UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NÚSIA LUÍSA BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E ESTUDOS MECÂNICO-QUÂNTICOS PARA OBTENÇÃO DE PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DE PARABENOS

Goiânia

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NÚSIA LUÍSA BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E ESTUDOS MECÂNICO-QUÂNTICOS PARA OBTENÇÃO DE PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DE PARABENOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr.Eric de Souza Gil

Goiânia

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG

B238c

Barbosa, Núsia Luísa.
Caracterização eletroquímica e estudos mecânico-quânticos para obtenção de propriedades eletrônicas de parabenos [manuscrito] / Núsia Luísa Barbosa. – 2011.
70 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Eric de Souza Gil.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, 2011.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras.

1. Parabenos. 2. Voltametria cíclica. 3. Modelagem molecular. 4. Comportamento redox. 5. Padrão de substituintes. I. Título.

CDU:544.6:615.3

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás, em vinte oito de fevereiro de dois mil e onze, pela mestranda Núsia Luísa Barbosa.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eric de Souza Gil (FF/UFG)

Prof. Dr. Aparecido Ribeiro de Souza (IQ/UFG)

Prof. Dr. Valdir de Souza Ferreira (UFMS)

À minha família.
Porque família é tudo!

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Análise Farmacêutica e Ambiental (LAFAm) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás sob a orientação do Prof. Dr. Eric de Souza Gil, a quem expresso gratidão pela importante participação no desenvolvimento desta pesquisa.

À Profa. Dra. Carolina Horta Andrade, coordenadora do Laboratório de Planejamento de Fármacos e Estudos Farmacocinéticos via Modelagem Molecular (LabMoL) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás pela disponibilidade e pela valiosa colaboração na execução deste trabalho.

Aos Profs. Dr. Aparecido Ribeiro de Souza (IQ/UFG) e Dr. Valdir de Souza Ferreira (UFMS) pelo conhecimento transmitido.

Aos Profs. Dr. Edemilson Cardoso da Conceição e Dra. Maria Teresa de Freitas Bara pelo incentivo.

À Equipe da Farmácia Escola da Faculdade de Farmácia da UFG pelo apoio e amizade.

À amiga, secretária do Programa de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFG, Fernanda Bellato pela gentileza e dedicação.

À amiga Darlene Gonçalves pelo companheirismo.

À minha família pelo apoio, carinho e incentivo.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás – FAPEG pela bolsa de formação.

À Universidade Federal de Goiás pela licença concedida.

E, sobretudo, agradeço a Deus por mais esta Graça alcançada.

“Jamais considere o estudo das ciências como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”

Albert Einstein

RESUMO

Os parabenos são conservantes antimicrobianos amplamente utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. A cadeia alquílica, ligada ao grupo éster, define algumas características físico-químicas destes compostos, incluindo coeficiente de partição e propriedades redox. A voltametria e a análise computacional foram realizadas a fim de avaliar o comportamento redox desses compostos fenólicos e de outros análogos. Correlações entre as alterações de potenciais e os efeitos indutivos dos substituintes químicos dos parabenos foi observada. Usando voltametria cíclica e eletrodo de trabalho de carbono vítreo, em meio aquoso, apenas um único e irreversível pico anódico foi observado em torno de 0,8 V para metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP), butilparabeno (BP), benzilparabeno (BzP) e análogos fenólicos. O efeito indutivo positivo de grupos alquila foi demonstrado pela mudança do potencial de oxidação para valores mais baixos conforme o aumento do número de carbonos e, portanto, o processo de oxidação dos parabenos (e outros análogos fenólicos) às formas quinonínicas mostrou grande dependência do padrão de substituição. Foi também avaliada a influência do pH e da composição do eletrólito suporte no perfil voltamétrico dos parabenos.

Palavras-chave: Parabenos. Voltametria cíclica. Modelagem molecular. Comportamento redox. Padrão de substituintes.

ABSTRACT

Parabens are antimicrobial preservatives widely used in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. The alkyl side chain connected to the ester group defines some important physicochemical characteristics of these compounds, including the partitioning coefficient and redox properties. The voltammetry and computational analysis were carried out in order to evaluate the redox behavior of these compounds and other phenolic analogues. Correlations between chemical substituents inductive effects of parabens with potential shifts were observed. Using cyclic voltammetry and glassy carbon working electrode, in aqueous, only one single irreversible anodic peak was observed around 0.8 V for methylparaben (MP), etylparaben (EP), propylparaben (PP), butylparaben (BP), benzylparaben (BzP) and phenolic analogues. The positive inductive effect of alkyl groups was demonstrated by the anodic oxidation potential shift to lower values as the carbon number increases and, therefore the parabens (and other phenolic analogues) oxidation processes to the quinoninic forms showed great dependence of substituent pattern. It was further evaluated the influence of pH and composition of supporting electrolyte in voltammetric profile of parabens.

Keywords: Parabens. Cyclic voltammetry. Molecular modeling. Redox behavior. Substituent pattern.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas químicas do ácido *p*-hidroxibenzóico e de seus derivados ésteres: Metilparabeno (R=CH_3), Etilparabeno (R=C_2H_5), Propilparabeno (R=C_3H_7), Butilparabeno (R=C_4H_9), Benzilparabeno (R= $CH_2C_6H_5$) 15

Figura 2. Resumo dos métodos eletroanalíticos mais comuns. Adaptado de Skoog, Holler e Crouch, (2009) 23

Figura 3. Representação esquemática de uma célula eletroquímica constituída por três eletrodos.....24

Figura 4. Dupla camada elétrica formada na interface eletrodo/solução após a aplicação de um potencial. Adaptado de Skoog, Holler e Crouch, (2009).....26

Figura 5. Tipos de voltametria e formas de ondas do sinal de excitação.....28

Figura 6. Voltamograma cíclico para um sistema reversível indicando os parâmetros típicos. Fonte: Brett e Brett, (1996) 29

Figura 7. Etapas da reação $O + ne^- \rightleftharpoons R$ (ou $Ox + ne^- \rightleftharpoons Red$) em um eletrodo.In Skoog, Holler e Crouch, (2009).Adaptado de Bard and Faulkner, Electrochemical Methods, (2001) 29

Figura 8. Efeito do aumento da irreversibilidade na forma de voltamogramas cíclicos. Fonte: Brett e Brett, (1996) 30

Figura 9. Estruturas químicas dos parabenos (metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno e benzilparabeno) 34

Figura 10. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} (pH 7,0), contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} mostrando efeito adsortivo sobre eletrodo de carbono vítreo. E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.....41

Figura 11. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0), contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} mostrando o emprego de duas técnicas de regeneração da superfície eletródica, polimento e banho ultra-sônico por 5 minutos. E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.....42

Figura 12. Voltamogramas cíclicos do MP, PB e BP a 0,25 mmol L^{-1}. Obtido em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0). E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100mVs^{-1} 43

Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de platina e tampão fosfato 0,1mol.L^{-1} (pH 7,0), contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} e sucessivas adições de MP. E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1} 44

Figura 14. Oxidação de compostos fenólicos.....45

Figura 15. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} (pH 7,0),contendo diferentes derivados éster do ácido *p*-hidróxibenzóico (parabenos) a 0,25 mmol L^{-1}. E_i = 0,5 V; E_λ = 1.1 V; E_f = 0,5 V e ν = 100 mVs^{-1}.....46

Figura 16. Correlação entre número de carbonos de substituintes alifáticos ligados a grupo éster e potenciais anódicos observados para: metilparabeno (MP); etilparabeno (EP); propilparabeno (PP) e butilparabeno (BP).....47

Figura 17. Efeitos de vários grupos sobre o anel de benzeno em relação à reatividade e orientação. Fonte: Sarker e Nahar, (2009).....48

Figura 18. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} (pH 7,0), contendo MP, *p*-cresol, *p*-nitrofenol e *p*-clorofenol a 0,25 mmol L^{-1} . E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1} 49

Figura 19. Efeitos eletrônicos dos diferentes substituintes fenólicos.....49

Figura 20. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH: 3,0 (—), 4,0 (—), 5,0 (—), 6,0 (—), 7,0 (—) e 8,0 (—); contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} . E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.....51

Figuras 21. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo contendo MP a 0,25 mmolL^{-1} em diferentes eletrólitos suporte a 0,1 molL^{-1} (pH 7,0). Ânions: sulfato, fosfato, cloreto, nitrato, acetato. E_i = - 0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = - 0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.....53

Figuras 22. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo contendo MP a 0,25 mmolL^{-1} em diferentes eletrólitos suporte a 0,1 molL^{-1} (pH 7,0). Cátions: lítio, sódio, potássio, amônio. E_i = - 0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = - 0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.....53

Figura 23. Correlação entre os potenciais de oxidação e a diferença entre as energias de HOMO e LUMO (ΔE) dos parabenos 56

Figura 24. Transferência de elétron em eletrodo metálico. O potencial aplicado ao eletrodo altera o nível de energia eletrônica mais elevado, E_F, facilitando a redução (a) ou a oxidação (b). Fonte: Brett e Brett, (1996) 57

Figura 25. Representações de processo de redução (a) e processo de oxidação (b) de espécies eletroativas. Os orbitais moleculares (OM) da espécie A mostrados são o orbital molecular ocupado de maior energia e o orbital molecular desocupado de menor energia. Adaptado de Bard e Faulkner, 2001 58

Figura 26. Mapa de potencial eletrostático para MP, BP e BzP em suas formas neutras (a) e radicais (b). O código de cores está na faixa de - 55,0 (vermelho intenso) + 100,0 (azul intenso) kcal / mol.....59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

1.1 Parabenos 14

1.2 Análise de parabenos 17

1.3 Justificativa 19

1.4 Contextualizando a eletroquímica 20

1.4.1 Métodos eletroquímicos 20

1.4.1.1 O eletrólito suporte em sistemas eletroquímicos 22

1.4.1.2 Tipos de métodos eletroanalíticos 23

1.5 Voltametria 23

1.5.1 Voltametria cíclica 27

1.6 Modelagem molecular 30

2 OBJETIVOS 34

2.1 Objetivos gerais 34

2.2 Objetivos específicos 35

3 MATERIAIS E MÉTODOS 36

3.1 Reagentes 36

3.2 Materiais 36

3.3 Metodologia 38

3.3.1 Preparo das amostras e eletrólitos suporte 38

3.3.2 Pré-tratamento da superfície do eletrodo 38

3.3.3 Procedimento para as medidas voltamétricas 38

3.3.4 Caracterização eletroquímica 39

3.3.5 Estudo da influência do eletrólito suporte 39

3.3.6 Estudo da influência do pH 39

3.3.7 Análise computacional 40

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 41

4.1 Influência do material eletródico 41

4.1.1 Efeito de eletropassivação 41

4.1.2 Comportamento dos eletrodos 43

4.2 Efeito dos substituintes 45

4.3 Efeito da influência do pH 50

4.4 Efeito do eletrólito suporte 52

4.5 Modelagem molecular 54

4.5.1 Análise dos orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO 54

4.5.2 Orientação da densidade eletrônica 58

5 CONCLUSÕES 61

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 62

1 INTRODUÇÃO

Conservantes são substâncias adicionadas a produtos de higiene pessoal, cosméticos, perfumes, saneantes, medicamentos e alimentos com a finalidade primária de preservá-los de danos e/ou deteriorações causadas por microorganismos durante sua fabricação e estocagem, bem como proteger o consumidor de contaminação inadvertida durante o uso do produto (KANG; KIM,1997; BRASIL,RDCnº162/2001; KOROTKOVA et al.,2005). A escolha do conservante deve ser realizada de maneira bastante criteriosa e para tal suas características físico-químicas, potencial antimicrobiano, risco toxicológico e interação com o produto ou embalagens devem ser considerados. Normas para o uso dos conservantes são estabelecidas pelos órgãos reguladores indicando a máxima concentração, limitações, condições de uso e advertências para esta classe de substâncias (BRASIL, RDCnº162/2001). Um produto livre de microorganismos que possam causar danos à saúde constitui uma exigência crescente por parte dos consumidores e também dos órgãos responsáveis pela vigilância sanitária do país. Embora existam controvérsias quanto à toxicidade de alguns conservantes, vários são aprovados e aplicados em uma infinidade de produtos. Dentre eles os parabenos, objeto deste estudo.

1.1 Parabenos

Os parabenos são uma classe de conservantes assim denominada por serem derivados da esterificação do ácido *p*-hidroxibenzóico (KOROTKOVA et al.,2005; MINCEA et al.,2009). Esta esterificação inclui os grupamentos metila, etila, propila, butila e benzila resultando em uma série homóloga de antimicrobianos de amplo espectro (Figura 1).

Figura 1. Estruturas químicas do ácido *p*-hidroxibenzóico e de seus derivados ésteres: Metilparabeno ($R=CH_3$), Etilparabeno ($R=C_2H_5$), Propilparabeno ($R=C_3H_7$), Butilparabeno ($R=C_4H_9$), Benzilparabeno ($R= CH_2C_6H_5$).

Por mais de 50 anos os parabenos têm sido intensamente utilizados como conservantes em produtos cosméticos, farmacêuticos e alimentícios devido à sua ampla atividade antimicrobiana (SHAW; CATANZARO, 2009; MACRENE, 2008; HANDA et al.,2006). Possuem baixo peso molecular e elevada lipofilicidade. A solubilidade dos parabenos em água diminui proporcionalmente ao aumento da cadeia lateral e consequentemente a sua lipofilicidade aumenta na mesma proporção (BORREMAN et al.,2004; VRIES; CAIRA, 2008; MINCEA et al.,2009; SONI; CARABIN; BURDOCK, 2005). Além de propriedades bactericida e fungicida (ERIKSSON; ANDERSEN; LEDIN, 2008), estes compostos possuem várias características que tornam seu uso bastante popular; estas incluem a sua excelente estabilidade química em relação ao pH (efetivo em pH entre 4,5 e 7,5) e temperatura, bem como o baixo custo (CAON et al., 2010; VRIES; CAIRA,2008; SONI et al., 2002). E ainda, uma atividade antioxidante que aliada à forte propriedade antimicrobiana conferem aos produtos segurança e estabilidade (KOROTKOVA et al.,2005; RADOVAN et al.,2008).

Alguns estudos demonstram que as propriedades dos parabenos variam em função do comprimento da cadeia, isto é, o número crescente de carbonos do grupo éster confere uma atividade antimicrobiana maior (BORREMAN et al.,2004; VRIES; CAIRA,2008; MINCEA et al.,2009; SONI; CARABIN; BURDOCK,2005). Desta forma, os componentes desta classe de conservantes diferem-se entre si quanto as atividades antimicrobianas. De modo que uma eficácia maior é geralmente alcançada quando se tem uma associação de parabenos (MINCEA et al.,2009; RADOVAN et al.,2008). Metilparabeno e propilparabeno são frequentemente utilizados em associações devido aos efeitos sinérgicos observados aliados às

propriedades físico-químicas, ou seja, solubilidade em meio aquoso e oleoso (BORREMAN et al.,2004; SONI; CARABIN; BURDOCK,.2005).

Os parabenos são considerados por diversos autores substâncias de grande confiabilidade, ou seja, relativamente não irritantes, e de baixa toxicidade (MSAGATI et al., 2008; SONI et al.,2002; KOROTKOVA et al.,2005; JI et al.,2004) visto que , após a administração, são rapidamente absorvidos e excretados, ocasionando um baixo acúmulo no organismo, (KOROTKOVA et al.,2005; OKAMOTO et al.,2008). Entretanto, alguns estudos demonstram que os parabenos possuem propriedades estrogênicas em modelos animais e sugerem que tais substâncias possam estar relacionadas a processos carcinogênicos, ou seja, a exposição contínua a estes compostos, especialmente em cosméticos destinados à aplicação nas regiões das axilas, de acordo com alguns autores, pode estar ligada ao câncer de mama (BORREMAN et al.,2004; DARBRE et al.,2004; DARBRE; HARVEY, 2008).

Devido à controvérsia existente em relação à segurança dos parabenos, o "Scientific Committee on Consumer Products of European Commission" (SCCP) e o "U.S. Food and Drug Administration" (FDA), reabriram a avaliação sobre a segurança no uso destes produtos e os consideraram seguros. De acordo com a SCCP, a estrogenicidade inerente aos parabenos aumenta à medida que se aumenta o comprimento da cadeia lateral. No entanto, o potencial estrogênico dos parabenos é muito baixo, ficando na ordem de 1000 a 1.000.000 de vezes abaixo da potência do 17β-estradiol (hormônio sexual, presente predominantemente no sexo feminino) (SCCP, 2005). Desta forma, segundo os órgãos reguladores, não há evidência de risco à saúde com o uso destes conservantes (FDA, 2007), especialmente quando se trata de metilparabeno e etilparabeno (SCCP, 2008). Em 2010, o SCCP concluiu a análise da segurança dos parabenos mantendo-se em concordância com a avaliação das indústrias sobre a segurança do metilparabeno e etilparabeno, porém na ausência de novos dados, o órgão propôs a redução dos níveis máximos permitidos atualmente para o propilparabeno e butilparabeno. As concentrações máximas recomendadas pelo SCCP são: 0,4% para metilparabeno, 0,4% para etilparabeno e 0,19% para propilparabeno e butilparabeno individualmente ou em associações (COLIPA,2010).

A aceitação regulamentar a nível mundial faz com que os parabenos estejam entre os conservantes mais utilizados na atualidade (COWAN-ELLSBERRY; ROBISON, 2009; AMIN et al.2010). Shaw e Catanzaro (2009) relataram que a exposição humana

aos parabenos é generalizada e ocorre a uma média estimada de 76 mg / dia, sendo que a maior parte da exposição se dá através da utilização de produtos cosméticos e de higiene pessoal.

1.2 Análise de parabenos

Diversos métodos analíticos relacionados à determinação qualitativa e quantitativa dos parabenos são encontrados na literatura. Emprega-se, em geral, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (ALI; GHORI; KHETRI, 2006; ATEMNKENG; MARCHAND; PLAIZIER-VERCAMMEN, 2007; KOLLMORGEN; KRAUT, 1988) acoplada a diferentes sistemas de detecção e ainda a Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE) (MINCEA et al.2009), a Cromatografia Gasosa (REGUEIRO et al.2009), a Cromatografia Eletrocinética (BAALBAKI; BLANCHIN; FABRE, 2002; HAMOUDOVÁ et al.2006; MAHUZIER; ALTRIA; CLARK, 2001) e a Eletroforese Capilar (BLANCO et al.2009; CAON et al.2010).

Um método de CLAE foi desenvolvido e validado por Kollmorgen e Kraut, (1988), para a determinação simultânea dos conservantes metilparabeno e propilparabeno e do ativo cloridrato de clorpromazina em uma formulação farmacêutica oral líquida.

Metilparabeno, propilparabeno e domperidona foram determinados simultaneamente em procedimentos realizados por Ali, Ghori e Khetri (2006), em suspensão oral através de CLAE. O método foi validado e mostrou-se adequado para testes de estabilidade, homogeneidade e controle de qualidade desses compostos em formulações farmacêuticas.

A quantificação de metil e propilparabenos foi realizada por Atemnkeng, Marchand e Plaizier-Vercammen, (2007), utilizando CLAE com detecção em UV. Amostras de suspensão contendo os analitos juntamente com o antimalárico Artemisinina foram analisadas e o método foi validado em termos de especificidade, linearidade, precisão e exatidão.

Em outro trabalho, Mincea et al.(2009), explorando o método de CLUE acoplado a um sistema de detecção matriz de fotodiodos. Demonstraram a eficácia do método para a detecção de metilparabeno em amostras de produtos cosméticos.

Regueiro et al.(2009), utilizando a microextração em fase sólida (SPME) combinada com cromatografia gasosa e espectrometria de massa (GC-MS/MS)

desenvolveram um método para análise de parabenos, triclosan e outros clorofenóis afins em águas. Os autores demonstraram a aplicabilidade do método proposto em várias amostras reais, incluindo águas de rios, águas residuais e águas de piscinas.

O método de cromatografia eletrocinética em microemulsão (MEEKC) foi aplicado por Mahuzier, Altria e Clark (2001) para a determinação de parabenos e seus produtos de degradação. A determinação do teor de parabenos em formulações líquidas farmacêuticas foi compatível com análises em CLAE. O método foi validado para análise e detecção de metil, etil, propil e butilparabenos e suas impurezas.

Hamoudová et al.(2006), desenvolveram um método de cromatografia eletrocinética micelar (MECK) para a determinação do clotrimazol, metil e propilparabenos em preparações farmacêuticas semi-sólidas. Os resultados obtidos foram precisos e o método foi validado.

Imidazolidinil uréia, metil e propilparabenos foram detectados em amostras de pomada farmacêutica por Baalbaki, Blanchin e Fabre (2002), utilizando o método de MECK. O método foi validado em relação à especificidade, linearidade, precisão e repetibilidade.

Os parabenos metil, etil, propil, butil e benzil e o ácido *p*-hidroxibenzóico foram detectados através de metodologia desenvolvida por Blanco et al.(2009) a partir de amostras de água ambiental. A análise foi realizada por eletroforese capilar não-aquosa (NACE), acoplado a um sistema de detecção por arranjo de diodos.

Em outro trabalho desenvolvido e validado por Caon et al.(2010), foi avaliada a influência do peso molecular sobre a lipossolubilidade de parabenos. Os autores estudaram a permeação de moléculas de metil, etil, propil e butilparabenos na pele de orelha de porco usando um sistema de difusão de célula de Franz e detecção com eletroforese capilar equipado com detector de diodos.

Conforme já citado, vários métodos analíticos relacionados à determinação qualitativa e quantitativa dos parabenos são encontrados na literatura. No entanto, há relativamente poucos trabalhos de caráter eletroquímico relacionados aos estudos dos parabenos. Kang e Kim (1997) relataram o uso de CLAE/ECD (detector eletroquímico) para a determinação simultânea de metilparabeno, propilparabeno e timerosal em amostras de creme, pomada e soluções oftálmicas. As propriedades eletroquímicas dos analitos foram investigadas em um eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo de referência Ag/AgCl através de voltametria cíclica. Sendo este, segundo os autores, um método de alta sensibilidade que se mostrou

apropriado para a determinação simultânea destas substâncias em produtos farmacêuticos.

Korotkova et al.(2005) realizaram o estudo das propriedades antioxidantes dos parabenos por voltametria de pulso diferencial através da avaliação da redução eletroquímica do oxigênio. Parâmetros cinéticos de interação entre espécies de oxigênio reativo foram avaliados para demonstrar a importância desse mecanismo na compreensão do processo bioquímico. Foram também avaliados neste trabalho parâmetros de lipossolubilidade de parabenos através de CLAE.

O comportamento eletroquímico do metil, etil e propilparabenos foi investigado por Radovan et al.(2008), em soluções hidroalcoólicas e aquosa, através de voltametria cíclica e cronoamperometria utilizando como sensor um eletrodo de diamante dopado com boro, considerado pelos autores, um material eletródico de uso inédito para a detecção e caracterização destes conservantes. De acordo com os autores, o método apresentou boa linearidade e alta sensibilidade sendo considerado útil para aplicações analíticas.

Wang et al. (2010), em um trabalho inovador, aplicando voltametria de onda quadrada utilizando um sensor eletroquímico com base em polímeros com impressão molecular (PMI) na superfície de um eletrodo de carbono vítreo, desenvolveram uma metodologia para a detecção do conteúdo total de parabenos em amostras reais de cosméticos. A alta seletividade do sensor PMI resultou em uma análise com recuperação entre 98,7% e 101,8%.

1.3 Justificativa

Trabalhos recentes referem-se aos parabenos como desreguladores endócrinos e poluentes emergentes (BELTRAN et al.2010), fato que tornam essas moléculas interessantes objetos de investigação. Devido ao amplo uso desta classe de conservantes, justificam-se estudos eletroanalíticos tanto para a detecção e quantificação, quanto para a caracterização eletroquímica dos mesmos. Neste âmbito, este trabalho visou à caracterização eletroquímica de conservantes da classe dos parabenos. Para a complementação deste estudo utilizou-se a modelagem molecular como ferramenta para se estimar, com maior precisão, correlações entre comportamento eletroquímico, estruturas e propriedades

moleculares. E desta forma, com os resultados obtidos neste trabalho, colaborar com o desenvolvimento de técnicas analíticas alternativas para o controle de qualidade.

1.4 Contextualizando a eletroquímica

Os estudos em eletroquímica iniciaram-se em 1786, com Galvani, através de experimentos em que se aplicava uma diferença de potencial elétrico em uma perna de rã e se observava um movimento na mesma. Fenômeno mais tarde explicado por Volta como sendo a possibilidade da passagem da eletricidade através do tecido muscular. Fato que permitiu o reconhecimento de um novo condutor, denominado condutor eletrolítico. Porém, a maior contribuição de Volta para a ciência eletroquímica, aconteceu em 1796 com a descoberta da pilha voltaica. Nos anos que se seguiram à construção da primeira pilha, a eletroquímica experimental desenvolveu-se vigorosamente. Nicholson e Carlisle em 1800 descobriram a eletrólise da água envolvendo a liberação de hidrogênio e oxigênio e logo depois, em 1805, Grotthuss propôs o mecanismo de salto protônico para a condução de eletricidade em soluções ácidas. Até que em 1835, surgiram as leis de Faraday, que têm como enunciado genérico: “A passagem de uma corrente elétrica de um condutor metálico para um condutor eletrolítico, ou vice-versa, é sempre acompanhada por uma reação eletroquímica”. Válidas até os dias de hoje, as leis de Faraday constituíram os fundamentos da eletroquímica e do eletromagnetismo. Neste contexto vale ressaltar que desde o impulso fornecido pela pilha voltaica até os dias atuais tem se observado um vertiginoso crescimento na área da eletroquímica, tanto em magnitude quanto em diversificação (ALMEIDA et al.,1999; TICIANELLI; GONZALEZ, 2005).

1.4.1 Métodos eletroquímicos

O aperfeiçoamento tecnológico aplicado aos estudos eletroquímicos possibilitou o desenvolvimento de diversos tipos de métodos eletroanalíticos, que são um conjunto de métodos quantitativos e qualitativos de análise baseados nas propriedades elétricas de solução do analito, quando esta faz parte de uma célula eletroquímica (MAZO et al., 2003; SERRANO; MACHADO; GIL, 2007; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). As células eletroquímicas compreendem um sistema composto por dois ou três condutores eletrônicos conectados a um equipamento de medida. Estes condutores, denominados eletrodos, podem estar imersos em uma mesma solução eletrolítica, ou em soluções dispostas em recipientes diferentes. Havendo, no segundo caso, uma conexão entre as mesmas através de um tubo, preenchido por uma solução de KCl ou outro eletrólito, de modo a permitir o fluxo iônico no sistema (SERRANO; MACHADO; GIL, 2007).

Quando uma corrente elétrica circula no interior de uma célula eletroquímica leva a um desequilíbrio no sistema que pode ser, de forma simplificada, caracterizado por: (i) condução eletrônica representada pelo movimento de elétrons nos eletrodos, (ii) condução iônica representada pela movimentação de íons na solução eletrolítica e finalmente (iii) a condução eletrônica/iônica em decorrência do processo de oxidação ou redução ocorrido na interface eletrodo/solução. Desta forma, pode-se dizer que os eletrodos e o eletrólito suporte são os componentes básicos onde ocorrem os fenômenos eletroquímicos (SERRANO; MACHADO; GIL, 2007; TICIANELLI; GONZALEZ, 2005).

Os métodos eletroquímicos são vantajosos por serem técnicas que apresentam simplicidade na execução, boa sensibilidade e seletividade, visto que, a medida eletroquímica é altamente específica para um potencial oxidativo de um elemento (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Além de possibilitarem a detecção diretamente na amostra sem separações prévias e apresentarem um baixo custo das análises em comparação com outros métodos analíticos (MAZO et al., 2003; SERRANO; MACHADO; GIL, 2007). Estas técnicas são de rápida execução e se mostram ainda mais seletivas e específicas quando comparadas à espectrofotometria e à CLAE (NOROUZI; GANJALI; DANESHGAR, 2006; ABBAS; MOSTAFÁ, 2002). A eletroanálise tem sido aplicada não apenas para a detecção (RIAD; RIZK, 2008; HASSAN et al. 2003) como também para a determinação

quantitativa de substâncias (RAGGI; BUGAMELLI; PUCCI, 2002; ABBAS; MOSTAFÁ, 2002).

1.4.1.1 O eletrólito suporte em sistemas eletroquímicos

O eletrólito suporte ou solução eletrolítica é uma solução contendo uma quantidade de íons cerca de 10 a 100 vezes maior que a concentração da espécie eletroativa em interesse na célula eletroquímica. O eletrólito suporte pode ser preparado a partir de um sal inorgânico ou orgânico, um ácido ou uma base ou uma solução tampão, e a concentração do eletrólito varia normalmente entre 0,01M e 1,0M. O eletrólito suporte deve apresentar como características básicas uma alta solubilidade e um alto grau de ionização no solvente a ser empregado. E ainda, deve apresentar estabilidade química (não reagir com outras espécies presentes na solução) e estabilidade eletroquímica (não ser oxidado ou reduzido nas faixas de potencial de interesse a que as interfaces em estudo forem submetidas) (AGOSTINHO et al., 2004; BRETT; BRETT, 1996).

Segundo Agostinho et al.(2004), uma das principais funções do eletrólito suporte é manter os coeficientes de atividade das espécies eletroativas praticamente constantes. Ou seja, à medida que as espécies eletroativas sofrem reações de oxidação ou redução na interface eletrodo/solução, devido à grande concentração do eletrólito em relação à espécie eletroativa, o número de cargas contrárias em torno das mesmas permanecerá praticamente constante, tornando as interações iônicas constantes. O eletrólito suporte tem também como função tornar o número de transporte da espécie eletroativa praticamente igual a zero. A alta concentração do eletrólito suporte em relação à espécie eletroativa faz com que o transporte de massa desta última se dê apenas por difusão ou por difusão e convecção. O eletrólito suporte também deve diminuir a espessura da dupla camada elétrica, manter a viscosidade da solução constante e manter o coeficiente de difusão da espécie eletroativa constante (AGOSTINHO et al., 2004; SANTOS et al., 2010).

1.4.1.2 Tipos de métodos eletroanalíticos

O crescimento na área eletroquímica propiciou o desenvolvimento de diversos tipos de métodos eletroanalíticos que podem ser classificados em interfaciais e não interfaciais. Os métodos interfaciais se baseiam nos fenômenos que ocorrem na interface eletrodo/solução envolvendo uma fina camada de solução e os métodos não interfaciais se baseiam em fenômenos que ocorrem no seio da solução. Os métodos interfaciais podem ser divididos em estáticos e dinâmicos. Que têm como características a célula eletroquímica operar com corrente nula e a corrente que fluir pelo sistema ser maior que zero respectivamente. Os métodos interfaciais estáticos, nos quais são realizadas medidas potenciométricas, são métodos considerados de grande importância devido à sua velocidade e seletividade. Os métodos interfaciais dinâmicos podem ter o potencial de célula controlado enquanto a medida de outra grandeza é realizada. Ou ainda, podem ter a corrente de célula mantida constante enquanto os dados analíticos são coletados. (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009; SERRANO; MACHADO; GIL, 2007). Os diferentes tipos de métodos eletroanalíticos encontram-se resumidos na figura 2.

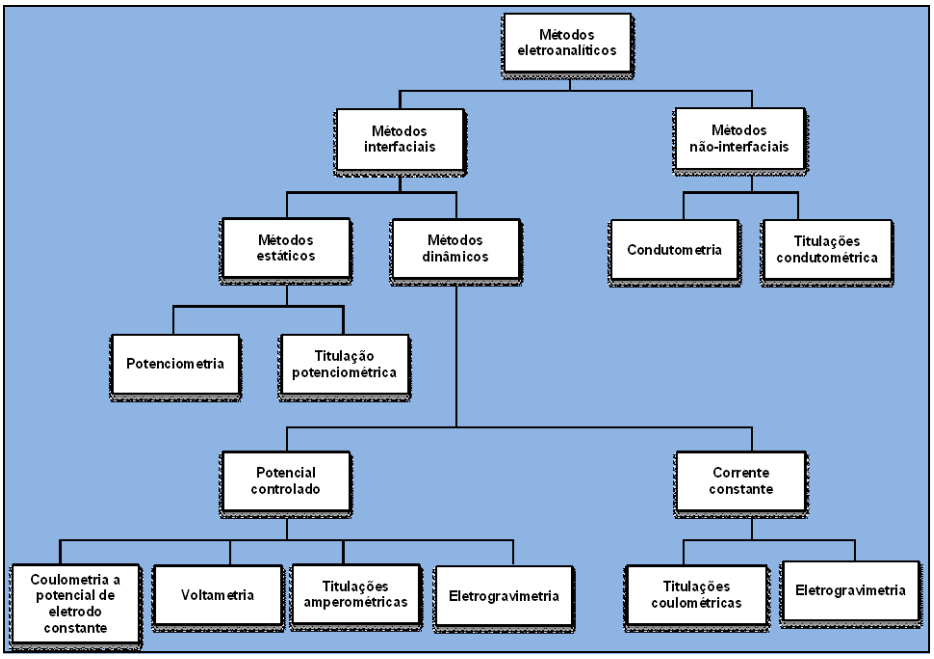


Figura 2. Resumo dos métodos eletroanalíticos mais comuns.
Adaptado de Skoog, Holler e Crouch, (2009).

1.5 Voltametria

A voltametria compreende um grupo de métodos eletroanalíticos que se baseiam nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a fina camada de solução adjacente à superfície eletródica (interface eletrodo/solução) (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

Normalmente em voltametria utiliza-se uma célula eletroquímica convencional constituída por três eletrodos, um de trabalho (ET), um de referência (ER) e um auxiliar (EA), imersos em uma solução eletrolítica mantida em condição estacionária (Figura 3).

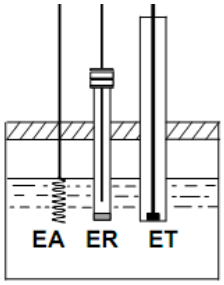


Figura 3. Representação esquemática de uma célula eletroquímica constituída por três eletrodos.

O eletrodo de trabalho é o eletrodo no qual a reação eletródica acontece. Geralmente os ET apresentam uma pequena superfície (microeletrodo), característica que os tornam mais polarizáveis (EL-MAALI, 2004). Os ET podem ser compostos por diferentes tipos de materiais como mercúrio, ouro, platina, prata, cobre, níquel, paládio e diferentes tipos de carbono (carbono vítreo, grafite, pasta de carbono). O eletrodo de referência, não se polariza, mantendo o seu potencial constante. Desta forma, os ER permitem o monitoramento do potencial do ET (ALEIXO, 2003). Os eletrodos de calomelano e prata/cloreto de prata são os mais utilizados como ER. Ambos possuem potenciais conhecidos, estáveis e reprodutíveis (SERRANO; MACHADO; GIL, 2007). O eletrodo auxiliar pode ser de platina, ouro, carbono vítreo, e outros materiais eletródicos. O EA faz parte de uma célula voltamétrica para assegurar o sistema potenciostático. Ou seja, a corrente passará entre o ET e o EA, evitando desta maneira a ocorrência de interferências no

ER possibilitando que o mesmo mantenha seu potencial constante durante as medidas (ALEIXO, 2003).

A voltametria é uma técnica classificada como dinâmica, pois a célula eletroquímica é operada na presença de corrente elétrica (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Este processo de geração de corrente elétrica ocorre na região da interface eletrodo/solução que é conhecida como região da dupla camada elétrica. De acordo com a síntese de Stern dos modelos de Helmholtz, Gouy e Chapman a interface eletrodo/solução é uma região bem diferente de todo o restante da solução (seio da solução), devido às mudanças químicas e físicas que ocorrem nesta região. Considerar, para melhor compreensão, uma célula eletrolítica onde um potencial positivo é aplicado ao eletrodo de trabalho. Imediatamente após a aplicação do potencial, a superfície carregada do eletrodo provocará uma alteração na camada de solução imediatamente vizinha à superfície do eletrodo. Devido à mobilidade iônica, a camada de solução adjacente à superfície do eletrodo produz uma orientação de modo a criar uma camada elétrica de sinal oposto (Figura 4). A dupla camada, representada esquematicamente na figura 4, possui um excesso de cargas positivas na superfície do eletrodo, resultante da aplicação do potencial positivo. Ela consiste de uma camada interna compacta (d_0 *a* d_1), denominada de plano interno de Helmholtz onde, dentro da qual, o potencial decresce linearmente em função da distância da superfície do eletrodo. E ainda, uma camada externa difusa (d_1 *a* d_2), denominada plano externo de Helmholtz onde o potencial decresce aproximadamente de forma exponencial (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009; TICIANELLI; GONZALEZ, 2005).

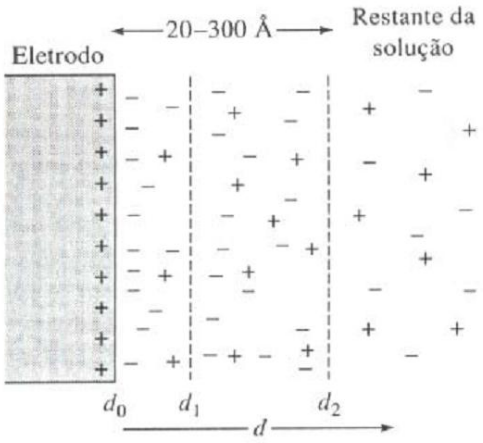


Figura 4. Dupla camada elétrica formada na interface eletrodo/solução após a aplicação de um potencial. Adaptado de Skoog, Holler e Crouch, (2009).

A aplicação controlada de um potencial ao eletrodo de trabalho resulta na geração de uma corrente faradaica devido à ocorrência de reações de oxidação e/ou redução (Equação 1) de espécies eletroativas presentes na solução. Este processo obedece à lei de Faraday que determina que a quantidade de reagentes formados (ou consumidos) no eletrodo é proporcional à corrente gerada. E ainda, toda vez que se aplicar um potencial a dupla camada será carregada dando origem a uma corrente não faradaica denominada corrente capacitiva (BRETT; BRETT, 1996; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

$$O + ne^- \rightleftharpoons R$$

Equação 1: representa o equilíbrio de oxidação e redução. (O) forma oxidada; (R) forma reduzida.

Nas técnicas voltamétricas, tanto informações qualitativas como informações quantitativas do analito podem ser obtidas com base na medida da magnitude da corrente elétrica gerada pela transferência de elétrons entre o eletrodo de trabalho e a espécie eletroativa após se aplicar um potencial a este eletrodo de trabalho. A corrente medida pode ser relacionada com a concentração da espécie eletroativa de interesse, o que confere um aspecto analítico quantitativo ao método (SERRANO; MACHADO; GIL, 2007; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

A corrente elétrica surgirá quando o potencial aplicado atingir um valor tal que permita que ocorram as reações redox no analito. Ou seja, as reações redox

acontecerão em uma faixa de potencial que faça com que a transferência de elétrons seja favorável cineticamente ou termodinamicamente criando-se um fluxo de elétrons.

Um potencial elétrico vai diminuir ou aumentar a energia do nível de Fermi (E_F) que é o nível eletrônico ocupado mais elevado no eletrodo. Alterando-se o potencial aplicado (para potenciais mais ou menos positivos) se alterará E_F de forma que o eletrodo removerá elétrons da espécie R (corrente de oxidação) ou se tornará fonte de elétrons à espécie O (corrente de redução) (este processo será melhor detalhado na discussão deste trabalho) (BRETT; BRETT, 1996; TICIANELLI; GONZALEZ, 2005). Desta maneira, pode-se dizer que o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho atua como a força motriz para a reação eletródica. De acordo com Brett e Brett (1996), o eletrodo é um poderoso catalisador e conforme a variação do potencial aplicado tem-se uma influência nas velocidades de oxidação e redução. De modo que se o potencial aplicado for suficientemente positivo ou suficientemente negativo, a corrente máxima será sempre alcançada para oxidação ou redução respectivamente.

A forma na qual o potencial é aplicado (sinal de excitação), e consequentemente a forma como o sinal analítico (corrente) é adquirido irá denominar o tipo de técnica voltamétrica. As quatro formas de onda dos sinais de excitação mais comuns utilizados em voltametria são mostradas na figura 5. O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e evidentemente, a faixa de potencial escolhida deve contemplar o potencial necessário para que a substância de interesse se oxide ou se reduza (SERRANO; MACHADO; GIL, 2007; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

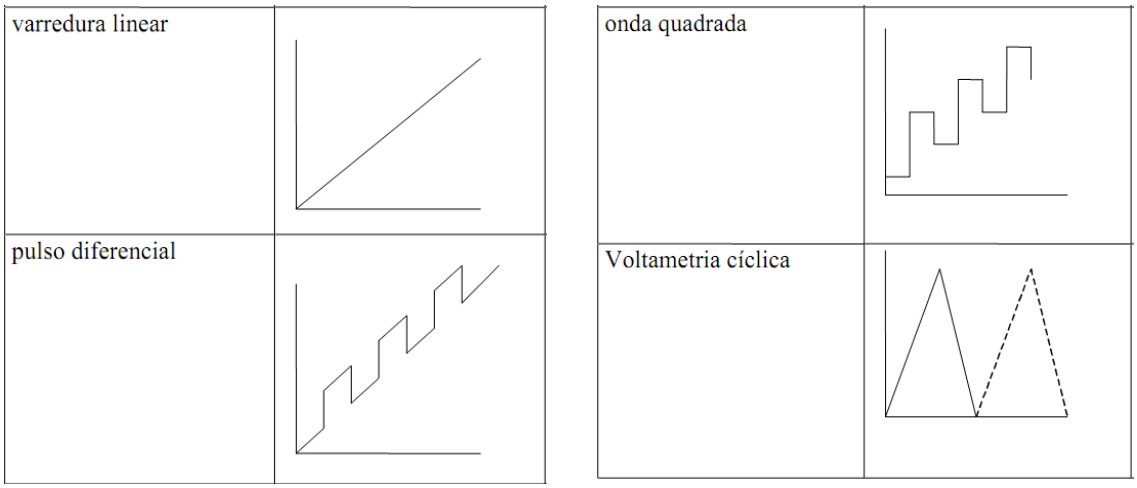


Figura 5. Tipos de voltametria e formas de ondas do sinal de excitação.

1.5.1 Voltametria cíclica

A Voltametria Cíclica (VC) é uma técnica onde a resposta da corrente é obtida a partir de um sinal de excitação em forma de onda triangular (Figura 5). O potencial aplicado ao eletrodo de trabalho varia de forma linear, a partir de um valor de potencial inicial E_i, no sentido positivo ou negativo, até um valor de potencial pré estabelecido denominado potencial de inversão de varredura E_λ, onde a direção de varredura é invertida e o potencial retorna ao seu valor original E_i (SERRANO; MACHADO; GIL, 2007; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Para melhor compreensão, considerar um sistema onde ao se aplicar certo valor de potencial, inicialmente não ocorra nenhuma reação. Ao variar este potencial para regiões mais negativas ocorrerá a redução da espécie eletroativa em solução. Haverá a formação de um gradiente de concentração e consumo das espécies eletroativas gerando um pico de corrente catódica. Continua-se a varredura do potencial, enquanto isso, o fornecimento de espécies eletroativas começa a diminuir. Em consequência, a corrente faradaica também decai até se chegar ao potencial de inversão. A direção da varredura é então invertida até que se atinja o valor de potencial inicial.

O sinal de corrente registrado dá origem ao voltamograma, que se trata de uma curva de potencial *vs.* corrente. Na figura 6 tem-se representado um voltamograma cíclico típico onde o pico de corrente catódica pode ser associado à corrente resultante da redução das espécies O para R, e ainda, o pico da varredura reversa é

referente à oxidação das espécies R formadas na etapa anterior. Os parâmetros importantes em um voltamograma cíclico são o potencial de pico catódico (E_{pc}), o potencial de pico anódico (E_{pa}), a corrente de pico catódica (i_{pc}) e a corrente de pico anódica (i_{pa}) (TICIANELLI; GONZALEZ, 2005).

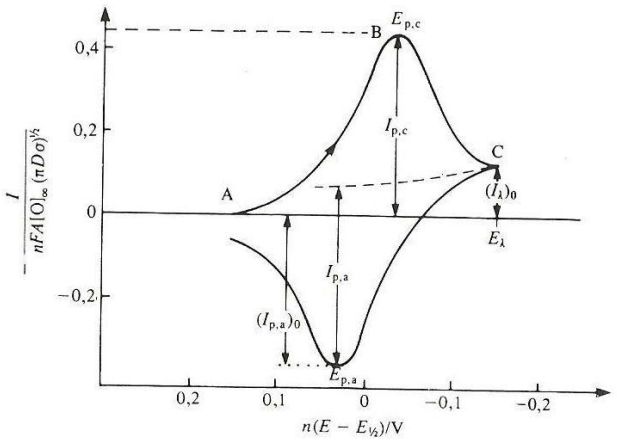


Figura 6. Voltamograma cíclico para um sistema reversível indicando os parâmetros típicos.
Fonte: Brett e Brett, (1996).

As reações redox geralmente ocorrem em uma sequência de etapas representadas na figura 7. De modo que qualquer uma das diversas etapas intermediárias pode limitar a velocidade da reação e consequentemente, determinar a magnitude da corrente (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

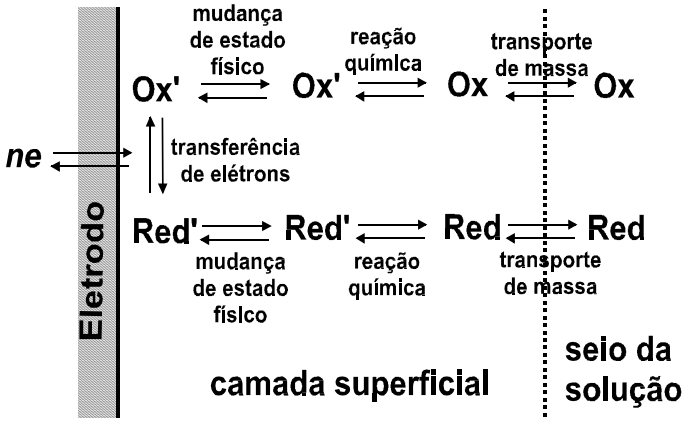


Figura 7. Etapas da reação O + ne^- ⇌ R (ou Ox + ne^- ⇌ Red) em um eletrodo.In Skoog, Holler e Crouch, (2009).Adaptado de Bard and Faulkner, Electrochemical Methods, (2001).

Nos sistemas eletroquímicos reversíveis a cinética do processo de transferência de elétrons entre a espécie eletroativa e o eletrodo é rápida, possibilitando um equilíbrio entre as espécies oxidadas e reduzidas na superfície do eletrodo. Nestes sistemas, o voltamograma cíclico se caracteriza por apresentar picos na varredura direta e reversa (Figura 6). No caso de uma reação reversível (ainda considerando o exemplo anterior), os produtos gerados no sentido direto da reação serão oxidados resultando em um pico de corrente anódica simétrico ao pico da redução (E_{pa} - E_{pc}= 0,059V; i_{pa} / i_{pc} = 1). Se a varredura inicial se dá no sentido negativo de potencial, há o favorecimento da ocorrência de reações de redução e quando esse potencial é invertido, podem ser observadas reações de oxidação mesmo em região negativa de potencial. E ainda, se a varredura inicial ocorre no sentido positivo de potencial, reações de oxidação são favorecidas e a inversão de potencial possibilita a ocorrência de reações de redução. (BRETT; BRETT, 1996; SERRANO; MACHADO; GIL, 2007; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009; TICIANELLI; GONZALEZ, 2005). Nos sistemas irreversíveis a velocidade de transferência de elétrons entre a espécie eletroativa e o eletrodo é uma etapa muito lenta e por isso, o equilíbrio das espécies na superfície do eletrodo não é mantido. Neste sistema, a transferência dos íons do seio da solução para a superfície do eletrodo torna-se dificultada, havendo a necessidade da aplicação de um potencial mais elevado, ou seja, um sobrepotencial, para que se possibilite a ocorrência da reação de redução ou de oxidação. Nas reações irreversíveis há a ausência de pico na varredura reversa de potencial (Figura 8). (BRETT; BRETT, 1996; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

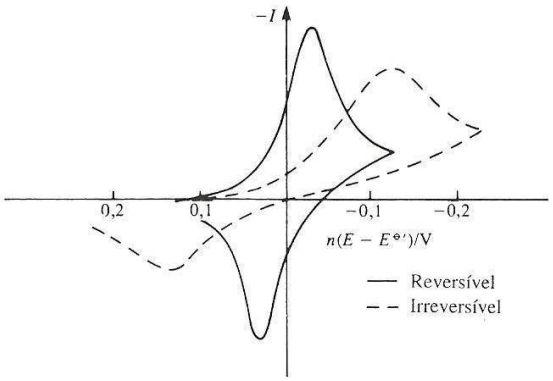


Figura 8. Efeito do aumento da irreversibilidade na forma de voltamogramas cíclicos. Fonte: Brett e Brett, (1996).

O tipo de voltamograma gerado depende do tipo de mecanismo redox que o composto em questão sofre no eletrodo, o que faz da voltametria cíclica uma ferramenta valiosa para estudos mecanísticos. Ou seja, a voltametria cíclica é uma técnica versátil e efetiva para a caracterização eletroquímica de compostos através de seus potenciais de oxidação/redução (HUANG et al.,2004).

1.6 Modelagem molecular

Modelagem molecular, segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), é a investigação das estruturas e das propriedades moleculares pelo uso de química computacional e técnicas de visualização gráfica, visando fornecer uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias (SANT'ANNA, 2002).

A aliança entre a Tecnologia e a Ciência, nas últimas décadas, vem alcançando várias transformações que resultam no vertiginoso desenvolvimento das mesmas. A modelagem molecular é um dos mais importantes avanços no planejamento e descoberta de novos fármacos. O emprego desta ferramenta possibilita a investigação de aspectos como propriedades estéricas, eletrônicas e físico-químicas e ainda, mecanismos de ação, relações entre estrutura química e atividade biológica além das interações fármaco/ligante-receptor. Para tal, programas computacionais de química e bancos de dados em rede são ferramentas fundamentais (ANDRADE; TROSSINI; FERREIRA, 2010; CARVALHO et al.,2003; CARVALHO; BORGES; BERNARDES, 2005).

Através da química computacional, podem-se obter resultados altamente confiáveis de propriedades moleculares. Estes cálculos podem ser aplicados com sucesso em uma série de estudos, como cinética de reação, propriedades magnéticas, reatividade e estabilidade conformacional (LACERDA JÚNIOR et al.,2007).

Ao se iniciar um estudo de modelagem molecular, primeiramente deve-se gerar uma estrutura tridimensional da molécula no computador, ou seja, deve-se construir a molécula definindo as posições dos átomos no espaço. A molécula gerada não se apresentará necessariamente na conformação mais estável, devendo então ter sua energia minimizada visando à otimização de sua geometria. A minimização de

energia é um processamento matemático utilizado para localizar as conformações estáveis de uma molécula, ou seja, as conformações de menores energias. A minimização de energia pode ser determinada por cálculos de mecânica molecular ou cálculos mecânico quântico.

A mecânica molecular é um método de cálculo das geometrias e energias conformacionais das moléculas que utiliza uma combinação de campos de forças empíricas. Neste método de cálculo, os elétrons e o núcleo dos átomos não são explicitamente incluídos nos cálculos. A energia molecular é calculada através de comparações entre ângulos e distâncias de ligações entre átomos que compõem a molécula, com valores tabelados.

Os cálculos mecânico-quânticos são cálculos de propriedades moleculares baseados na equação de Schrödinger. Estes cálculos levam em conta as interações entre os elétrons em uma molécula e podem ser subdivididos em métodos *ab initio,* semi-empírico e método DFT (Density Functional Theory).

Os métodos *ab initio* são cálculos que usam equações exatas, sem aproximações, envolvendo a população eletrônica total da molécula. Podem ser aplicados apenas a moléculas pequenas. São mais precisos e não necessitam de dados armazenados. Porém, requerem grande capacidade de memória e tempo de cálculo do computador.

Os métodos semi-empíricos são métodos que usam parâmetros derivados de dados experimentais para simplificar os cálculos computacionais. Podem ser utilizados para minimização de energia e otimização de moléculas que variam de 10 a 120 átomos. São métodos menos exatos, porém, mais rápidos (CARVALHO et al., 2003; SANT'ANNA, 2002).

O método DFT (Density Functional Theory), a Teoria da Densidade Funcional, está entre os mais populares e versáteis métodos disponíveis na física e química computacional sendo utilizado para investigar a estrutura eletrônica. Nas derivações das equações da densidade funcional, em princípio, nenhum parâmetro necessita ser ajustado ou ser determinado empiricamente, sendo então comparada a cálculos precisos do tipo *ab initio*. Porém, com custos computacionais muito inferiores. Este método é bastante importante no estudo de grandes sistemas moleculares. O princípio básico da DFT é a densidade eletrônica, e através desta teoria, as propriedades de um sistema constituído por muitos elétrons podem ser

determinadas através do uso de funcionais da densidade eletrônica (MORGON; CUSTÓDIO, 1995; ELSTNER, et al., 2001).

Através de cálculos mecânico quânticos é possível investigar as propriedades moleculares dependentes da distribuição eletrônica. A teoria de orbitais moleculares prevê que os elétrons em uma ligação encontram-se distribuídos em uma série de orbitais de diferentes energias, ao invés de estarerem localizados entre átomos específicos.

Os orbitais de fronteira HOMO e LUMO são descritores muito importantes na avaliação da reatividade da molécula e têm sido muito utilizados como índices de reatividade química (FATEMI, 2006; LACERDA JÚNIOR et al.,2007).

HOMO (“Highest Occupied Molecular Orbital”) é o orbital molecular ocupado de maior energia. A sua energia é obtida por cálculos de orbital molecular e se relaciona com o potencial de ionização de uma molécula e com sua reatividade como nucleófilo.

LUMO (“Lowest Unoccupied Molecular Orbital”) é o orbital molecular desocupado de menor energia. A sua energia é obtida por cálculos de orbital molecular e representa a afinidade eletrônica de uma molécula ou a sua reatividade como eletrófilo (JUSTINO; VIEIRA, 2010; SANT’ANNA, 2002).

As energias dos orbitais de fronteira EHOMO e ELUMO são descritores bastante utilizados em vários processos químicos e farmacológicos, como por exemplo, nos estudos da relação estrutura atividade (SAR). Isto se deve ao fato de que informações como o caráter elétron doador e/ou elétron receptor de um composto e, consequentemente, a formação de um complexo de transferência de carga, possam ser fornecidos através destes descritores. De modo que a energia do HOMO permite medir o caráter elétron doador e a energia do LUMO permite medir o caráter elétron receptor de um composto. A partir destes conceitos podem-se extrair duas características importantes: (i) a capacidade elétron doadora será maior quanto maior a EHOMO, e (ii) a resistência para aceitar elétrons será menor quanto menor for a ELUMO (BARREIRO et al., 1997; FATEMI, 2006; HONÓRIO et al., 2007; JUSTINO; VIEIRA, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

- Realizar a caracterização eletroquímica dos parabenos e outros compostos análogos *p*-substituídos (Figura 9) em meio aquoso utilizando eletrodos de carbono vítreo (CV) e platina (Pt) através de Voltametria Cíclica.

- Aplicar estudos de Modelagem Molecular aos parabenos, através de estudos mecânicos-quânticos, a fim de se obter propriedades eletrônicas moleculares dos mesmos.

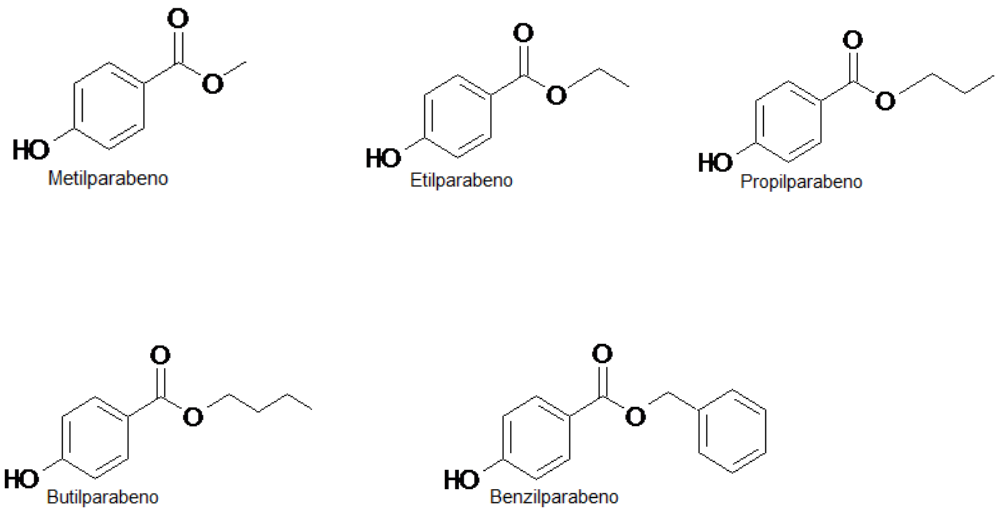


Figura 9. Estruturas químicas dos parabenos (metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno e benzilparabeno).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o comportamento eletroquímico dos parabenos frente a diferentes materiais eletródicos (eletrodo de carbono vítreo e eletrodo de platina).

- Investigar as eventuais correlações entre o padrão dos substituintes dos parabenos (Figura 9) e compostos análogos *p*-substituídos e o comportamento eletroquímico dos mesmos (potenciais de oxidação/redução).

- Avaliar a influência do eletrólito suporte no comportamento eletroquímico dos parabenos através da utilização de diferentes soluções eletrolíticas.

- Realizar o estudo da influência do pH no comportamento eletroquímico dos parabenos através da variação do pH da solução de eletrólito suporte.

- Identificar parâmetros eletrônicos tais como a Energia do Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia - LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital), a Energia do Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia - HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) e o mapa de potencial eletrostático molecular (MEP) para os parabenos.

- Fazer a correlação entre os dados obtidos em voltametria e modelagem molecular a fim de avaliar o potencial redox dos parabenos de forma a estimar, com mais precisão, a influência do padrão dos substituintes sobre os deslocamentos de potencial.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Os compostos fenólicos analisados foram o metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP), butilparabeno (BP), benzilparabeno (BzP), *p*-clorofenol, *p*-nitrofenol e *p*-cresol, todos adquiridos da Sigma S.A.

O etanol utilizado no preparo das soluções dos compostos fenólicos foi adquirido da Vetec Química Fina Ltda.

Os diversos reagentes utilizados para o preparo das soluções eletrolíticas (eletrólito suporte): acetato de sódio, cloreto de amônia, cloreto de lítio, cloreto de potássio, cloreto de sódio, fosfato dissódico, nitrato de sódio e sulfato de sódio, foram adquiridos da Vetec Química Fina Ltda e Merck S.A.

Tampão Fosfato, preparado a partir de fosfato de potássio monobásico e fosfato de potássio dibásico (Merck S.A), também foi utilizado como eletrólito suporte.

Soluções de Ácido clorídrico e Hidróxido de sódio foram utilizadas para o acerto de pH das soluções de eletrólitos suporte.

Todas as soluções foram preparadas utilizando água destilada e todos os compostos e reagentes utilizados neste trabalho são de grau analítico e não sofreram etapas prévias de purificação.

3.2 Materiais

Todos os experimentos eletroquímicos foram executados utilizando sistema de três eletrodos conectados a um potenciostato/galvanostato µAutolab (modelo type III) interfaceado a computador por software PGSTAT 30. Os eletrodos de trabalho consistiram em eletrodo de carbono vítreo (CV) (2 mm de diâmetro) e eletrodo de platina (Pt) (1 mm de diâmetro). Os eletrodos de referência e auxiliar foram respectivamente eletrodo saturado de calomelano (SCE) e anel de platina.

A balança utilizada para as pesagens dos reagentes foi uma balança de precisão analítica (Radwag) modelo XA 110. As leituras de pH das soluções eletrolíticas foram realizadas em pHmetro (Labmeter) modelo PHS-3B, acoplado a um eletrodo combinado de vidro (BlueLine; Shott). O banho ultra-sônico utilizado para a

regeneração da superfície do eletrodo de trabalho foi um modelo USB 124 da CTA do Brasil. Para o polimento e regeneração da superfície do eletrodo de trabalho foi utilizada uma placa confeccionada a partir de tecido “tipo feltro” colado em uma superfície de vidro. Foi utilizada a suspensão de alumina nº 2, para polimento metalográfico, da Avotec S/A Indústria e Comércio.

Um software ORIGIN versão 7.0 foi utilizado para o processamento gráfico e de análise dos dados voltamétricos experimentais.

Os estudos de modelagem molecular foram realizados em um Computador X86_64, Sistema Operacional Linux Ubuntu, paralelizado em 16 processadores com 2.8 GHz cada.

Um Software Jaguar v.7.6 (Schrödinger, Inc) foi utilizado para a construção e otimização das estruturas tridimensionais e para a realização dos estudos mecânico-quânticos.

3.3 Metodologia

3.3.1 Preparo das amostras e eletrólitos suporte

Soluções 10 $mmolL^{-1}$ dos compostos fenólicos foram preparadas em solução água : etanol (1:1) (v/v).

Todas os eletrólitos suporte foram preparados em solução aquosa a uma concentração de 0,1$molL^{-1}$.

3.3.2 Pré-tratamento da superfície do eletrodo

Antes de se iniciar os experimentos eletroquímicos, os eletrodos de trabalho foram submetidos a polimento mecânico com suspensão de alumina, utilizando tecido feltro fixado em base de vidro, empregando movimentos em forma de “oito” por cerca de dois minutos. A seguir, os eletrodos foram lavados com jatos de água destilada. Banhos ultra-sônicos com duração de cinco minutos também foram empregados como técnica de regeneração.

3.3.3 Procedimento para as medidas voltamétricas

Para as medidas voltamétricas, fez-se uso de uma micropipeta para adicionar 250 µL das soluções 10 $mmolL^{-1}$ de compostos fenólicos a uma célula de borosilicato contendo 10 mL do eletrólito suporte a fim de se obter concentração de $2,5 . 10^{-4}$ $molL^{-1}$. A solução foi agitada durante 2 minutos e o voltamograma foi registrado. Os ensaios foram realizados através de Voltametria Cíclica onde todas as amostras de compostos fenólicos, foram investigadas na concentração de $2,5 . 10^{-4}$ $molL^{-1}$, o comportamento do eletrodo foi avaliado através de sucessivos ciclos em eletrólitos suporte a 0.1 $molL^{-1}$, a uma velocidade (ν) de 100 mVs^{-1} e faixa de potencial variando de -0,25 a 1,25 V, em sentido anódico e catódico.

3.3.4 Caracterização eletroquímica

Soluções de MP, EP, PP, BP, BzP a 10 $mmolL^{-1}$ foram adicionadas, individualmente, em uma célula eletrolítica contendo tampão fosfato 0.1 $molL^{-1}$ em pH 7,0. Voltamogramas cíclicos foram obtidos após a realização de sucessivos ciclos utilizando um ET de carbono vítreo onde se aplicou potencial inicial (E_i) 0,5 V, potencial de inversão (E_λ) 1,1 e potencial final (E_f) 0,5 V a uma velocidade de 100 mVs^{-1}.

Soluções de MP e outros análogos fenólicos: *p*-cresol, *p*- nitrofenol e *p*- clorofenol a 10 $mmolL^{-1}$ foram adicionadas, individualmente, em uma célula eletrolítica contendo tampão fosfato 0.1 $molL^{-1}$ em pH 7,0. Sucessivos ciclos foram realizados utilizando um ET de carbono vítreo ao qual se aplicou potencial inicial (E_i) – 0,25 V, potencial de inversão (E_λ) 1,25 V e potencial final (E_f) – 0,25 V a uma velocidade de 100 mVs^{-1}.

3.3.5 Estudo da influência do eletrólito suporte

Para a avaliação da influência dos eletrólitos suporte (anions e cátions), 250 µL de soluções de MP 10^{-2} $molL^{-1}$ foram adicionados a 10 mL de tampão fosfato e a outros diferentes eletrólitos: acetato de sódio, cloreto de amônia, cloreto de lítio, cloreto de potássio, cloreto de sódio, fosfato dissódico, nitrato de sódio e sulfato de sódio 0.1 $molL^{-1}$ e pH 7.0. As amostras foram analisadas por voltametria cíclica através de ET de carbono vítreo, potencial inicial (E_i) – 0,25 V, potencial de inversão (E_λ) 1,25 V e potencial final (E_f) – 0,25 V a uma velocidade de 100 mVs^{-1}.

3.3.6 Estudo da influência do pH

Para os estudos da influência do pH, 250 µL de soluções de MP 10^{-2} $molL^{-1}$ foram adicionados a 10 mL de tampão fosfato 0,1 $molL^{-1}$ em diferentes pHs. As amostras foram analisadas por voltametria cíclica utilizando um ET de carbono vítreo em eletrólito suporte com pH variando de 3,0 a 8,0. Para este procedimento foram

aplicados potencial inicial (E_i) – 0,25 V, potencial de inversão (E_λ) 1,25 V e potencial final (E_f) – 0,25 V a uma velocidade de 100 mVs^{-1}.

3.3.7 Análise computacional

A análise computacional foi realizada em colaboração com a Profa. Dra. Carolina Horta Andrade no Laboratório de Planejamento de Fármacos e Estudos Farmacocinéticos via Modelagem Molecular (LabMoL) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás. As estruturas tridimensionais dos compostos foram construídas e otimizadas utilizando o programa JAGUAR, version 7.6, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2009, empregando o método conhecido como Teoria da Densidade Funcional (DFT) com o híbrido funcional B3LYP. O método de cálculo híbrido foi escolhido considerando cálculos realizados com sucesso para espécies radicais semelhantes (NIEMZ; ROTELLO, 1997; NIEMZ et al. 2000; CUELLO; MCINTOSH; ROTELLO, 2000).

As otimizações da geometria molecular foram realizadas para as formas neutras e radicais derivadas da simulação do processo de oxidação dos parabenos utilizando o conjunto de base 6-31G*. Os confôrmeros de menores energias foram submetidos ao cálculo de “single point” pelo modelo B3LYP utilizando o conjunto de base LACV3P*, objetivando obter energias mais exatas para cada estrutura. A seguir, as propriedades eletrônicas tais como a energia dos orbitais moleculares de fronteira EHOMO e ELUMO e o mapa de potencial eletrostático molecular (MEP) para as formas neutras e radicais dos parabenos foram determinadas. Os cálculos dos procedimentos mecânico-quânticos para a obtenção das energias dos orbitais moleculares de fronteira dos parabenos foram realizados considerando as moléculas em fase líquida.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Influência do material eletródico

4.1.1 Efeito de eletropassivação

Neste trabalho, a influência do material eletródico no processo oxidativo do metilparabeno (MP) foi investigada para os eletrodos de platina (Pt) e de carbono vítreo (CV). Foi observado, especialmente para eletrodos de CV, um forte poder adsortivo, o que ocasionou a perda gradativa da atividade da superfície do eletrodo e consequentemente a redução da magnitude da corrente (Figura 10). Este efeito de eletropassivação pode ser atribuído à formação de filme polimérico por produto da oxidação dos parabenos. O filme é insolúvel e bloqueia os sítios ativos da superfície do eletrodo levando a redução da atividade do mesmo.

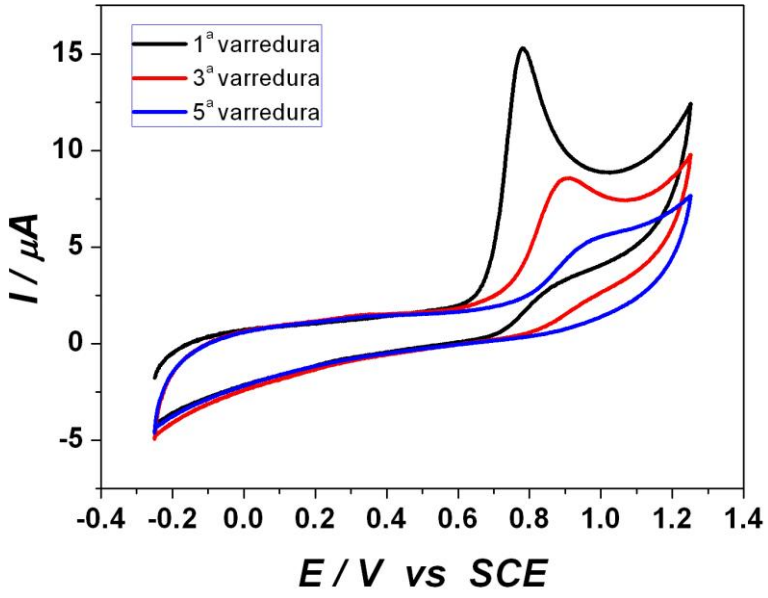


Figura 10. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} (pH 7,0), contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} mostrando efeito adsortivo sobre eletrodo de carbono vítreo. E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

As respostas eletroquímicas são, muitas vezes, dependentes da natureza e da condição da superfície do eletrodo (JONHSON et al., 2002). Os eletrodos sólidos podem sofrer processo de passivação (envenenamento ou adsorção) através do contato com soluções contendo contaminantes (BRETT; BRETT, 1996) ou por

produtos das reações eletródicas (GATTRELL; KIRK, 1993). Segundo a literatura (GATTRELL; KIRK, 1993), as medidas eletroquímicas de compostos fenólicos, utilizando eletrodos sólidos, apresentam problemas devido à perda da atividade da superfície eletródica durante o processo oxidativo. Estudos realizados para avaliar a oxidação eletroquímica de compostos fenólicos na superfície de eletrodos de platina, ouro (FERREIRA et al., 2006) e de carbono vítreo (GATTRELL; KIRK, 1990) demonstraram que o processo de oxidação destes compostos leva à formação de um filme polimérico impermeável e não reativo sobre a superfície eletródica ocasionando o fenômeno de passivação.

Devido ao processo de passivação apresentado, tornou-se imprescindível que, a cada experimento, fossem realizados procedimentos de limpeza para possibilitar a regeneração da superfície eletródica. Para efetuar a remoção desse material polimérico da superfície do eletrodo foram realizadas duas técnicas de regeneração. As técnicas de polimento e banho ultra-sônico, alcançando-se um melhor resultado quando se aplicou a técnica de polimento em suspensão de alumina (Figura 11). Certamente devido à resistência apresentada pelo filme na superfície eletródica o processo de limpeza abrasivo mostrou-se mais eficiente.

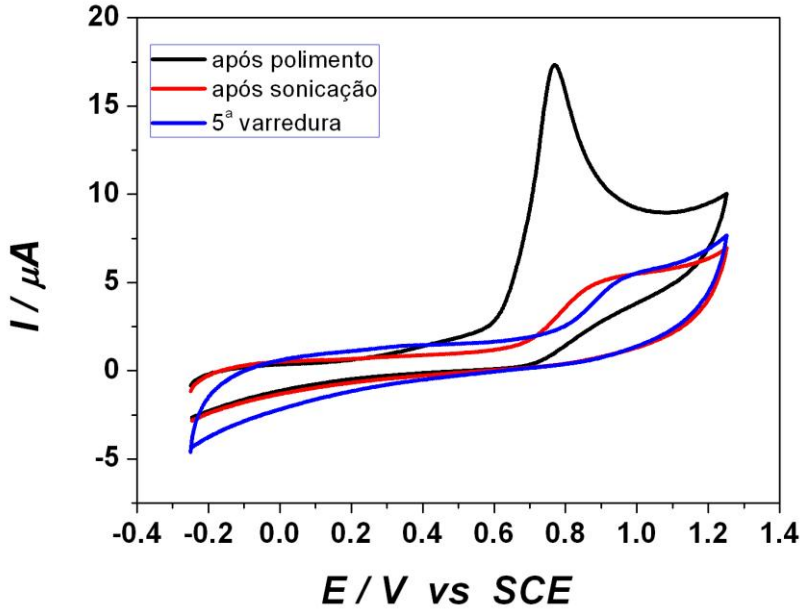


Figura 11. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0), contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} mostrando o emprego de duas técnicas de regeneração da superfície eletródica, polimento e banho ultra-sônico por 5 minutos. E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

4.1.2 Comportamento dos eletrodos

A análise de alguns parabenos em soluções de eletrólito suporte 0,1 molL^{-1} de tampão fosfato, através de voltametria cíclica, foi utilizada para investigar o comportamento dos eletrodos de CV e Pt. Para os dois sistemas, os voltamogramas resultantes demonstraram um processo anódico durante a varredura positiva, devido à oxidação dos parabenos. Porém, estes sistemas apresentaram comportamentos voltamétricos bastante distintos (Figuras 12 e 13).

Voltamogramas cíclicos resultantes da eletrólise do metilparabeno (MP), propilparabeno (PP) e butilparabeno (BP), obtidos para o eletrodo de CV mostram, na varredura anódica, picos bastante definidos resultantes da oxidação da hidroxila fenólica (Figura 12).

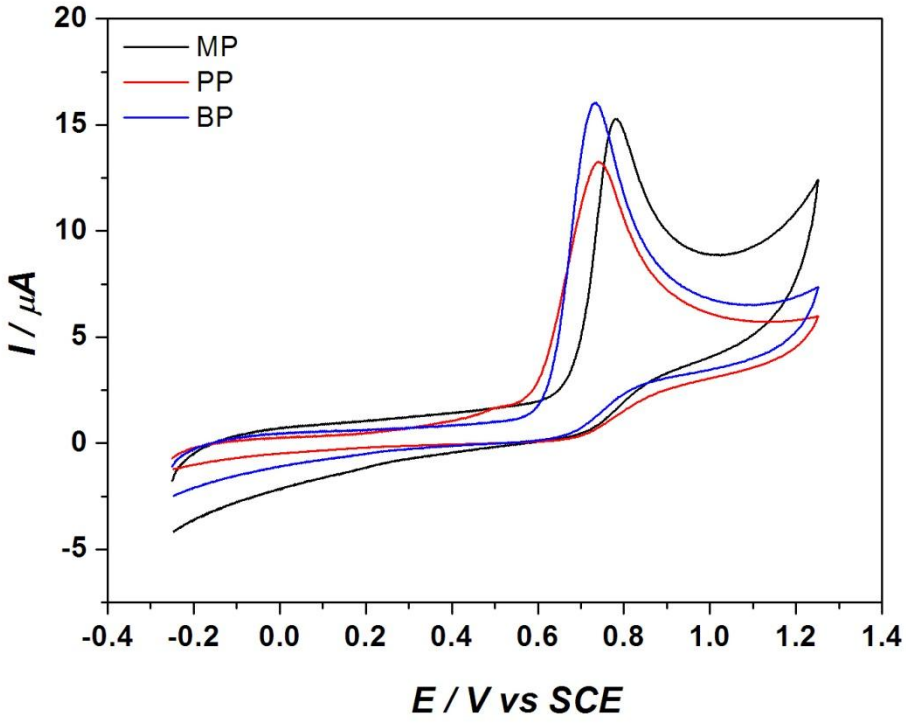


Figura 12. Voltamogramas cíclicos do MP, PB e BP a 0,25 mmol L^{-1}. Obtido em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0). E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

A figura 13 apresenta experimentos executados para o eletrodo de Pt sob as mesmas condições. Os voltamogramas mostram a primeira varredura realizada para soluções contendo MP 0,25 mmolL^{-1} e a primeira varredura registrada para cada

solução preparada a partir de adições sucessivas de 250 µL de soluções de MP 10^{-2} $molL^{-1}$. Observa-se que os picos anódicos (≈ 810 mV) resultantes da oxidação da hidroxila fenólica tornam-se um pouco mais definidos, apenas, à medida que se aumenta a concentração de MP na solução. Um pico catódico (≈ - 50mV) é observado na varredura reversa, inclusive para o branco. Este pico pode ser atribuído à redução do oxigênio presente na solução eletrolítica. É sabido que a atmosfera contém cerca de 20% de oxigênio, e segundo a literatura, este pode se dissolver em soluções aquosas abertas para a atmosfera, devido às interações polares. Desta forma, o oxigênio poderá ser reduzido em potenciais que variam entre 50 mV e -900 mV *vs.* SCE, dependendo do pH e do material do eletrodo (BRETT; BRETT, 1996).

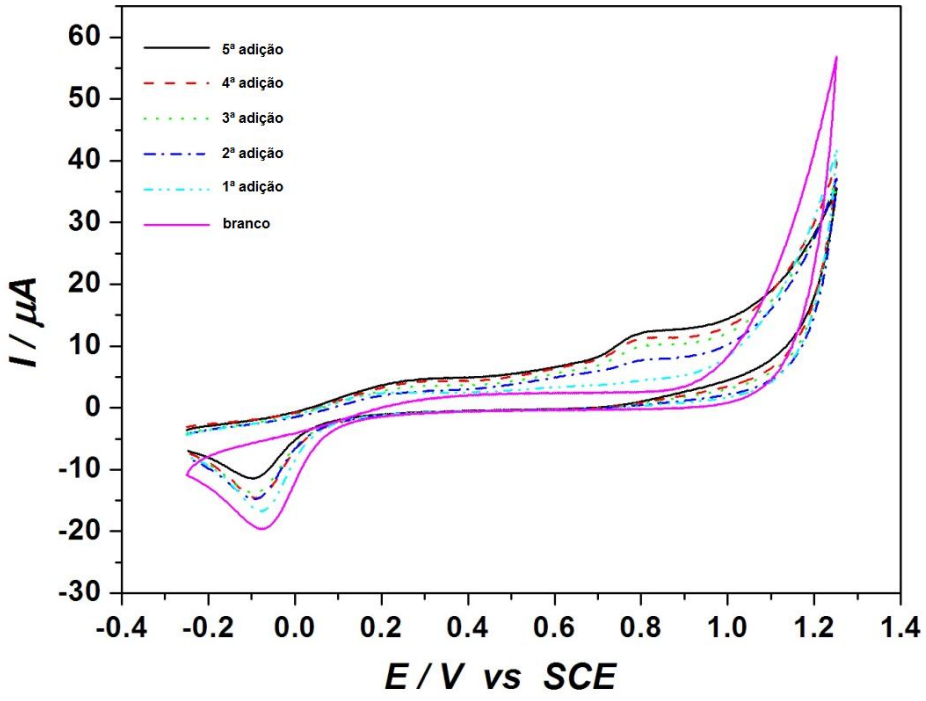


Figura 13. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de platina e tampão fosfato 0,1mol.L^{-1} (pH 7,0), contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} e sucessivas adições de MP. E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

Face ao exposto, tem-se a evidente indicação de que um desempenho eletroquímico mais favorável à oxidação dos parabenos é obtido em uma superfície

de CV e ainda, o perfil voltamétrico se altera de forma bastante significativa com a mudança do material eletródico. Fato que levou à escolha do eletrodo de CV para a realização dos demais testes.

4.2 Efeito dos substituintes

Os parabenos, derivados da esterificação do ácido *p*-hidroxibenzóico, apresentam um grupo OH, ligado ao anel benzênico, passível de processo oxidativo (Figura 14). Estudos voltamétricos foram realizados para o metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP), butilparabeno (BP) e benzilparabeno (BzP). A figura 15 apresenta voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo em solução de eletrólito suporte 0,1 $molL^{-1}$ de tampão fosfato registrados para estes diferentes parabenos mostrando uma onda anódica equivalente ao processo de oxidação destes compostos fenólicos às suas respectivas formas quinonínicas (Figura 14). Este pico anódico corresponde à oxidação do grupo OH dos parabenos sendo este processo de desidrogenação uma característica dos compostos fenólicos (MULAZIMOGLU; OZKAN, 2008; ZHU et al. 2007; MAKHOTKINA; KILMARTIN, 2010)

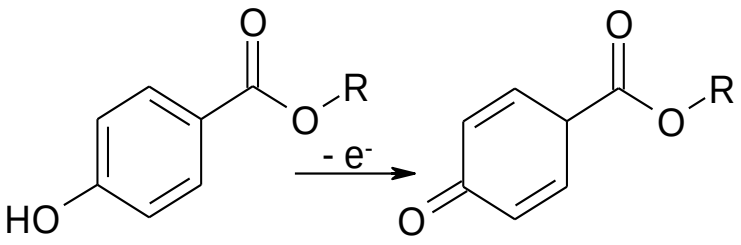


Figura 14. Oxidação de compostos fenólicos.

De acordo com Papanikos et al. (2002), quanto maior o valor de E_{pa}, menor é o seu poder elétron doador e desta forma, teoricamente, maior a sua estabilidade química. Assim sendo, os resultados obtidos demonstram que os parabenos são compostos que se oxidam em potenciais anódicos, em torno de 750 mV, que variam

de acordo com o padrão de substituição. Os picos anódicos determinam características de processo irreversível, uma vez que os voltamogramas não apresentam picos catódicos na varredura reversa. Apesar de bastante sutis, observa-se que à medida que se aumenta o número de carbonos ligados ao grupo éster, ocorre um deslocamento para potenciais menos positivos (Figura 15).

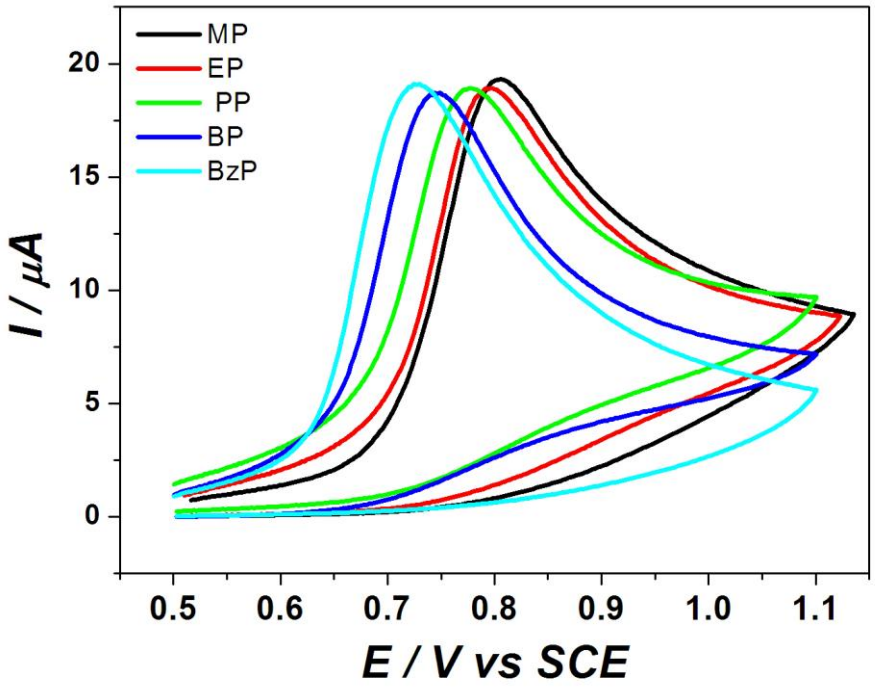


Figura 15. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} (pH 7,0),contendo diferentes derivados éster do ácido *p*-hidróxibenzóico (parabenos) a 0,25 mmol L^{-1}. E_i = 0,5 V; E_λ = 1.1 V; E_f = 0,5 V e ν = 100 mVs^{-1}.

A correlação entre os números de carbonos das cadeias laterais dos parabenos alifáticos (MP, EP, PP, BP,) e os valores de potenciais observados para oxidação dos mesmos resultou em uma curva de boa linearidade apresentando uma correlação r = 0,9914 (Figura 16). Resultado que pode ser atribuído ao aumento global do efeito indutivo positivo exercido pelos substituintes alifáticos. Isto é, à medida que se aumenta o número de carbonos nos substituintes de MP, EP, PP e BP, estes radicais, comparados a um átomo de hidrogênio, aumentam a sua capacidade de doar elétrons indutivamente para o anel. Esta doação indutiva de elétrons torna o anel mais reativo. Ou seja, à medida que se aumenta o poder

elétron doador do substituinte ligado ao grupo éster, há um aumento da densidade eletrônica da hidroxila fenólica facilitando a sua oxidação.

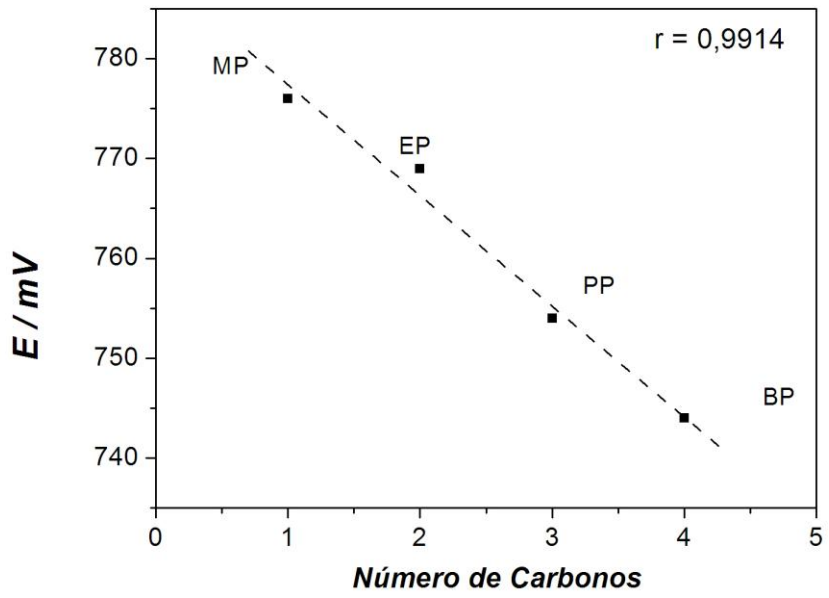


Figura 16. Correlação entre número de carbonos de substituintes alifáticos ligados a grupo éster e potenciais anódicos observados para: metilparabeno (MP); etilparabeno (EP); propilparabeno (PP) e butilparabeno (BP).

A influência dos parabenos sobre a cinética de redução eletroquímica do oxigênio foi avaliada por Korotkova et al.(2005) através da técnica de voltametria de pulso diferencial. Os coeficientes de atividade antioxidante de MP, EP, PP, BP, ácido benzóico e ácido sórbico foram determinados e comparados ao coeficiente do ácido ascórbico. Os estudos demonstraram que todos os conservantes avaliados possuem atividade antioxidante que variam na seguinte ordem: ácido ascórbico > ácido sórbico > BP > PP > EP > MP > ácido benzóico. Este estudo, em relação aos parabenos, está em concordância com os dados apresentados na figura 16, que demonstram que quanto maior a cadeia do substituinte alifático, mais facilmente a molécula é oxidada e consequentemente maior o seu poder antioxidante.

Segundo Sarker e Nahar (2009), efeito indutivo é a atração de elétrons de ligações σ adjacentes por átomos mais eletronegativos. De acordo com a reatividade

(efeito indutivo) do substituinte presente no anel benzênico (Figura 17), são observadas características eletroquímicas diferentes para as moléculas.

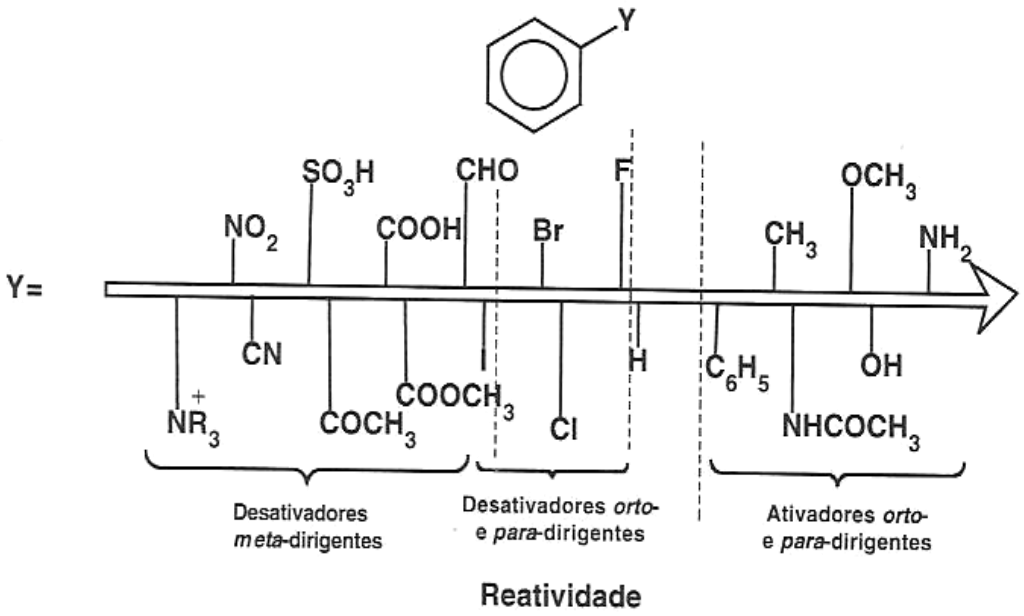


Figura 17. Efeitos de vários grupos sobre o anel de benzeno em relação à reatividade e orientação. Fonte: Sarker e Nahar, (2009).

Neste trabalho, quando foram avaliados outros derivados fenólicos *p*-substituídos, observou-se que os deslocamentos de potenciais anódicos para compostos com distintas características de eletronegatividade (efeitos indutivos I^+ e I^-) e poder doador ou receptor de elétrons, tais como: *p*-cresol, *p*-clorofenol e *p*-nitrofenol são ainda mais evidentes (Figura 18).

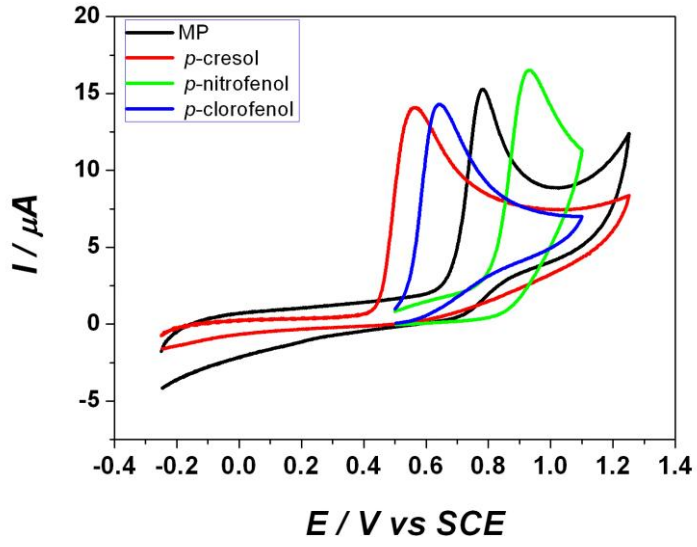


Figura 18. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol.L^{-1} (pH 7,0), contendo MP, *p*-cresol, *p*-nitrofenol e *p*-clorofenol a 0,25 mmol L^{-1} . E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

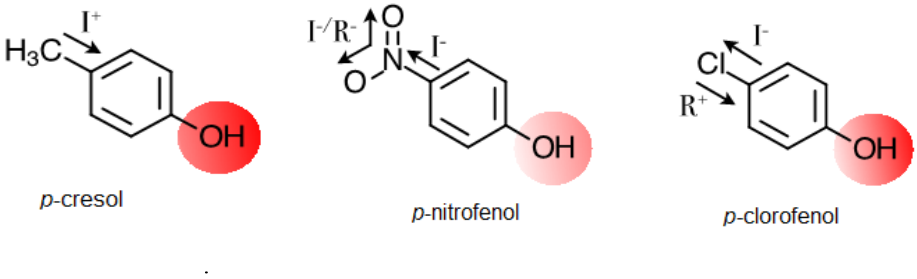


Figura 19. Efeitos eletrônicos dos diferentes substituintes fenólicos.

Os voltamogramas exibidos na figura 18 demonstram que para o *p*-cresol, o deslocamento foi cerca de 300 mV para potenciais menos positivos, quando comparado ao MP. Esta antecipação de E_{pa} é justificada pelo efeito indutivo positivo (I^+) do grupo metila. Ou seja, o substituinte metila retira menos elétrons do anel quando comparado a um átomo de hidrogênio. Desta forma, os elétrons na ligação σ que liga este substituinte são indutivamente doados ao anel (Figura 19). Este caráter elétron doador do grupo metila permite que haja um aumento da densidade eletrônica facilitando a oxidação da hidroxila fenólica.

Em contrapartida, o potencial obtido para o *p*-nitrofenol foi deslocado para valores mais positivos quando comparados ao MP (Figura 18). O efeito de ressonância é a retirada ou a doação de elétrons através de ligações π, devido à superposição de um orbital p no substituinte com um orbital p no anel aromático (SARKER; NAHAR,2009). O grupo nitro apresenta efeito indutivo negativo (I^-) e de ressonância negativo (R^-), que somados reduzem a densidade eletrônica do anel dificultando a oxidação de nitrofenóis (Figura 19).

Já o cloro presente no *p*-clorofenol, embora também apresente efeito indutivo negativo (I^-), exerce predominantemente efeito elétron doador por ressonância (R^+) devido a seus elétrons não compartilhados (Figura 19). Deste modo, justifica-se a ordem observada para potenciais anódicos: *p*-nitrofenol > MP> *p*-clorofenol > *p*-cresol (Figura 18).

4.3 Efeito da influência do pH

A influência do pH sobre o comportamento voltamétrico dos parabenos também foi avaliada. Voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo em soluções de eletrólito suporte 0,1 $molL^{-1}$ de tampão fosfato foram registrados para o MP. Variou-se o pH das soluções de eletrólitos suporte nos valores de 3,0 a 8,0 pela adição de soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio. A partir dos voltamogramas obtidos, pode-se observar que o potencial e a corrente (esta em pequena intensidade), são influenciados pelo pH do meio. A figura 20 mostra que em meio ácido a oxidação do MP ocorreu em regiões de potenciais bastante positivos ($E_{pa} \approx$ 1000 mV para pH 3,0). Em meio alcalino o pico de oxidação do grupo hidroxifenólico foi antecipado ($E_{pa} \approx$ 700 mV para pH 8,0).

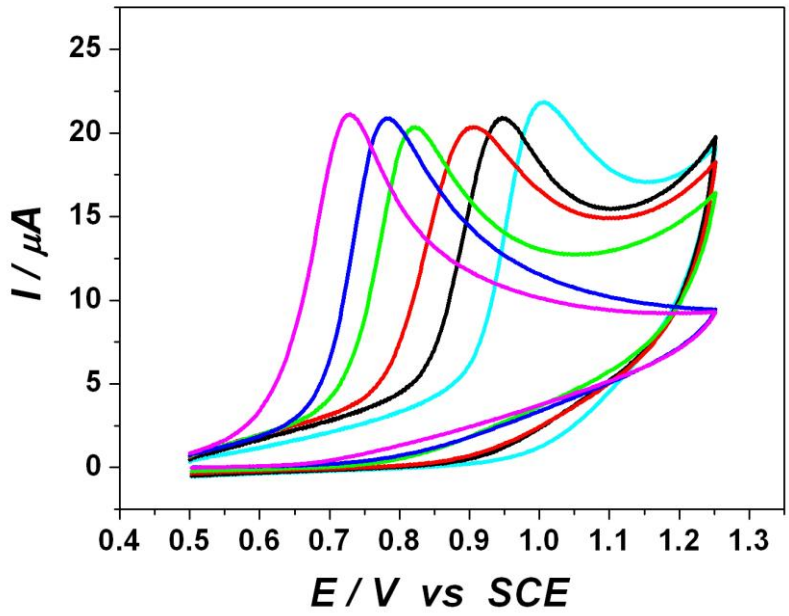


Figura 20. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo e tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} em diferentes valores de pH: 3,0 (—), 4,0 (—), 5,0 (—), 6,0 (—), 7,0 (—) e 8,0 (—); contendo MP a 0,25 mmol L^{-1} . E_i = -0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = -0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

Com isso, pode-se dizer que o potencial de pico anódico sofre efeito da influência do pH deslocando-se para valores menos positivos à medida que se aumenta a alcalinidade do meio. Ou seja, à medida que se aumenta a concentração de OH^- no meio, a remoção de H^+ torna-se favorecida e por conseguinte tem-se a ionização das moléculas. A extensão da ionização depende do pH do meio no qual a substância se encontra e do seu próprio pKa. O grau de ionização das substâncias, em diferentes valores de pH, pode ser obtido através da aplicação da equação de Henderson-Hasselbach (Equação 2), para ácidos e bases fracas.

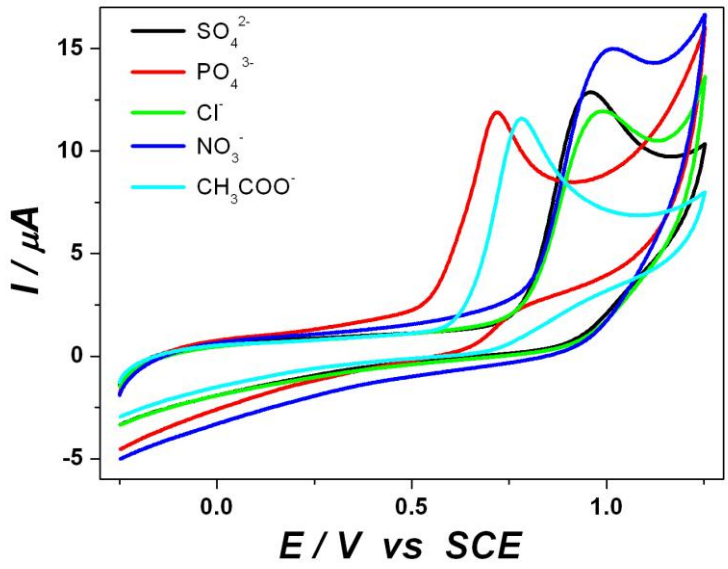
$$pH - pKa = \log [I]/[NI]$$

Equação 2. Equação de Henderson-Hasselbach para ácidos fracos. Onde, [I]: forma ionizada; [NI]: forma não ionizada.

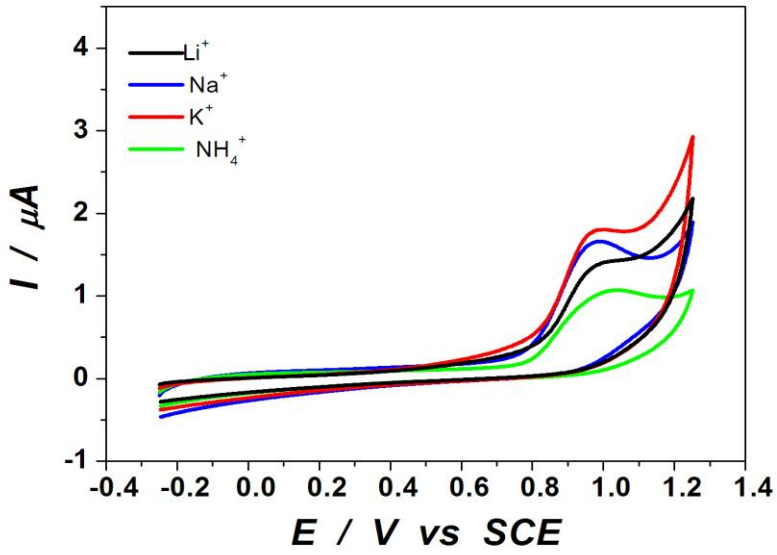
O metilparabeno possui pKa=8,7 (Carreira, 2008), e através da aplicação da equação de Henderson-Hasselbach para os diferentes valores de pH, pode-se dizer que à medida que se aumenta a alcalinidade do meio aumenta-se o número de formas ionizadas. A transferência de elétrons ocorre mais facilmente nas formas ionizadas quando comparadas às formas não ionizadas (moleculares). Sendo o processo de oxidação do metilparabeno dependente do pH, justificam-se os valores de potenciais menos positivos obtidos para as soluções alcalinas e os valores de potenciais mais positivos obtidos para as soluções ácidas.

4.4 Efeito do eletrólito suporte

As reações eletródicas podem ser influenciadas pela natureza do eletrólito suporte. Para a avaliação da influência do tipo do eletrólito suporte sobre os potenciais anódicos, o comportamento voltamétrico do MP foi investigado em eletrodo de carbono vítreo, em relação à influência de íons cátions e ânions contidos em diferentes soluções eletrolíticas 0,1mol L^{-1} em pH 7,0. Os voltamogramas registrados demonstram que o MP mostrou-se mais dependente de ânions do que de cátions contidos no eletrólito suporte. De fato, como mostra a figura 21, uma grande variação no E_{pa} e um discreto efeito nas I_{pa} foi observado para alguns ânions eletrólitos. Por outro lado, com os eletrólitos cátions observa-se algum efeito nas I_{pa} e praticamente nenhum efeito sobre os E_{pa} (Figura 22).



Figuras 21. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo contendo MP a 0,25 mmolL^{-1} em diferentes eletrólitos suporte a 0,1 molL^{-1} (pH 7,0). Ânions: sulfato, fosfato, cloreto, nitrato, acetato. E_i = - 0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = - 0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.



Figuras 22. Voltamogramas cíclicos obtidos em eletrodo de carbono vítreo contendo MP a 0,25 mmolL^{-1} em diferentes eletrólitos suporte a 0,1 molL^{-1} (pH 7,0). Cátions: lítio, sódio, potássio, amônio. E_i = - 0,25 V; E_λ = 1,25 V; E_f = - 0,25 V e ν = 100 mVs^{-1}.

Conforme já demonstrado, os parabenos se oxidam de forma irreversível e sabe-se que a transferência de íons é dificultada neste tipo de reação. A figura 21 mostra que algumas soluções que contêm ânions oxigenados nos eletrólitos antecipam as

ondas de potenciais de oxidação do MP. De maneira que a ordem decrescente dos potenciais de pico anódico é $NO_3^- \geq Cl^- > SO_4^{2-} > CH_3COO^- > PO_4^{3-}$. Pode-se dizer que o processo de oxidação foi facilitado na presença dos ânions oxigenados fosfato e acetato, visto que os E_{pa} deslocam-se para valores menos positivos quando comparados aos outros ânions. Estes deslocamentos devem-se, provavelmente, ao efeito exercido pelas cargas destes ânions. Possivelmente, os ânions fosfato e acetato, derivados de ácidos fracos, apresentam maior interação com as moléculas de parabenos, facilitando desta maneira, o processo oxidativo dos mesmos.

A figura 22 mostra que quando se trocam os cátions, mantendo-se o ânion cloreto, praticamente não se observa variação nos E_{pa}.

Por sua vez, no que se diz respeito aos valores de I_{pa}, as variações na intensidade de correntes observadas tanto para ânions quanto para cátions (figuras 21 e 22), certamente estão associadas à mobilidade destes íons.

4.5 Modelagem molecular

4.5.1 Análise dos orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO

Através dos experimentos eletroquímicos foi demonstrado que a oxidação dos parabenos é dependente do padrão de substituição da cadeia lateral da molécula. Os cálculos realizados através de análise computacional mostraram-se em concordância com os dados eletroquímicos.

A otimização da geometria das moléculas, para se obter as estruturas de mínima energia, e os cálculos baseados na Teoria da Densidade Funcional, para obtenção das energias dos orbitais de fronteira (EHOMO e ELUMO) foram realizados para MP, EP, PP, BP e BzP.

A diferença de energia entre o HOMO e o LUMO, define a energia necessária para elevar um elétron de um orbital molecular ocupado de maior energia para um orbital molecular desocupado de menor energia (HONÓRIO et al., 2007; LACERDA JÚNIOR et al.,2007). Portanto a diferença entre EHOMO e ELUMO (ΔE) é um importante índice de estabilidade por refletir a reatividade molecular. Os menores valores de ΔE caracterizam uma maior proximidade energética entre o último orbital molecular ocupado e o primeiro orbital molecular desocupado. Esta maior

proximidade possibilita uma maior facilidade de movimento dos elétrons entre seus orbitais. Uma menor diferença entre as energias HOMO e LUMO implica em uma menor estabilidade da molécula no sentido de uma maior reatividade frente a reações químicas (FATEMI, 2006).

Os valores de ΔE (EHOMO e ELUMO) foram obtidos a partir da diferença de energia entre LUMO e HOMO. Embora bastante sutis, existem diferenças de ΔE entre as moléculas de parabenos, conforme apresentado na tabela 1. Observa-se que os valores de ΔE decrescem à medida que se aumenta o tamanho da cadeia lateral das moléculas, demonstrando que estes compostos são oxidados mais facilmente.

Tabela 1. Energia dos orbitais moleculares de fronteira dos parabenos estudados, calculados usando DFT B3LYP/LACV3P*+ basis set

	Energia do Orbital Molecular de Fronteira (eV)		
	E_{LUMO}	E_{HOMO}	ΔE*
Metilparabeno	0,122	-0,058	0.181
Etilparabeno	0,115	-0,059	0.174
Propilparabeno	0,110	-0,060	0.170
Butilparabeno	0,105	-0,061	0.165
Benzilparabeno	0,097	-0,063	0.160

* $\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$

Ao se fazer a correlação entre os potenciais de oxidação e a diferença entre as energias de HOMO e LUMO (ΔE) dos parabenos, obteve-se uma curva de boa linearidade apresentando uma correlação r =0,98286 (Figura 23). Vale ressaltar que as energias de HOMO e LUMO são descritores que fornecem informações acerca do caráter elétron doador e/ou elétron receptor de um composto. Pode-se dizer que o fato de os parabenos serem mais facilmente oxidados à medida em que se aumentam o número de carbonos na cadeia lateral, na verdade se deve à decrescente diferença entre EHOMO e ELUMO, devido ao efeito indutivo realizado pelos grupos presentes na cadeia lateral como doadores de elétrons para o grupo fenil. De maneira que potenciais de oxidação menores são observados para as moléculas de maiores cadeias justamente por apresentarem menores valores de ΔE.

Deste modo, a ordem de potenciais de oxidação observados para estes compostos nos experimentos eletroquímicos (BzP < BP < PP < EP < MP), é justificada pela ordem de reatividade das moléculas de acordo com as diferenças de EHOMO - ELUMO (BzP > BP > PP > EP > MP).

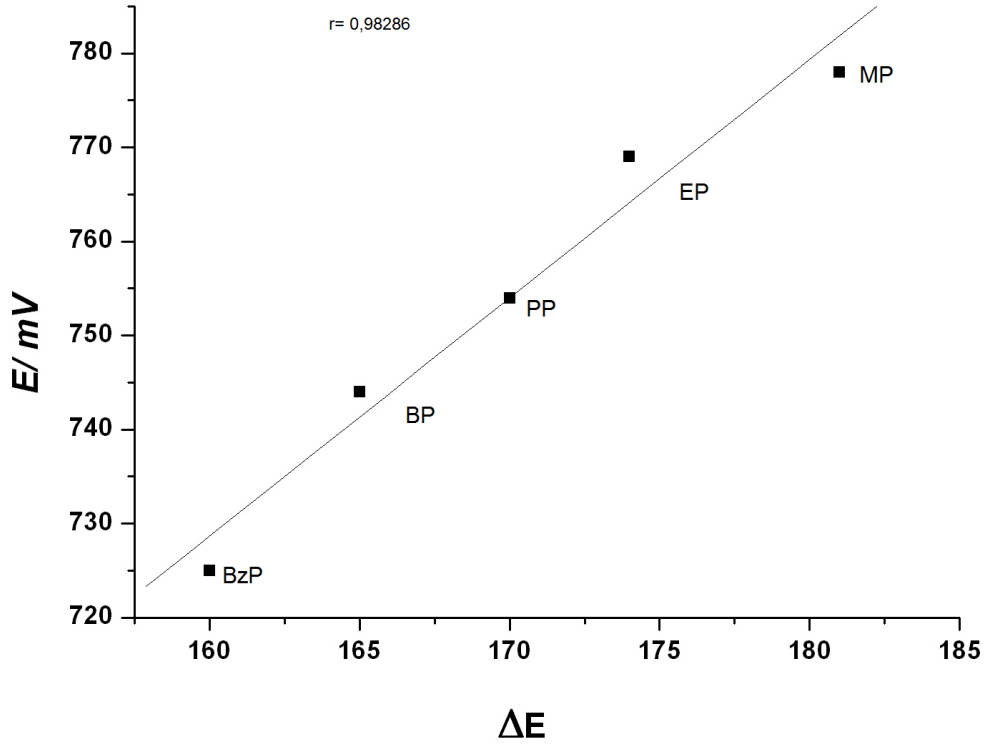


Figura 23. Correlação entre os potenciais de oxidação e a diferença entre as energias de HOMO e LUMO (ΔE) dos parabenos.

Eletroquimicamente pode-se dizer que o eletrodo de trabalho possui orbitais atômicos sobrepostos que possibilitam que os elétrons fluam livremente ocupando níveis contínuos de energia. O nível eletrônico ocupado mais elevado no eletrodo é denominado nível de Fermi. Ao se aplicar um potencial elétrico ao eletrodo ocorrerá um aumento ou uma redução da energia do nível de Fermi do metal. Desta forma, o nível de Fermi será influenciado de tal maneira a favorecer a transferência de elétrons do eletrodo para o analito (redução) ou favorecer a transferência de elétrons do analito para o eletrodo (oxidação) (Figura 24). Sendo que a transferência de elétrons ocorre entre o nível mais elevado de energia ocupado no eletrodo (nível de

Fermi E_F) e o nível de energia do par redox em solução (E_{redox} = EHOMO e ELUMO) (BRETT; BRETT, 1996).

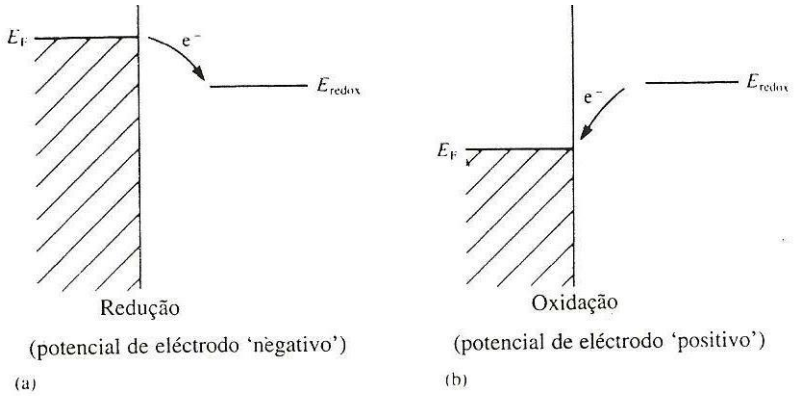


Figura 24. Transferência de elétron em eletrodo metálico. O potencial aplicado ao eletrodo altera o nível de energia eletrônica mais elevado, E_F, facilitando a redução (a) ou a oxidação (b). Fonte: Brett e Brett, (1996).

Quando o analito (por exemplo, uma espécie eletroativa passível de sofrer redução) é colocado em solução, o seu LUMO pode se encontrar, em termos energéticos, em níveis acima ou abaixo do nível de Fermi. Quando o LUMO da espécie eletroativa se encontra acima do nível energético do eletrodo, a transferência de elétrons do metal para a espécie torna-se desfavorável. Nesta situação, potenciais suficientemente negativos devem ser aplicados de forma que a energia dos elétrons no eletrodo seja aumentada de modo satisfatório para que os elétrons do eletrodo possam ser transferidos para o LUMO do analito. Uma corrente de elétrons (corrente de redução), então, fluirá do eletrodo para o analito (Figura 25 a). Em casos onde o analito (por exemplo, uma espécie eletroativa passível de sofrer oxidação) possui seu HOMO abaixo do nível de Fermi, é possível abaixar a energia dos elétrons no eletrodo através da aplicação de potenciais mais positivos. De maneira que se atinjam níveis energéticos satisfatórios para a transferência de elétrons da espécie eletroativa para o eletrodo. Obtendo-se, no caso, uma corrente de oxidação (Figura 25 b) (DIONÍSIO, 2006).

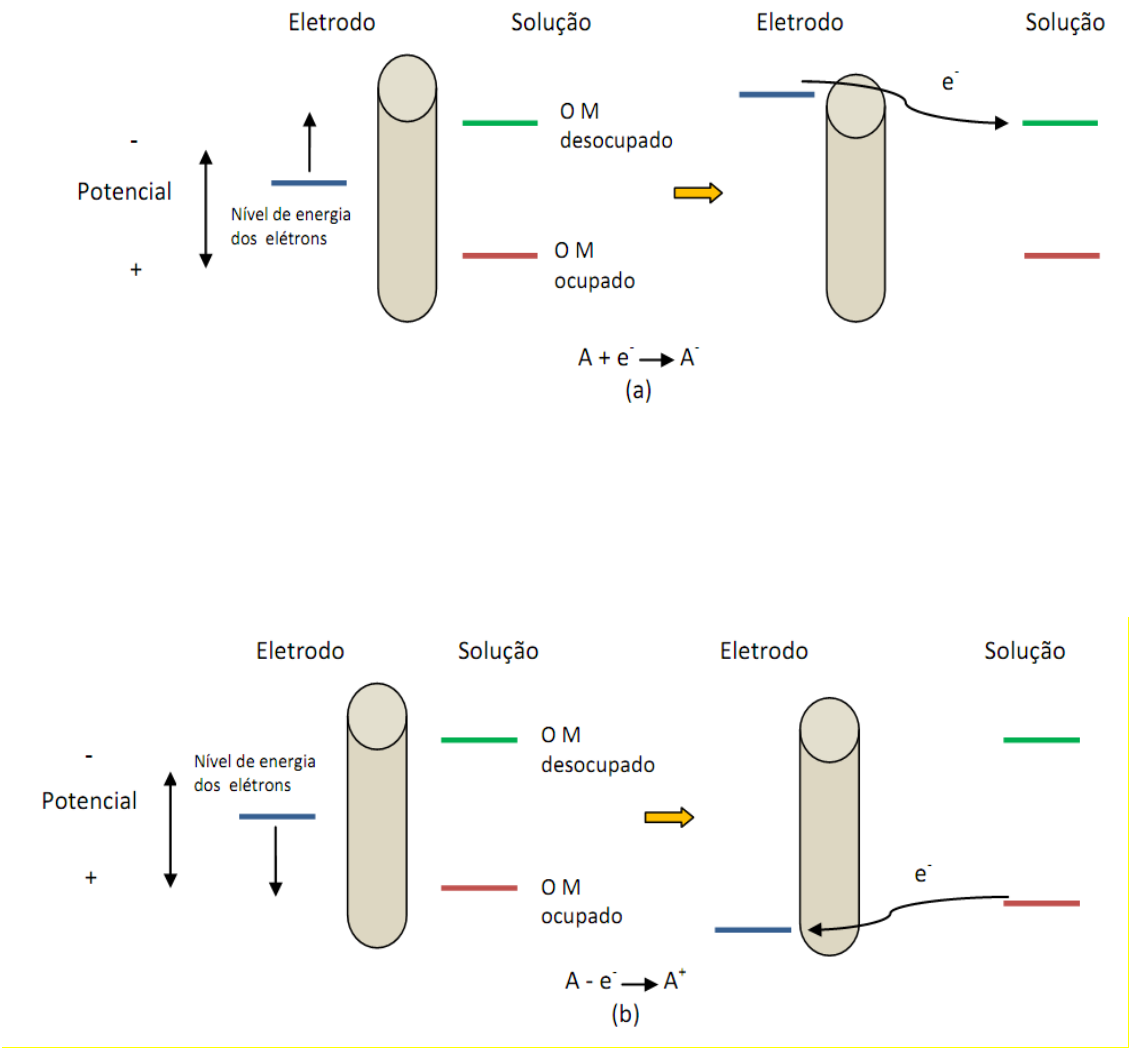


Figura 25. Representações de processo de redução (a) e processo de oxidação (b) de espécies eletroativas. Os orbitais moleculares (OM) da espécie A mostrados são o orbital molecular ocupado de maior energia e o orbital molecular desocupado de menor energia. Adaptado de Bard e Faulkner, 2001.

4.5.2 Orientação da densidade eletrônica

O potencial eletrostático é definido como a energia de interação entre um ponto de carga positiva, localizada em um ponto p, com o núcleo e os elétrons da molécula, e representa um balanço entre as interações de repulsão com os núcleos dos átomos e as interações de atração com os elétrons. Na maioria das moléculas, durante a formação das mesmas, ocorrem rearranjos de carga eletrônica produzindo normalmente uma ou mais regiões de potencial negativo relatado, como por

exemplo, pares de elétrons livres ou elétrons π de moléculas insaturadas (FIORIN, 2006).

Os mapas de potencial eletrostático (MEP) demonstram o valor do potencial eletrostático mapeado sobre uma superfície de densidade eletrônica, onde uma imagem colorida apresenta o potencial eletrostático adicionado à estrutura. As cores evidenciam as regiões ricas e deficientes em elétrons. Em geral, a cor vermelha indica alta densidade eletrônica e a cor azul indica baixa densidade eletrônica. Cores próximas ao vermelho indicam valores negativos do potencial, enquanto cores próximas ao azul representam valores positivos de potencial. (GOMES; MOITA NETO, 2007).

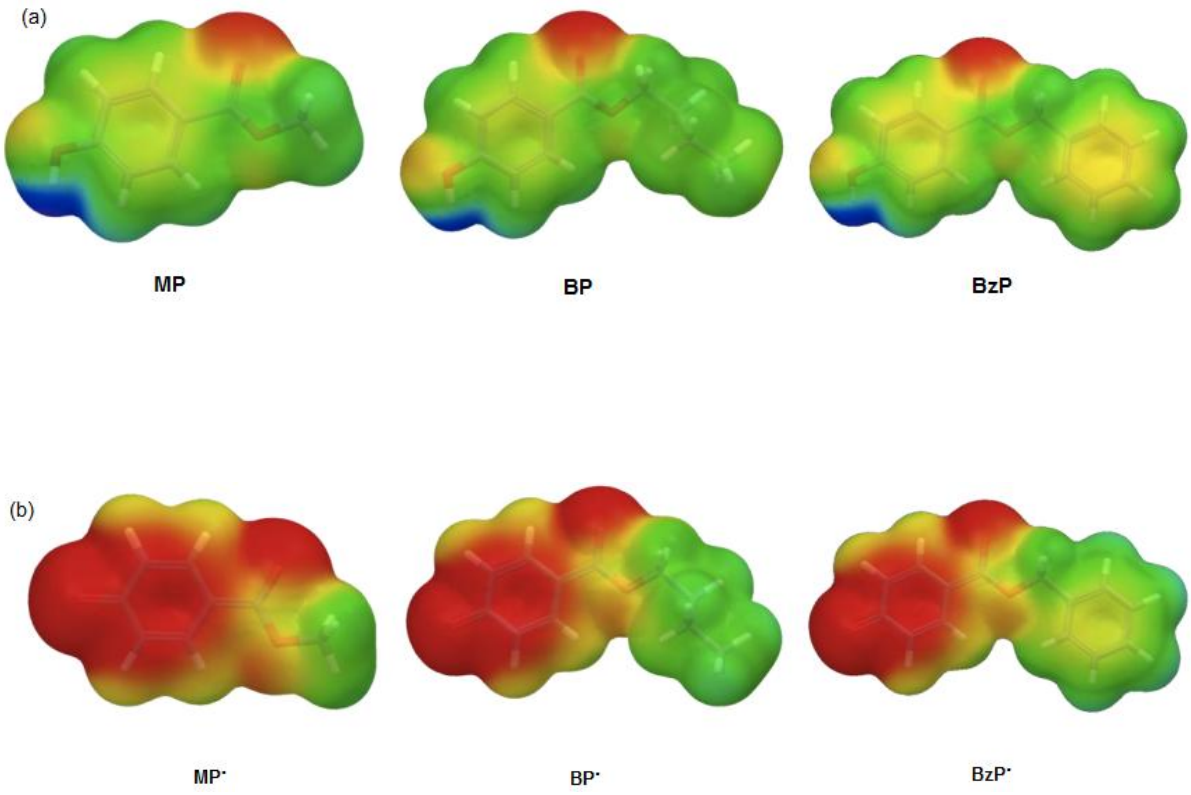


Figura 26. Mapa de potencial eletrostático para MP, BP e BzP em suas formas neutras (a) e radicais (b). O código de cores está na faixa de - 55,0 (vermelho intenso) + 100,0 (azul intenso) kcal / mol.

Foram feitos mapas de potencial eletrostático para MP, BP e BzP em suas formas neutras e radicais. A figura 26a mostra os MEP realizados para as formas

neutras e indica que a densidade eletrônica está concentrada nos oxigênios dos grupos acilas. A cor vermelha intenso indica valores extremos de potencial negativo. As hidroxilas fenólicas e os anéis apresentam-se em cores próximas ao laranja indicando valores de potencial intermediário. Através das cores representadas no mapa, é possível observar que à medida que se aumentam os números de carbonos ligados ao grupo éster (MP e BP), ocorre o aumento da densidade eletrônica da hidroxila fenólica. Os MEP das formas radicais (Figura 26b) demonstram que o processo de oxidação dos parabenos provoca grandes alterações no perfil eletrônico das moléculas, aumentando intensamente a densidade eletrônica sobre o anel devido à deslocalização dos elétrons. E ainda, mostra que a carga negativa é mantida nos átomos de oxigênio dos grupos acilas devido a sua eletronegatividade.

5 CONCLUSÕES

A oxidação dos derivados do ácido *p*-4-hidroxibenzóico, os parabenos, às suas respectivas formas quinonínicas mostrou grande dependência do padrão de substituição. Pois, à medida que se aumenta o número de carbonos ligados ao grupo éster, ocorre um deslocamento para potenciais menos positivos devido ao aumento da densidade eletrônica da hidroxila fenólica.

Os resultados obtidos demonstraram que os parabenos são compostos bastante estáveis à oxidação e se oxidam de forma irreversível em potenciais anódicos relativamente altos (≈750 mV).

Os experimentos demonstraram que o processo oxidativo dos parabenos é influenciado pela composição e pH do eletrólito suporte e ainda pelo material eletródico empregado.

Os estudos de modelagem molecular propiciaram a avaliação da reatividade das moléculas através da análise dos orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO e ainda a obtenção dos mapas de potencial eletrostático molecular (MEP) dos parabenos indicando seus possíveis sítios de reatividade.

As simulações computacionais ofereceram uma concordância qualitativa com os resultados experimentais eletroquímicos sugerindo que a oxidação dos parabenos mostra ser dependente do padrão de substituição da cadeia lateral da molécula.

Os estudos ressaltam, mais uma vez, as potencialidades dos métodos voltamétricos em estabelecer correlações entre estrutura química e propriedades/parâmetros eletroquímicos.

E ainda, os estudos demonstram a interessante possibilidade de utilização das duas técnicas, Voltametria e Modelagem Molecular, de maneira complementar, na investigação de propriedades moleculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, M.N.; MOSTAFÁ, G.A.E. Gallamine tetraphenylborate-modified carbon paste electrode for the potentiometric determination of gallamine triethiodide (Flaxedil). **Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis,** v.31, n.4, p. 819-826, 2003.

AGOSTINHO, S. M. L.; VILLAMIL, R. F. V.; AGOSTINHO NETO, A.; ARANHA, H. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química Nova**, v.27, n.5, p.813-817, 2004.

ALEIXO, L. M. **Voltametria: Conceitos e Técnicas.** Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas , São Paulo, 2003. Disponível em: <http://www.chemkeys.com>. acesso em: 15 out. 2010.

ALI, M. S.; GHORI M.; KHETRI, A. R. Stability indicating simultaneous determination of domperidone (DP), methylparaben (MP) and propylparaben by high performance liquid chromatography (HPLC). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, p.358-365, 2006.

ALMEIDA, C. M. V.; BONILLA, S. H.; FERRERONE, M.C.; GIANNETTI, B.F. **Uma Importante Invenção (feita com: Metais, Papelão, Salmoura e Sagacidade).** Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Paulista, São Paulo, 1999. Disponível em: http://www.hottopos.com.br/regeq4/invention.htm> Acesso em: 16 out. 2010.

AMIN, A.; CHAUHAN, S.; DARE, M.; BANSAL, A. K. Degradation of parabens by Pseudomonas beteli and Burkholderia lateens. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v.75, p.206–212, 2010.

ANDRADE, C. H.; TROSSINI, G. H. G.; FERREIRA, E. I. **Modelagem molecular no ensino de química farmacêutica**. Revista Eletrônica de Farmácia, v.7, n.1, p.1-23, 2010. Disponível em: <www.revistas.ufg.br >. Acesso em: 03 ago. 2010.

ATEMNKENG, M.A.; MARCHAND, E.; PLAIZIER-VERCAMMEN, J. Assay of artemether, methylparaben and propylparaben in a formulated paediatric antimalarial dry suspension. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,** v.43, p.727–732, 2007.

BAALBAKI, B.; BLANCHIN, M. D.; FABRE, H. Validation of a micellar electrokinetic capillary chromatography method for the determination of imidurea, methyl and propylparabens in a pharmaceutical ointment. **Analytica Chimica Acta**, v.463, p.15–20, 2002.

BARD, A.; FAULKNER, L. **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**. 2nd ed. New York: John Wilwy & Sons, 2001.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G.; SANT'ANNA, C. M. R.; ALENCASTRO, R. B. Modelagem Molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal1. **Química Nova**, v.20, n.3, p. 300-310, 1997.

BELTRAN, A.; MARCE, R.M.; CORMACK, P.A.G.; BORRULL, F. Synthetic approaches to parabens molecularly imprinted polymers and their applications to the solid-phase extraction of river water samples. **Analytica Chimica Acta,** v. 677, p.72–78, 2010.

BLANCO, E.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R. Combination of off-line solid-phase extraction and on-column sample stacking for sensitive determination of parabens and *p*-hydroxybenzoic acid in waters by non-aqueous capillary electrophoresis. **Analytica Chimica Acta**, v.647, p.104–111, 2009.

BORREMANS, M.; LOCO, J.V.; ROOS, P.; GOEYENS, L. Validation of HPLC Analysis of 2-Phenoxyethanol, 1-Phenoxypropan-2-ol, Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl and Benzyl 4-Hydroxybenzoate (Parabens) in Cosmetic Products, with Emphasis on Decision Limit and Detection Capability. **Chromatographia**, v.59, p.47–53, 2004.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada, nº 162, de 11 de setembro de 2001. Estabelece a Lista de Substâncias de Ação Conservantes para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes.

BRETT, A.M.O.; CHRISTOPHER M. A. BRETT, C. M. A. **Electroquímica. Princípios, métodos e aplicações.** Livraria Almedina , Coimbra - Portugal, 1996.

CAON, T.; COSTA, A. C. O.; OLIVEIRA, M. A. L.; MICKE,G. A.; SIMOES, C. M. O. Evaluation of the transdermal permeation of different paraben combinations through a pig ear skin model. **International Journal of Pharmaceutics,** v.391, p.1-6, 2010.

CARREIRA, F. **Determinação de Parabenos em antitranspirantes empregando Voltametria sob eletrodo de diamante e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.** Dissertação de Mestrado – Departamento de Química Analítica da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, 2008. Disponível em: <biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtls000442047.pdf> Acesso em: 21 fev. 2011

CARVALHO, I.; PUPO, M.T.; BORGES, A.D.L.; BERNARDES, L.S.C**.** Introdução à modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Quimica Nova,** v.26, n.3, p.428-438, 2003.

CARVALHO, I.; BORGES, A.D.L.; BERNARDES, L.S.C. Medicinal chemistry and molecular modeling: an integration to teach drug structure–activity relationship and the molecular basis of drug action. **Journal of Chemical Education,** v.82, n.4, p.588-96, 2005.

COLIPA - The European Cosmetics Association. SCCS recommends use levels for most widely used parabens.17/12/2010. Disponível em: <http://www.colipa.eu/news-a-events/statements.html> Acesso em: 13/02/2011.

COWAN-ELLSBERRY, C.E.; ROBISON, S.H. Refining Aggregate Exposure: Example using Parabens. **Regulatory Toxicology and Pharmacology,** v. 55, p. 321–329, 2009.

CUELLO, A. O.; MCINTOSH, C. M.;ROTELLO, V. M. Model systems for flavoenzyme activity. The role of N(3)-H hydrogen bonding in flavin redox processes. **Journal of the American Chemical Society,** v.122, p.3517-3521, 2000.

DARBRE, P. D.; ALJARRAH, A.; MILLER, W. R.; COLDHAM, N. G.; SAUER, M. J.; POPE, G. S. Concentrations of parabens in human breast tumours. **Journal of Applied Toxicology**, v.24, n.1, p.5–13, 2004.

DARBRE, P. D.; HARVEY, P. W. Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. **Journal of Applied Toxicology,** v**.**28, n.5, p. 561-78, 2008.

DIONÍSIO, Madalena. **Apontamentos de voltametria para a disciplina de métodos electroanalíticos da licenciatura de química aplicada**. Universidade Nova de Lisboa . Departamento de Química. Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2006/2007, Caparica – Portugal. Disponível em: <http://www.dq.fct.unl.pt/cadeiras/miai/.../Voltametria%20MIA2005.pdf> Acesso em: 15 set, 2010.

EL-MAALI, N. A. Voltammetric analysis of drugs. **Bioelectrochemistry**, v.64, p.99-107, 2004.

ELSTNER, M.; HOBZA, P.; FRAUENHEIM, T.; SUHAI, S.; KAXIRAS,E. Hydrogen bonding and stacking interactions of nucleic acid base pairs: A density-functional-theory based treatment. **Journal of Chemical Physics,** v.114, n.12 p. 5149- 5151, 2001.

ERIKSSON, E.; ANDERSEN, H.R.; LEDIN, A. Substance flow analysis of parabens in Denmark complemented with a survey of presence and frequency in various commodities. **Journal of Hazardous Materials**, v.156, p.240–259, 2008.

FATEMI, M.H. Prediction of ozone tropospheric degradation rate constant of organic compounds by using artificial neural networks. **Analytica Chimica Acta,** v. 556, p. 355-363, 2006.

FDA (Federal Drug and Food Administration), 2007. **Parabens**. Disponível em:<http://www.fda.gov/Cosmetics/ProductandIngredientSafety/SelectedCosmeticIngredients/ucm128042.htm>Acesso em: 24 set. 2010.

FERREIRA, M.; VARELA, H.; TORRESI, R. M.; TREMILIOSI-FILHO G. Electrode passivation caused by polymerization of different phenolic compounds. **Electrochimica Acta,** v.52, n.2, p. 434-442, 2006.

FIORIN, B. C. **Estudo do Isomerismo Rotacional de α-Halotioésteres e α-Fluoracetofenonas por Cálculos Teóricos e pelas Espectroscopias de RMN e IV**. 2006. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006. Disponível em: < http://www.pqu.uem.br/arquivos/documentos/do008c.pdf> Acesso em: 15 nov. 2010.

GATTRELL, M. E D.; KIRK, W. The electrochemical oxidation of aqueous phenol at a glassy carbon electrode. **Canadian Journal of Chemical Engineering,** v.68, n.6, p. 997–1003, 1990.

GATTRELL, M. E D.; KIRK, W. A Study of Electrode Passivation during Aqueous Phenol Electrolysis. **Journal of The Electrochemical Society,** v.140, n.4, p.903-911, 1993.

GOMES, M.S.S.O.; MOITA NETO, J.M. **Modelos Computacionais aplicados ao Ensino de Química.** In: 47º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2007,Natal, RN. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/3/3-750-722.htm>. Acesso em: 03 nov. 2010.

HANDA, O.; KOKURA, S.; ADACHI, S.; TAKAGI, T.; NAITO, Y.; TANIGAWA, T.; YOSHIDA, N.; YOSHIKAWA, T. Methylparaben potentiates UV-induced damage of skin keratinocytes. **Toxicology,** v.227, p.62–72, 2006.

HAMOUDOVA, R.; POSPISILOVA, M.; KAVALIROVA, A.; SOLICH, S.; SICHA, J. Separation and determination of clotrimazole, ethylparaben and propylparaben in pharmaceutical preparation by micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.40, p. 215–219, 2006.

HASSAN, S.S.M.; MAHMOUD,W.H.; ELMOSALLAMY, M. A. F.; ALMARZOOQI, M.H. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations using a novel PVC membrane sensor. **Pharmazie**, v.58, n.1, p.29 - 31, 2003.

HONÓRIO, K. M.; HOMEM DE MELLO, P.; VARELA, H.; SILVA, A.B.F. **Influência das Energias dos Orbitais de Fronteira na Reatividade Química de Substâncias Bioativas.** In: 47º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2007,Natal, RN. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/3/3-750-722.htm>. Acesso em: 03 nov. 2010.

HUANG, TIEHUA; GAO, PING; HAGEMAN, MICHAEL J. Rapid screening of antioxidants in pharmaceutical formulation development using cyclic voltammetry - potential and limitations. **Current Drug Discovery Technologies**, v.1, n.2, p.173-179, 2004.

JI, X.; XU, Z.; CRISWELL, H. E.; BOYSEN, P. G. Propyl paraben inhibits voltage-dependent sodium channels and propyl paraben inhibits voltage-dependent sodium channels and protects cardiomyocytes from ischemia-reperfusion injury. **Life Sciences,** v.74, p.3043–3052, 2004.

JOHNSON, D.L.; MAXWELL, C.J.; LOSIC, D.; SHAPTER, J.G.; MARTIN, L.L. The influence of promoter and of electrode material on the cyclic voltammetry of Pisum sativum plastocyanin. **Bioelectrochemistry**, v.58, p.137-147, 2002.

JUSTINO, G.C.; VIEIRA, A.J.S.C. Antioxidant mechanisms of Quercetin and Myricetin in the gas phase and in solution – a comparison and validation of semi-empirical methods. *Journal* **of Molecular Modeling,** v.16, p.863-876, 2010.

KANG, H.S.; KIM,H. Simultaneous Determinations of Methylparabens, Propylparabens, and Thimerosal by High-performance Liquid Chromatography and Electrochemical Detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.15, p.1359-1364,1997.

KOLLMORGEN, D.; KRAUT, B. Determination of methylparaben, propylparaben and chlorpromazine in chlorpromazine hydrochloride oral solution by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v.707, p.181–187, 1988.

KOROTKOVA, E.I.; AVRAMCHIK, O.A.; ANGELOV, T.M.; KARBAINOV, Y.A. Investigation of antioxidant activity and lipophilicity parameters of some preservatives.**Electrochimica Acta,** v.51, p.324-332, 2005.

LACERDA JÚNIOR, V.; OLIVEIRA, K. T.; SILVA, R. C.; CONSTANTINO, M. G.; SILVA, G. V. J. Reactivity in Diels-Alder reactions: a computational experiment. **Química Nova,** v.30, n.3, p.727-730, 2007.

MACRENE, A.A. Parabens toxicity to skin and other organs. **Journal of Drugs in Dermatology,** v.7, n.1, p.77-78, 2008.

MAHUZIER, P. E.; ALTRIA, K. D.; CLARK, B. J. Selective and quantitative analysis of 4-hydroxybenzoate preservatives by microemulsion electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.924, p.465–470, 2001.

MAKHOTKINA, O.; KILMARTIN, P. A. The use of cyclic voltammetry for wine analysis: Determination of polyphenols and free sulfur dioxide. **Analytica Chimica Acta**, doi:10.1016/j.aca.2010.03.064, 2010.

MAZO, L.H.; BARTHUS R.C.; CASTILHO, M.; COMAR, D.S.; TOLEDO, R.A.; MALAGUTTI, A.R. Utilização de instrumentação eletroanalítica Lab-Made para o estudo e determinação de fármacos, vitaminas e pesticidas**. Revista Analytica,** v.4, p.44-52, 2003.

MINCEA, M.M.; LUPSA, I.R.; CINGHITĂ, D.F.; RADOVAN, C.V.; TALPOS, I.; OSTAFE,V. Determination of methylparaben from cosmetic products by ultra performance liquid chromatography. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v.74, p.669-676,2009.

MORGON, N. H.; CUSTÓDIO, R. Teoria do Funcional de Densidade. **Química Nova**, v.18, n.11, p.44-55, 1995.

MSAGATI, T. A. M.; BARRI, T.; LARSSON, N.; JÖNSSON, J.A. Analysis and quantification of parabens in cosmetic products by utilizing hollow fibre- supported liquid membrane and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **International Journal of Cosmetic Science,** v.30, p.297-307, 2008.

MULAZIMOGLU, I.E.; OZKAN, E. Investigation of electrochemical behaviour of quercetin on the modified electrode surfaces with procaine and aminophenyl in non-aquous medium**. E-Journal of Chemistry**, v.5,n.3, p.539-550, 2008.

NIEMZ, A.; ROTELLO, V. M. J. Modification of Spin Density Distribution via Specific Hydrogen Bond Interactions: an Experimental, UHF and Density Functional Study. **Journal of the American Chemical Society,** v.119, p.6833-6836, 1997.

NIEMZ, A.; CUELLO, A.; STEFFEN, L. K.; PLUMMER, B. F.; ROTELLO, V. M. Electron Confinement in Structurally Constrained s-bonded p-systems. An Experimental and Density Functional Investigation. **Journal of the American Chemical Society,** v.122*,* p.4798-4802, 2000.

NOROUZI, P.; GANJALI, M. R.; DANESHGAR, P. A novel method for fast determination of Ranitidine in its pharmaceutical formulations by fast continuous cyclic voltammetry. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods,** v.55, p.289–296, 2006.

OKAMOTO, Y.;HAYASHI, T.; MATSUNAMI, S.; UEDA, K.; KOJIMA, N. Combined Activation of Methyl Paraben by Light Irradiation and Esterase Metabolism toward Oxidative DNA Damage. **Chemical Research in Toxicology**, v.21 n.8, p.1594–1599, 2008.

PAPANIKOS, A.; EKLUND, J.; JACKSON, W.R.; KENCHE, V.B.; CAMPI, E. M.; ROBERTSON, A. D.; JARROTT, B.; BEART, P. M.; MUNRO, F. E.; CALLAWAY, J. K. Cyclic voltammetry as an indicator of antioxidant activity. **Australian Journal of Chemistry**, v.55, p.205-212, 2002.

RADOVAN,C.; CINGHITA,D.; MANEA,F.; MINCEA,M.; COFAN,C.; OSTAFE,V. Eletrochemical sensing and assessment of Parabens in Hydro-alcoholic solutions and Water using a Boron- Doped Diamond Electrode. **Sensors**, v.8, n.7, p. 4339-4349, 2008.

RAGGI, M.A.; BUGAMELLI, F.; PUCCI, V. Determination of melatonin in galenic preparations by HPLC and voltammetry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.29, p.283-289, 2002.

REGUEIRO, J.; Becerril, E.; Jares, C.G.; Llompart,M. Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.23, p.4693-4702, 2009.

RIAD, S. M.; RIZK, N. M. H. Potentiometric and fluorimetric determinations of ofloxacin in pharmaceutical preparations**. Mansoura Journal of pharmaceutical Sciences,** v.24, n.1, p.1-8, 2008.

SANT'ANNA, C. M. R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da IUPAC para 1997). **Química Nova**, v.25, n.3, p.505-512, 2002.

SANTOS, A. C.; LUZ, R. A. S.; FERREIRA, L. G. F.; SANTOS JÚNIOR, J.R.; SILVA, W.C. Organização supramolecular da ftalocianina de cobalto (ii) e seu efeito na oxidação do aminoácido cisteína. **Química Nova,** v**.**33, n.3, p.539-546, 2010.

SARKER S. D.; NAHAR L. **Química para estudantes de farmácia: química geral, orgânica e de produtos naturais.** 1 ed. Rio de Janeiro-RJ: Editora Guanabara Koogan S.A. 2009.

SCCP (Scientific Committee on Consumer Products of European Commission). **Extended Opinion on Parabens, underarm cosmetics and breast cancer**. 2005. Disponível em: <ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/../sccp_o_00d.pdf> Acesso em: 24 set. 2010.

SCCP (Scientific Committee on Consumer Products of European Commission). **Opinion on Parabens**. COLIPA n° P82. 2008. Disponível em:< http://ec.europa.eu/health/ph_risk/risk_en.htm> Acesso em: 24 set. 2010.

SERRANO, S.H.P.;MACHADO, S.A.S.; GIL, E.S. Métodos Eletroquímicos. In: GIL, E.S. **Controle Físico Químico de Qualidade de Medicamentos**. 2.ed. São Paulo, SP: Pharmabooks, p.405-407,2007.

SHAW, J.; CATANZARO, D. Estrogenicity of parabens revisited: Impact of parabens on early pregnancy and an uterotrophic assay in mice. **Reproductive Toxicology,** v.28, p.26-31, 2009.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6.ed. Porto Alegre: Bookman Editora, 2009.

SONI, M.G.; TAYLOR, S.L.; GREENBERG, N.A.; BURDOCK, G.A. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. **Food and Chemical Toxicology**, v.40, p.1335-1373, 2002.

SONI, M. G.; CARABIN, I.G.; BURDOCK, G.A. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). **Food and Chemical Toxicology**, v.43, p.985–1015, 2005.

TICIANELLI, E. A.; GONZALEZ, E. R. **Eletroquímica : princípios e aplicações**. 2. Ed. São Paulo : Edusp, 2005.

VRIES, E. J. C.; CAIRA, M.R. A structural and thermal investigation of the inclusion of parabens in heptakis(2,6-di-O-methyl)cyclomaltoheptaose. **Carbohydrate Research,** v.343, p.2433–2438, 2008.

WANG, Y.; CAO, Y.; FANG, C.; GONG, Q. Electrochemical sensor for parabens based on molecular imprinting polymers with dual-templates. **Analytica Chimica Acta,** v.673, 145-150, 2010.

ZHU, X.; SHI, S.; WEI, J.; FANXIU, L.V, ZHAO, H.; KONG, J.; HE, Q.; NI, J. Electrochemical Oxidation Characteristics of p-Substituted Phenols Using a Boron-Doped Diamond Electrode. **Environmental Science & Technology,** v.41, p.6541-6546, 2007.