

COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO E REATIVIDADE FRENTE AO OXIGÊNIO DE DERIVADOS SINTÉTICOS DO α -LAPACHONA

Angélica Larissa Mendonça Alves de Albuquerque Pereira^{1*}, Renan José Gonzaga Cordeiro Pitanga¹, Marília Oliveira Fonseca Goulart², Camila Calado de Vasconcelos³

1. Estudante de IC do Curso de Farmácia do Centro Universitário Cesmac
2. Pesquisadora Doutora da Universidade Federal de Alagoas
3. Pesquisadora Doutora do Centro Universitário Cesmac / Orientadora

Resumo:

Quinonas requerem a biorredução como etapa de ativação. Modificações estruturais são capazes de proporcionar mudanças nas atividades de derivados sintéticos. Este trabalho teve como objetivo investigar o comportamento eletroquímico de dois derivados sintéticos da α -lapachona e avaliar sua interação com oxigênio. Os estudos eletroquímicos foram realizados em meio aprótico utilizando-se um sistema de três eletrodos através da técnica de voltametria cíclica. Os derivados sintéticos da α -lapachona apresentaram características semelhantes ao comportamento de quinonas em meio aprótico. Verificou-se que mudanças de substituinte não afetaram o processo de redução destas quinonas. As formas reduzidas dos compostos 1 e 2 apresentaram reatividade frente ao oxigênio, evidenciada a partir da catálise. Destaca-se a importância da investigação eletroquímica de compostos bioativos no desenvolvimento da química medicinal e como ferramenta para auxiliar no entendimento do mecanismo de ação biológica.

Palavras-chave: Quinonas; Biorredução; Estresse oxidativo.

Apoio financeiro: Programa Semente de Iniciação Científica (PSIC) - Cesmac

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: CESMAC

Introdução:

Estudos envolvendo a transferência de elétrons são úteis para compreensão dos processos vitais que ocorrem no meio biológico, contribuindo para o entendimento e desenvolvimento de diferentes áreas no domínio da biociência (KOVACIC; HALL, 2010). Diversos processos biológicos baseiam-se em reações de oxirredução (HILLARD et al., 2008). A mimetização das diferentes propriedades físico-químicas dos compartimentos celulares requer a realização de estudos eletroquímicos em soluções que imitem a lipofilia (membranas celulares) e a hidrofilia celulares (citoplasma e meio extracelular) (PAIVA et al., 2015). Tais estudos fornecem parâmetros termodinâmicos e cinéticos que têm sido correlacionados com dados de atividade biológica para diferentes classes de compostos, como fenóis, quinonas e nitroaromáticos (DE ABREU et al., 2002).

Diante da importância da ativação redox na Química Medicinal, há forte interesse acerca de estudos envolvendo quinonas, visto que apresentam propriedades redox e estão associados a diversas atividades biológicas. Quinonas representam uma classe de metabólitos secundários de ocorrência natural. Estudos sobre o mecanismo de atuação biológica destacam a importância do grupo quinonóidico como o grupo farmacofórico indispensável para biorreatividade no nível das enzimas redutases, formando espécies reativas de oxigênio que induzem apoptose (BARREIRO; FRAGA, 2001).

Entre as naftoquinonas naturais destacam-se o lapachol e seus análogos β -lapachona e α -lapachona (NETTO-FERREIRA et al., 2008). A literatura descreve que modificações estruturais são capazes de proporcionar mudanças nas bioatividades de compostos derivados da α -lapachona, mostrando-se relevante para o desenvolvimento de novos compostos (BONIFAZI et al., 2010).

Entre as atividades biológicas apresentadas por essa classe, a mais relevante refere-se ao mecanismo de transferência eletrônica-estresse oxidativo (TE-EO), quando as mesmas, após redução em presença de oxigênio induzem a formação deletéria endógena de espécies bioativas derivadas do oxigênio ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , HO^{\cdot}) (SILVA et al., 2003). Portanto, este trabalho teve como objetivo investigar o comportamento eletroquímico dos derivados sintéticos da α -lapachona, bem como avaliar possível interação com oxigênio molecular, a fim de auxiliar no entendimento do mecanismo molecular de ação biológica desses compostos.

Metodologia:

Todos os estudos eletroquímicos foram realizados utilizando-se um sistema de três eletrodos em cela eletroquímica. Os eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, corresponderam, respectivamente, a um eletrodo de carbono vítreo, $Ag|AgCl|Cl^-$ e fio de platina e aplicou-se a técnica de voltametria cíclica (VC). As medidas eletroquímicas foram realizadas através do equipamento PGSTAT (AUT73222) da Autolab® interfaceado a um

microcomputador e o tratamento posterior dos dados foi realizado através do programa Origin 8.0. As análises foram realizadas à temperatura ambiente e previamente desaeradas com gás inerte (Argônio 5.0) durante 5 minutos.

A limpeza do eletrodo de carbono vítreo foi realizada utilizando uma base de polimento com alumina (0,3 μm) e, posteriormente, lavado com água deionizada e imerso em acetona, sendo levado ao ultrassom por 30 s para a remoção de partículas residuais. Para a verificação da área eletroativa do eletrodo, foram realizados testes em solução de $(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6])/(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O})$ 1 mmol L^{-1} em KCl 0,1 mol L^{-1} , através de voltametria cíclica, na faixa de potencial de 0,3 V -0,6 V vs eletrodo de referência Ag/AgCl, Cl^- (0,1 mol L^{-1}) com uma velocidade de varredura de 0,1 V s^{-1} .

Para os estudos em meio aprótico utilizou-se como solvente o N,N-dimetilformamida (DMF) da Acros Organics com 99,8%, extra seco e, como eletrólito suporte, o hexafluorborato de tetrabutilamônio (TBAF_6 0,1 mol L^{-1}). Para o preparo das soluções-trabalho em meio aprótico uma massa equivalente a 1 mmol L^{-1} do composto em análise foi dissolvida em DMF, juntamente com a massa de TBAF_6 .

Para avaliar a reatividade dos derivados sintéticos frente ao oxigênio molecular, quantidades crescentes de oxigênio foram adicionadas na cela eletroquímica contendo solução trabalho em meio aprótico, e o teor de oxigênio dissolvido quantificado através do sensor de oxigênio da Digimed modelo DM-4. Para determinação da constante catalítica (K_{app}) foi utilizada a equação descrita por Bard e Faulkner (1990) e aplicada por De Abreu et al (2007). A partir dos valores das constantes de reatividade com o oxigênio molecular obtidos para os compostos foi possível propor prováveis correlações entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO).

Para a obtenção dos parâmetros eletroquímicos, em meio prótico, através da técnica de voltametria cíclica, utilizou-se como eletrólito suporte um meio aquoso etanólico tamponado, tampão fosfato pH 7,4 para obtenção de 0,1 mmol L^{-1} do composto por simples diluição da solução-estoque, preparadas na concentração de 1 mmol L^{-1} em etanol puro absoluto. O percentual de etanol variou de 10 a 40% v/v, definido em função da solubilidade das amostras testadas. A solução de tampão fosfato pH 7,4 foi preparada em água ultrapura a partir de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore Inc. Para a medição do pH da solução tamponada utilizou-se o pHmetro da Quimis.

Resultados e Discussão:

Os estudos voltamétricos dos compostos 1 e 2 em meio aprótico (DMF/ TBAF_6 0,1 mol L^{-1}) apresentaram, de maneira geral, um comportamento eletroquímico típico de quinonas, visto que se observou a presença de duas ondas catódicas (Ic e IIc, respectivamente) com características reversíveis definidas pela presença de suas respectivas ondas anódicas (Figura 1). No primeiro processo eletródico há formação da semiquinona ($\text{Q}^{\cdot-}$) por redução envolvendo um elétron e, em seguida, no segundo processo há formação do diânion, por adição de mais um elétron. O segundo processo redutivo mostrou-se menos reversível, com perfil mais alargado e com uma intensidade de corrente de pico catódico (IIc) correspondente à metade da intensidade de corrente da primeira onda de redução (Ic).

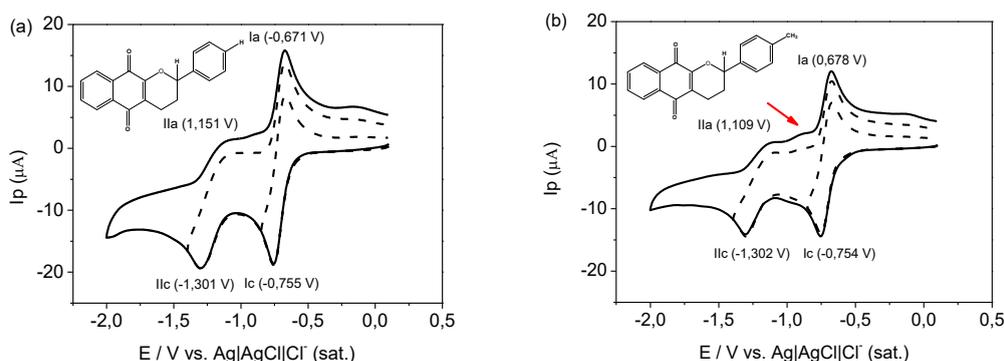


Figura 1. Voltamogramas cíclicos do composto 1 (a) e 2 (b) em meio aprótico. [Composto] = 1,0 mmol L^{-1} em DMF/ TBAF_6 (0,1 mol L^{-1}); eletrodo de CV; $\nu = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

De acordo com o perfil voltamétrico apresentado nas figuras 1b, é possível verificar a presença de ombros catódicos e anódicos (indicado pela seta) entre o primeiro e segundo pico catódico e seus respectivos anódicos. Estas ondas de baixa intensidade de corrente são indicativas de reações de desproporcionamento, que são reações catalisadas por água residual, a partir do ânion radical ou diânion formado. Este resultado aponta que apesar do perfil voltamétrico entre o composto 1 e 2 apresentarem semelhanças, a presença de ombros anódicos e catódicos no voltamograma cíclico do composto 2 indica maior instabilidade radicalar e pode lhe conferir maior reatividade.

Os estudos de velocidade de varredura realizados para os compostos 1 (Figura 2a) e 2 (Figura 2b) demonstraram que a intensidade de corrente obtida para o primeiro pico catódico (I_{pc1}) aumenta proporcionalmente à velocidade de varredura. Foi possível verificar também que os valores de intensidade de corrente em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para a primeira onda catódica evidenciou que o transporte de massa através da solução, o qual rege a chegada da substância à superfície do eletrodo, é de

natureza difusional. A análise do potencial de redução da primeira onda em função do \log da velocidade de varredura demonstrou a presença do efeito de queda ôhmica, caracterizado pelo deslocamento do potencial de redução para potenciais mais negativos em função de altas velocidades de varredura.

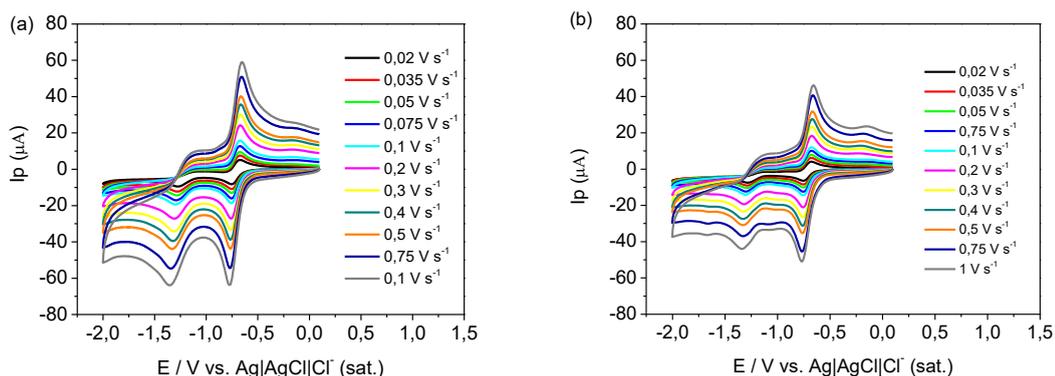
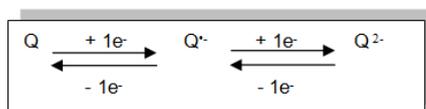
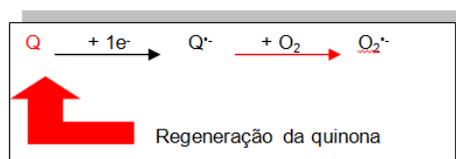


Figura 2. Voltamogramas cíclicos do composto 1 (a) e 2 (b) em função da velocidade de varredura; [Composto] = 1,0 mmol L⁻¹ em DMF/TBABF₆ (0,1 mol L⁻¹); eletrodo de CV.

A partir dos dados eletroquímicos obtidos, é possível relacionar o mecanismo redox dos compostos 1 e 2 ao esquema mostrado a seguir:



As quinonas podem ser citotóxicas, com consequências benéficas ou deletérias, por inúmeros mecanismos, incluindo ciclagem redox. As formas reduzidas dos compostos 1 e 2, apresentaram reatividade frente ao oxigênio molecular, evidenciada a partir da catálise (aumento da corrente de pico catódica e redução do pico anódico) observada nos experimentos de voltametria cíclica em meio aprótico na presença de oxigênio (Figura 3) e no esquema a seguir:



O estudo de reatividade com o oxigênio proporcionou a obtenção da constante aparente equivalente a 0,501 s⁻¹ para o composto 1 e 0,550 s⁻¹ para o composto 2. Foi possível também verificar o deslocamento de potencial catódico para valores mais negativos em função do aumento da concentração de oxigênio.

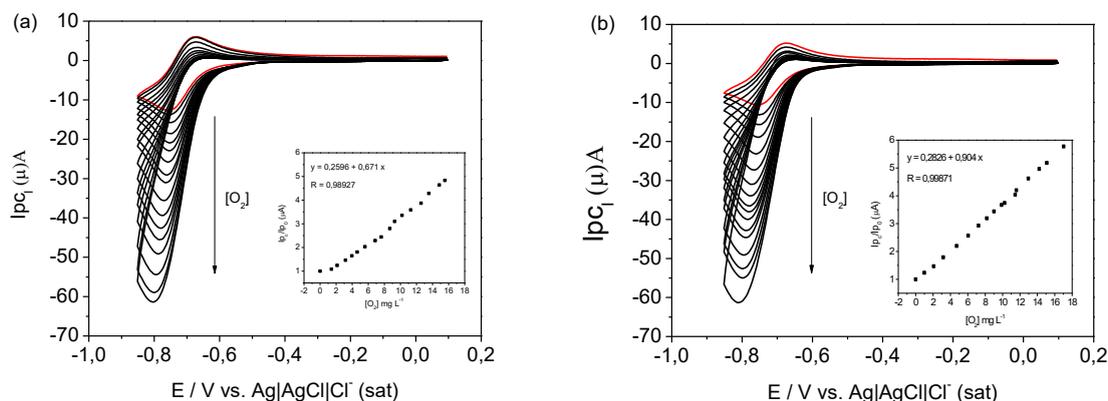


Figura 3. (a) Voltamogramas cíclicos do composto 1 (a) e 2 (b) na presença de oxigênio. Insert: I_{pO}/I_{p0} vs. $[\text{O}_2]$; [Composto] = 1 mmol L⁻¹; DMF/TBABF₆ 0,1 mol L⁻¹; eletrodo de CV; $v = 0,50 \text{ V s}^{-1}$.

As análises eletroquímicas dos compostos 1 e 2 em meio prótico não puderam ser realizadas, pois ocorreu precipitação dos mesmos em solução tamponada etanólica. Apesar de variar o percentual de etanol na faixa de 10 a 40% (v/v), as soluções apresentaram-se turvas, como mostrado na Figura 4, indicando que os compostos avaliados apresentaram alto potencial hidrofóbico.



Figura 4. Imagem do composto 1 precipitado em meio aquoso etanólico 40% v/v.

Conclusões:

Os derivados sintéticos da α -lapachona, compostos 1 e 2, apresentaram características semelhantes ao comportamento de quinonas em meio aprótico. Observou-se também que mudanças de substituinte não afetaram, de um modo geral, o processo de redução destas quinonas, já que o perfil voltamétrico obtido mostrou-se semelhante para ambos os compostos, assim como os valores de potenciais redox foram aproximados.

Além disso, os compostos demonstraram reatividade frente ao oxigênio molecular, sugerindo que suas atividades farmacológicas, incluindo que sua citotoxicidade, pode estar relacionada à formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Neste sentido, destaca-se a importância da investigação eletroquímica de compostos biologicamente ativos no desenvolvimento da química medicinal e como ferramenta para auxiliar no entendimento do mecanismo molecular de ação biológica.

Referências bibliográficas

- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, Wiley, New York, 1990.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. F. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.
- BONIFAZI, E. L. et al. Antiprolifere activity of synthetic naphtoquinones related tolapachol. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 828 – 830, 2010.
- DE ABREU, F. C. et al. Some applications of electrochemistry in biomedical chemistry. Emphasis on the correlation of electrochemical and bioactive properties. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, n. 1, v. 13, p. 19 – 35, 2002.
- HILLARD, E. A. et al. Electrochemical parameters and techniques in drug development. Emphasis on quinones and related compounds. **Chem. Comm.**, v. 21, n. 23. p. 2612 – 2628, 2008.
- KOVACIC, P.; HALL, M. E. Bioelectrochemistry, reactive oxygen species, receptors, and cell signaling: how interrelated? **Journal of receptor and signal transduction research**, v. 30, p. 1 – 9, 2010.
- NETTO-FERREIRA, J. C. et al. Characterization, reactivity and photosensitizing properties of the triplex excited state of α -lapachone. **Physical Chemistry**, v. 10, p. 6645 – 6652, 2008.
- PAIVA, Y. G. et al. Electrochemically Driven Supramolecular Interaction of Quinones and Ferrocifens : An Example of Redox Activation of Bioactive Compounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 2, p.136 – 362, 2015.
- SILVA, M. N. et al. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -Lapachona e derivados. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 407 – 416, 2003.
- SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre: Ed. Da UFSC, 2002.