

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Centro de Ciências Exatas e Naturais

Departamento de Química

Curso de Pós-Graduação em Química e

Biotecnologia – CPGQB

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE
NITROFENIL-1,4-DIIDROPIRIDINAS E DO DIAZODERIVADO
DA β -LAPACHONA,
COMPOSTOS DE INTERESSE BIOLÓGICO**

Danielle Cristhina Melo Ferreira

Dissertação apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Federal de Alagoas,
para obtenção do título de Mestre em
Química.

Orientadora: Prof^a Dra. Fabiane Caxico de Abreu

Co-Orientadora: Prof^a Dra. Marília Oliveira F. Goulart

Maceió
Abril de 2004

Danielle Cristhina Melo Ferreira



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas
Tel. 55 82 3214-1384 Fax. 55 82 3214-1389
www.qui.ufal.br

Campus A. C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57072-970
Maceió-AL
Brasil

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **DANIELLE CRISTHINA MELO FERREIRA**, intitulada: “**Estudo do Comportamento Eletroquímico de Nitrofenil-1,4-Diidropiridinas e do Diazoderivado da β -Lapachona, Compostos de Interesse Biológico**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 12 de maio de 2004, às 9h15 na sala de aula do PPGQB da UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a. Dr.^a. Fabiane Caxico de Abreu

Orientadora – IQB/UFAL

CPF: 144.766.304-72

Prof.^a. Dr.^a. Marília Oliveira Fonseca Goulart

Co-Orientadora – IQB/UFAL

CPF: 460.304.255-87

*Dedico este trabalho a minha mãe pela educação
dada e por fazer acreditar que o trabalho dignifica.*

Danielle Cristhina Melo Ferreira

AGRADECIMENTOS

- A Profa Dr^a. Marília Oliveira Fonseca Goulart e Fabiane Caxico de Abreu, pelos ensinamentos, paciência, incentivo e apoio;
- Ao Prof. Vitor Ferreira, pela amostra de diazoderivado cedida.
- Ao Prof. Lehmann e Dra Dorothea Diewald, pelas amostras de Nitrofenil-1,4-diidropiridinas cedidas;
- Ao grupo do Professor Antônio Ventura, pela amostra de β -lapachona cedida;
- A Profa. Eulália Ximenes da UFPE, pelos testes bacteriológicos;
- Ao técnico Marcos, por ensinar a manusear o aparelho de Infravermelho;
- A todos do Laboratório de Eletroquímica do Departamento de Química da UFAL;
- Aos funcionários do Departamento de Química da UFAL;
- Aos meus amigos, pelo incentivo;
- Enfim, a todos, que de uma forma direta ou indireta colaboraram com este projeto, o mais sincero agradecimento.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	i
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
I. INTRODUÇÃO GERAL	1
I.1. Agentes antibióticos	4
I.2. Sobre as nitrofenil-1,4-diidropiridinas	6
I.3. Sobre a β -lapachona e seu diazo derivado	10
I.4. Técnicas Eletroquímicas	17
I.4.1. Voltametria Cíclica	17
I.4.2. Voltametria de Onda Quadrada	19
I.4.3. Eletrólise	22
I.5. Mecanismo eletródico escolhido	24
I.5.1. Reação de auto-protonação	24
II. OBJETIVO	27
III. EXPERIMENTAL	28
III.1. Instrumentos e técnicas gerais	28
III.1.2. Instrumentos	28
III.1.3. Reagentes, solventes e soluções	29
III.1.4. Técnicas Eletroquímicas	30
III.1.4.1. Voltametria Cíclica	30
III.1.4.2. Voltametria de Onda Quadrada	31
III.1.4.3. Eletrólise	31
III.2. Ensaio Biológico	33
III.2.1. Determinação da atividade antimicrobiana	33
III.2.1.1. Preparação do meio de cultura	33
III.2.1.2. Preparação dos inóculos bacterianos	33
III.2.1.3. Semeio e leitura	34

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
IV.1. Nitrofenil-1,4-diidropiridinas	35
IV.1.1. Meio prótico	35
IV.1.1.1. Eletrólise	38
IV.1. 2. Meio aprótico	43
IV.1. 2.1. Voltametria cíclica	43
IV.1.2.1.1. Substância 1	43
IV.1.2.1.2. Substância 2	48
IV.1.2.2. Voltametria de onda quadrada	53
IV.2. β -lapachona e diazo derivado	55
IV.2.1. Meio prótico	55
IV.2.1. Voltametria de onda quadrada	57
IV.2.2. Meio aprótico	59
IV.3. Testes bacteriológicos <i>in vitro</i>	67
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
VI. PERSPECTIVAS	69
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
VIII. ANEXOS	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Alguns nitrocompostos e quinonas de interesse biológico.	2
Figura 2: Esquema das etapas de redução e oxidação de nitrocompostos em meio aprótico.	7
Figura 3: Esquema de redução eletroquímica de nitroaromáticos em presença de prótons.	8
Figura 4: Esquema de obtenção de possíveis produtos reacionais após redução de nitrocompostos aromáticos em meios prótico e aprótico, com evidência de formação de compostos azoxi, azo e hidrazo.	8
Figura 5. Esquema mecanístico sugerido para a oxidação de 1,4-diidropiridinas.	9
Figura 6: Atuação de quinonas na geração de EOR e destoxificação, pelo emprego de catalase e superóxido-dismutase (S.O.D).	10
Figura 7: Natureza dipolar do grupo diazo indicando possibilidade de estabilização por ressonância	12
Figura 8: Geração de carbenos via decomposição de diazocomposto.	12
Figura 9: Diaminocarbenos - nucleofílico devido ao forte caráter eletrodoador dos substituintes.	13
Figura 10: Esquema para a redução eletrônica de diazo compostos.	16
Figura 11: Preparação em uma etapa da diazo- β -lapachona (4).	16
Figura 12: Técnica de voltametria cíclica. Perturbação aplicada e resposta obtida.	18
Figura 13: Testes diagnósticos em VC para processos reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis.	19
Figura 14: Variação da corrente faradáica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso.	19
Figura 15: Esquema básico para a voltametria de onda quadrada.	21
Figura 16: Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde: 1) representa um processo redox de um sistema reversível e 2) de um sistema irreversível.	22

Figura 17: Equação de um mecanismo EC.	24
Figura 18: Formação do ânion radical e diânion estáveis em TE reversível.	24
Figura 19: Protonação do diânion na presença de pequenas quantidades de água.	25
Figura 20: Cella eletroquímica usada nas técnicas voltamétricas.	29
Figura 21: Cella de eletrólise com eletrodo de feltro de carbono.	30
Figura 22: Voltamogramas cíclicos da redução de 1 e 2 em meio prótico, pH 6,9. Eletrodo de Hg. $\nu = 0,100$ V/s. $c = 2$ mmol/L.	35
Figura 23: Gráfico de E_{p_c} em função de $\log \nu$ para 1 e 2 em meio aquoso, respectivamente.	35
Figura 24: Gráfico de I_{p_c} em função de $\nu^{1/2}$ para 1 e 2 em meio aquoso, respectivamente.	36
Figura 25: Redução do grupo nitro em meio prótico.	36
Figura 26: Espectro no infravermelho do composto 2 antes (a) e após (b) eletrólise.	38
Figura 27: Voltamograma cíclico de 2 antes e após eletrólise. Eletrodo de carbono vítreo, em meio aquoso.	39
Figura 28: Voltamograma cíclico de 1 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.	42
Figura 29: Gráficos do potencial de pico de I_c versus $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$ para 1 .	43
Figura 30: Voltamograma cíclico de 1 em DMF e TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de mercúrio. $c = 2$ mmol/L. $\nu = 0,100$ V/s.	44
Figura 31: Mecanismo de redução de nitrocompostos aromáticos em meio aprótico.	44
Figura 32: Voltamograma cíclico de 1 em DMF e TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L. Varredura anódica.	45
Figura 33: Esquema da oxidação do anel diidropiridínico a piridina.	45
Figura 34: Voltamogramas cíclicos de 2 em DMF e TPAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo de carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.	47

Figura 35: Gráficos do potencial de i_{pc} vs $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$ para 2 .	48
Figura 36: Voltamogramas cíclicos de 1 e 2 em DMF e TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L. $\nu = 0,100$ V/s.	48
Figura 37: Esquema do Provável mecanismo de auto-protonação para o composto 2 .	49
Figura 38: Voltamogramas cíclicos de 2 em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L) antes e após adição de excesso de NaOH. $c = 2$ mmol/L. $\nu = 0,100$ V/s. Eletrodo de carbono vítreo.	49
Figura 39: Reação da abstração do próton ácido pela base (NaOH).	50
Figura 40: Voltamogramas de VOQ para 1 e 2 em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L) em freqüência de 50 Hz. Eletrodo: carbono Vítreo. $c = 2$ mmol/L.	52
Figura 41: VC da β -lapachona, tampão fosfato pH 7,0 com 20 % de etanol. $\nu = 0,100$ V/s. Eletrodo de carbono vítreo, $c = 8,3 \times 10^{-5}$ mol/L.	53
Figura 42: Voltamogramas cíclicos da redução de 4 em meio misto 7:3 tampão fosfato:etanol, pH 6,9 (pH aparente), em várias velocidades. Eletrodo: carbono vítreo. $c = 1,4$ mmol/L.	54
Figura 43: Gráficos de E_{pc} vs $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$ para 4 .	54
Figura 44: Voltamograma de VOQ para 4 em meio misto 6:4 (tampão fosfato:etanol) pH aparente 7,15. Freqüência de 125 Hz. Eletrodo: carbono vítreo. $c = 5 \times 10^{-4}$ mol/L.	55
Figura 45: Voltamograma de 3 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.	57
Figura 46: Gráficos de E_{pc} versus $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$.	57
Figura 47: Mecanismo de redução de 3 em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L). Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.	58
Figura 48: Voltamograma de 4 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.	59
Figura 49: gráfico de i_{pc} versus $\nu^{1/2}$ e E_{pc} versus $\log \nu$ para o 4 .	59

Figura 50: EM do produto da redução da substância 4 , com geração de 5 .	60
Figura 51: Voltamograma cíclico em meio aprótico de 4 antes e após eletrólise.	61
Figura 52: Esquema do provável mecanismo de redução para 4 , gerando o intermediário ânion radical carbeno 4b .	61
Figura 53: Voltamogramas cíclicos de 3 e 4 em meio aprótico (DMF e TBAP 0,1 mol/L). Eletrodo: carbono vítreo. $\nu = 0,100$ V/s. $c = 2$ mmol/L.	62
Figura 54: Resultados dos testes de difusão em discos frente a <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> .	65

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **1** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte TBAP e DMF (0,1 mol/L) e carbono vítreo como eletrodo de trabalho. 40
- Tabela 2** – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **2** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte TBAP e DMF (0,1 mol/L) e carbono vítreo como eletrodo de trabalho. 41
- Tabela 3** – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **3** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte TBAP e DMF (0,1 mol/L) e carbono vítreo como eletrodo de trabalho. 46
- Tabela 4** – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **2** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte TBAP e DMF (0,1 mol/L) e carbono vítreo como eletrodo de trabalho. 51
- Tabela 5** – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **4** na concentração de 1,4 mmol/L. Eletrólito de suporte: tampão fosfato pH 6,9 (pH aparente). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. 56

- Tabela 5**– Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **4** na concentração de 1,4 mmol/L. Eletrólito de suporte: tampão fosfato pH 6,9 e 30% de etanol (pH aparente). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. 56
- Tabela 6**– Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **3** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte: DMF/TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. 63
- Tabela 7**– Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **4** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte: DMF/TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. 64

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

α	Constante de transferência eletrônica
ε	Constante dielétrica
τ	Tempo de pulso final
μg	Micrograma
μL	Microlitro
ν	Velocidade varredura do potencial
τ'	Tempo de pulso inicial
$\nu^{1/2}$	Raiz quadrada da velocidade varredura
ΔE_p	Varição entre os potenciais de pico
1,4-DHP	1,4-Diidropiridina
ArNO_2	Nitrocomposto aromático
$\text{ArNO}_2^{\bullet-}$	Ânion radical do nitrocomposto aromático
CG/EM	Cromatografia Gasosa com Espectrômetro de Massa acoplado
CIM	Concentração inibitória mínima
DIBE	Diazo derivado da β -lapachona
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
$\text{DM}=\text{N}_2$	Diazo composto
$\text{DM}=\text{N}^{\bullet}$	Ânion radical do diazo composto
DNA	Ácido desoxirribonucléico
E	Potencial de pico
E_{ap}	Potencial aplicado
EC	Mecanismo eletródico consistindo de etapa de TE e etapa química
EM	Espectro de massas
EO	Estresse oxidativo
EOR	Espécies oxigenadas reativas
E_p	Potencial de pico
$E_{p/2}$	Potencial de pico à meia altura
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico

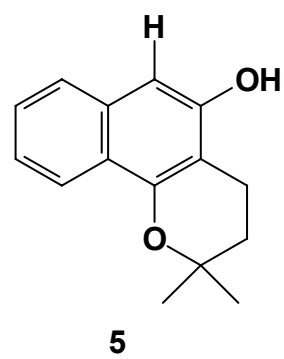
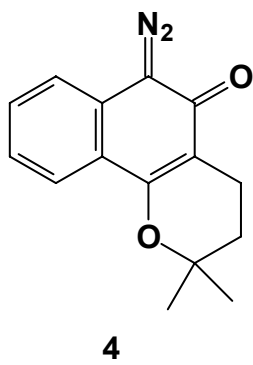
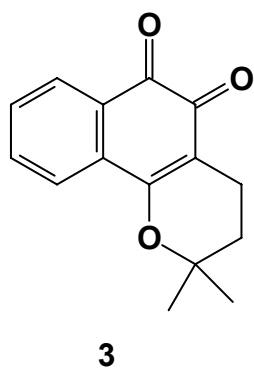
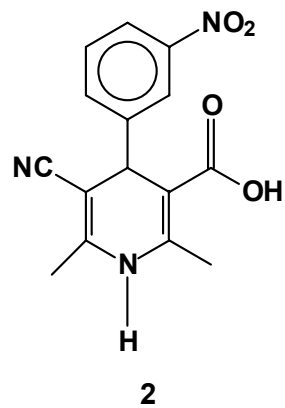
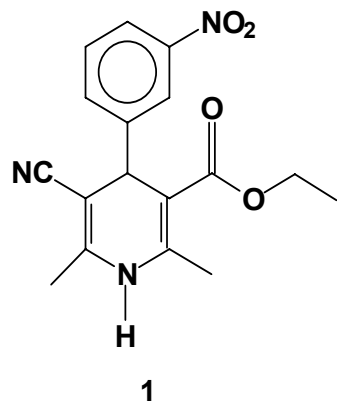
ES	Eletrólito de suporte
F	Faraday
HA	Doador de próton
i_{pa}	Corrente de pico anódico
i_{pc}	Corrente de pico catódico
k_i	Constante de ida
k_f	Constante de volta
Ox	Espécies oxidadas
pH	Potencial hidrogeniônico
R	Grupo arila ou alquila
Red	Espécies reduzidas
REP	Ressonância Eletrônica Paramagnética
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
S.O.D.	Superóxido-dismutase
SH	Doador de átomo de hidrogênio
TBAP	Perclorato de <i>tert</i> -butilamônio
TE	Transferência eletrônica
UFC	Unidade Formadora de Colônia
V	Volt
VC	Voltametria cíclica
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
X	Espécies geradas em uma reação do tipo EC

RESUMO

Dois compostos da classe nitrofenil-1,4-diidropiridina (**1** e **2**), um da classe das quinonas - a β -lapachona (**3**) e uma diazoquinona derivada da β -lapachona, (**4**), foram analisados eletroquimicamente. Para as nitrofenil-1,4-diidropiridinas foram utilizadas as técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada, em meio aprótico (DMF + TBAP 0,1 mol/L) e prótico (tampão fosfato, pH 6,9), em Hg e carbono vítreo. Já a β -lapachona e seu diazoderivado foram estudados em meio prótico e aprótico, com o uso, como eletrodo de trabalho, de carbono vítreo.

A redução das nitrofenil-1,4-diidropiridinas substituídas, em meio prótico tanto em eletrodo de Hg como em carbono vítreo, seguiu padrão de comportamento eletroquímico típico de nitrocomposto aromático, representado por uma onda intensa de natureza irreversível, indicativa de um processo de redução de $4e^-/4H^+$, com formação de derivados hidroxilamínicos de diferentes estabilidades. Já em meio aprótico, os voltamogramas cíclicos evidenciaram, para a primeira delas (**1**), uma onda monoeletrônica, de caráter quase reversível correspondendo à geração do ânion-radical nitro e uma segunda onda irreversível apresentando mecanismo complexo, com formação de intermediários reduzidos reativos. A substância com grupamento ácido na molécula (-COOH) apresentou reação química acoplada após a primeira transferência eletrônica, em mecanismo típico de auto-protonação.

O comportamento eletroquímico da β -lapachona, em meio aprótico, mostrou-se similar ao de *o*-quinonas padrão, representado por duas ondas monoeletrônicas, uma de natureza reversível e outra quase-reversível. O diazo derivado da β -lapachona (**4**) apresentou comportamento diferente, com uma única onda de redução, sem correspondente anódica. O mecanismo de redução corresponde a um processo EC, onde a captura monoeletrônica irreversível ocorre no grupo diazo e a reação química acoplada envolve a perda unimolecular do N_2 , com geração do ânion radical carbeno intermediário, que após protonações sucessivas produz o derivado fenólico (**5**), majoritariamente. O voltamograma cíclico em meio prótico (tampão fosfato pH 6,9) de **4** apresentou uma única onda de redução sem contrapartida anódica em potencial de -0,419 V. O composto **4** não apresentou atividade antibacteriana.

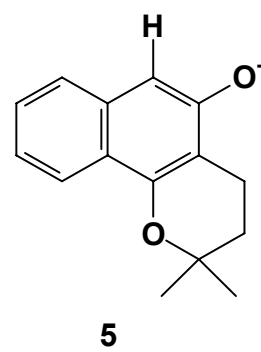
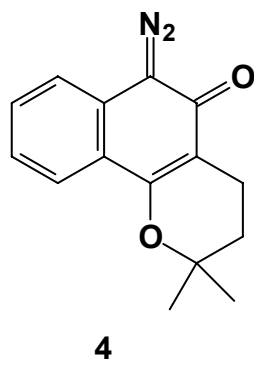
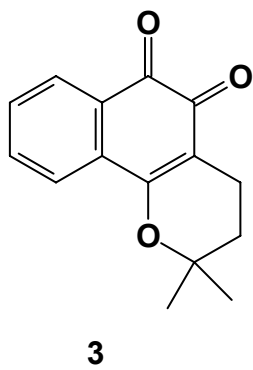
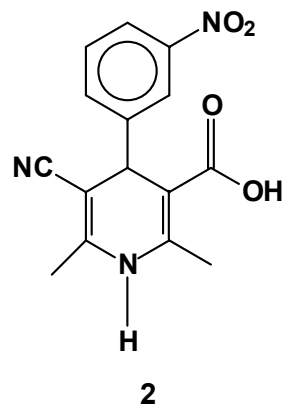
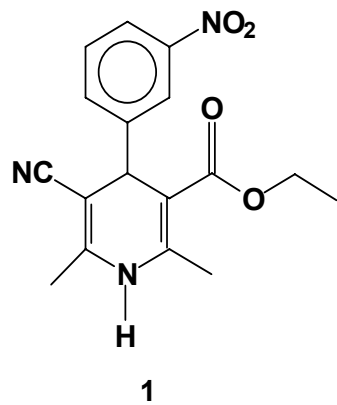


ABSTRACT

Two compounds of the class nitrophenyl-1,4-dihydropyridines (1 and 2), one from the quinone class - the β -lapachone (3) and one diazoquinone (4), the β -lapachone-derivative were analyzed by electrochemical methods. For the 1,4-dihydropyridines, the techniques used were cyclic voltammetry and square wave voltammetry, in aprotic (DMF + TBAP) and protic media (phosphate buffer, pH 6.9), on Hg and vitreous carbon electrodes. β -lapachone and its diazoderivative were studied in aprotic and protic media, using vitreous carbon as the working electrode.

The reduction of the substituted nitrophenyl-1,4-dihydropyridines in protic medium, on both Hg and vitreous carbon electrodes showed electrochemical behavior typical of nitroaromatics, represented by one intense irreversible wave indicative of a $4e^-/4H^+$ reduction process, with formation of the correspondent hydroxylamines, that showed different degrees of stability. In aprotic medium, the cyclic voltammograms showed, for 1, a first one-electron reversible wave corresponding to the generation of the nitro anion-radical, and a second irreversible wave that presented a complex mechanism, with the formation of reactive reduced intermediates. The acid (-COOH) derived nitrophenyldihydropyridine showed a more complex electrochemical feature, representative of an EC mechanism, with evidence of self-protonation.

The electrochemical behavior of β -lapachone, in aprotic medium, was similar to the one of typical o-quinones and was represented by two one-electron waves, with reversible and quasi-reversible nature. However, the diazo derivative showed a different behavior, with only one reduction wave, without the anodic counterpart. The reduction mechanism corresponds to an EC process, with the irreversible electron transfer occurring at the diazo group, followed by a chemical reaction that involves the unimolecular loss of N_2 , generating the carbene anion radical. After successive protonations, the phenolic derivative (5) was obtained, as the main reduction product. The cyclic voltammogram reduction of the diazo derivative in protic medium (phosphate buffer, pH 6.9) showed only one wave without the anodic counterpart in potential of -0.419 V, differently from what is observed for o-quinones. Compound 4 didn't show antibacterial activity.



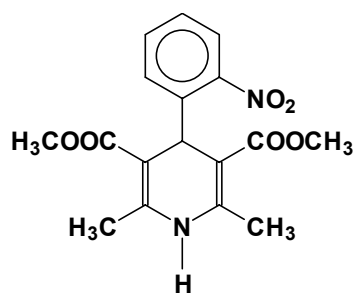
I. INTRODUÇÃO GERAL

Doenças tropicais endêmicas como a malária, a esquistossomose e a doença de Chagas, correspondem à cerca de 10% das doenças globais. Todos os anos, 14 milhões de pessoas morrem de infecções tratáveis e doenças parasitárias, totalizando um quarto de todas as mortes no mundo, principalmente nos países em desenvolvimento, tornando-se um dos mais sérios problemas de saúde pública (http://www.jornalexpress.com.br/noticias/detalhes.php?id_jornal=8298&id_noticia=822, acesso em 2003; <http://www2.uol.com.br/cienciahoje/chdia/n731.html>, acesso em 2003).

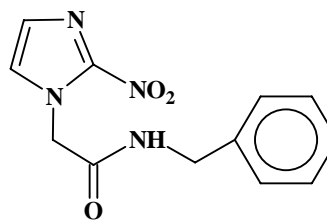
Em 1998, foram registrados 930 mil óbitos no Brasil. Desse total, as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 27%. A hipertensão arterial é um dos mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, sendo responsável por 40% das mortes por acidente vascular encefálico e por 25% daquelas por doença arterial coronária. O objetivo primordial do tratamento da hipertensão arterial é a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares do paciente hipertenso onde são utilizadas tanto medidas não-medicamentosas isoladas como associadas a fármacos anti-hipertensivos. Os medicamentos podem ser os diuréticos, os beta-bloqueadores, inibidores da enzima conversora da angiotensina e bloqueadores dos canais de cálcio (<http://departamentos.cardiol.br/dha/publicacoes>, acesso em 2003).

A ação anti-hipertensiva dos bloqueadores dos canais de cálcio decorre da redução da resistência vascular periférica por diminuição da concentração de cálcio nas células musculares lisas vasculares. A família das 1,4-diidropiridinas é responsável por esta ação antagonista dos íons cálcio causando a vasodilatação (ÁLVAREZ-LUEJE et al, 2002).

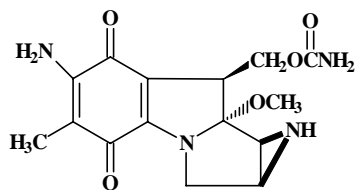
Quinonas e nitrocompostos aromáticos são constantemente utilizados em quimioterapia de doenças tropicais, câncer e doenças cardiovasculares (Figura 1). Suas propriedades de oxi-redução e as características dos pares Q/Q^{\bullet} (quinona/semiquinona), $ArNO_2/ArNO_2^{\bullet}$ podem ser essenciais para esse efeito. São cicladores redox. Sua atividade citotóxica está ligada, principalmente, ao fato de provocarem o estresse oxidativo ou em condições de hipóxia, serem alquilantes do DNA (de ABREU et al, 2002a).



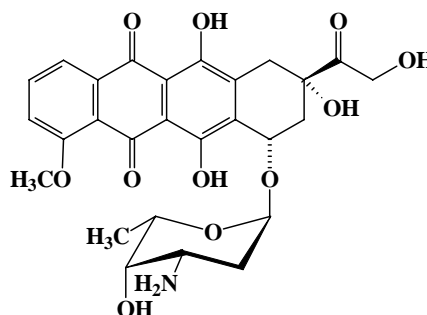
Nifedipina (anti-hipertensivo)



Benzonidazol (Mal de Chagas)



Mitomicina C (antitumoral)



Adriamicina (antitumoral)

Figura 1: Alguns nitrocompostos e quinonas de interesse biológico.

As propriedades eletroquímicas de algumas biomoléculas fornecem informações, tais como características energética e mecanística, que podem, eventualmente, ser relacionadas às ações biológicas. Os potenciais de redução podem ser úteis no esclarecimento do modo de ação de fármacos e toxinas (de ABREU et al, 2002a).

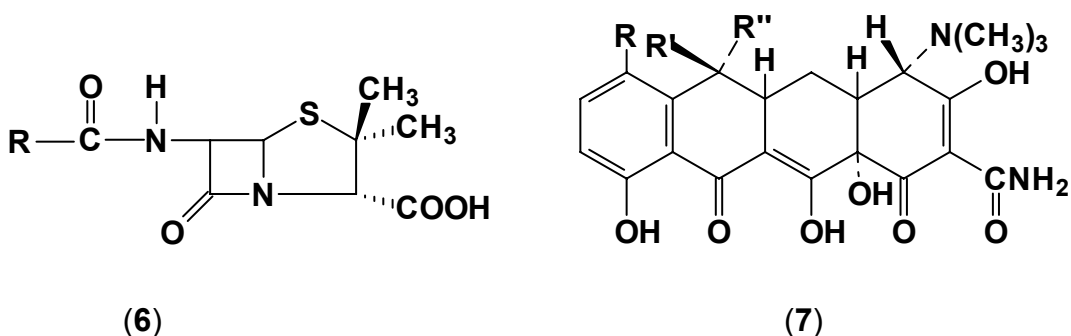
Muitos dos processos biológicos mais importantes baseiam-se em reações de oxi-redução envolvendo catalisadores enzimáticos. Em um desses processos, onde o papel da eletroquímica é relevante, ocorre a Transferência Eletrônica, seguida do Estresse Oxidativo (TE-EO), isto é, após TE (transferência eletrônica), há geração de espécies oxigenadas tóxicas ou reativas (EOR) ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , HO^{\bullet}), que podem causar danos às células infectadas ou doentes. Esta teoria permite unificar e explicar, em termos de mecanismos de ação bio-farmacológica, uma diversidade de atividades biológicas, auxiliando, portanto, no planejamento de agentes tumorais e anti-infecciosos, assim como na compreensão de mecanismos de outras classes de fármacos ou compostos biologicamente ativos como toxinas, enzimas e hormônios (KOVACIC et al, 2000).

Técnicas eletroquímicas variadas, principalmente a voltametria cíclica, uma das mais utilizadas, permitem obter uma quantidade extraordinária de informações sobre reações de transferência eletrônica, inclusive biológica (KAUFFMANN; VIRÉ, 1993).

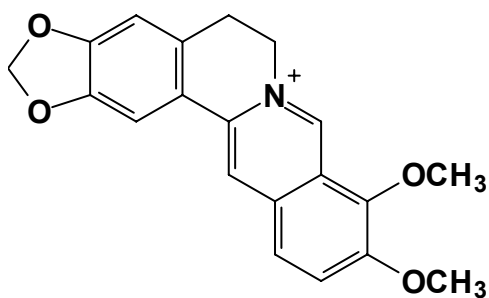
Os métodos eletroanalíticos fornecem relações entre quantidades físico-químicas básicas: o potencial eletroquímico E , a corrente I e o tempo t , com obtenção de informações úteis na correlação entre estruturas e propriedades dinâmicas das moléculas investigadas. Este é o passo mais importante de uma investigação eletroanalítica. Os potenciais de redução quantificam a energética deste tipo de reação. Os parâmetros normalmente empregados são E^0 ou E_{redox} ($E_{\text{pc}} + E_{\text{pa}})/2$ (para sistemas reversíveis) ou $E_{\text{pc}} - E_{\text{pc}/2}$ (para sistemas irreversíveis ou sem onda anódica definida), a função corrente ($I_p/(v^{1/2} \times c)$ e $I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}}$). O valor E^1_7 [potencial de primeira onda, em pH próximo ao fisiológico, vs Eletrodo Normal de Hidrogênio (ENH)] é considerado um dos fatores que mais influencia as atividades biológicas/farmacológicas de fármacos e pró-fármacos. Quanto mais positivos aqueles valores, mais fácil o processo de redução (oxidante mais poderoso, maior a afinidade eletrônica). Outras técnicas, como voltametria de onda quadrada, voltametria de pulso diferencial, entre outras, fornecem informações adicionais e contribuem para o estabelecimento de mecanismo eletródico (de ABREU, 2002a).

I.1. Agentes antibióticos

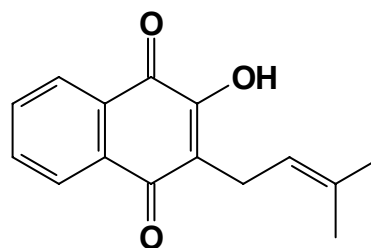
Os antibióticos são substâncias de origem biológica hemi-sintética ou sintética, que inibem o crescimento e a sobrevivência de microrganismos. Exemplos incluem: as penicilinas (**6**) e as tetraciclinas (**7**). Eles estão entre os medicamentos mais frequentemente prescritos, embora a resistência microbiana devida a processos evolutivos e uso abusivo, ameacem sua eficácia (WILLIAMS; LEMKE, 2002).



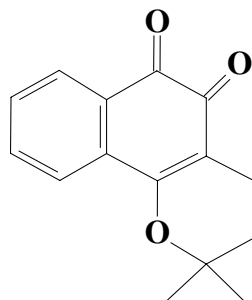
Várias espécies vegetais com propriedades antimicrobianas encontram-se sob reinvestigação, mediante a avaliação da atividade antimicrobiana de extratos, óleos essenciais e de substâncias obtidas de espécies vegetais contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e espécies fúngicas. Quanto ao potencial antibiótico, destaca-se a planta *Berberis freemontii*, da qual se obtém a berberina (**8**), originada da América do Norte, com potente atividade antibacteriana contra uma cepa resistente de *Staphylococcus aureus* (BRESOLIN; CECHINEL, 2003). O lapachol (**9**), uma naftoquinona isolada de *Tabebuia heptaphylla* (ipê-roxo), além de sua atividade anti-tumoral, apresenta excelente atividade de inibição contra bactérias (GUIRAUD et al., 1994). A β -lapachona (**3**), facilmente obtida do lapachol (**9**) (HOOKER, 1936) também apresenta inúmeras ações farmacológicas, incluindo ação antibacteriana (GUIRAUD et al, 1994; OLIVEIRA et al, 2001; CARVALHO et al, 2002; KRISHNAN; BASTOW, 2000; DOCAMPO et al, 1977).



(8)



(9)

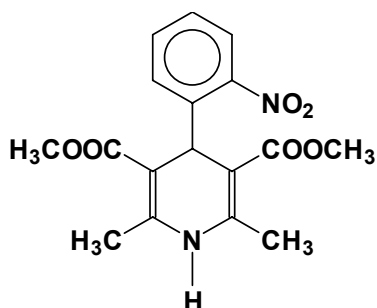


(3)

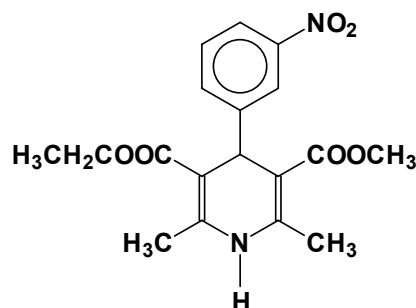
Considerando que o primeiro agente microbiano verdadeiramente efetivo data de 1930 e que os primeiros antibióticos entraram em uso a partir de 1940, é surpreendente a evolução nessa área. Entretanto, doenças que pareciam extintas, tais como a tuberculose e a gonorréia estão se tornando problemas de saúde pública principalmente por causa de mudanças de hábito da sociedade e aparecimento de resistência dos patógenos (WILLIAMS; LEMKE, 2002). Daí, a importância da busca de novos agentes de ação antimicrobiana que conduzam a um espectro antimicrobiano mais amplo, com maior potência, menor toxicidade e administração mais conveniente.

I.2. Sobre as nitrofenil-1,4-diidropiridinas

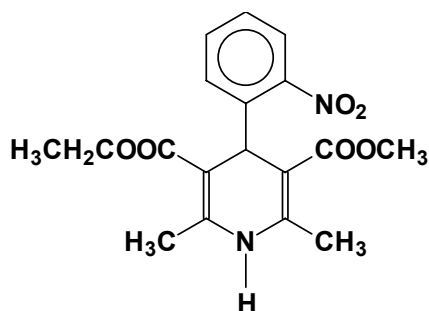
Antagonistas do canal de cálcio, como nifedipina (**10**), nitrendipina (**11**), nisoldipina (**12**) e compostos relacionados, compõem uma das mais importantes classes de fármacos cardíacos usados em hipertensão (KOVACIC et al, 1990). Essa classe de compostos apresenta grupos químicos heterogêneos com diferentes sítios moleculares de ação e diversos perfis farmacológico e clínico, embora compartilhe a propriedade comum de bloquear a entrada do íon cálcio nas células (NÚÑEZ-VERGARA et al, 1996).



(10)



(11)



(12)

A família das diidropiridinas (1,4-DHP) é representada pelo grupo 1,4-diidropiridina, sendo o farmacóforo dessa classe, o núcleo heterocíclico pentassubstituído. Normalmente, esses substituintes incluem um anel lipofílico na posição 4, pequenos grupos alquílicos nas posições 2 e 6 e funções éster com cadeias de tamanhos variáveis nas posições 3 e 5 (LÓPEZ-ALARCÓN et al, 2003; ÁLVAREZ-LUEJE et al, 2002).

Embora o modo preciso de ação desta classe de compostos seja desconhecido, parâmetros eletroquímicos foram medidos na tentativa de buscar informações úteis para a elucidação do mecanismo de ação biológico-farmacológica (KOVACIC et al, 1990).

A presença do grupo nitro arila na estrutura das 1,4-DHP não é essencial para a atividade farmacológica, mas sua presença confere a esses compostos, relevantes características eletrônica e toxicológica (STURM et al, 2001).

O comportamento eletroquímico das nitrofenil-1,4-diidropiridinas encontra-se sob constante investigação. Essas moléculas contêm dois diferentes centros redox: um grupo nitro capaz de sofrer eletrorredução e o grupo diidropiridina passível de oxidação. Alguns estudos são relacionados à eletroxidação da parte diidropiridínica da molécula, mas o maior interesse reside na eletrorredução do grupo nitroaromático (STURM et al, 2001; SQUELLA et al, 1997).

O grupo funcional nitro sofre facilmente redução em solventes próticos e apróticos. A eletrorredução dos nitroaromáticos em sistemas apróticos recebe considerável atenção devido à formação de ânions radicais estáveis. Em solventes apróticos, este grupo é reduzido reversivelmente em duas etapas, a primeira para o ânion radical e a segunda em potencial mais negativo para o diânion (LUND; BAIZER, 1990), que sofre reduções posteriores, irreversíveis em potenciais mais negativos. Em solventes como dimetilformamida (DMF) e a acetonitrila, a segunda onda de redução apresenta natureza irreversível devido ou protonação pelo solvente e/ou eletrólito de suporte (STURM et al, 2001; NÚÑEZ-VERGARA et al, 1993; SMITH; BARD, 1975) (Figura 2). Em meio aquoso, o grupo nitro pode ser reduzido a hidroxilamina ou amina, com captura de quatro ou seis elétrons, respectivamente (Figura 3). Devido à instabilidade dos produtos formados, outros intermediários podem ser gerados como azoxi, azo e outros (Figura 4). Em solução alcalina ou neutra, apenas o processo de quatro elétrons ocorre, tendo como produto final a hidroxilamina substituída (FRY, 1988; MANN; BARNES, 1974).

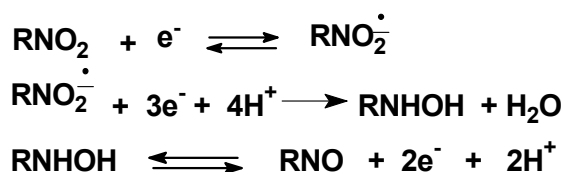


Figura 2: Esquema das etapas de redução e oxidação de nitrocompostos em meio aprótico (LUND; BAIZER, 1990).

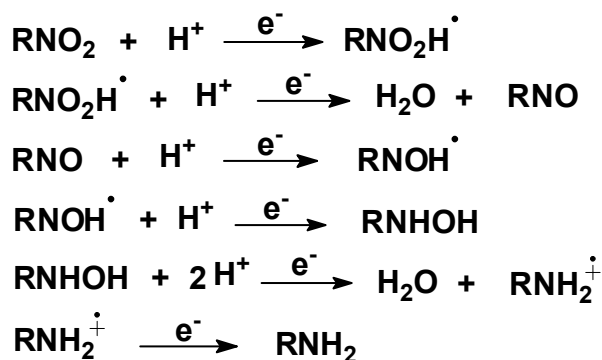


Figura 3: Esquema de redução eletroquímica de nitroaromáticos em presença de prótons (LUND; BAIZER, 1990).

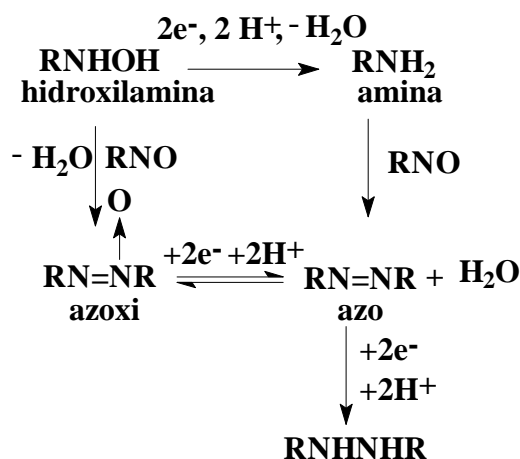


Figura 4: Esquema de obtenção de possíveis produtos reacionais após redução de nitrocompostos aromáticos em meios prótico e aprótico, com evidência de formação de compostos azoxi, azo e hidrazo. Adaptação (TOCHER, 1997).

O comportamento eletroquímico dos nitrocompostos é também influenciado pelos efeitos indutivo, de ressonância e pelas reações intramoleculares de intermediários eletrogerados com substituintes presentes na molécula. A redução de um nitroaromático é facilitada e retardada pela presença de grupos eletroatraentes e eletrodoadores, respectivamente (FRY, 1988).

A redução eletroquímica de 4-nitrofenil-1,4-diidropiridinas substituídas encontra-se em estudo tanto em meio aquoso, quanto não-aquoso. Dos estudos realizados por SQUELLA e colaboradores (1997), concluiu-se que a redução destes compostos é dependente da natureza do meio e que a redução eletroquímica dessa classe de compostos, entre eles, a nifedipina e a nitrendipina, em meio prótico, segue o padrão geral dos compostos nitroaromáticos envolvendo quatro elétrons, em uma única etapa, produzindo o derivado hidroxilamínico. Entretanto, a redução

em meio misto aquoso-DMF dependente da concentração do solvente orgânico resulta na geração dos produtos de redução de um elétron, o ânion radical nitro. Já, em meio totalmente aprótico, podem ser obtidos radicais livres de nitro e nitrosobenzeno.

Como os derivados 1,4-DHP sofrem rápida metabolização oxidativa pelas enzimas citocromo P 450 dando origem a análogos piridínicos que são farmacologicamente inativos, o estudo do processo de oxidação, também atrai a atenção de pesquisadores (LÓPEZ-ALARCÓN et al, 2003). O primeiro estágio da eletroxidação das 1,4-DHP, em solvente não-aquoso, consiste na remoção de um elétron da molécula de partida com formação do cátion radical. Esse cátion radical sofre desprotonação em alta velocidade formando um radical neutro, que sofre oxidação adicional (em potencial igual ou menor que o primeiro estágio), para produzir cátions piridínicos, que, a seguir, sofrem desprotonação, para formar o derivado piridínico. A degradação do produto primário, cátion radical, parece ser o estágio principal do processo de oxidação (LÓPEZ-ALARCÓN et al, 2003; HURVOIS et al, 1993) (Figura 5).

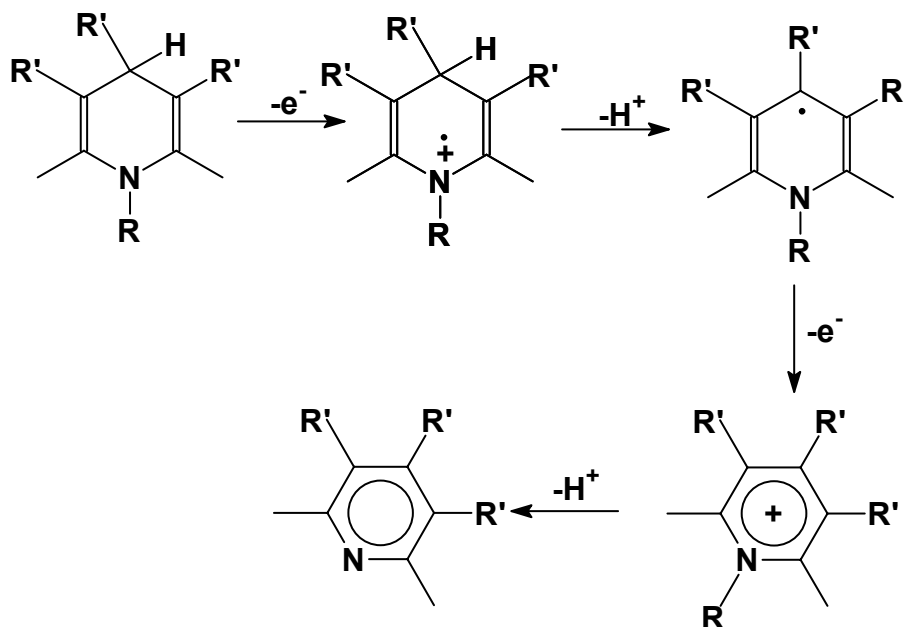


Figura 5: Esquema mecanístico sugerido para a oxidação de 1,4-diidropiridinas (HURVOIS et al, 1993).

I.3. Sobre a β -lapachona e seu diazo derivado

As quinonas representam uma ampla e variada família de metabólitos de distribuição natural. Na natureza, estão envolvidas em etapas importantes do ciclo de vida de seres vivos, principalmente nos níveis da cadeia respiratória. Em estudos farmacológicos, as quinonas mostram variadas biodinamicidades, destacando-se, entre muitas, as propriedades microbicidas, tripanossomicidas, viruscidas, antitumorais e inibidoras de sistemas celulares reparadores (da SILVA et al, 2003).

Quinonas podem ser enzimaticamente reduzidas pela transferência de um elétron, ou de dois elétrons (DT-diaforase), resultando na formação da semiquinona e da hidroquinona, respectivamente. A semiquinona poderá ser tóxica se reagir com oxigênio molecular, formando o ânion-radical superóxido (Figura 6). Havendo um mecanismo eficiente para a reconversão da quinona à semiquinona, em presença de oxigênio, ocorrerá um ciclo redox. O resultado deste ciclo redox é o estresse oxidativo (Figura 6) (MONKS et al, 1992), onde a espécie mais importante é o OH^\bullet .

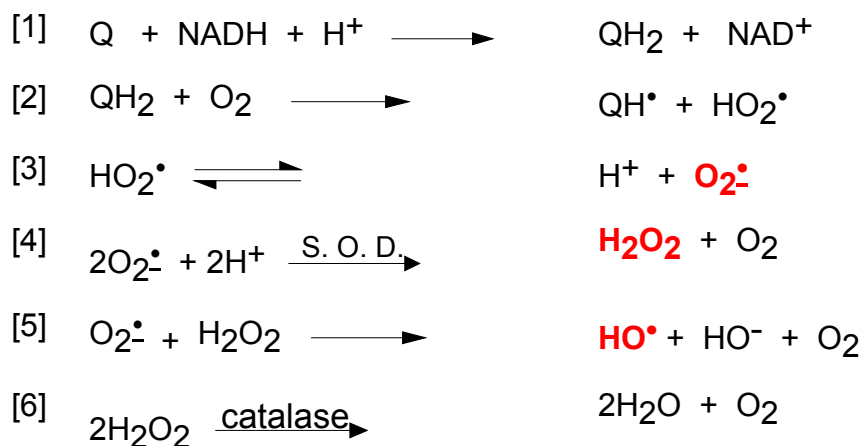


Figura 6: Atuação de quinonas na geração de EOR e destoxificação, pelo emprego de catalase e superóxido-dismutase (S.O.D).

A β -lapachona (3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-nafto [1,2-*b*] pirano-5,6-diona) (**3**) é uma *orto*-naftoquinona de ocorrência natural que pode ser facilmente obtida do Lapachol (**9**), uma quinona presente em planta nativa da América do Sul (*Tabebuia avellanedae*) (DOCAMPO et al, 1977). Ela apresenta inúmeras ações farmacológicas tais como antibacteriana, antifúngica, tripanossomicida, inibidora do crescimento de células tumorais, indutora de alterações cromossomais e da redução

da replicação de HIV-1, entre outras atividades. Estudos também a apontam como um novo inibidor de topoisomerase (CARVALHO et al, 2002; KRISHNAN; BASTOW, 2000; BAILLY, 2000; FRYDMAN et al, 1997; LI et al, 1993). A β -lapachona é intensamente investigada em quimioterapia do câncer. Testes em seres humanos ou clínicos não foram ainda realizados, mas se encontram em planejamento, uma vez que a mesma apresenta um perfil toxicológico favorável (PARDEE et al, 2002).

O mecanismo de ação farmacológica da β -lapachona permanece indefinido, apesar de intensa investigação. O entendimento desse mecanismo é dificultado, em parte, pelo reconhecimento de que **3** age sobre múltiplos alvos biológicos. Reconhece-se, no entanto, que as atividades tripanossomicida, antibacteriana e citotóxica da β -lapachona possam ser atribuídas ao mecanismo TE-EO, isto é, à formação, após redução, de espécies oxigenadas reativas (EOR) (Figura 6) que causam danos celulares, principalmente ao DNA (MISICO; FORZANI, 2003; MOURA et al, 2001; GOIJMAN; STOPPANI, 1985).

Devido ao amplo âmbito de atividades biológicas associadas à β -lapachona, o estudo de um derivado com modificações no grupo *orto*-quinônico, responsável pela característica cicladora redox da molécula, apresenta forte interesse (MISICO; FORZANI, 2003; CARVALHO et al, 2002).

Os diazo compostos são substâncias que apresentam o grupo com fórmula geral $N_2=CRR'$ (R= H, R'= alquila, arila). São considerados reagentes versáteis em química de coordenação bem como em síntese orgânica uma vez que podem se ligar a centros metálicos de várias formas ou gerar carbenos mediante perda da molécula de N_2 (BERTANI et al, 2002).

A estabilidade dos diazocompostos é influenciada pelos substituintes presentes. Os diazoalcanos simples, como o diazometano, tendem a ser instáveis apresentando também natureza tóxica e explosiva. Já os compostos diazo carbonílicos são mais estáveis, pois podem ser estabilizados por ressonância pelos substituintes eletroatraentes ligados ao carbono (Figura 7). Os diazocompostos são rapidamente decompostos por ácidos por um mecanismo que envolve protonação no carbono seguido pela perda de nitrogênio (CARVALHO et al, 2002). Essa classe de compostos apresenta várias aplicações em química medicinal, já que alguns são bioativos, entretanto, outros apresentam atividade carcinogênica (KATO et al, 1992).

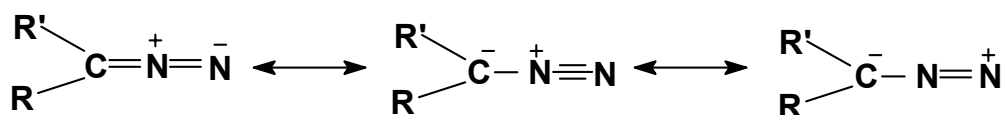


Figura 7: Natureza dipolar do grupo diazo indicando possibilidade de estabilização por ressonância (MOODY; WHITHAM, 1997).

O método mais utilizado para geração de carbenos envolve, usualmente, um diazo composto, no qual ocorre quebra de ligação e formação de subprodutos termodinamicamente estáveis, como o dinitrogênio (MOODY; WHITHAM, 1997) (Figura 8).

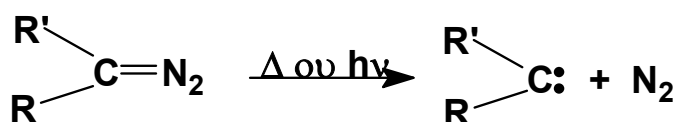


Figura 8: Geração de carbenos via decomposição de diazocomposto (MOODY; WHITHAM, 1997).

Os carbenos são intermediários eletrodeficientes, tendo o átomo de carbono apenas seis elétrons em sua camada mais externa. São altamente reativos, neutros e, geralmente, descritos como $\text{R}_2\text{C}:$. Apresentam-se em dois tipos estruturais principais: os carbenos tripletos e os singletos. O primeiro deles apresenta hibridação sp^2 , com elétrons desemparelhados (visíveis através de REP) em orbitais p e sp^2 e ângulos de ligação entre $130\text{-}150^\circ$. O carbeno singleto apresenta hibridação sp^2 , ângulos de ligação entre $100\text{-}110^\circ$ e par de elétrons emparelhados em orbital não ligante sp^2 , mantendo um orbital p vazio (CLAYDEN et al, 2001).

A natureza dos substituintes afeta a reatividade dos carbenos intermediários. Em geral, os carbenos são altamente eletrofílicos e quanto mais eletroatraente o substituinte, mais eletrofílico é o carbeno. Entretanto, se o substituinte for fortemente eletrodoador, tal como o grupo amina, então o carbeno apresentará caráter nucleofílico em suas reações (MOODY; WHITHAM, 1997) (Figura 9).

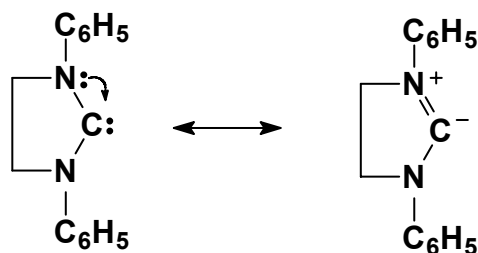
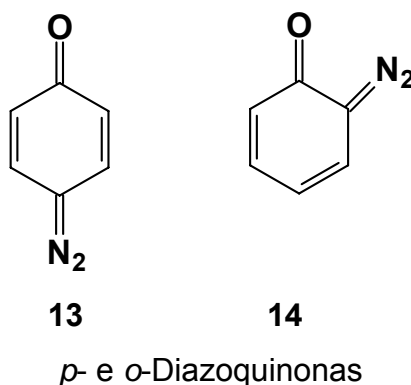


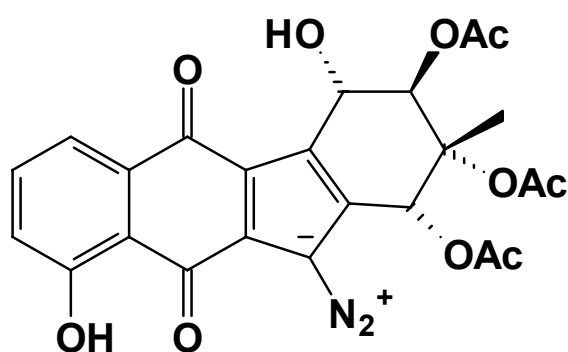
Figura 9: Diaminocarbenos - nucleofílicos devido ao forte caráter eletrodoador dos substituintes (MOODY; WHITHAM, 1997).

Entre os diazocompostos, as diazoquinonas (**13**, **14**), também chamadas diazidoquinonas, diazoanidridos e diazo-óxidos apresentam características especiais (BERGMAN; BRIMERT, 1999) e ocupam posição intermediária entre seus análogos aromáticos e alifáticos. Reagem, portanto, como sais de diazônio (ZOLLINGER, 1973), diazocetonas alifáticas e diazoalquenos, dependendo da estrutura e das condições usadas. São compostos altamente energéticos, usualmente, amarelos e são sensíveis ao calor, à luz e aos choques. As diazoquinonas encontram aplicações em diversas áreas como matéria prima para explosivos, estabilizadores em polímeros e outras (BERGMAN; BRIMERT, 1999).

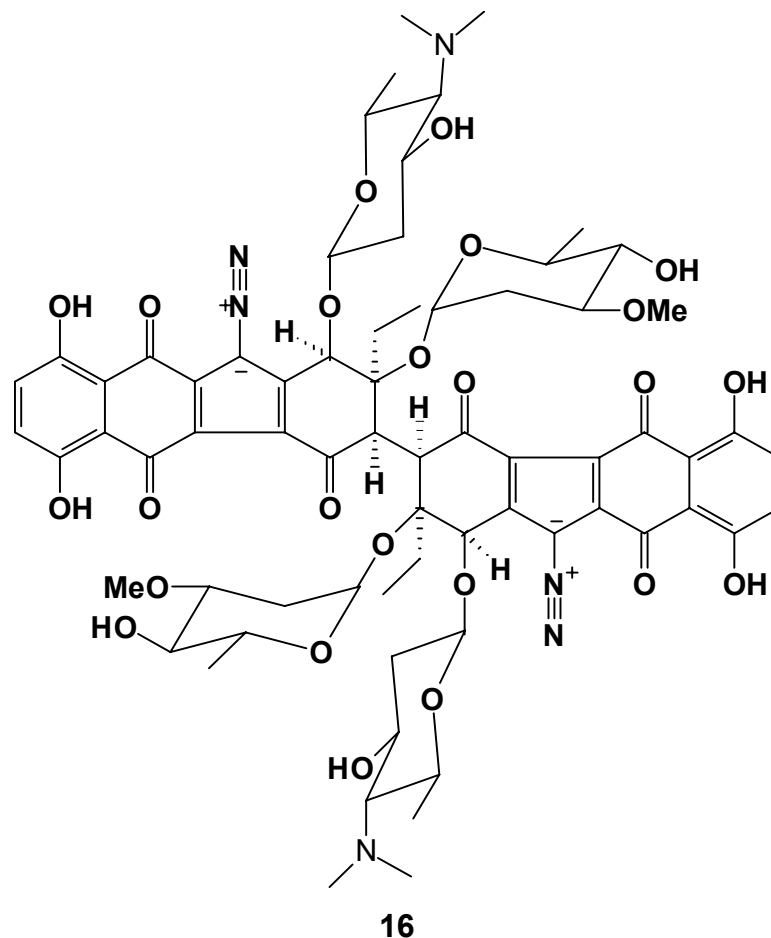
As rotas sintéticas mais importantes envolvem a diazotação de anilinas (SÜS, 1953) e o tratamento de toluenosulfoidrazonas com bases (RIED; DIETRICH, 1961). Outras rotas incluem nitroação de fenóis (REGITZ, 1964) e hidroxilação de compostos de diazônio (PIKULIC et al, 1981). A tosil-hidrazida é também um reagente versátil usado na preparação de ésteres α -aril- β -enamino, aldeídos e aminas alicíclicas. Seu uso na preparação de diazocompostos é um método clássico e único que envolve a transformação de aldeídos em diazometano.



Recentemente, diazoquinonas de ocorrência natural, produtos de fermentação microbiana, (**15**, **16**) exibiram atividade antibacteriana contra bactérias Gram positivas e possível atividade antitumoral contra células cancerígenas (LAUFER; DMITRIENKO, 2002; HE et al, 2001). Há pouca informação, no entanto, sobre o mecanismo molecular das atividades biológicas existentes. Dados existentes sugerem que tais compostos e similares exercem seus efeitos biológicos por meio de mecanismos que envolvem radicais arila. No caso de íons arildiazônio, o ataque nucleofílico ao nitrogênio terminal do grupo diazônio é uma etapa obrigatória, anterior à formação de radicais pela perda de N_2 (ZOLLINGER, 1973).

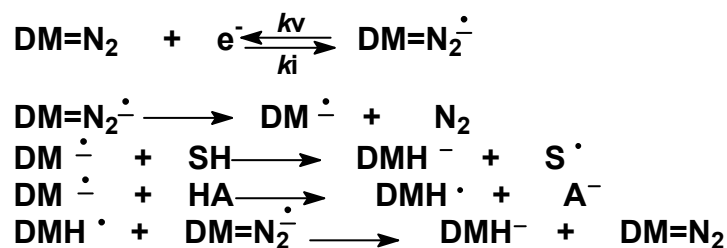


15



Na reação de íons arildiazônio com DNA, a formação de radicais é precedida por ataque nucleofílico do grupo C-2 amina de resíduos guanínicos e do grupo C-6 amina da adenina para formar triazenos. Esses intermediários decompõem-se com perda de N_2 para formar radicais arila, que combinam com o radical do anel purina, para formar purinas C-8 ariladas, alterando e provocando a quebra do DNA (McLICK et al, 1987).

Diazocompostos são também eletroativos. Segundo GALEN e HAWLEY (1987), após redução de um elétron, ocorre geração do ânion-radical diazo que, após perda unimolecular de N_2 , gera o ânion-radical carbeno correspondente. Várias rotas reacionais podem ocorrer com o ânion-radical diazo formado, incluindo a dimerização e/ou acoplamento com o material de partida e redução a um diânion instável (Figura 10) (GALEN; HAWLEY, 1987).



Onde SH = doador de átomo de hidrogênio

HA = doador próton

DM=N₂ diazo composto

Figura 10: Esquema para a redução eletrônica de diazo compostos (GALEN; HAWLEY, 1987).

A diazo-β-lapachona (4), sintetizada por Ferreira e colaboradores (2004) (Figura 11) não foi ainda estudada do ponto de vista eletroquímico. Investigações eletroquímicas podem fornecer informações úteis na compreensão do mecanismo de ação biológica para diazo derivados.

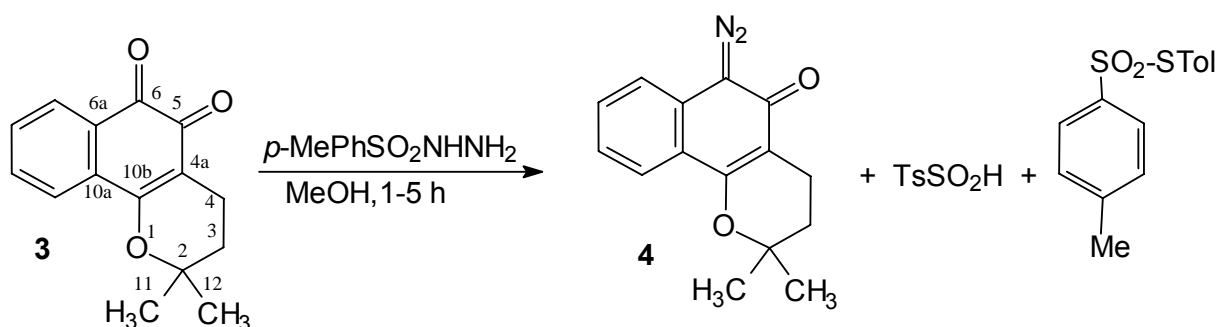


Figura 11: Preparação em uma etapa da diazo-β-lapachona (4).

I.4. Técnicas Eletroquímicas

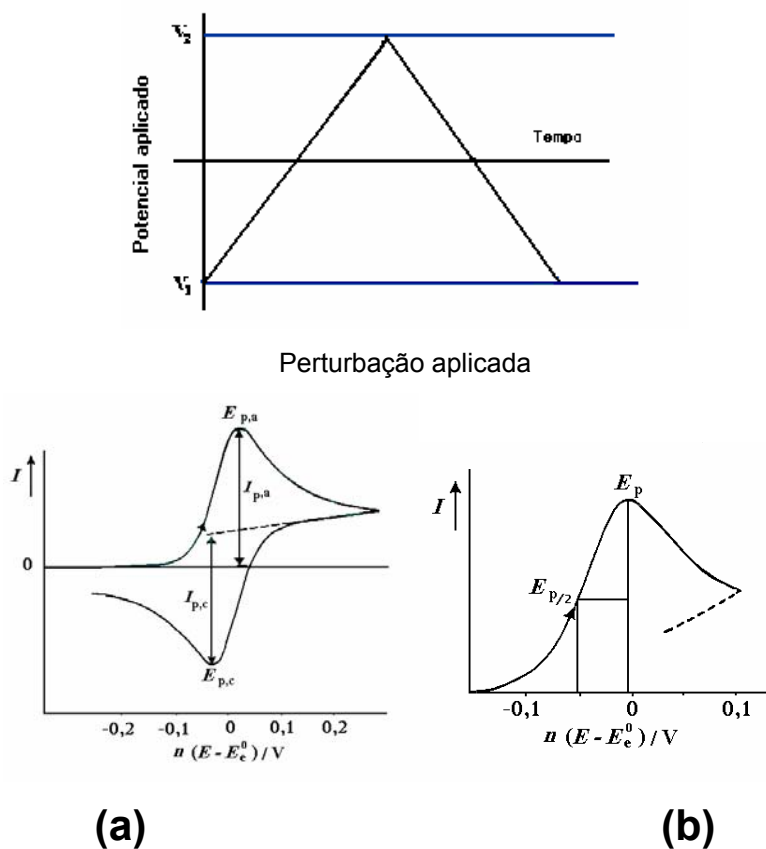
Os componentes que constituem um sistema eletroquímico são basicamente o solvente, o eletrólito de suporte (ES), a substância eletroativa e os eletrodos. A combinação desses vários componentes influi decisivamente no desencadear da reação eletroquímica.

A escolha do solvente depende de sua eletroatividade (domínio eletroquímico), estabilidade e de sua capacidade de solvatação em relação às espécies do meio eletrolítico, reduzindo a opção de solventes orgânicos, pois, para dissolver o eletrólito de suporte (geralmente compostos iônicos) são necessários solventes de alta constante dielétrica.

Uma das utilidades do DMF, solvente aprótico escolhido, é a sua facilidade em solvatar ânion-radicais e outras espécies básicas intermediárias eletrogeradas. O DMF é um solvente polar com alta constante dielétrica ($\epsilon = 37$). É um bom solvente para compostos orgânicos como os percloratos inorgânicos e fluoroboratos orgânicos. Devido a essas propriedades, o DMF é um solvente muito utilizado em trabalhos eletroquímicos, entretanto, é susceptível à hidrólise, formando ácido fórmico e dimetilamina, que é facilmente oxidável (LUND, 1990).

I.4.1. Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica (VC) é uma das mais utilizadas técnicas eletroquímicas. Utiliza-se varredura reversa de potencial e o potencial aplicado ao eletrodo é variado numa velocidade conhecida e ao atingir o potencial final desejado, a varredura é revertida ao valor inicial, nessa mesma velocidade. Como resultado dessa perturbação, obtêm-se picos, catódicos e/ou anódicos, a depender da varredura (BRETT; BRETT, 1996; BARD; FAULKNER, 1980) (Figura 12). A feição do(s) pico(s) fornece informações relevantes para a definição do mecanismo eletródico.



Resposta obtida: onda reversível (a) e onda irreversível (b).

Figura 12: Técnica de voltametria cíclica. Perturbação aplicada e resposta obtida.

De posse dos parâmetros eletroquímicos mais importantes, ou seja, os potenciais de pico catódico e anódico ($E_{p,c}$ e $E_{p,a}$), as correntes de pico catódico e anódico ($I_{p,c}$ e $I_{p,a}$) e os potenciais a meia altura ($E_{p/2}$) é possível analisar o processo eletródico ocorrido. A dependência do potencial e da corrente com a variação da velocidade de varredura, com a concentração da substância eletroativa e a partir da adição de eletrófilos, nucleófilos ou prótons, com análise baseada em testes diagnósticos, permite obter informações importantes como reversibilidade e irreversibilidade do processo de transferência eletrônica, a presença de reações químicas acopladas, adsorção e fenômenos catalíticos, além de se poder caracterizar o fenômeno que controla a corrente de pico (GREEF et al, 1985).

Os testes diagnósticos para a caracterização de um processo reversível estão descritos na Figura 13. Geralmente a própria feição da onda é indicativa de processo reversível: a presença de um par de picos (catódico e anódico) da mesma altura,

com potenciais de pico separados por uma distância de $59/n$ mV (caso as espécies oxidadas sejam estáveis). Já, o espectro eletroquímico de um sistema irreversível, evidencia a completa ausência do pico reverso, ou um distanciamento apreciável entre os picos anódico e catódico, apesar de esse não ser o único critério de análise (BRETT; BRETT, 1996).

Reversíveis	Irreversíveis	Quase-reversíveis
1. $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59/n$ mV 2. $ E_p - E_{p/2} = 59/n$ mV 3. $ I_{pa}/I_{pc} = 1$ 4. E_p é independente de ν 5. $I_p \propto \nu^{1/2}$	1. Ausência de pico reverso 2. $ E_p - E_{p/2} = 48/\alpha n$ mV 3. E_{pc} desloca $-30/\alpha n$ mV por década de aumento de ν 4. $I_{pc} \propto \nu^{1/2}$	1. I_p aumenta com o aumento de ν 2. $ I_{pa}/I_{pc} =1$ se $\alpha = 0,5$ 3. $\Delta E_p = 58/n$ mV e aumenta com ν 4. E_{pc} desloca negativamente com o aumento de ν

Figura 13: Testes diagnósticos em VC para processos reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis (BARD; FAULKNER, 1980).

I.4.2. Voltametria de Onda Quadrada

As técnicas de pulso são baseadas na cronoamperometria, ou seja, na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial, conforme mostra a Figura 14. A análise da evolução do sistema depois desta perturbação permite fazer deduções sobre reações eletródicas e as respectivas cinéticas reacionais (BRETT; BRETT, 1996).

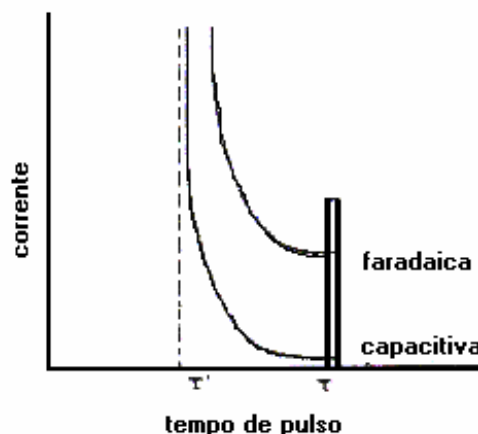


Figura 14: Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso (de SOUZA et al, 2003).

As características da corrente estão relacionadas tanto com a largura do pulso quanto com o degrau de potencial que é aplicado no eletrodo para promover o processo faradaico (BRETT; BRETT, 1996).

Barker e colaboradores, em meados dos anos 50 do século passado, estudavam uma maneira de compensar a corrente capacitiva residual obtida nas análises polarográficas. Para isto, pesquisou-se a perturbação no eletrodo de trabalho, eletrodo gotejante de mercúrio, através da aplicação de um potencial na forma de onda simétrica com frequência de 225 Hz sobreposta a uma rampa de potencial com variação lenta. O sinal final era definido como sendo a diferença das correntes obtidas entre cada semiciclo. Esta técnica foi definida como polarografia de onda quadrada (de SOUZA et al, 2003; ECCLES, 1991).

Após quinze anos do surgimento da polarografia de onda quadrada, Ramaley e Krause utilizaram eletrodos estacionários para eliminar a influência dos ruídos intensificados pelo uso do capilar de mercúrio. Além disso, houve a substituição da rampa linear de potencial por uma variação na forma de escada. Dessa forma, surgiu a voltametria de onda quadrada (VOQ) que utilizava uma variação de potencial na forma de onda, aliada a uma rampa de potencial na forma de escada, gerando um pico simétrico que podia ser utilizado com sucesso para determinações eletroanalíticas (de SOUZA et al, 2003; NUWER et al, 1991).

Essa técnica voltamétrica de pulso é uma técnica rápida e sensível, pode ser usada para minimizar os efeitos indesejados da corrente capacitiva da dupla camada na sensibilidade de uma análise usando corrente alternada. A análise dos seus

parâmetros característicos também possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletródico em estudo (de SOUZA et al, 2003).

A Figura 15 apresenta um detalhamento da forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada, onde: 1) potencial na forma de onda quadrada; 2) escada de potencial; 3) forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada; 4) forma de onda da corrente; 5) sinal da corrente e 6) corrente total.

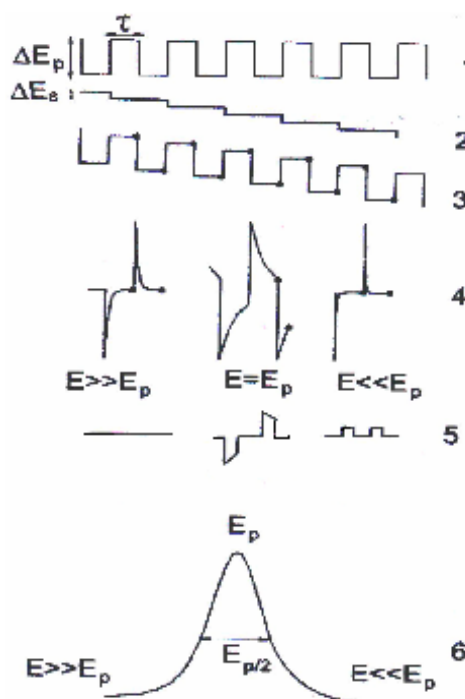


Figura 15: Esquema básico para a voltametria de onda quadrada (de SOUZA et al, 2003).

De acordo com a teoria da voltametria de onda quadrada, a magnitude, o perfil e a posição dos picos redox dependem do grau de reversibilidade e do valor do coeficiente de transferência eletrônica da espécie eletroativa, sendo que o caráter da reação redox pode causar um aumento ou diminuição significativa na resposta obtida. Se não ocorrer adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo e se o coeficiente de transferência de carga for considerado 0,5, então a intensidade da corrente de pico para sistemas reversíveis é, no mínimo, duas vezes maior que para sistemas totalmente irreversíveis, o que mostra uma maior sensibilidade da voltametria de onda quadrada para sistemas reversíveis (de SOUZA et al, 2003).

A Figura 16 apresenta os voltamogramas teóricos associados a: 1) um sistema reversível e 2) um sistema irreversível, com a separação observada das correntes direta, inversa e resultante.

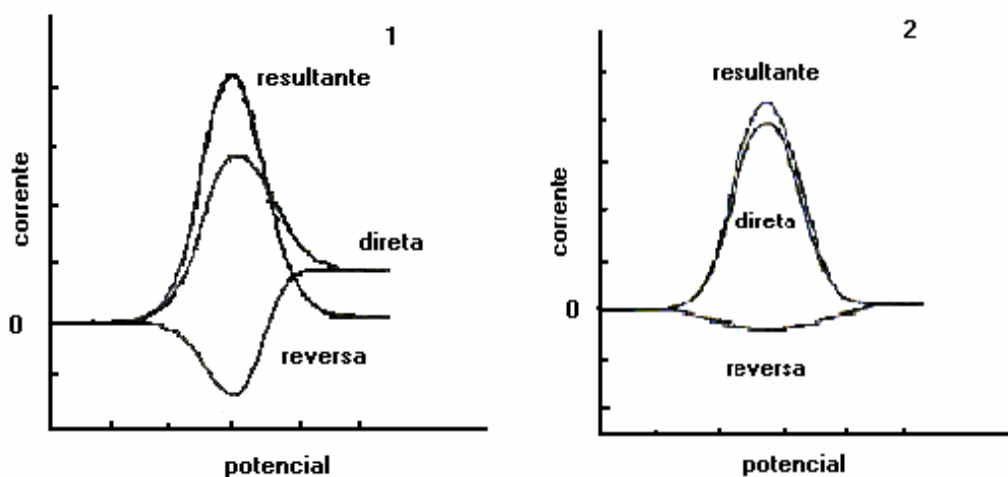


Figura 16: Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada onde: 1) representa um processo redox de sistema reversível e 2) sistema irreversível (de SOUZA et al, 2003).

1.4.3. Eletrólise

Eletrólises são também utilizadas para auxiliar nas definições mecanísticas. São técnicas exaustivas que podem ser classificadas de acordo com o parâmetro controlado (corrente ou potencial). O potencial aplicado ao eletrodo de trabalho pode ser constante em relação ao eletrodo de referência, ou a corrente é que pode ser mantida constante ao longo do processo. O sentido e a velocidade de uma transferência eletrônica entre uma fase sólida - o eletrodo e a solução podem ser controladas por meio de um potencial aplicado entre dois eletrodos. Na eletrólise, esses dois eletrodos, cátodo e ânodo, estão em contato com um meio condutor (solvente/eletrólito de suporte) onde a reação principal se processa no eletrodo chamado de trabalho. Se essa se realizar no cátodo (redução), há necessidade de um separador para prevenir que os produtos obtidos no ânodo interfiram no processo ou que o produto reacional seja re-oxidado (cátodo e ânodo em compartimentos separados, cela dividida). O mesmo acontece no caso de oxidação, com separação entre os compartimentos, quando há interferência do cátodo.

Existem processos em que esses produtos podem permanecer no meio sem a presença do separador (cela não dividida).

Em eletrólises, determina-se a carga total envolvida no processo depois de 99% da substância eletroativa ser consumida. Pode-se, assim, calcular através das leis de Faraday, a quantidade de material eletrolisado ou o número de elétrons envolvido na reação (a quantidade de substrato eletrolisado é proporcional à quantidade de eletricidade passada). As análises estruturais e da razão entre os produtos dão importantes subsídios para a determinação do mecanismo de reação (NIYAZYMBETOV; EVANS, 1993).

1.5. Mecanismo eletródico escolhido

A presença de reações químicas acopladas ao processo de transferência eletrônica, ou seja, a reatividade química do intermediário eletrogerado, pode ocasionar mudanças no espectro eletroquímico, principalmente com relação ao potencial e a corrente. Por exemplo, no mecanismo EC (transferência eletrônica seguida de reação química) (Figura 17) o produto da reação eletródica, Red, reage (por exemplo, com o solvente) para produzir espécies que não são eletroativas no potencial onde ocorre a redução de Ox. Este tipo de seqüência reacional ocorre freqüentemente, desde que a oxidação e redução eletroquímica de substância produzem espécies reativas (BARD; FAULKNER, 1980). A reação de auto-protonação encontra-se entre os processos de redução do tipo EC.

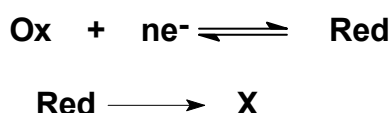


Figura 17: Equação geral de um mecanismo EC.

1.5.1. Reação de auto-protonação

A redução eletroquímica de compostos orgânicos é geralmente associada com a produção de espécies básicas. Vários tipos de bases e modos diferentes de reações com os ácidos presentes no meio reacional podem ocorrer (BRILLAS et al, 1986; AMATORE et al, 1985).

O uso de solventes apróticos, como dimetilformamida (DMF), permite a observação de dois diferentes caminhos de hidrogenação de acordo com a força relativa dos doadores de prótons presentes no meio reacional e das espécies básicas formadas pela redução sucessiva da molécula de partida, isto é, o ânion e o diânion radical. Em meio cuidadosamente seco, as duas últimas espécies são estáveis numa escala de tempo rápida, obtendo-se duas ondas reversíveis correspondendo à formação sucessiva do ânion radical e do diânion (Figura 18) (BRILLAS et al, 1986).

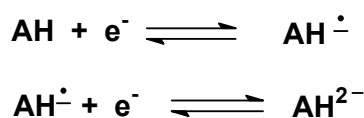


Figura 18: Formação do ânion radical e diânion estáveis em TE reversível.

Na presença de pequenas quantidades de água, o diânion é protonado enquanto o ânion radical menos básico não o é (Figura 19).

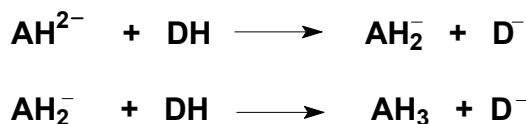


Figura 19: Protonação do diânion na presença de pequenas quantidades de água.

Isso é revelado pelo fato da segunda onda ter se tornado irreversível, enquanto a primeira onda permanece reversível. A adição de um forte doador de prótons, tal como o fenol, torna a primeira onda irreversível revelando a protonação do ânion radical. Essa discussão, implicitamente, assume que a molécula de partida é um ácido de Lewis mais fraco do que os ácidos presentes no meio (AMATORE et al, 1985).

No caso em que o composto de partida atua como o ácido mais forte do meio reacional, ele neutraliza as bases produzidas pela redução de um elétron e modifica a situação inicial. Nesse caso, ocorre a transferência de próton entre o ânion radical inicial e a molécula de partida, ou seja, a auto-protonação (BRILLAS et al, 1986; AMATORE et al, 1985).

A reação de auto-protonação pode ser observada não só para moléculas orgânicas que apresentam grupos ácidos relativamente fortes como $-\text{COOH}$, mas também para aquelas com grupos doadores de prótons fracos, tais como ácidos de carbono (CH) (BRILLAS et al, 1986).

O mecanismo de auto-protonação embora muito complexo, é baseado em deduções simples. Considera-se, em particular, que os passos de transferência de carga homogênea sempre envolvem o ânion radical primário e que apenas o substrato atua como doador de próton (BRILLAS et al, 1986).

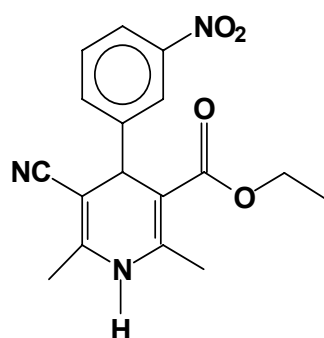
No caso da redução de um nitroaromático, a adição de água ao DMF, cerca de 0,5 mol/L, não afeta substancialmente a primeira onda, enquanto que doadores de prótons mais fortes causam o aumento da mesma, alcançando eventualmente o nível de quatro elétrons (BRILLAS et al, 1986).

A utilização de quantidades estequiométricas de uma base para promover a abstração do próton ácido da molécula de partida, produzindo sua base conjugada, é um dos métodos de confirmação de auto-protonação. É possível observar,

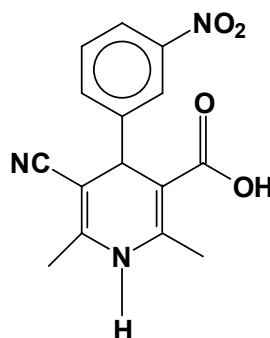
eventualmente, a diminuição da primeira onda e um ligeiro aumento da segunda onda gerada (BRILLAS et al, 1986).

II. OBJETIVO

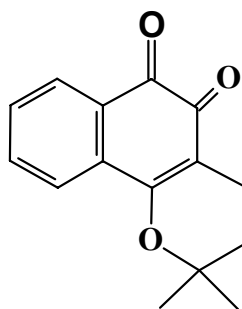
Este trabalho tem como objetivo estudar o comportamento eletroquímico das *m*-nitrofenil-1,4-diidropiridinas **1** e **2**, da β -lapachona (**3**) e de seu diazo derivado **4**, utilizando as técnicas de voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e eletrólise, tanto em meio prótico (tampão fosfato pH 6,9) quanto em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L). A substância **3** foi utilizada como padrão de comparação para a substância **4**, de maneira a verificar como a modificação no centro redox quinônico alteraria suas propriedades eletroquímicas. O eletrodo gotejante de mercúrio e eletrodo carbono vítreo foram utilizados como eletrodos de trabalho para as substâncias **1** e **2**; para **3** e **4**, utilizou-se eletrodo de carbono vítreo. Adicionalmente, essas substâncias foram ensaiadas como antibacterianas, frente a diferentes cepas. Após confirmação da atividade biológica, verificar-se-á se parâmetros eletroquímicos ou outras informações derivadas desse estudo, poderiam ser úteis na explicação dessa atividade.



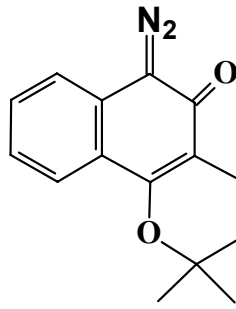
1



2



3



4

III. EXPERIMENTAL

As nitrofenil-1,4-diidropiridinas **1** (5-ciano-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-diidropiridina-3-carboxilato etil éster) e **2** (5-ciano-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-diidropiridina-3-ácido carboxílico) estudadas foram gentilmente cedidas pelo professor Jochen Lehmann e Dra. Dorothea Diewald do Pharmazeutisches Institut der Universitaet Bonn, An der Immenburg 4, D-53121 Bonn (Instituto de Farmácia da Universidade de Bonn, Alemanha). Seus dados físico-químicos encontram-se disponíveis (CHRISTIANS et al, 1999).

A β -lapachona, **3** (3,4-diidro-2,2-dimetil-2H-nafto[1,2-b]piran-5,6-diona), foi sintetizada e cedida pelo grupo do Professor Antônio Ventura do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Foi comparada com amostra autêntica através de cromatografia em camada delgada em sílica-gel.

O diazo derivado da β -lapachona, **4** (6-diazo-2,2-dimetil-5-oxa-2,3,4,6-tetraidro-2H-benzo[h]cromeno), foi sintetizado e cedido pelo professor Vitor Francisco Ferreira do Instituto de Química da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro e seus dados físico-químicos, incluindo difração de raios-X correspondem perfeitamente com a estrutura proposta (FERREIRA, 2004).

III.1. INSTRUMENTOS E TÉCNICAS GERAIS

III.1.1. Técnicas cromatográficas

Para a verificação do grau de pureza das substâncias a serem estudadas eletroquimicamente, utilizou-se a técnica de cromatografia em camada delgada (cromatoplasmas em suporte de alumínio, Merck), em três diferentes eluentes. As placas cromatográficas foram reveladas por irradiação no ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 366 nm).

III.1.2. Instrumentos

Os pontos de fusão das substâncias **1** ($167 \pm 0,5$ °C) e **2** ($173 \pm 0,4$ °C) foram obtidos em aparelho MPAQF – 310, da Microquímica.

Os espectros de infravermelho foram registrados em espectrofotômetro IFS66, utilizando pastilhas de KBr.

O estudo de voltametria cíclica das substâncias foi realizado em potenciostato – galvanostato modelo BAS 100B/W.

Para a técnica de voltametria de onda quadrada, utilizou-se um potenciostato-galvanostato AUTOLAB PGSTAT20.

As coulometrias foram realizadas em potenciostato-galvanostato modelo PAR 273 A EG&G.

Na evaporação dos solventes utilizou-se o BÜCHI Rotavapor R 114 com banho BÜCHI Waterbath B 480.

Utilizou-se para a revelação das cromatoplasmas, a fonte dupla de luz ultravioleta 254/366 nm da marca DESAGA Heidelberg.

III.1.3. Reagentes, solventes e soluções

Os reagentes utilizados apresentaram grau P. A. ou foram devidamente tratados ou destilados.

As soluções tampão utilizadas foram preparadas, utilizando-se água padrão Milli-Q[®].

O solvente dimetilformamida é difícil de se obter em sua forma totalmente anidra e a presença de N-metilformamida como impureza pode agir como doador de próton ou interferir no desenvolvimento das reações. Neste trabalho, o solvente foi submetido à destilação sob pressão reduzida, após tratamento com CuSO₄ anidro.

O sal orgânico utilizado nos experimentos foi o perclorato de tetrabutylamônio (TBAP) preparado a partir do brometo de tetrabutylamônio e ácido perclórico. O sal, após lavagem com água gelada até pH neutro, recristalizado de acetato de etila e livre de brometo (testes negativos em reação com solução de AgNO₃ e fluoresceína) foi secado sob vácuo por 48 horas a 80⁰ C. Esse sal foi escolhido por ser solúvel no solvente utilizado e a solução resultante ter condutividade adequada.

III.1.4. Técnicas Eletroquímicas

Em todos os experimentos eletroquímicos, para eliminar o oxigênio presente no eletrólito de suporte, purgou-se nitrogênio por cerca de 10 minutos com fluxo constante. Este nitrogênio foi passado anteriormente por uma coluna com peneira molecular.

III.1.4.1. Voltametria Cíclica

Os estudos voltamétricos das substâncias **1**, **2**, **3** e **4** foram realizados em potenciostato e galvanostato modelo BAS 100B/W, tendo como eletrodos de trabalho, carbono vítreo (BAS, diâmetro = 3 mm) e eletrodo gotejante de mercúrio, para as nitrofenil-1,4-diidropiridinas (área = 1,1 mm²), espiral de platina como auxiliar e referência Ag/AgCl, Cl⁻ (0,1 mol/L), esse último inserido em um tubo com Luggin com vycor na sua extremidade (Figura 20).

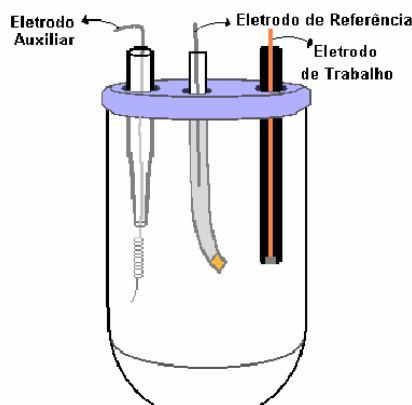


Figura 20: Célula eletroquímica usada nas técnicas voltamétricas.

Como eletrólito de suporte para meio aprótico utilizou-se DMF e TBAP (0,1 mol/L) e concentração das substâncias em análise de 2 mmol/L.

Já para as análises em meio prótico, utilizou-se tampão fosfato pH 6,9 com 25% de etanol absoluto (pH aparente). Para preparar o tampão, foram utilizadas duas soluções: Na₂HPO₄ e NaH₂PO₄ com concentração de 0,2 mol/L, as mesmas foram misturadas em proporções definidas (30,5 mL e 19,5 mL) e, em seguida, seu volume completado para 100 mL.

III.1.4.2. Voltametria de Onda Quadrada

Realizou-se a técnica de voltametria de onda quadrada para os compostos **1**, **2** e **4**, em potenciostato e galvanostato AUTOLAB PGSTAT20. Os eletrodos utilizados foram carbono vítreo (diâmetro de 3 mm), Ag/AgCl, Cl⁻ (0,1 mol/L) e platina como eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. Os experimentos foram realizados em meio aprótico, DMF e TBAP (0,1 mol/L), para **1** e **2** sendo 2mmol/L a concentração das substâncias. Já para **4**, utilizou-se concentração de 5×10^{-4} mol/L em meio misto 6:4 tampão fosfato:álcool etílico (pH aparente de 7,15).

III.1.4.3. Eletrólise

Para realizar as coulometrias, utilizou-se como eletrodo auxiliar, uma espiral de platina inserida em cela separada por vidro sinterizado. O eletrodo de trabalho foi um feltro de carbono com dimensões de 26x13x5 mm e como referência, utilizou-se o Ag/AgCl /Cl⁻ (0,1 mol/L) (Figura 21).

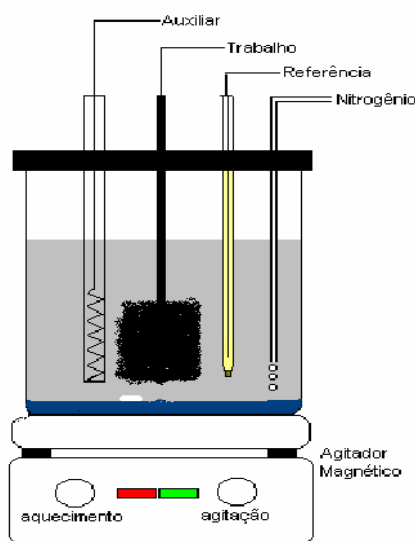


Figura 21: Célula de eletrólise com eletrodo de feltro de carbono.

Para a substância **2** (40 mg, 0,00013 mol) utilizou-se meio reacional constituído de tampão fosfato pH 6,9 (pH aparente) (0,20 mol/L de Na₂HPO₄ e 0,20 mol/L de NaH₂PO₄) e etanol na proporção de 25% para que houvesse a completa solubilização da mesma. Logo após, iniciou-se a pré-eletrólise em potencial constante (potencial da primeira onda, -1,0 V) e após obtenção de baixa corrente

residual, adicionou-se a substância eletroativa solubilizada em etanol à célula de trabalho. A eletrólise foi encerrada quando a corrente final atingiu 10,4% da corrente inicial, referente ao consumo de 3,89 mol elétrons/mol. O experimento foi acompanhado por voltametria cíclica.

Após finda a eletrólise, deu-se início à extração do produto. Retirou-se rapidamente o compartimento anódico para evitar contaminação do produto desejado. Em seguida, a solução foi transferida para um funil de separação e utilizando três porções de 15 mL de éter etílico extraiu-se o produto. À fase etérea adicionou-se sulfato de sódio anidro, como agente dessecante, filtrou-se e evaporou-se o solvente. A fase aquosa foi acidificada com ácido clorídrico concentrado até o pH situar-se entre 3–4. Em seguida, procedeu-se à extração com éter etílico, conforme descrito acima. Foi obtido 16,86 mg de produto sólido amorfo de coloração amarela bem claro.

As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila em proporções 7:3 e 1:1.

A eletrólise da substância 4 (80 mg, 0,3 mmol) foi realizada em meio aprótico (DMF e TBAP 0,1 mol/L), 25 mL, na mesma célula e com os eletrodos citados anteriormente. A eletrólise no potencial da primeira onda ($E_{ap} = -1,100$ V) foi interrompida com 4% da corrente inicial ainda restante e consumiu 1 mol de elétrons/mol. O processo de extração seguiu o procedimento anteriormente descrito para o composto 2. Obteve-se, além de pequena quantidade do composto de partida, um produto de cor branca, sólido amorfo (5), com 70 % de rendimento.

2,2-Dimetil-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromen-5-ol (5). IV (filme) ν_{max} (cm^{-1}): 3400 (O-H); MS m/z (%): 228,1 (M^+ , 35,2), 172 (100), 173 (10,8), 115 (14,7)

III.2. Ensaio Biológico

III.2.1. Determinação da atividade antimicrobiana

Para a determinação da atividade antimicrobiana foi utilizado o método de difusão em meio sólido, que se baseia na inibição do crescimento de microrganismo, na superfície do meio de cultura inoculado, ao redor de um disco de papel de filtro impregnado com a substância (NCCLS, 2003). Este método indica se o microrganismo é sensível ou resistente a uma determinada substância numa concentração conhecida (MOURA et al, 1992).

III.2.1.1. Preparação do meio de cultura

Para a padronização dos inóculos bacterianos, empregou-se o meio líquido de Mueller-Hinton e, para a manutenção das culturas bacterianas e avaliação da atividade antimicrobiana, o meio sólido de mesma base. O meio foi preparado e esterilizado em autoclave a 121° C, durante 15 minutos.

III.2.1.2. Preparação dos inóculos bacterianos

A partir das culturas de bactérias no meio sólido Mueller-Hinton, foram efetuadas pré-culturas em meio líquido Mueller-Hinton e incubadas à temperatura de 37° C durante 24 horas.

Após a incubação, as culturas foram diluídas em água destilada estéril de maneira a se obter um inóculo padronizado, através da turbidez, utilizando o tubo 1 da escala de Mac-Farland, o que corresponde a 10⁸ unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL).

Em placas de Petri esterilizadas de 90 mm de diâmetro e 25 mm de profundidade, foram distribuídos 18 mL de meio sólido Mueller-Hinton. As mesmas foram colocadas em superfície plana até completa solidificação.

Foram confeccionados discos de papel de filtro com peso equivalente a 30 mg ± 4 mg/cm² e 6 mm de diâmetro, acondicionados em placas de Petri e, em seguida, esterilizados. Em cada disco, a capacidade de saturação foi de 20 µL de solução da substância. Os discos de papel de filtro foram saturados com solução das substâncias (20 µL) e foram secados em estufa a 37°C durante 24 horas para evaporação do solvente.

Os solventes utilizados para solubilização das substâncias foram: etanol (para 2 e 4) e acetona para 1. A concentração final das substâncias testadas foi 200 µg/µL.

Utilizou-se como controle uma solução de 20 µg/µL de ciprofloxacina de amplo espectro.

III.2.1.3. Semeio e leitura

Suspensões bacterianas padronizadas (1 da escala de Mac-Farland) foram semeadas por esgotamento em toda a superfície da placa com “swabs” estéreis. Os discos com as substâncias foram depositados na superfície dos meios.

As placas com os discos foram incubadas à 37°C durante 24 horas (COURVALIN et al, 1985; AGAR & GOLDSTEIN, 1996).

O aparecimento de halos em torno dos discos indica que as cepas são sensíveis ao material testado.

As leituras foram efetuadas após incubação de 24 horas, utilizando-se uma régua calibrada em milímetro para comparação do diâmetro dos halos formados por inibição das substâncias. As substâncias que apresentaram halo de inibição maior que 10 mm, foram consideradas ativas.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. Nitrofenil-1,4-diidropiridinas

IV.1.1. Meio prático

O meio escolhido para o estudo eletroquímico em meio prático foi aquoso-etanólico (25%) tamponado (tampão fosfato) por promover a total solubilidade dos compostos em análise. O valor de pH 6,9 foi escolhido por ser próximo ao pH fisiológico.

Em eletrodo de Hg, as nitrofenil-1,4-diidropiridinas 1 e 2 apresentaram uma onda catódica intensa, bem definida (I_c) [Figura 22 (a) e (c)], de natureza irreversível (ausência de onda anódica correspondente, E_{pc} varia com a velocidade de varredura) (Figura 23), em valores de potencial próximos ($E_{pc}(1) = -0,753$ V e $E_{pc}(2) = -0,786$ V a $0,100$ V/s) (Tabelas 1 e 2), com $\Delta E_p = 33$ mV. Uma onda anódica (I_a), em potenciais pouco negativos foi também observada [$E_{pa}(1) = -0,152$ V e $E_{pa}(2) = -0,155$ V] em $\nu = 0,100$ V/s.

Em varreduras sucessivas, um novo pico de redução (I_{lc}) foi observado. Essa nova onda de redução I_{lc} deve-se à redução do grupo nitroso (reversível) gerado após a oxidação do grupo hidroxilamínico (Figura 2, pág. 7) [área circulada em (b) e (d) na Figura 22] (BOLLO et al, 2003; HARZARD et al, 1991). A ausência do sistema I_a/I_{lc} indica, de modo geral, a instabilidade da hidroxilamina gerada (HARZARD et al, 1991).

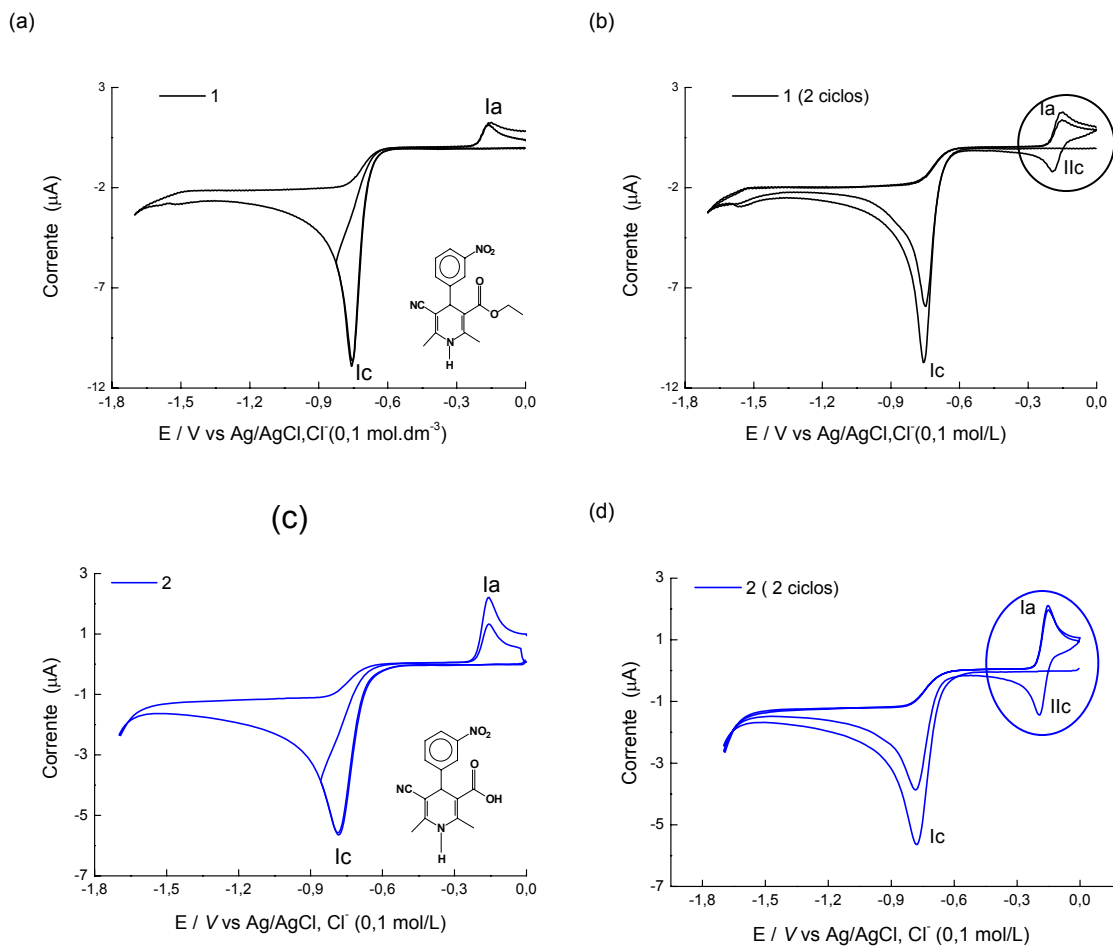


Figura 22: Voltamogramas cíclicos da redução de 1 e 2 em meio prótico, pH 6,9. Eletrodo de Hg. $\nu = 0,100$ V/s. $c = 2$ mmol/L.

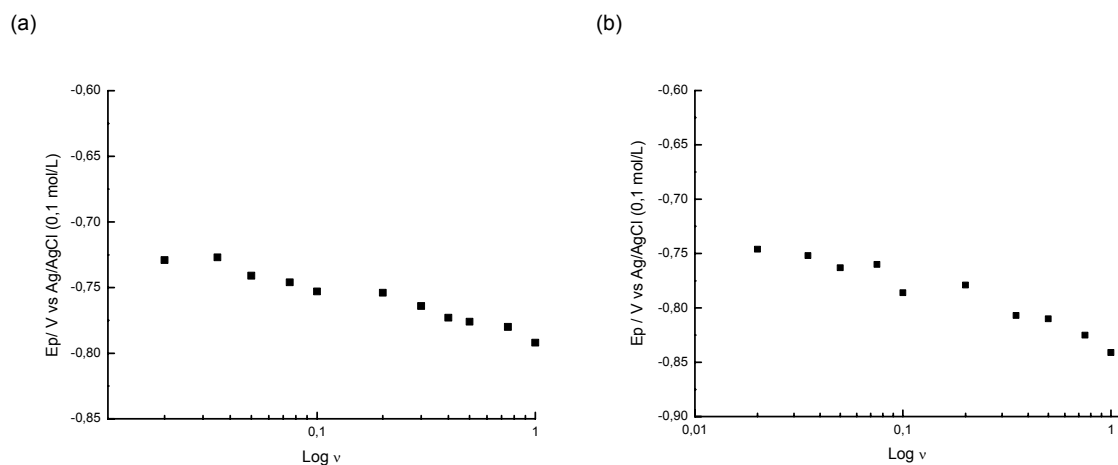


Figura 23: Gráfico de E_{pc} em função de $\log \nu$ para 1 (a) e 2 (b) em meio aquoso, respectivamente.

A análise do gráfico da corrente do pico I_c vs a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) para **1** e **2**, demonstrou que a mesma é controlada por difusão até 1 V/s, apresentando contribuição cinética em altas velocidades de varredura (Figura 24).

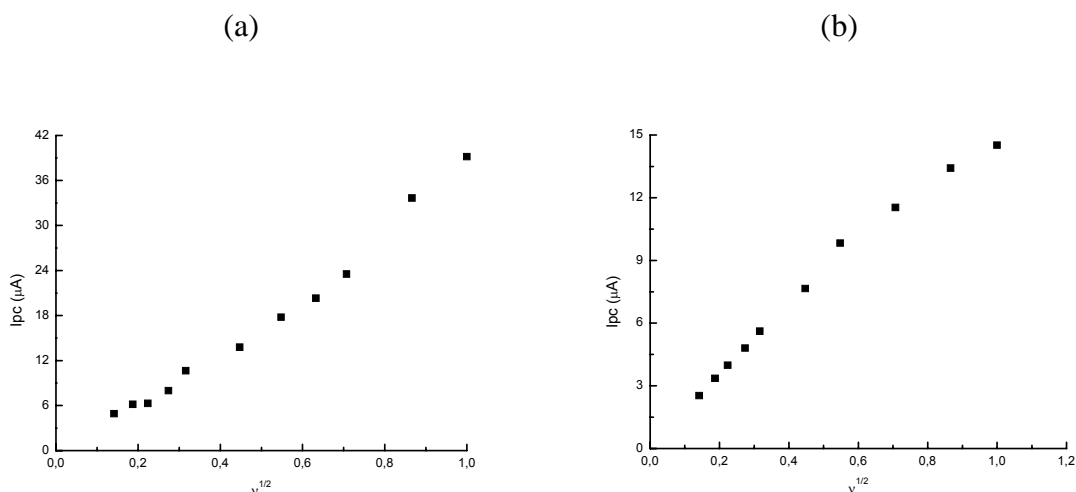


Figura 24: Gráfico de I_{pc} em função de $v^{1/2}$ para **1** e **2** em meio aquoso, respectivamente.

As feições ciclovolamétricas para as nitrofenil-1,4-diidropiridinas (compostos **1** e **2**) estudadas foram indicativas de processo de redução de nitrocompostos aromáticos (BOLLO et al, 2003; HARZARD et al, 1991), sendo a primeira onda (I_c) referente à redução do grupo nitro presente na molécula em uma etapa de 4 elétrons e 4 prótons, levando à formação de derivado hidroxilamínico, que sofre oxidação (onda I_a) em potenciais pouco negativos (BOLLO et al, 2003; HARZARD et al, 1991; LUND; BAIZER, 1990) (Figura 25).

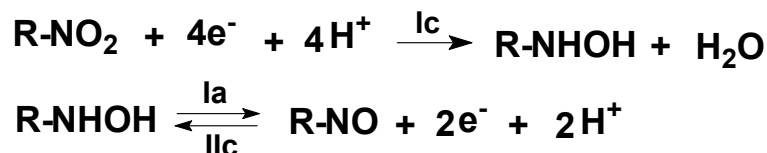
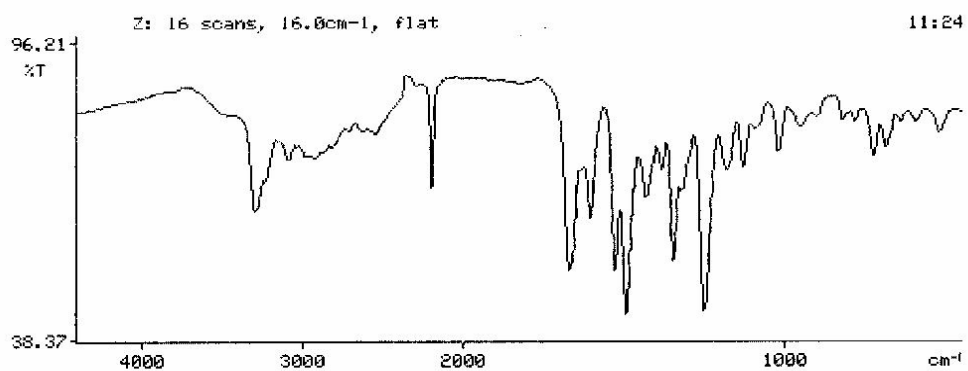


Figura 25: Redução do grupo nitro em meio prótico.

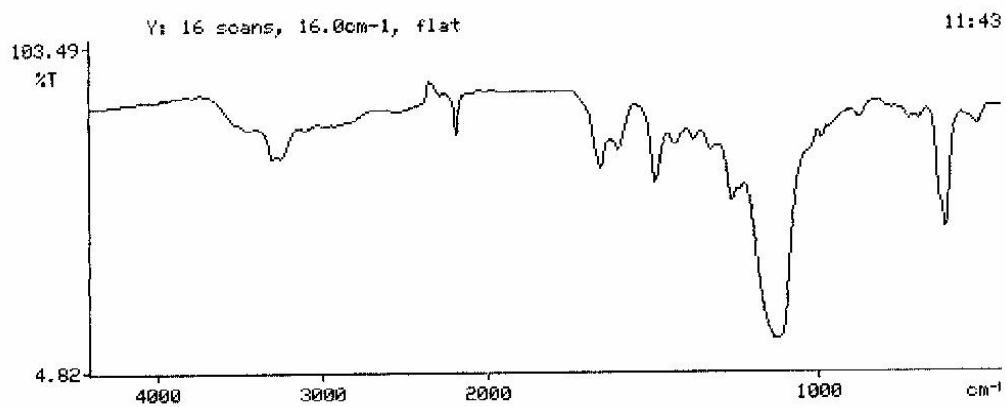
IV.1.1.1 Eletrólise

O composto **2** foi escolhido para estudos aprofundados, na perspectiva de definição de mecanismo eletródico de redução em meio aquoso. Esse composto foi, então, eletrolisado em potencial controlado ($E_{ap} = -1,0$ V) até a corrente residual atingir aproximadamente 10,4% da corrente inicial. A eletrólise indicou para a nitrofenil-1,4-diidropiridina escolhida, o consumo de 3,89 mol elétron/mol, confirmando a informação anterior (pág 35). Após elaboração, verificou-se, nas cromatoplasas de sílica-gel, a presença de dois produtos de redução.

A completa análise da mistura reacional (CG/EM, RMN ^1H) está ainda sob investigação, mas uma análise preliminar dos espectros no Infravermelho indicou o completo desaparecimento dos sinais referentes ao grupo nitro (1350 e 1530 cm^{-1} , estiramentos simétrico e assimétrico da ligação NO do grupo C-NO₂), e a presença de sinais adicionais relativos a grupos NH (3300 cm^{-1} , ν N-H) e O-H (1130 cm^{-1}) (WILLIAMS; FLEMING, 1989) (Figura 26) referentes a hidroxilamina ou outros produtos (hidroxilaminas podem reagir com derivados nitrosos formando azoxiderivados, sofrem rearranjos que levam a aminas ou ainda geram outros derivados) (Figura 4).



(a)



(b)

Figura 26: Espectro no infravermelho do composto 2 antes (a) e após (b) eletrólise.

Experimentos de voltametria cíclica antes e após a eletrólise também indicaram o desaparecimento do grupo nitro após a redução de 3,89 elétrons (Figura 27).

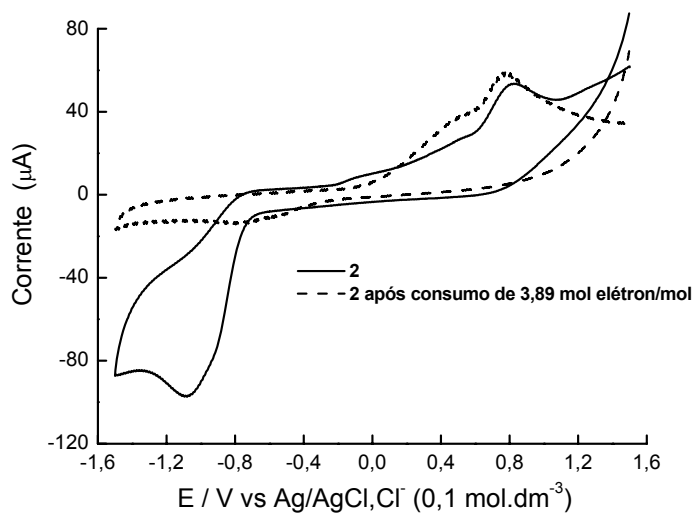


Figura 27: Voltamograma cíclico de 2 antes e após eletrólise. Eletrodo: carbono vítreo. meio aquoso tampão fosfato com 25% de etanol (pH aparente = 6,9). c = 3,34mmol/L.

Tabela 1 – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **1** na concentração de 2mmol/L. Eletrólito de suporte tampão fosfato pH 6,9 (pH aparente). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{pc} (V)	I_{pc} (μ A)	$E_{p_{1/2}}$ (V)	$E_{pc}-E_{p_{1/2}}$ (mV)
0,020	0,14142	-0,729	4,905	-0,690	39
0,035	0,18708	-0,727	6,160	-0,696	33
0,050	0,22361	-0,741	6,285	-0,702	39
0,075	0,22361	-0,746	7,987	-0,714	32
0,100	0,31623	-0,753	10,631	-0,714	39
0,200	0,44721	-0,754	13,775	-0,723	31
0,300	0,54772	-0,764	17,781	-0,732	32
0,400	0,63246	-0,773	20,302	-0,734	39
0,500	0,70711	-0,776	23,513	-0,741	35
0,750	0,86603	-0,780	33,655	-0,748	32
1,000	1,00000	-0,792	39,178	-0,760	32
2,000	1,41421	-0,811	60,850	-0,766	45

Tabela 2 – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **2** na concentração de 2mmol/L. Eletrólito de suporte tampão fosfato pH 6,9 (pH aparente). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{pc} (V)	I_{pc} (μ A)	$E_{p_{1/2}}$ (V)	$E_{pc}-E_{p_{1/2}}$ (mV)
0,020	0,14142	-0,746	2,528	-0,683	63
0,035	0,18708	-0,752	3,359	-0,681	71
0,050	0,22361	-0,763	3,987	-0,696	67
0,075	0,22361	-0,760	4,801	-0,703	57
0,100	0,31623	-0,786	5,610	-0,721	65
0,200	0,44721	-0,779	7,658	-0,715	64
0,350	0,54772	-0,807	9,830	-0,734	73
0,500	0,70711	-0,810	11,533	-0,736	74
0,750	0,86603	-0,825	13,418	-0,754	71
1,000	1,00000	-0,841	14,519	-0,759	82

IV.1. 2. Meio aprótico

IV.1. 2.1. Voltametria cíclica

IV.1.2.1.1. Substância 1

A Figura 28 mostra os voltamogramas cíclicos em eletrodo de carbono vítreo relativos à redução da substância **1** em várias velocidades de varredura. Em todas as velocidades, verificou-se a presença de duas ondas catódicas bem definidas denominadas Ic e IIc ($E_{pcIc} = -1,180$ V e $E_{pcIIc} = -2,242$ V, a $0,100$ V/s), e um ombro situado entre as duas ondas. Foram também observadas duas ondas de oxidação (Ia e IIa), bem próximas, em potenciais de $-1,193$ V e $-0,979$ V. A aplicação de potencial de inversão em valores próximos ao da onda Ic, evidencia a presença de um pico de oxidação adicional, intermediário entre Ia e IIa. Esse pico denominado Ia' é relativo à oxidação do produto de redução gerado em Ic e o sistema Ic/Ia' apresenta características de um sistema quase-reversível (E_{pc} independente de ν , $E_{pc} - E_{pc}/2 = 66$ mV, $E_{pc} - E_{pa} = 90$ mV, $I_{pa}/I_{pc} = 1,028$ para $\nu = 0,1$ V/s) e sua corrente de pico é controlada por difusão ($I_{pc} \propto \nu^{1/2}$) para velocidades até 1 V/s (Figura 29, tabela 3).

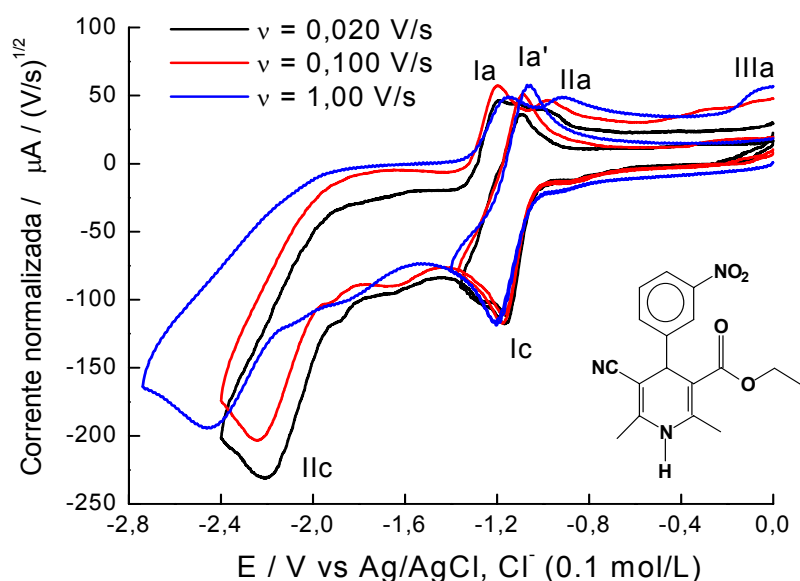


Figura 28: Voltamograma cíclico de 1 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.

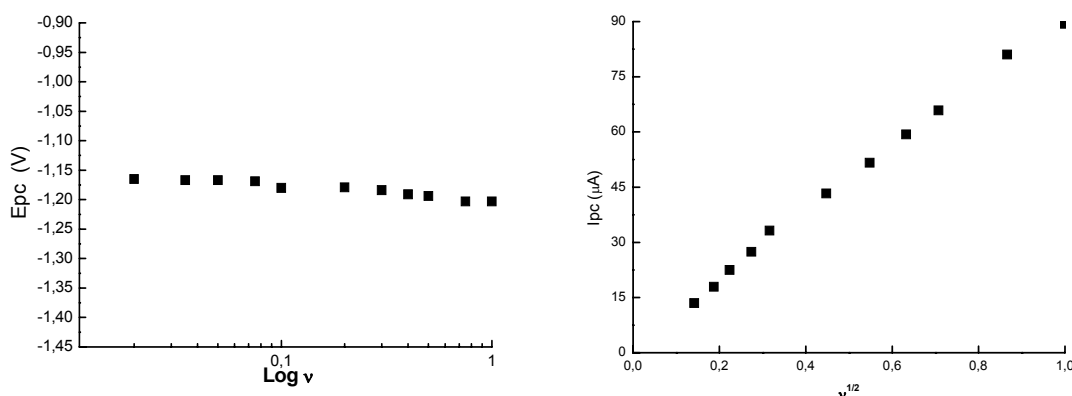


Figura 29: Gráficos do potencial de pico de I_c versus $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$ para 1.

A segunda onda de redução I_{lc} apresenta valor de corrente maior do que I_c e sofre deslocamentos para potenciais mais negativos com o aumento de ν , característico de irreversibilidade. A comparação I_{pllc}/I_{plc} , a $\nu = 0,100$ V/s, não apresenta valor igual a 3, típico para a formação da hidroxilamina ou ânion hidroxilamínico (Figura 2 pag. 7). Isso se deve provavelmente à formação de intermediários gerados a partir da reação do diânion instável impedindo a redução completa do grupo nitro (Figura 28) (BAUMANE et al, 1992).

Em eletrodo de Hg, observou-se a presença de duas ondas de redução de maior intensidade, praticamente na mesma faixa de potencial do observado em carbono vítreo, com evidência de uma onda adicional, alargada, intermediária. Picos melhor definidos foram observados na região anódica (Figura 30).

Corte de potencial efetuado após a onda I_c , mostra a presença de um pico de oxidação adicional, em comportamento bem próximo ao anteriormente descrito em carbono vítreo.

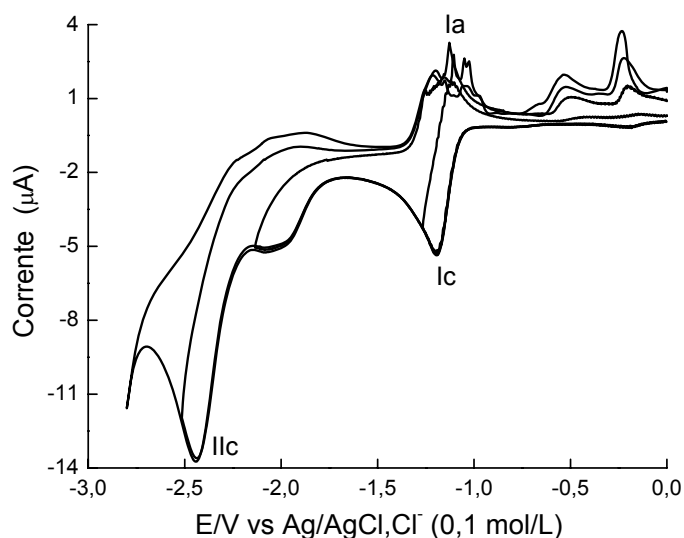


Figura 30: Voltamograma cíclico de 1 em DMF e TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de mercúrio. c = 2 mmol/L. v = 0,100 V/s.

Este comportamento de redução é representativo da redução de nitrocompostos aromáticos em meio aprótico, ou seja, formação do ânion-radical após redução de 1 elétron e posterior redução de 3 elétrons seguido de protonação levando a geração do derivado hidroxilamínico (Figura 31).

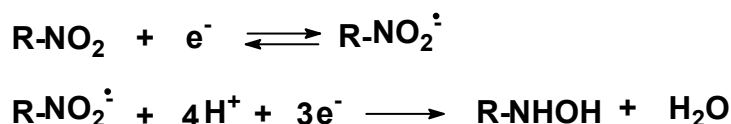


Figura 31: Mecanismo de redução de nitrocompostos aromáticos em meio aprótico.

Em relação à oxidação do composto 1 em meio aprótico (DMF/TBAP), observou-se a presença de um único pico de oxidação (IVa), irreversível, em potencial +1,190 V em 0,100 V/s.

Este pico é referente à oxidação do anel diidropiridínico à piridina correspondente envolvendo dois elétrons e dois prótons (Figuras 32 e 33) (LÓPEZ-ALARCÓN et al, 2003; KLÍMA et al, 1984).

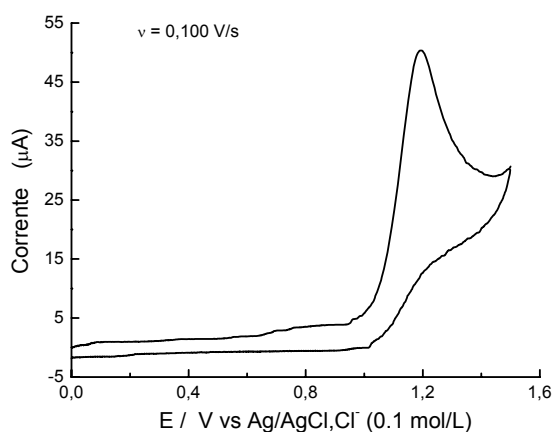


Figura 32: Voltamograma cíclico de 1 em DMF e TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L. Varredura anódica.

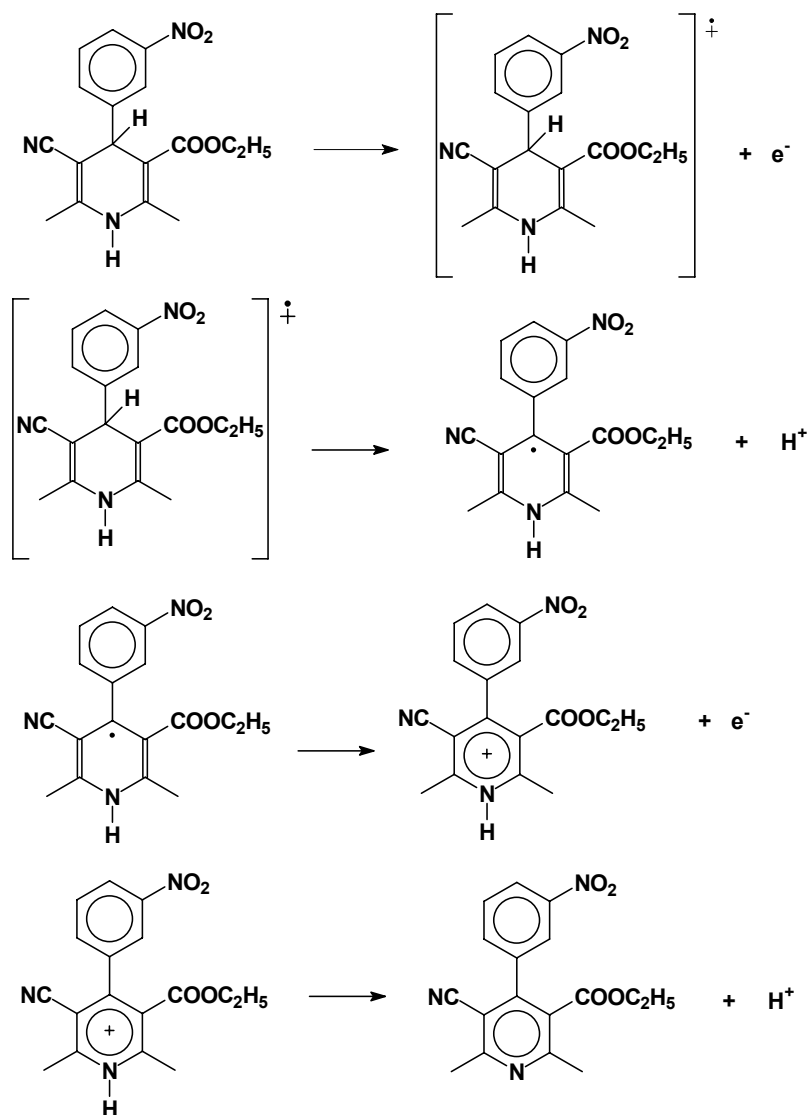


Figura 33: Esquema da oxidação do anel diidropiridínico a piridina (LÓPEZ-ALARCÓN, 2003).

Tabela 3 – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **1** na concentração de 2mmol/L. Eletrólito de suporte TBAP e DMF (0,1 mol/L) e carbono vítreo como eletrodo de trabalho.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{pc} (V)	i_{pc} (μ A)	$E_{p/2}$ (V)	$E_{pc}-E_{p/2}$ (V)	i_{pa}/i_{pc}
0,020	0,14142	-1,165	13,49	-1,1010	0,064	0,927
0,035	0,18708	-1,167	17,95	-1,0995	0,068	0,974
0,050	0,22361	-1,167	22,50	-1,0965	0,071	0,978
0,075	0,22361	-1,169	27,45	-1,0992	0,070	0,996
0,100	0,31623	-1,180	33,19	-1,1137	0,066	1,028
0,200	0,44721	-1,179	43,28	-1,1062	0,073	1,030
0,300	0,54772	-1,184	51,65	-1,1065	0,078	1,085
0,400	0,63246	-1,171	59,31	-1,1110	0,080	1,090
0,500	0,70711	-1,194	69,93	-1,112	0,082	1,119
0,750	0,86603	-1,203	81,05	-1,1170	0,086	1,126
1,000	1,00000	-1,203	89,39	-1,1176	0,086	1,176
2,000	1,41421	-1,224	118,20	-1,1303	0,094	1,089
5,000	2,23607	-1,269	162,50	-1,1570	0,112	1,152
10,000	3,16228	-1,308	185,70	-1,1625	0,146	1,175

IV.1.2.1.2. Substância 2

A Figura 34 mostra o voltamograma cíclico de redução da substância **2** em várias velocidades de varredura (0,020, 0,100 e 1,00 V/s). Verifica-se que a primeira onda, I_c , situada em potencial de $-1,156$ V, é de natureza irreversível, seguida de uma onda reversível em $-1,260$ V. A terceira onda $IIIc$, mal-definida, situa-se em potencial de $-2,375$ V. Em relação à região anódica, foram observadas três ondas em potenciais de $-1,278$ V, $-0,957$ e $-0,302$ V em $\nu = 0,100$ V/s.

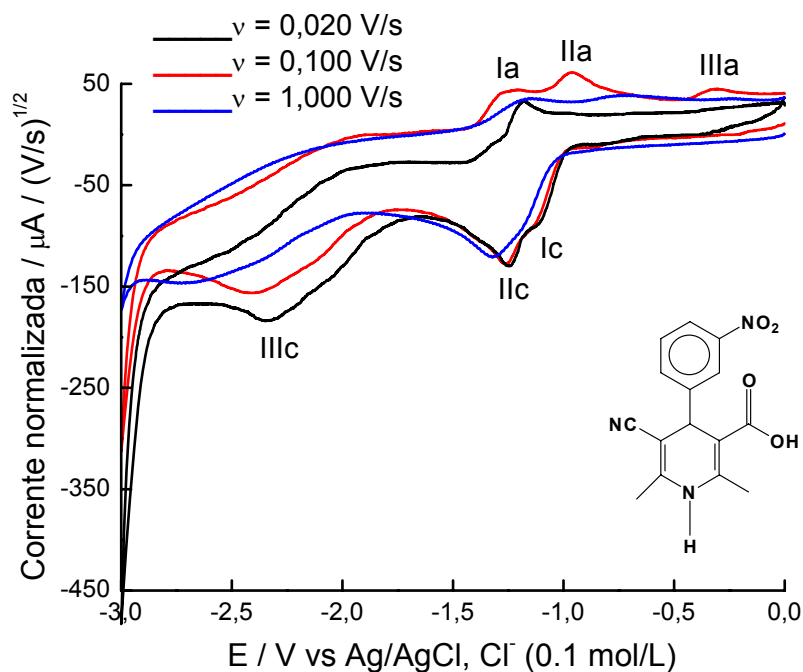


Figura 34: Voltamogramas cíclicos de 2 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo de carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.

O composto **2** apresentou a primeira onda sem contrapartida anódica ($I_c = -1,182$ V), I_{pc} é controlada por difusão e E_{pc} depende da velocidade de varredura (Figura 35), o que sugere a ocorrência de mecanismo do tipo EC [transferência eletrônica (TE) acompanhada de reação química].

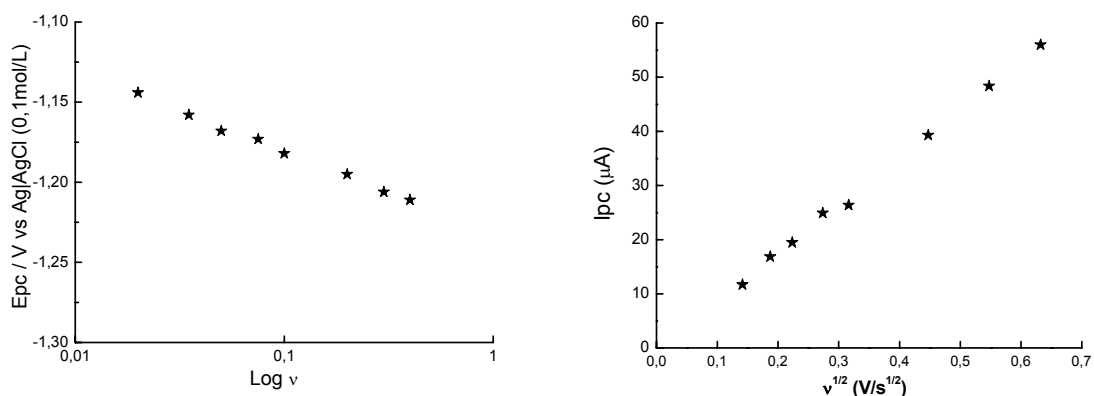


Figura 35: Gráficos do potencial de ipc vs. $\log v$ e da corrente em função de $v^{1/2}$ para **2**.

Em relação ao E_p de redução do composto **2**, observa-se que sua primeira onda reduz-se mais facilmente, cerca de 24 mV, quando comparada ao composto **1** (Figura 36).

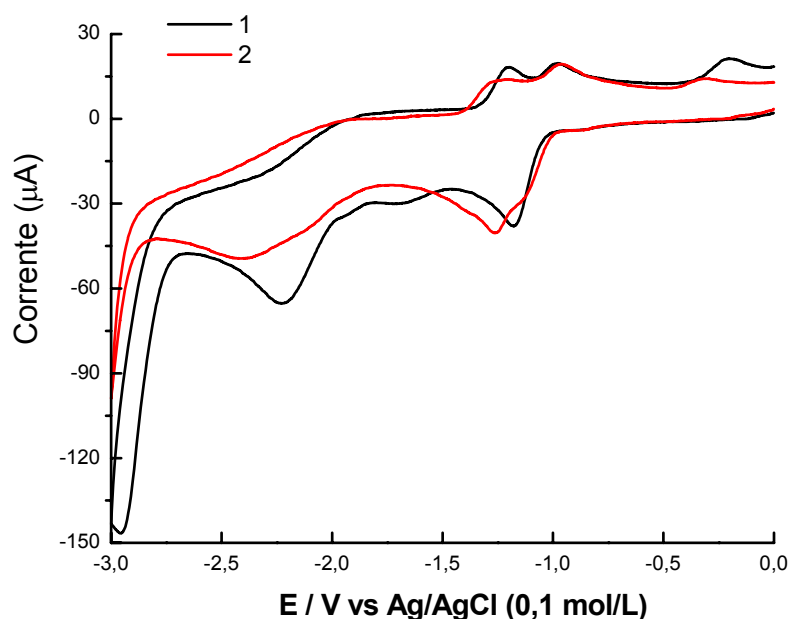


Figura 36: Voltamogramas cíclicos de **1** e **2** em DMF e TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L. $v = 0,100$ V/s.

Em vista da presença, na estrutura do composto **2**, de um grupamento ácido, a etapa química, C, pode estar associada a uma reação de auto-protonação (abstração de H^+ pelo ânion-radical gerado após TE) que não é observada no

composto **1** (Figura 37), um mecanismo amplamente difundido em reduções eletroquímicas em meio aprótico (BRILLAS et al, 1986; AMATORE et al, 1985).

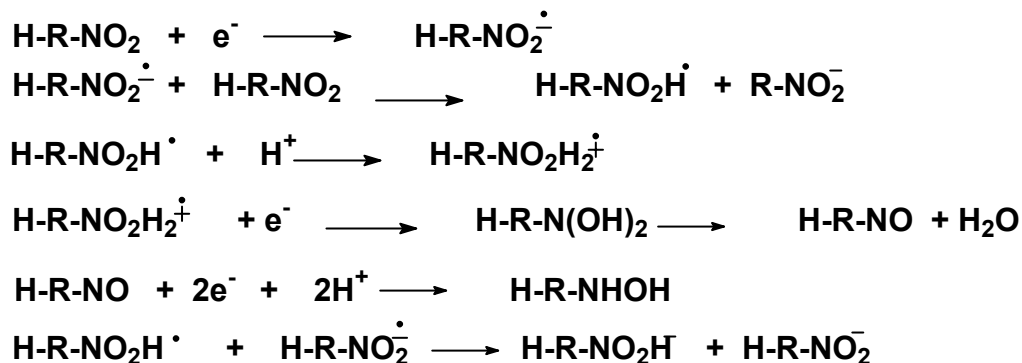


Figura 37: Esquema do provável mecanismo de auto-protonação para o composto **2**.
Mecanismo adaptado de BRILLAS et al, 1986.

São vários os testes diagnósticos para o mecanismo de auto-protonação (BRILLAS et al, 1986; AMATORE et al, 1985), entre eles, a abstração do próton ácido pela adição de base ao meio. De fato, quando se adicionou excesso de NaOH, observou-se o desaparecimento da onda Ic, confirmando o processo de auto-protonação. A onda IIc está relacionada a um processo de transferência eletrônica reversível referente à base conjugada do composto **2** (Figuras 38 e 39).

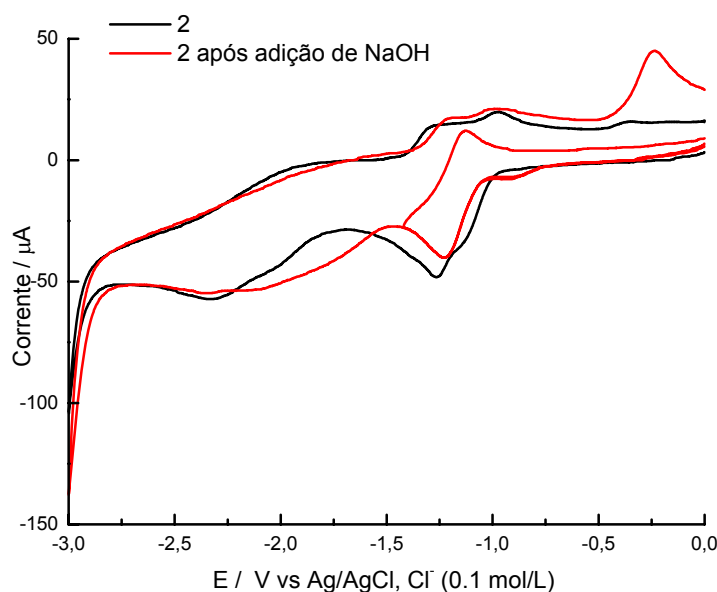


Figura 38: Voltamogramas cíclicos de **2** em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L) antes e após adição de excesso de NaOH. *c* = 2 mmol/L. *v* = 0,100 V/s. Eletrodo: carbono vítreo.

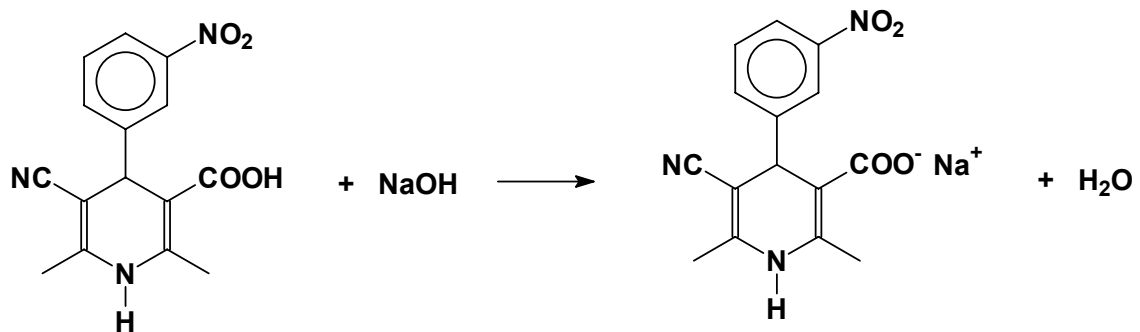


Figura 39: Reação da abstração do próton ácido pela base (NaOH).

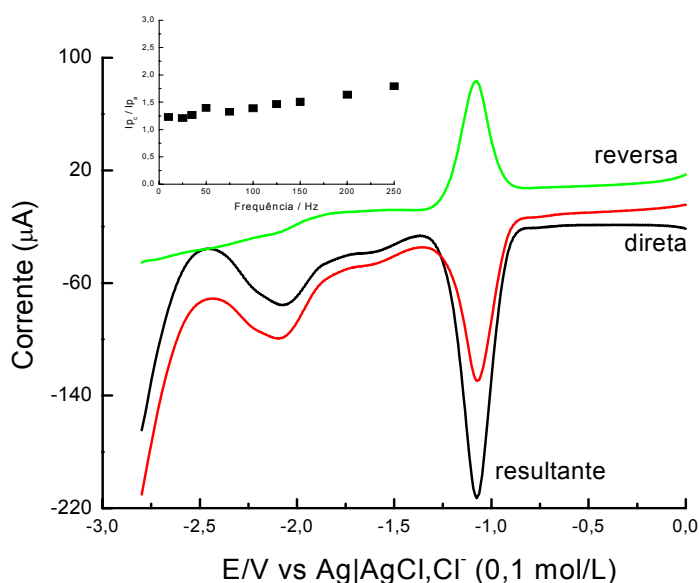
Tabela 4 – Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **2** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte TBAP e DMF (0,1 mol/L) e carbono vítreo como eletrodo de trabalho.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{plc} (V)	I_{plc} (μ A)	E_{pl2} (V)
0,020	0,14142	-1,118	11,70	-1,245
0,035	0,18708	-1,134	16,87	-1,250
0,050	0,22361	-1,149	19,46	-1,254
0,075	0,22361	-1,153	24,90	-1,258
0,100	0,31623	-1,156	26,36	-1,261
0,200	0,44721	-1,171	39,29	-1,272
0,300	0,54772	-1,182	48,37	-1,280
0,400	0,63246			-1,290
0,500	0,70711			-1,292
0,750	0,86603			-1,311
1,000	1,00000			-1,320
2,000	1,41421			-1,354

IV.1.2.2. Voltametria de onda quadrada

Os resultados obtidos por essa técnica foram semelhantes aos da voltametria cíclica. O composto 1 apresentou onda Ic de natureza quase-reversível, conforme evidenciado pela simetria dos picos direto e reverso, para vários valores de frequência. O gráfico da relação I_{pa}/I_{pc} apresenta-se constante até a frequência de 125 Hz reforçando a afirmação anterior para um processo quase-reversível, como observado na análise dos parâmetros obtidos na voltametria cíclica.

Para o composto 2, o pico reverso apresentou-se de menor intensidade que o pico direto, a feição do voltamograma indica irreversibilidade do sistema, sugerindo a presença de reação química após transferência eletrônica (Figura 40).



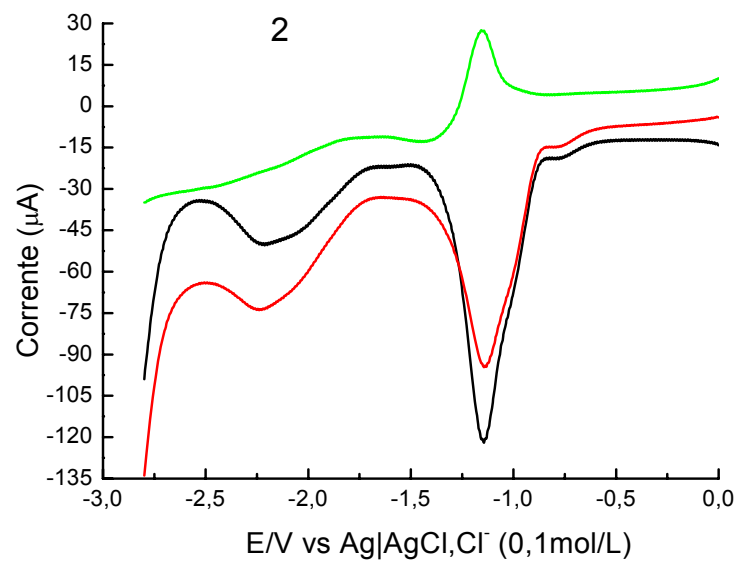


Figura 40: Voltamogramas de VOQ para 1 e 2 em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L) em frequência de 50 Hz. Eletrodo: carbono vítreo. c = 2 mmol/L.

IV.2. β -lapachona e diazo derivado

IV.2.1. Meio prótico

Os voltamogramas cíclicos da β -lapachona em meio prótico já foram anteriormente publicados (de ABREU et al, 2002b) e são representados por sistemas reversíveis, $E_{pc} = -0,300$ V (E_{pc} independente de ν , $i_{pa}/i_{pc} = 1$), difusionais (i_{pc} vs. $\nu^{1/2}$ linear), bem definidos, dependentes do pH do meio, com mecanismo eletródico envolvendo $2e^-/2H^+$, típico de quinonas. A Figura 41 ilustra esse comportamento e é aqui colocada para fins de comparação.

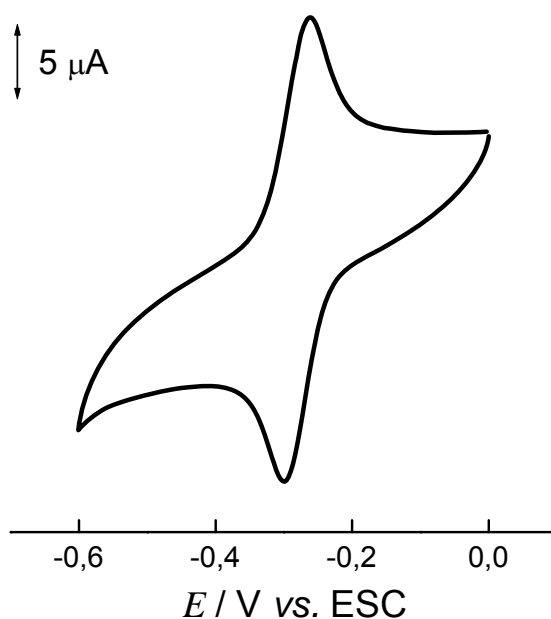


Figura 41: VC da β -lapachona, tampão fosfato pH 7,0 com 20 % de etanol. $\nu = 0,100$ V/s. Eletrodo de carbono vítreo, $c = 8,3 \times 10^{-5}$ mol/L (de ABREU, 2001).

O voltamograma cíclico do diazo derivado da β -lapachona (**4**) em meio prótico, tampão fosfato pH 6,9 (pH aparente), apresentou uma onda catódica, de natureza irreversível, em potencial de $-0,419$ V com E_{pc} variando com $\log \nu$ (Figura 42) (Tabela 5). A análise em função da velocidade de varredura demonstrou que a corrente de pico é controlada por difusão ($i_{plc} \propto \nu^{1/2}$) (Figura 43). Uma onda na região anódica em potencial de $-0,259$ V a $0,100$ V/s também foi observada.

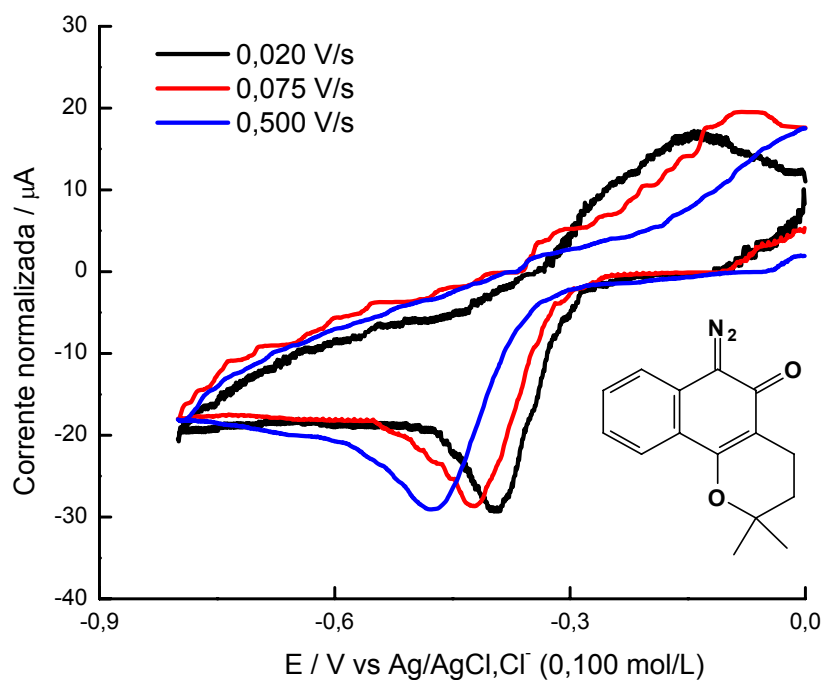


Figura 42: Voltamogramas cíclicos da redução de 4 em meio misto 7:3 tampão fosfato:etanol, pH 6,9 (pH aparente), em várias velocidades. Eletrodo: carbono vítreo. $c = 1,4 \text{ mmol/L}$.

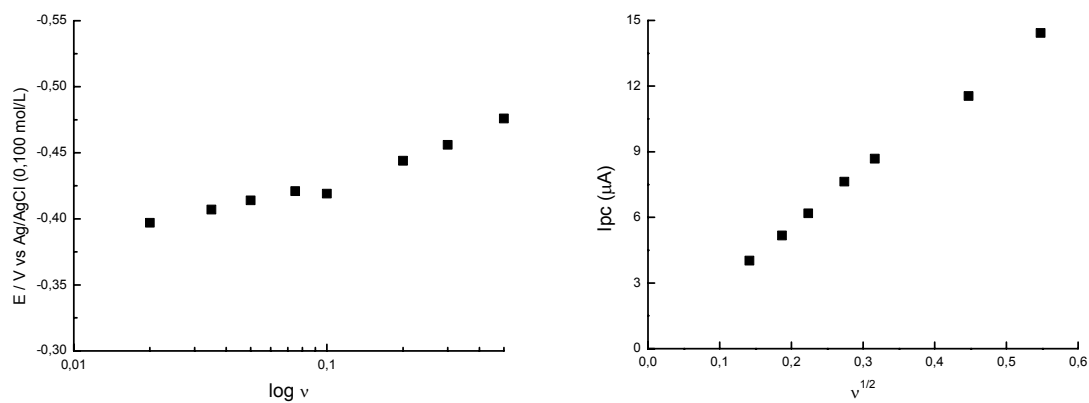


Figura 43: Gráficos de E_{pc} vs. $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$ para 4.

IV.2.1. Voltametria de onda quadrada

Os experimentos de voltametria de onda quadrada para **4** mostraram uma onda de redução em $-0,389$ V e uma onda de oxidação, de menor intensidade, em $-0,359$ V (Figura 44).

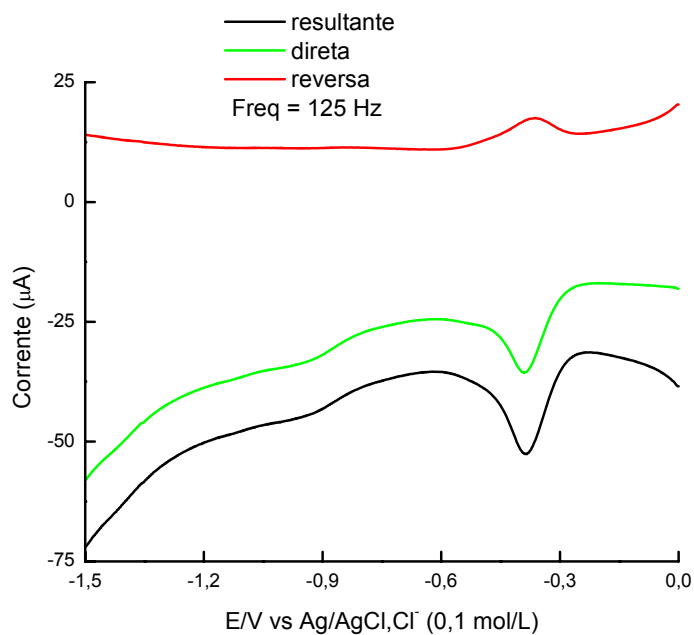


Figura 44: Voltamograma de VOQ para **4** em meio misto 6:4 (tampão fosfato:etanol) pH aparente 7,15. Freqüência de 125 Hz. Eletrodo: carbono vítreo. $c = 5 \times 10^{-4}$ mol/L.

Tabela 5– Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **4** na concentração de 1,4 mmol/L. Eletrólito de suporte: tampão fosfato pH 6,9 e 30% de etanol (pH aparente). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{pc} (V)	i_{pc} (μ A)
0,020	0,14142	-0,397	4,02
0,035	0,18708	-0,407	5,17
0,050	0,22361	-0,414	6,18
0,075	0,22361	-0,421	7,63
0,100	0,31623	-0,419	8,68
0,200	0,44721	-0,444	11,55
0,300	0,54772	-0,456	14,43
0,500	0,63246	-0,476	18,82

IV.2.2. Meio aprótico

A substância 3 mostrou comportamento de redução típico de *o*-quinonas, representado por duas ondas monoelétrônicas, com uma onda de natureza reversível e outra quase-reversível em 0,100 V/s ($E_{plc} = -0,737$ V; $E_{pla} = -0,640$ V; $E_{pllc} = 1,469$ V; $E_{plla} = -1,300$ V). A corrente de pico da onda lc mostrou-se ser controlada por difusão (Figuras 45 e 46) (Tabela 6).

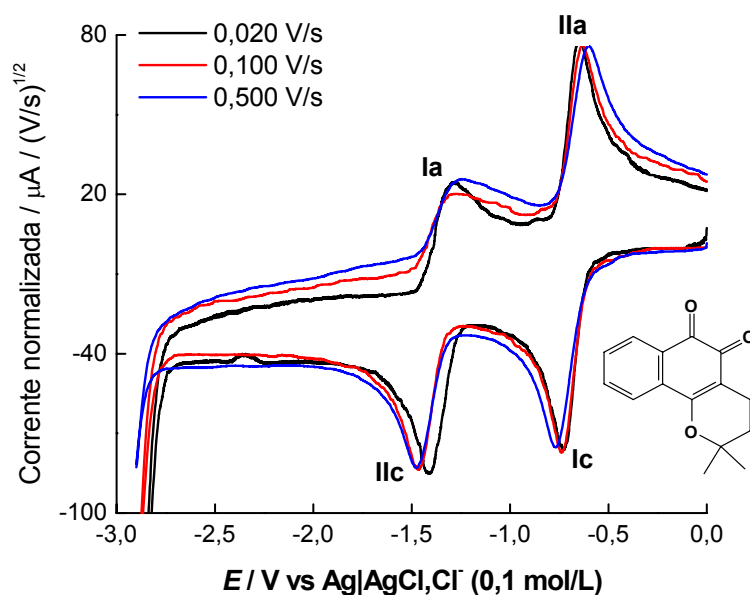


Figura 45: Voltamograma de 3 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de ν . Eletrodo: carbono Vítreo. $c = 2$ mmol/L.

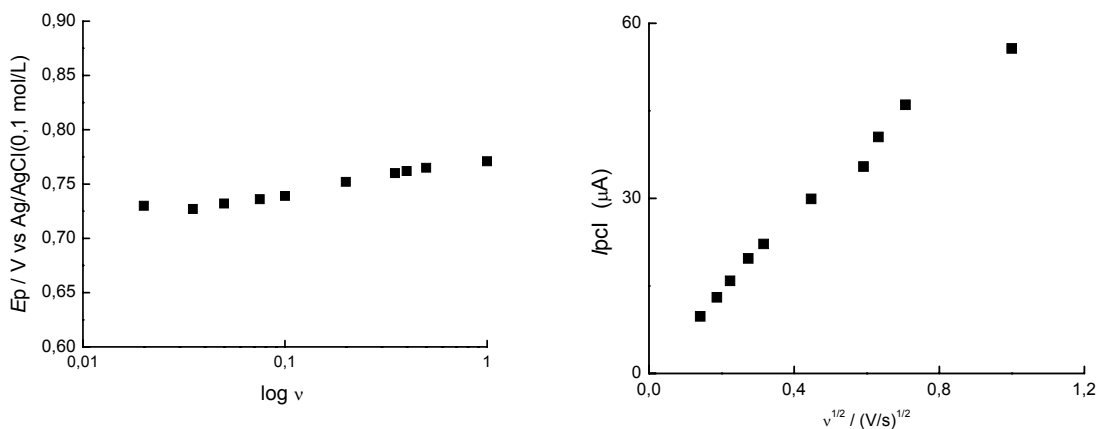


Figura 46: Gráficos de E_{plc} vs $\log \nu$ e da corrente em função de $\nu^{1/2}$.

O mecanismo de redução proposto para a β -lapachona é a redução monoelétrica reversível formando a semiquinona, e posterior redução da semiquinona gerando o diânion, ambos estáveis, na condição empregada (Figura 47).

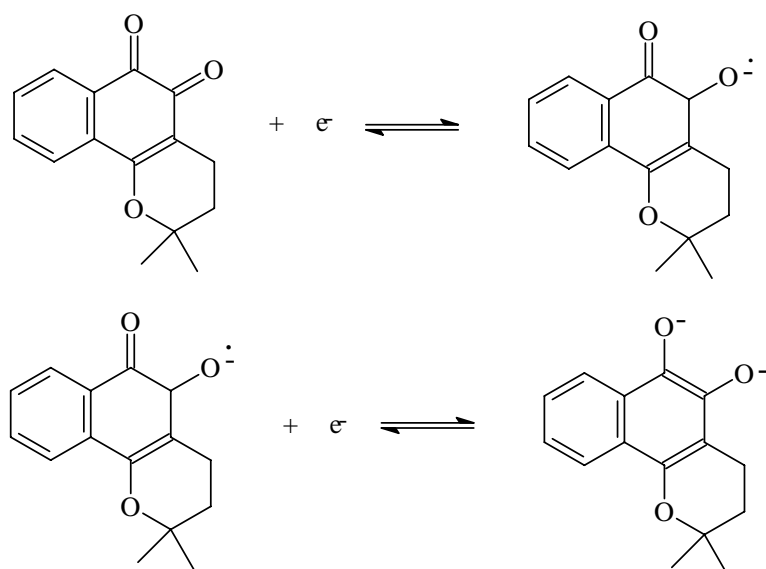


Figura 47: Mecanismo de redução de 3 em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L). Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.

Apesar de a redução de quinonas em solventes não aquosos ter sido indicada como excelente exemplo de redução em duas etapas reversíveis para a formação do ânion-radical e posterior geração do diânion, observam-se algumas complicações: a corrente do segundo pico de redução apresenta-se diminuída em relação à primeira onda de redução. Estudos acerca dessas alterações foram realizados por LEHMANN e EVANS (2001).

Já o composto **4** em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L), nos experimentos de voltametria cíclica, apresentou uma onda principal de redução ($E_{plc} = -1,038$ V) referente à redução do grupo diazoquinônico presente na molécula (Figura 48). A análise em função da velocidade de varredura demonstrou que a corrente de pico é controlada por difusão ($I_{plc} \propto \nu^{1/2}$) e o gráfico E_{plc} versus $\log \nu$ com inclinação ($dE_{plc}/d \log \nu$) igual a 28 mV/decada de variação de ν (Figura 49) aponta para um mecanismo do tipo EC. Uma onda anódica irreversível em potencial menos negativo ($E_{pla} = -0,082$ V) foi também observada.

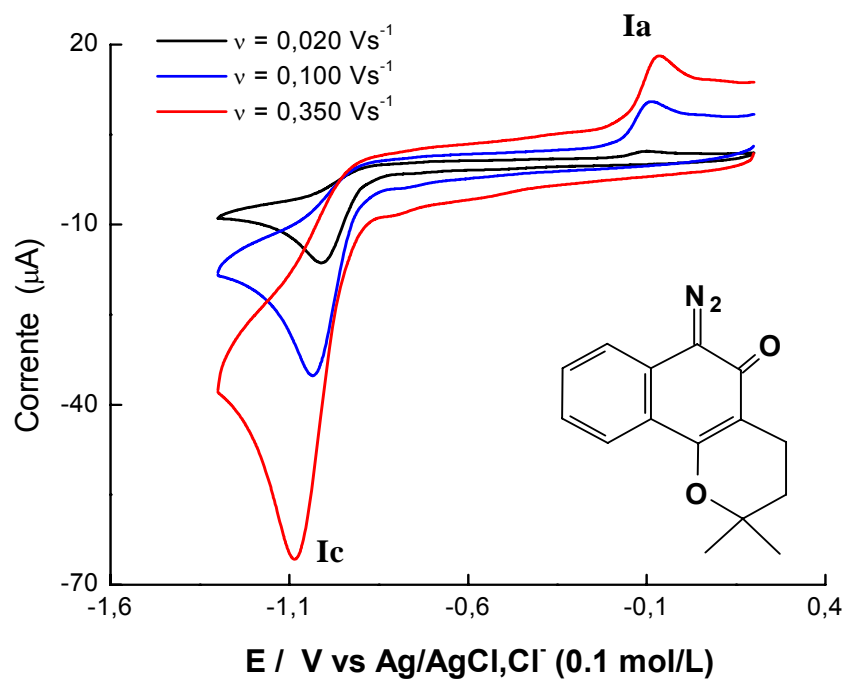


Figura 48: Voltamograma de 4 em DMF e TBAP (0,1 mol/L) para vários valores de v . Eletrodo: carbono vítreo. $c = 2$ mmol/L.

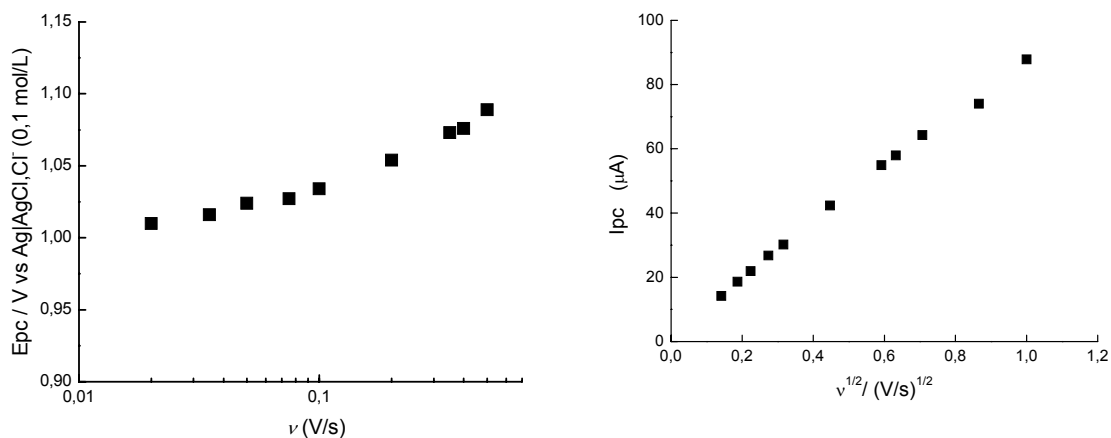


Figura 49: gráfico de I_{pc} versus $v^{1/2}$ e E_{pc} versus $\log v$ para 4.

A eletrólise em potencial controlado ($E_{plc} = -1,100V$) demonstrou o consumo de 1 mol elétron/mol. A mistura reacional foi submetida à análise por CG/EM e o espectro de massas demonstrou a presença do derivado fenólico **5** (Figura 50, EM m/z (%): 172 (100), 173 (10,8), 115 (14,7) M+: 228.1).

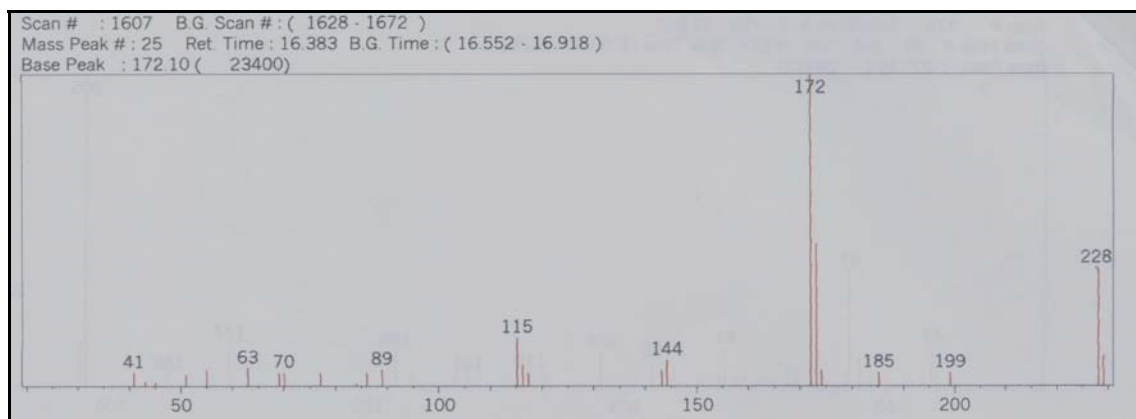
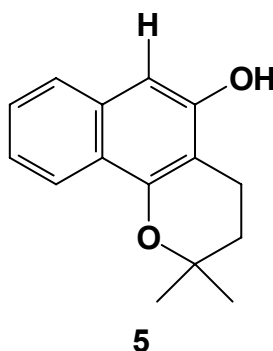


Figura 50: EM do produto da redução da substância 4, com geração de 5.



A Figura 51 mostra o voltamograma cíclico antes e após a eletrólise, demonstrando a completa redução do grupo diazoquinônico, com perda de N_2 .

A combinação dos resultados e a comparação com dados da literatura (GALEN; HAWLEY, 1987) permite definir o mecanismo de redução como um processo EC, onde a reação química é a perda unimolecular do N_2 . O ânion radical eletrogerado do diazo composto (**4a**) sofre decomposição, que leva ao ânion radical intermediário carbeno (**4b**), que abstrai hidrogênio do solvente ou do eletrólito de suporte, dando o ânion radical (**4c**), que sofre posterior protonação para produzir o derivado fenólico como o principal produto de redução (**5**) (Figura 52) (GALEN; HAWLEY, 1987; BETHELL; PARKER, 1986).

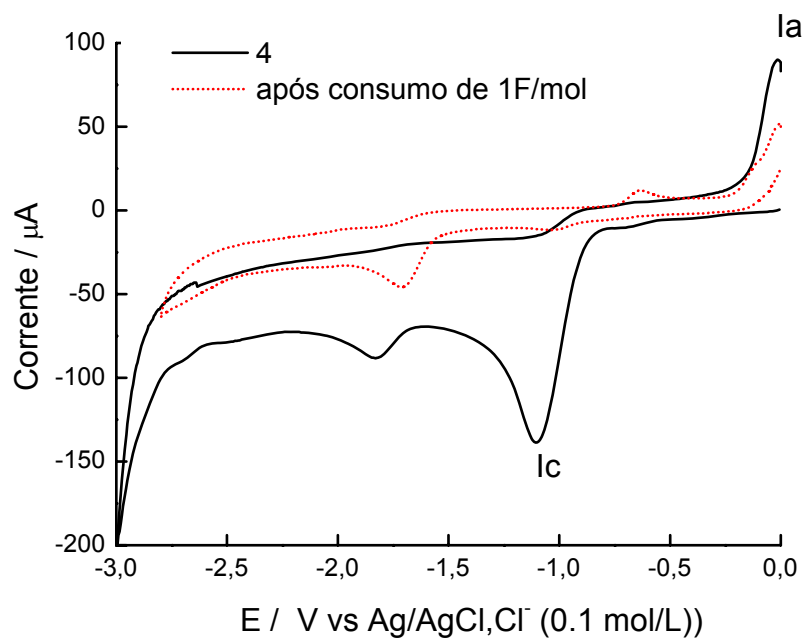


Figura 51: Voltamograma cíclico em meio aprótico de 4 antes e após a eletrólise.

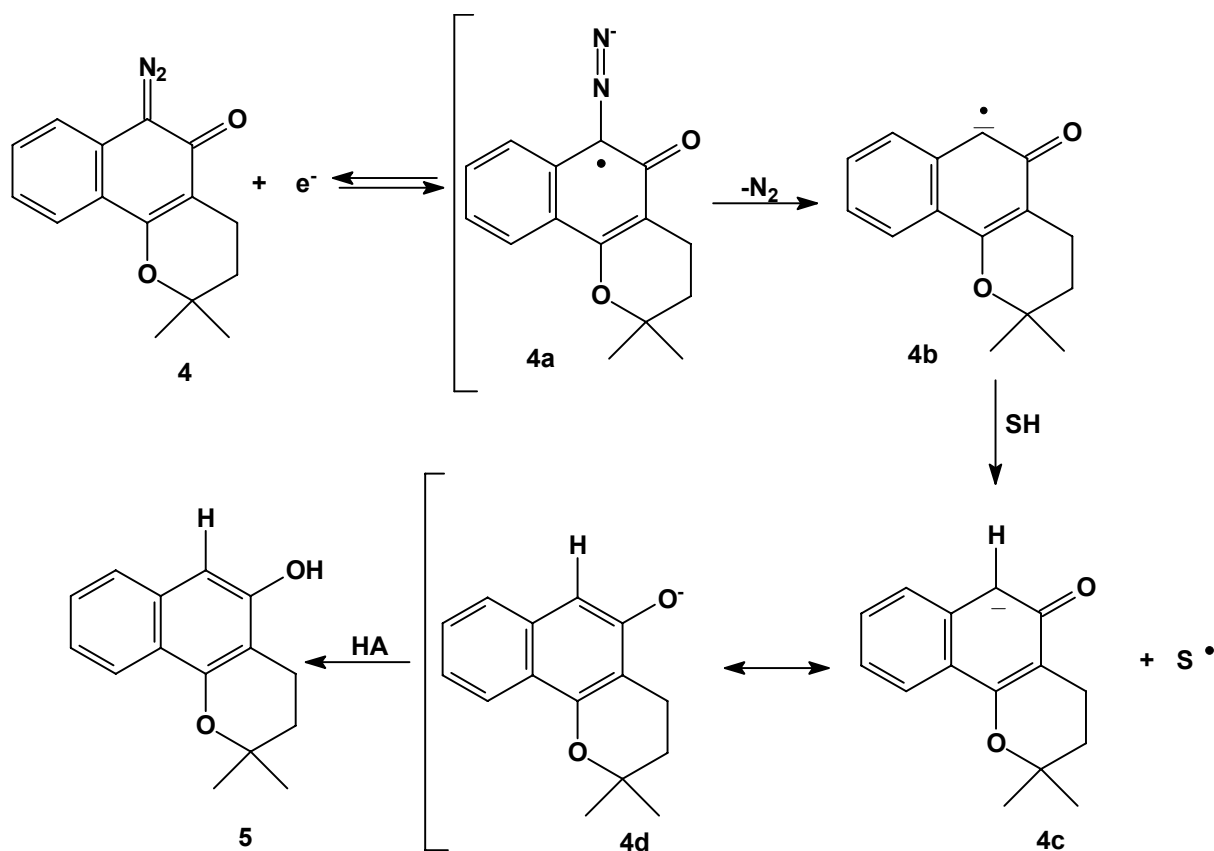


Figura 52: Esquema do provável mecanismo de redução para 4, gerando o intermediário ânion radical carbeno 4b (GALEN; HAWLEY, 1987; BETHELL; PARKER, 1986).

A partir destes dados, pode-se, ainda, observar que o sistema *o*-quinônico se reduz mais facilmente que o diazoquinônico ($\Delta E_{pc} = 300$ mV). Isto está relacionado ao maior caráter eletrofílico em carbonilas vicinais. Os ânions radicais resultantes de **3** e **4** foram estabilizados diferentemente. A β -lapachona e derivados que mantêm a função redox inalterada podem se comportar como cicladores redox (Figura 6, pág. 10), o que não é esperado que aconteça com diazo-quinonas, nas quais, o ânion-radical sofre destino completamente diferente, pela possibilidade de liberação de N_2 , molécula altamente estável. Espera-se que a atividade biológica seja diversificada e que a mesma possa estar relacionada à geração de carbeno após redução (Figura 53), conforme verificado com análogos **15** e **16**, produtos naturais antimicrobianos.

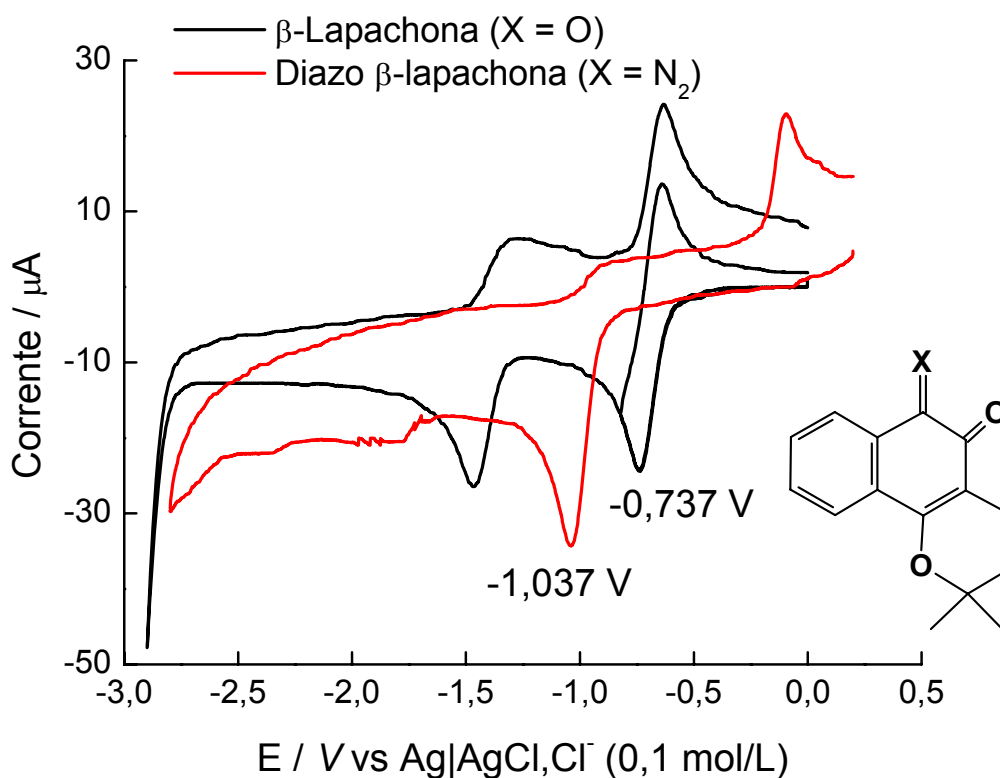


Figura 53: Voltamogramas cíclicos de **3** e **4**, em meio aprótico (DMF/TBAP 0,1 mol/L). Eletrodo: carbono vítreo. $\nu = 0,100$ V/s. $c = 2$ mmol/L.

Tabela 6– Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **3** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte: DMF/TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{pc} (V)	i_{pc} (μ A)
0,020	0,14142	-0,727	13,03
0,035	0,18708	-0,732	15,85
0,050	0,22361	-0,736	19,72
0,075	0,22361	-0,739	22,19
0,100	0,31623	-0,752	29,91
0,350	0,59161	-0,76	35,44
0,400	0,63246	-0,762	40,53
0,500	0,70711	-0,765	46,05
1	1	-0,771	55,68

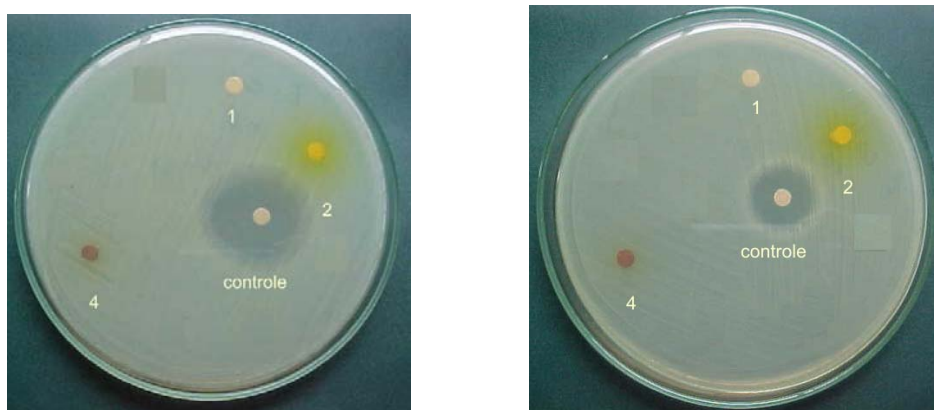
Tabela 7– Parâmetros eletroquímicos obtidos pelo estudo da influência da velocidade de varredura para a substância **4** na concentração de 2 mmol/L. Eletrólito de suporte: DMF/TBAP (0,1 mol/L). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

ν (V/s)	$\nu^{1/2}$	E_{pc} (V)	i_{pc} (μ A)
0,02	0,1414	1,01	14,2
0,035	0,187	1,016	18,66
0,05	0,2236	1,024	21,94
0,075	0,2738	1,027	26,78
0,1	0,3162	1,038	30,19
0,2	0,4472	1,054	42,34
0,35	0,5916	1,073	54,89
0,4	0,6324	1,076	57,96
0,5	0,7071	1,089	64,25
0,75	0,866		74,03

Os nitrocompostos aromáticos e os diazoderivados apresentam atividades biológicas e despertam interesse químico e eletroquímico, conforme descrito (pág.1 e 10). Em vista da comprovação da eletrogeração de intermediários carbênicos reativos, que podem, eventualmente, alquilar DNA ou outros endobióticos, optou-se por realizar alguns bioensaios, para conhecer o perfil de ação biológica do composto **4**. Devido às atividades antibacterianas registradas para diazoquinonas (Pág. 14), bioensaios com bactérias Gram positivas e Gram negativas foram realizados.

IV.3. Testes bacteriológico *in vitro*

Das substâncias analisadas (**1**, **2** e **4**) nos microrganismos testados (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), todos os compostos inativos em relação aos microrganismos escolhidos.



E. coli 10

E. coli 08

Figura 54: Resultados dos testes de difusão em discos frente a *E. coli* e *S. aureus*.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados eletroquímicos obtidos para as nitrofenil-1,4-diidropiridinas estudadas podemos concluir que a redução do grupo nitrofenil-1,4-diidropiridina apresenta um comportamento de redução padrão de nitroaromáticos em meio aquoso, gerando provavelmente hidroxilaminas, com diferente grau de estabilidade baseado no sistema de oxidação reversível da hidroxilamina, ou seja, $2 > 1$ para Ia/IIc.

Em meio aprótico, entretanto, observou-se, através da voltametria cíclica, um mecanismo mais complexo, com a formação de vários intermediários reativos. Mecanismo de auto-protonação foi observado no derivado contendo um grupamento ácido em sua estrutura.

Com relação à diazoquinona **4**, podemos concluir que o grupo diazo influencia fortemente o comportamento eletroquímico. Diferentemente da β -lapachona, apresentou comportamento de redução irreversível, levando a geração de ânion radical carbeno intermediário mostrando o papel do diazo no mecanismo de reação de TE. Os resultados eletroquímicos obtidos no presente trabalho, a partir do estudo dessa classe de compostos, representada por **4**, abrem novas e importantes perspectivas de atividade biológica para diazoquinonas. O mecanismo de ação biológico pode estar ligado a biorredução, já que há evidências de que, após redução, ocorre perda de N_2 , com geração de intermediários reativos (derivados carbênicos) que podem alquilar DNA ou outros endobióticos, e novos ânions potencialmente ativos.

VI. PERSPECTIVAS

- 1 – Calcular a concentração inibitória mínima (CIM) do diazo derivado em relação às bactérias já testadas e realizar testes com outros microrganismos.
- 2 – Experimentos usando biossensores de DNA para verificar a possível interação do DNA com o diazoderivado da β -lapachona com ou sem redução preliminar, de modo a obter informações úteis em relação ao mecanismo de ação biológico.
- 3 – Ensaio biológico dos compostos em estudo frente a *Artemia salina* e para possível correlação com parâmetros eletroquímicos.
- 4 – Estudar novas diazoquinonas.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGAR, J. F. & GOLDSTEIN, G. W. **Disc Susceptibility Test Antibiotics in Laboratory Medicine**, 4nd. Baltimore: Willams & Wilkins, p.01-51, 4996.

ÁLVAREZ-LUEJE, A.; STURM, J.; SQUELLA, J. A.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J. Hydrolytic degradation of nitrendipine and nisoldipine. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.28, n.5, p.887-895. 2002.

AMATORE, C.; CAPOBIANCO, G.; FARNIA, G.; SANDONÀ, G.; SAVEANT, J.; SEVERIN, M. G.; VIANELLO, E. Kinetics and mechanism of self-protonation reactions in organic electrochemical processes. **J. Am. Chem. Soc.**, v.107, p.1815-1824, 1985.

BAILLY, C. Topoisomerase I poisons and suppressors as anticancer drugs. **Curr. Med. Chem.**, v.7, n.1, p.39-58, 2000.

BARD, A. J. & FAULKNER, L. R. Electrochemical methods: fundamentals and applications. **New York: John Wiley & Sons, Inc., 1980.**

BAUMANE, L.; STRADINS, J.; GAVARS, R.; DUBURS, G. Mechanism and products of electrochemical reduction of 4-(Nitrophenyl) substituted 1,4-dihydropyridines. **Electrochim. Acta.** v.37, n.14, p.2599-2610, 1992.

BERGMAN, J.; BRIMERT, T. Synthesis and reactions of some dinitrodiazoquinones, **Tetrahedron**, v.55, p.5581-5592, 1999.

BERTANI, R.; BIASIOLO, M.; DARINI, K.; MICHELIN, R. A.; MOZZON, M.; VISENTIN, F.; ZANOTTO, L. Catalytic transformations of diazo compounds promoted by platinum (0) and dicationic platinum (II) complexes. **J. Organomet. Chem.**, v.642, p.32-39, 2002.

BETHELL, D.; PARKER, V. D. The generation of carbene anion radicals from diazo compounds. Factors influencing the unimolecular decomposition of the anion radicals of diazo compounds in solution. **J. Am. Chem. Soc.**, v.108, p.7194-7200, 1986.

BOLLO, S.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A. Cyclic voltammetric determination of free radical species from nitroimidazopyran: a new antituberculosis agent. **J. Electroanal. Chem.** v.562, n.1, p.9-14, 2004.

BRESOLIN, T. M. R. & CECHINEL FILHO, V. **Ciências Químico-Farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de Novos Fármacos e Medicamentos.** Ed. UNIVALI. Itajaí-SC. 2003.

BRETT, A. M. O. & BRETT, C. M. A. **Eletroquímica: princípios, métodos e aplicações.** Coimbra: Livraria Almedina, 1996.

BRILLAS, E.; FARNIA, G.; SEVERIN, M. G.; VIANELLO E. Self-protonation effects in the electrochemical reduction mechanism of *p*-nitrobenzoic acid. **Electrochim. Acta**, v.31, n.7, p.759-766, 1986.

CARVALHO, C. E. M.; FERREIRA, V. F.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; HARRISON, WILLIAN. Heterocyclic derivatives from natural occurring naphthoquinones: synthesis, characterization and X-ray structure of beta-lapachone hydrazo compounds. **Dyes Pig.**, v.52, n.3, p.209-214. 2002.

CHRISTIANS, T.; DIEWALD, D.; WESSLER, C.; OTTE, YVONNE, O.; LEHMANN, J.; HOLZGRABE, U. Resolution of newly synthesized racemic dihydropyridines with different chiral selectors by means of capillary electrophoresis. **J. Chromatogr. A.** v.853, p.455-460, 1999.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHER, P. **Organic Chemistry.** By Oxford University Press Inc., New York. p.1060-1072, 2001.

COURVALIN, P. et al. **L'Antibiogramme.** Editora MPC-Videom, 1^o ed., Paris, France, p.343, 1985.

Danielle Cristhina Melo Ferreira

CULTURA, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DA *Neisseria gonorrhoeae*. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, 1997.

da SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B.; Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. **Quim. Nova**, v.26, n.3, p.407-416, 2003.

de ABREU, F. C.; Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2001.

de ABREU, F. C.; FERRAZ, P. A.; GOULART, M. O. F. Some application of electrochemistry in biomedical chemistry. Emphasis on the correlation of electrochemical and bioactive properties. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.13, n.1, p.19-35, 2002a.

de ABREU, F. C.; GOULART, M. O. F.; BRETT, A. M. O. Reduction of lapachones in aqueous media at a glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, n.14, v.1, p.29-34, 2002b.

de MOURA, K. C. G.; EMERY, F. S.; NEVES-PINTO, C.; PINTO, M. C. F. R.; DANTAS, A. .; SALOMÃO, K.; de CASTRO, S. L.; PINTO, A. V. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from *Tabebuia* and some heterocyclic derivatives: review from an interdisciplinary study. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.12, n.3, p.325-338, 2001.

de SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S; AVACA, L. A.; Voltametria de onda quadrada, primeira parte: aspectos teóricos. **Quim. Nova**, v.26, n.1, p.81-89, 2003.

DOCAMPO, R.; LOPE, J. N.; CRUZ, F. S.; de SOUZA, W. *Trypanosoma cruzi*: Ultrastructural and metabolic alterations of epimastigotes by β -lapachone. **Exp. Parasitol.**, n.42, p.142-149, 1977.

ECCLES, G. N. Recent advances in pulse cyclic and square-wave cyclic voltammetric analysis. **Crit. Rev. Anal. Chem.**, v.22, n.5, p.345-380, 1991.

FERREIRA, V. F. **Comunicação pessoal**. Rio de Janeiro, Universidade Federal Fluminense. 2004.

FRY, A. J. **Synthetic Organic Electrochemistry**. 2nd ed. New York: Wiley Interscience Publication. 1988, 339 p.

FRYDMAN, B.; MARTON, L. J.; SUN, J. S.; NEDER, K.; WITIAK, D. T.; LIU, A. A.; WANG, H. M.; MAO, Y.; WU, H. Y.; SANDERS, M. M.; LIU, L. F. Induction of DNA topoisomerase II-mediated DNA cleavage by beta-lapachone and related naphthoquinones. **Cancer Res.**, v.5, p.620-627, 1997.

GALEN, D. A. V.; HAWLEY, M. D. The electrochemical reduction of diazodimedone kinetics and thermodynamics of the formation of the carbene anion radical. **J. Electroanal. Chem.**, v.218, p.227-240, 1987.

GOIJMAN, S. G.; STOPPANI, A. O. M. Effects of beta-lapachone, a peroxide-generating quinone, on macromolecule synthesis and degradation in *Trypanosoma cruzi*. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.240, n.1, p.273-280, 1985.

GOULART, M. O. F.; SOARES, N. A.; SANT'ANA, A. E. G.; TONHOLO, J.; BOOTS, J. F. C. Investigation of the electrochemical reduction of 3R-Claussequinome, in "Dry" DMF and mixed water-DMF solvent. v.4, n.2, p.47-53, 1993.

GREEF, R.; PEAT, R.; PETER, L. M.; PLETCHER, D; ROBINSON, J. **Instrumental Methods in Electrochemistry**, John Wiley, Ellis Horwood Limited, New York, cap1, 1985.

GUIRAUD, P.; STEIMAN, R.; CAMPOSTAKAKI, G. M.; SEIGLEMURANDI, F.; DEBUOCHBERG, M. S. Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and beta-lapachone. **Planta Med.**, n.60, v.4, p.373-374, 1994.

HARZARD, R.; HURVOIS, J. P.; MOINET, C.; TALLEC, A.; BURGOT, J. L.; EON-BURGOT, G. On the electrochemical behaviour of Nifedipine and related compounds: instability of the reduction products in protic media. **Electrochim. Acta**, v.36, n.7, p.1135-1141, 1991.

HE, H.; DING, W.; BERNAN, V. S.; RICHARDSON, A. D.; IRELAND, C. M.; GREENSTEIN, M.; ELLESTAD, G. A.; CARTER, G. T. Lomaiviticins A e B, potent antitumor antibiotics from *Micromonospora lomaivitinsis*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.123, p.5362-5363, 2001.

HENRIJ, J. B. **Diagnóstico Clínico e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 2ª edição, 1999.

HOOKER, S. C.; Lomatol. Part II. Its occurrence, constitution, relation to and conversion into lapachol. Also, a synthesis of lapachol, **J. Am. Chem. Soc.** v.58, p.1181-1190, 1936.

<http://departamentos.cardiol.br/dha/publicacoes/ivdiretriz/pdf>. Acesso em (18/12/2003).

http://www.jornalexpress.com.br/noticias/detalhes.php?id_jornal=8298&id_noticia=822. Acesso em (30/12/2003).

<http://www2.uol.com.br/cienciahoje/chdia/n731.html>. Acesso em (30/12/2003).

HURVOIS, J. P.; MOINET, C.; TALLEC, A. Anodic oxidation of 4-(*o*-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridines and reductive cyclization of the resulting *o*-Nitrophenyl-pyridines. **Electrochim. Acta**, v.38, n.13, p.1775-1781, 1993.

KATO, T. et al. **Mutation Research**, 268, 105-114, 1992.

KAUFFMANN, J. M.; VIRÉ, J. C.; Pharmaceutical and biomedical applications of electroanalysis: A critical review. **Anal. Chim. Acta**, v.273, p.329-334, 1993.

KLÍMA, J.; LUDVÍK, J.; VOLKE, J. Spin Trapping in electrochemical processes: trapping of radical intermediates in the electrooxidation of substituted 1,4-dihydropyridines. **J. Electroanal. Chem.**, v.161, p.205-211, 1984.

KOVACIC, P.; BECVAR, L. E. Mode of action of anti-infective agents: Focus on oxidative stress and electron transfer. **Curr. Pharm. Des.**, v.5, n.7, p.1-25, 2000.

KOVACIC, P.; EDWARDS, W. D.; NATALE, N. R.; SRIDHAR, R.; KISER, P. F. Theoretical calculations on calcium channel drugs: is electron transfer involved mechanistically?. **Chem – Biol. Interactions**, v.75, p.61–70, 1990.

KRISHNAN, P.; BASTOW, K.F. Novel mechanisms of DNA topoisomerase II inhibition by pyranonaphthoquinone derivatives – eleutherin, α lapachone, and β lapachone. **Biochem. Pharmacol.**, v.60, p.1367-1379, 2000.

LAUFER, R.S.; DMITRIENKO G.I. Diazo Group Electrophilicity in Kinamycins and Lomaiviticin A: Potential Insights into the Molecular Mechanism of Antibacterial and Antitumor Activity. **J. Am. Chem. Soc.**, v.124, n.9, p.1854-1856, 2002.

LEHMANN, M. W.; EVANS, D. H. Anomalous behaviour in the two-step reduction of quinones in acetonitrile. **J. Electroanal. Chem.**, v.500, p.12-20, 20001.

LI, C. J.; AVERBOUKH, L.; PARDEE, A. B. Beta-lapachone, a novel DNA topoisomerase I inhibitor with a mode of action differente from camptothecin. **J. Biol. Chem.**, v.268, n.30, 22463-22468, 1993.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J.A. Voltammetric oxidation of Hantzsch 1,4-dihydropyridines in protic and aprotic media: relevance of the substitution on N position. **Electrochim. Acta**, v.48, p.2505-2516, 2003.

LUND, H.; BAIZER, M. M. **Organic Electrochemistry: an introduction and guide**. 3rd Ed. New York: Marcel Dekker Inc, p.401-432, 1990.

MANN, K. C.; BARNES, K. K. In **Electrochemical Reactions in Nonaqueous systems**, Marcel Dekker, Inc; New York, 1974, 349 p.

McLICK, J.; BAUER, P.L.; HAKAM, A.; KUN, E. Covalent binding of 4-Carbamoylbenzenediazonium chloride to deoxyguanine bases of DNA resulting in apparent irreversible inhibition of poly (adenosine diphosphoribose) polymerase at the nicotinamide binding site. **Biochemistry**, v.26, p.2226-2231, 1987.

MISICO, R. I.; FORZANI, E. S. Measurement of hydrolysis decay time constants of monoarylimino derivatives of β -lapachone through cyclic voltammetry. **Electrochem. Commu.**, v.5, n.6, p.449-454, 2003.

MONKS, T.; HANZLIK, P.; COHEN, G. M.; ROSS, D.; GRAHAM, D. G. Quinone chemistry and toxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.112, p.2-16, 1992.

MOODY, C. J.; WHITHAM, G. H. **Reactive Intermediates**, Oxford University Press Inc., New York, 1997.

MOURA, R. R. et al. **Técnicas de Laboratorio**. 3^o ed. Rio de Janeiro: Atheneu, p.263, 1992.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. v.23, Ed Wayne, Pennsylvania, USA, 2003.

NIYAZYMBETOV, M. E.; EVANS, D.H. The utility of carbanions and heteroatom-anions in electroorganic synthesis. **Tetrahedron**, v.49, n.43, p.9627-9687, 1993.

NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; BOLLO, S.; ALVAREZ, A. F.; BLAZQUEZ, M.; SQUELLA, J. A. Nitro radical anion formation from nimodipine. **J. Electroanal. Chem.**, v.345, p.121-133, 1993.

NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; NAVARRETE-ENCINA, P. A.; ORTIZ, M. E.; BOLLO, S.; SQUELLA, J. A. Reactivity of the one-electron reduction product from nifedipine with relevant biological targets. **Chem.-Biol. Interact.**, v.101, n.2, .89-101, 1996.

Danielle Cristhina Melo Ferreira

NUWER, M. J.; O'DEA, J. J.; OSTERYOUNG, J. Totally irreversible electron transfer analytical and kinetic investigations of reactions by square-wave voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v.251, p.13-25, 1991.

OLIVEIRA-BRETT, A. M.; GOULART, M. O. F.; de ABREU, F. C. Reduction of lapachones and their reaction with L-cysteine and mercaptoethanol on glassy carbon electrodes. **Bioelectrochemistry**, n.14, v.1, p.29-34, 2002.

OLIVEIRA, C. G. T.; MIRANDA, F. F.; FERREIRA, V. F.; FREITAS, C. C.; RABELLO, R. F.; CARBALLIDO, J. M.; CORREA, L. C. D. Synthesis and antimicrobial evaluation of 3-hydrazino-naphthoquinones as analogs of lapachol. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.12, n.3, p.339-345, 2001.

PARDEE, A. B.; LI, Y. Z.; LI, C. J. Câncer Therapy with β -lapachone. **Curr. Cancer Drug Targets**, v.2, p.227-242, 2002.

PIKULIK, I. I.; WEBER, R. U.; ZOLLINGER, H. Nucleophilic aromatic substitutions. Investigation of the mechanism of hydroxy-denitration of 4,2 and 2,4-chloronitrobenzenediazonium ions as a function of pH. **Helv. Chim Acta**. v.64, n.6, p.1777-1789, 1981.

REGITZ, M. **Helv. Chim. Acta**. v.97, p.2742-2754, 1997, *apud* BERGMAN, J.; BRIMERT, T. 1999.

RIED, W.; DIETRICH, R. Über die darstellung von ortho-chinondiazidem und para-chinondiazide aus den chinonen. **Chem. Ber.** v.94, n.2, p.387-391, 1961.

SMITH, W. H.; BARD, A. J. Electrochemical reactions of organic compounds in liquid ammonia. II. Nitrobenzene and nitrosobenzene. **J. Amer. Chem. Soc.**, v.97, n.18, p.5203-5210, 1975.

SQUELLA, J. A.; JIMENEZ, G.; BOLLO, S.; NÚÑEZ-VERGARA; L. J. Electroreduction of 4-(nitrophenyl) substituted 1,4-dihydropyridines on the mercury electrode in aprotic medium. **Electrochim. Acta**, v.42, n.15, p.2305-2312, 1997.

STURM, J. C.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; FUENTE, J. DE LA; CASTRO, C.; NAVARRETE-ENCINA, P.; SQUELLA, J. A. Substituent effects on the electrochemistry and photostability of model compounds of calcium channel antagonist drugs. **J. Electrochim. Soc.**, v.148, n.10, p.399-404, 2001.

SÜS, O.; MÖLLER, K.; **Lieb. Ann. Chem.** v.593, p.91-126, 1955, apud BERGMAN, J.; BRIMERT, T. 1999.

TOCHER, J. H. Reductive activation of nitroheterocyclic compounds. **Gen. Pharmac.**, v.28, n.4, p.485-487, 1997.

WILLIAMS, D. A.; LEMKE, T. L. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA. 2002.

WILLIAMS. D. H. & FLEMING, I. **Spectroscopic methods in organic chemistry**. 4^a edition revised. London: McGraw-Hill Book Company, 1989.

ZOLLINGER, H. Reactivity and stability of arenediazonium ions. **Acc. Chem. Res.**, v.6, p.335-341, 1973

VIII. ANEXOS

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS NACIONAIS

FERREIRA, D. C. M., COSTA, C. O., MIRANDA, P. R. B., PEROVANO FILHO, N. ***“Bioaugmentação com microrganismos isolados in situ, em lagoas de tratamento da água de lavagem de cana-de-açúcar”***. XI ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2002, MACEIO, 2002.

COSTA, C. O., FERREIRA, D. C. M., MIRANDA, P. R. B., PEROVANO FILHO, N. ***“Bioaugmentação com microrganismos isolados in situ, em lagoas de tratamento da água de lavagem de cana-de-açúcar”***. Jornada Nacional de Iniciação Científica na 54ª Reunião Anual da SBPC, GOIÂNIA, 2002.

FERREIRA, D. C. M., MIRANDA, P. R. B., COSTA, C. O., PEROVANO FILHO, N. ***“Tratamento anaeróbio facultativo e monitoramento físico-químico de efluente de indústria sucro-alcooleira”***. XI ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2002, MACEIO.

LOPEZ, A. M. Q., FERREIRA, D. C. M. ***“Impactos ambientais da moderna agroindústria sucro-alcooleira: biocorreção da água de lavagem”***. SOCIEDADE BRASILEIRO PARA O PROGRESSO DA CIENCIA - 53º REUNIAO ANUAL - UFBA-SALVADOR, 2001.

PEROVANO FILHO, N., COSTA, C. O., FERREIRA, D. C. M., MIRANDA, P. R. B., LOPEZ, A. M. Q. ***“Isolamento e identificação bioquímica de microrganismo com potencial na biorremediação de água de lavagem de cana”***. XXI ENEQUI, Curitiba, 2002.

PEROVANO FILHO, N., FERREIRA, D. C. M., LOPEZ, A. M. Q. ***“Microrganismos isolados e identificados bioquimicamente, com potencial na correção de água de lavagem de cana de açúcar”***. 54º Reunião Anual da SBPC. Goiânia, 2002.

FERREIRA, D. C. M., CELESTINO, A. L., PIATTI, T. M., GOES, A. M. “SHOW DE QUÍMICA: Uma ferramenta para o ensino de Química”. XI Encontro de Iniciação Científica na Universidade Federal de Alagoas, 2002.

Tânia M. Piatti, Reinaldo A. F. Rodrigues, **Danielle C. M. Ferreira**, Ana Lúcia C. de Oliveira e Natalino P. Filho. **“SHOW DE QUÍMICA: Despertando o interesse pela Química”.** XI ENEQ - Encontro Nacional de Ensino de Química. Universidade Federal Rural de Pernambuco, RECIFE, 2002.

Danielle M. Ferreira, Fabiane C. Abreu, Marília O. F. Goulart. **Estudo eletroquímico de diidropiridinas – Agentes bloqueadores dos canais de cálcio.** XLIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA. Universidade Federal de Ouro Preto. OURO PRETO, 2003.

Danielle M. Ferreira, Cícero de O. Costa, Paulo R. B. Miranda, Fabiane C. Abreu, Marília O. F. Goulart. **“Estudo eletroanalítico do corante índigo carmim e sua interação com o biopolímero quitosana utilizando a voltametria de onda quadrada”.** XLIII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA. Universidade Federal de Ouro Preto. OURO PRETO, 2003.

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS INTERNACIONAIS

ATAIDE, T. R., FERREIRA, D. C. M., PINHEIRO, D. M., SANT'ANA, A. E. G. "***Esterificação do glicerol com ácido caprilico por vias química e enzimática***". II SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE CIENCIA DE ALIMENTOS PROGRESSO E AÇÃO PARA O ANO 2000. CAMPINAS, 1997.

Gicélia S. Nascimento, Fabiane C. de Abreu, **Danielle Cristhina M. Ferreira**, Marília O. F. Goulart, Vitor F. Ferreira. ***Estudo Eletroquímico de hidrazonas derivadas da β -Lapachona em meio aprótico - Compostos biologicamente ativos***. 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ) e XXVI Congresso Latinoamericano de Química (FLAQ). Universidade Federal da Bahia. Salvador. 2004. (Trabalho aceito)

Marília Goulart, **Danielle Ferreira**, Vitor Ferreira, Maria Cecília B. V. de Souza, Antoniana Krettli, Valter Andrade-Neto, Fabiane C. de Abreu. ***Modification at the redox center of β -lapachone: Consequences in terms of electrochemistry and biological activities***. International Society of Electrochemistry – 55th Annual Meeting. Thessaloniki. 2004. (Trabalho aceito)