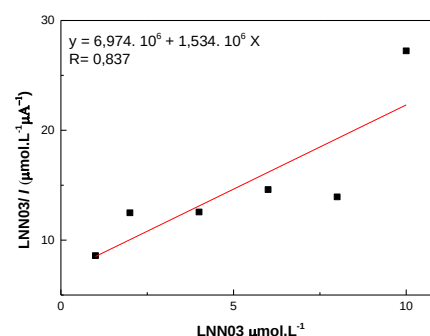
A partir dos dados extraídos da VPD a curva analítica foi plotada para o sistema apresentando relação linear entre a concentração da substância e a corrente de pico (Figura 39 a). Traçando o gráfico de $[\text{LNN03}] / I_{pc}$ vs. $[\text{LNN03}]$ foi calculado a constante de formação (K_F) com valor de $2,199 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ (Figura 39 b), que apresenta uma ordem de grandeza significativa e até 10 vezes maior quando comparada com outros trabalhos relatados usando ciclodextrinas imobilizadas na superfície de eletrodos utilizando outras metodologias (FERREIRA et al., 2010; LOZANO et al., 2018).

Figura 39 - (a) Curva analítica para LNN03 em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN03: β -CD

a)



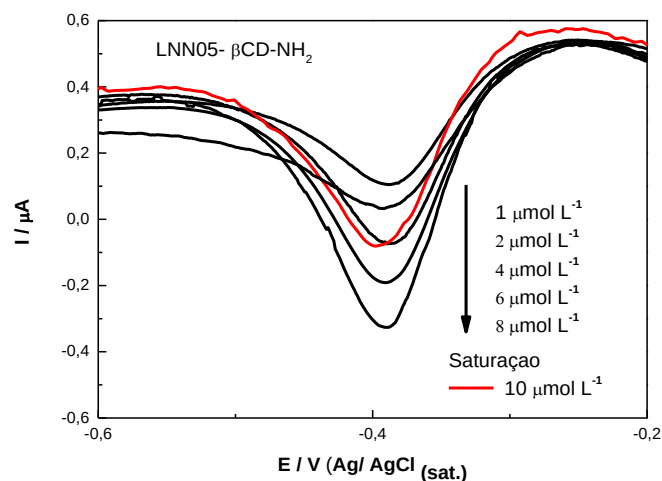
b)



Fonte: Autora, 2020.

Comportamento similar ao que foi apresentado para LNN03 pode ser observado para o LNN05 onde o aumento na concentração da espécie provoca um aumento na corrente de pico até $8 \mu\text{mol L}^{-1}$ após isso observamos a saturação do sistema consequentemente um decréscimo na corrente de pico (Figura 40).

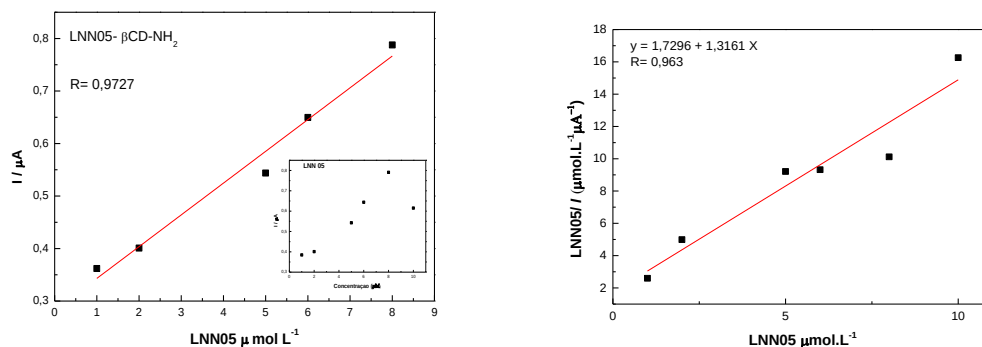
Figura 40 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN05 ($1 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície.



Fonte: Autora, 2020.

De modo semelhante aos dados obtidos para o LNN03, também foi possível construir uma curva analítica para o LNN05 onde observa-se uma relação linear entre a corrente de pico e a concentração da espécie. A partir do gráfico de $[\text{LNN03}] / I_{pc}$ vs. $[\text{LNN03}]$ foi possível calcular a constante de formação (K_F) com valor de $7,61 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$, valor na mesma ordem de grandeza encontrado para o LNN03 (Figura 41).

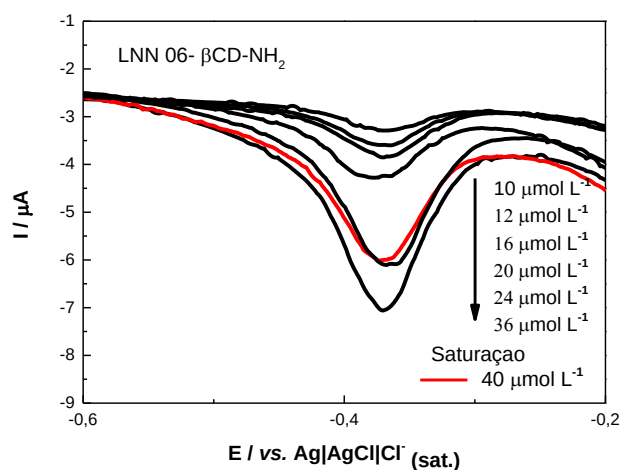
Figura 41: (a) Curva analítica para LNN05 em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN05: β -CD



Fonte: Autora, 2020.

Diferente do que observamos para os derivados descritos até o momento para o LNN06 foi possível observar um aumento na corrente de pico em função da concentração da substância, porém a saturação do sistema só foi observada para a concentração de $40 \mu mol L^{-1}$ (Figura 42).

Figura 42 - Voltamograma de pulso diferencial registrado em tampão fosfato pH: 7,00 em diferentes concentrações de LNN06 ($10 \mu mol L^{-1}$ a $40 \mu mol L^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície.



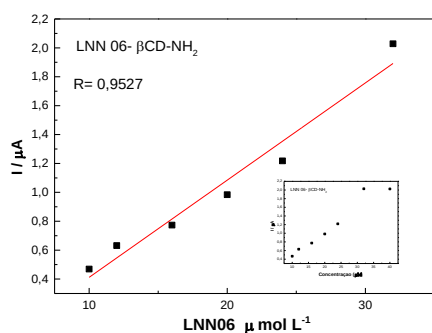
Fonte: Autora, 2020.

Apesar de apresentar uma boa correlação linear entre a concentração da espécie e o pico de corrente, ao traçar o gráfico de $[LNN06] / I_{pc}$ vs. $[LNN06]$ (Figura 43) a constante de formação (K_F) calculada não apresentou significância tão representativa quanto as anteriores, para o LNN06 o valor de K_F foi de $2,33 \times 10^3 L mol^{-1}$. Esse fato pode ser justificado pela estabilidade da modificação, uma vez que o experimento foi

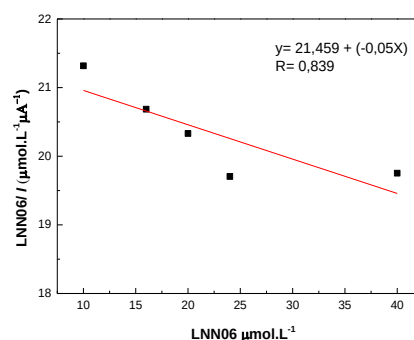
realizado aproximadamente três semanas após a modificação e como relatado por Silva e colaboradores (2019) a modificação permanece estável por até 20 dias.

Figura 43 - (a) Curva analítica para LNN06 em eletrodo de carbono vítreo com β -CD imobilizada em sua superfície. (b) Determinação da constante de equilíbrio entre LNN06: β -CD

a)



b)



Fonte: Autora, 2020.

Fazendo uma correlação deste baixo valor de K_F encontrado para o LNN06 com o estudo realizado por espectrofotometria no UV-Vis, onde não foi possível determinar a constante de formação, é possível associar esses dados com o comportamento instável da substância em meio aquoso.

É importante destacar a grande vantagem da utilização da eletroquímica comparando com outras técnicas, além do baixo limite de detecção, a modificação do eletrodo possibilitou realizar a avaliação da interação dos derivados com a β -CD de maneira mais eficiente.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados expostos foi possível obter informações relacionadas às características dos derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico, que vão auxiliar no entendimento de sua ação biológica, bem como a possibilidade de melhorar a biodisponibilidade desses derivados.

Com os dados obtidos através do estudo de velocidade foi possível confirmar o mecanismo de transferência até a superfície eletródica, que é caracterizado por um processo predominantemente de caráter adsorptivo.

A avaliação da interação dos derivados com a β -ciclodextrina foi realizado de maneira eficiente utilizando técnicas espectroscópicas e eletroquímicas. A partir dos dados obtidos pela técnica de espectroscopia no UV-Vis foi possível determinar a constante de formação dos derivados LNN01, LNN03 e LNN05 com a β -CD, não sendo possível determinar para o LNN06 devido sua baixa estabilidade em meio aquoso. Todos os valores de K_F obtidos foram condizentes quando comparados a outros compostos já reportados na literatura.

Foi realizado um enxerto na superfície do eletrodo de carbono vítreo com a utilização de β -CD-NH₂ para realizar o estudo eletroquímico da interação dos derivados com β -CD, onde este se mostrou bem significativo.

Com esse estudo foi possível observar um aumento da corrente de pico catódico em função da concentração dos derivados até o ponto de saturação, sendo possível determinar as constantes de formação aparente entre os derivados e a β -CD, obtendo valores significativos corroborando com os obtidos por espectroscopia, para assim validar a interação dos derivados estudados com β -CD.

Concluindo assim que a utilização da β -ciclodextrina como agente encapsulante para os derivados do 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônico foi eficiente na obtenção dos complexos, possibilitando a sua utilização para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. M. V. et al. Synthesis , DNA Binding , and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 13023–13042, 2015.
- ARAÚJO NETO, D. N. L. et al. Chemico-Biological Interactions Synthesis , cytotoxicity and antifungal activity of 5-nitro-thiophene- thiosemicarbazones derivatives. **Chemico-Biological Interactions journal**, v. 272, p. 172–181, 2017.
- CEBORSKA, M.; ZIMNICKA, M.; TRO, A. Characterization of folic acid / native cyclodextrins host e guest complexes in solution. **Journal of Molecular Structure**, v. 1109, p. 114–118, 2016.
- COSTA, M. N. S. Estudos eletroquímicos de derivados 5-nitrotiofenotiossemicarbazoônicos- Compostos de interesse biológicos. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2019.
- CRINI, G. Review : A History of Cyclodextrins. Gre g. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 21, p. 10940–10975, 2014.
- DODZIUK, H. **Cyclodextrins and Their Complexes**.
- ELEAMEN, G. R. A. et al. Improvement of Solubility and Antifungal Activity of a New Aminothiophene Derivative by Complexation with 2-Hydroxypropyl- β - cyclodextrin. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 28, n. 1, p. 116–125, 2017.
- FACCHIANO, A.; RAGONE, R. Modification of Job's method for determining the stoichiometry of protein-protein complexes. **Analytical Biochemistry**, v. 313, n. 1, p. 170–172, 2003.
- FERREIRA, R. F. et al. Electrochemical investigations into host – guest interactions of a natural antioxidant compound with b-cyclodextrin. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 2, p. 797–803, 2010.
- INGHAM, K. C. On the application of Job's method of continuous variation to the stoichiometry of protein-ligand complexes. **Analytical Biochemistry**, v. 68, n. 2, p. 660–663, 1975.

KWON, J. H.; WILSON, L. D. Surface modified activated carbon with β -cyclodextrin – Part I . Synthesis and characterization Surface modified activated carbon with β -cyclodextrin – Part I . Synthesis and characterization. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, v. 4529, 2010.

LOZANO, K. et al. Electrochemical and associated techniques for the study of the inclusion complexes of thymol and β -cyclodextrin and its interaction with DNA. **Journal of Solid State Electrochemistry**, p. 1–11, 2017.

LOZANO, K. et al. Electrochemical and associated techniques for the study of the inclusion complexes of thymol and β -cyclodextrin and its interaction with DNA. **Journal Solid State Electrochem**, p. 1483–1493, 2018.

MARQUES, KARLA M. R. **Determinação do potencial antitumoral e estudos de mecanismos de ação de derivados 5-nitrotiofeno-tiossemicarbazônicos**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

MARQUES, M. K. R. et al. 5-Nitro-Thiophene-Thiosemicarbazone Derivatives Present Antitumor Activity Mediated by Apoptosis and DNA Intercalation. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 788 000, p. 1075–1091, 2019.

MELO, N. F. S. et al. Preparação e caracterização inicial de complexo de inclusão entre nitrofurazona e 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 35–44, 2007.

MOURA, M. A. F. . Atividade antitumoral de nitroquinona derivada da Nor- β -lapachona : contribuição da farmacoeletroquímica na pesquisa do mecanismo de ação de novos fármacos. Universidade Federal de Alagoas, 2008.

NASCENTE, L. D. C. **Síntese e Avaliação Citotóxica de Nitroderivados Planejados a Partir do Safrol**. Universidade de Brasília, 2009.

OLIVEIRA, J. P. **Validação, atividade antifúngica e avaliação sinérgica de nitroestirenos in vitro**. Universidade Federal do Pará, 2014.

PALAGONIA, M. S. et al. Comparison between cyclic voltammetry and differential charge plots from galvanostatic cycling. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 847, n. June, p. 113170, 2019.

PASSOS, M. L. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S. Detection in UV-visible

spectrophotometry: Detectors , detection systems , and detection strategies. **Measurement**, v. 135, p. 896–904, 2019.

PAULA, F. S. DE. Estudo Bioeletroquímico de compostos eletrobioativos. Relação estrutura- eletroatividade e utilização de biossensor de DNA no estudo de agentes intercalantes e alquilantes de DNA. Universidade Federal de Alagoas, 2006.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1013–1020, 2009.

PAVIA, D. L. et al. An introduction to atomic spectroscopy. In: **cengage Learning**. 4^a ed. 2010.

PINTO, L. M. A. et al. Physico-chemical characterization of benzocaine- B-cyclodextrin inclusion complexes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 956–963, 2005.

QUINTANS, J. D. S. S. et al. Phytomedicine Improvement of p-cymene antinociceptive and anti-inflammatory effects by inclusion in α -cyclodextrin. **Phytomedicine**, v. 20, n. 5, p. 436–440, 2013.

REFAT, H. M.; FADDA, A. A. Synthesis and antimicrobial activity of some novel hydrazide , benzochromenone , dihydropyridine , pyrrole , thiazole and thiophene derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 70, p. 419–426, 2013.

RODRIGUES, K. A. DA F. et al. 2-Amino-thiophene derivatives present antileishmanial activity mediated by apoptosis and immunomodulation in vitro. **European Journal of Medicinal Chemistry journal**, v. 106, p. 1–14, 2015.

RODRIGUES, L. B. et al. Anti-inflammatory activity of the essential oil obtained from *Ocimum basilicum* complexed with b-cyclodextrin (b-CD) in mice. **Food and Chemical Toxicology journal**, v. 109, p. 836–846, 2017.

SILVA, E. G. Estudo da interação de carreadores com compostos naturais bioativos, via espectroscopia e eletroquímica: avaliação e desenvolvimento de plataformas contendo sistemas de nanocarreadores híbridos, conjugados com pontos quânticos de CdSe/CdS. Universidade Federal de Alagoas, 2019.

SILVA, K.; MARCO, J. F.; YAÑEZ, C. Covalent Immobilization of Amino- β -

Cyclodextrins on Glassy Carbon Electrode in Aqueous Media. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 166, n. 8, p. 75–81, 2019.

SILVA, M. P. G. et al. Electrochemical investigation of the toxicity of a new nitrocompound and its interaction with β -cyclodextrin and polyamidoamine. **Electrochimica Acta**, v. 251, p. 442–451, 2017.

SILVA, M. P. G. Estudos bioeletroquímicos de nitroderivado 2-[(4-nitrofenil)- amino]-4,5,6,7-tetraidro-4H-benzo[β]tiofeno-3-carbonitrila em interação com β -ciclodextrina e PAMAM 3ª geração. Universidade Federal de Alagoas, 2017.

SKOOG, D. A. ; WEST, D. M. ; HOLLER, F. J. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª ed. Thomson, 2009.

SOUZA, D. DE et al. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.

TENÓRIO, R. P. et al. Tiossemicarbazonas: Métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030–1037, 2005.

VENKATARAMIREDDY, V. et al. Synthesis and anti-cancer activity of novel 3-aryl thiophene-2-carbaldehydes and their aryl/heteroaryl chalcone derivatives. **Rasayan journal**, n. April, p. 31–39, 2018.

VIODÉ, C. et al. Enzymatic Reduction Studies of Nitroheterocycles. **Biochemical Pharmacology**, v. 57, n. 98, p. 549–557, 1999.

WANG, S. et al. Trends in Analytical Chemistry Recent advances in cyclodextrins-based chiral-recognizing platforms. **Trends in Analytical Chemistry journal**, v. 121, 2019.

YAN, X. et al. Quantitative structure – activity relationships of nitroaromatics toxicity to the algae (*Scenedesmus obliquus*). **Chemosphere**, v. 59, p. 467–471, 2005.