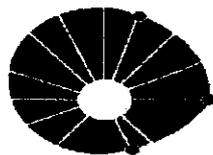


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



UNICAMP



INSTITUTO DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

***ESTUDO DAS PROPRIEDADES
ELETROQUÍMICAS DE DÍMEROS DE
RÓDIO PARA O DESENVOLVIMENTO DE
SENSORES E SOB UM ENFOQUE
BIOELETROQUÍMICO***

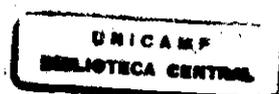
TESE DE DOUTORADO

Aluno : *Eric de Souza Gil*

Orientador : *Prof. Lauro Tatsuo Kubota*

Co-Orientador : *Prof. Graciliano de Oliveira Neto*

Novembro de 2000



Dedicatória

Dedico este trabalho,
a minha esposa *Joyce*
e a minha irmã *Erica*
pelo apoio constante e
pelo amor sincero e
desprendido...

Agradecimentos

Agradeço a meu orientador *Prof. Lauro Tatsuo Kubota* pela oportunidade dada e sobretudo pelos exemplos de paciência, competência, decência e trabalho demonstrados.

A todos amigos do Leeds (*Lauro, Simone, Miyuki, Percy, Karen, Adélia, Bete, Zana, Arnaldo, Pilar, Julio, Laércio, Tânia e Jequié*) um agradecimento especial pelo apoio, carinho e por toda ajuda ofertada.

Agradeço a todos docentes com quem convivi e/ou interagi durante este percurso, não podendo de maneira alguma deixar de citar minha ex-orientadora e amiga a *Profa. Elizabeth Igne Ferreira* e meus amigos o *Prof. Renato Najjar* e a *Profa. Sílvia Helena Pires Serrano*.

Aos amigos que fiz na Unicamp com os quais pude compartilhar também bons momentos fora dela : *Antonio, Rosangela, Emerson, Anderson, Marcelo, Odair, Francisco, Toti, Vera, Noemia, Antenor* ... meu sincero agradecimento e a esperança de continuar compartilhando bons momentos.

Agradeço também aos meus pais Ana e João pela dedicação a minha formação e criação e a meus padrinhos e/ou afilhados (*Itamar, Vera, Robson, Edivânia, Oswaldo, Inês, Walclee, Mônica, Valério, Erica, Vladi, Nelson, Renato, Lillian, Luis, Gustavo, Terê...*), os quais são nada mais, nada menos que meus melhores amigos.

E por fim agradeço a *Fapesp* pela bolsa e auxílios concedidos.

“Viver bem não é ter sua presença notada, mas sim sua ausência sentida”

TÍTULO : ESTUDO DAS PROPRIEDADES ELETROQUÍMICAS DE DÍMEROS DE RÓDIO PARA O DESENVOLVIMENTO DE SENSORES E SOB UM ENFOQUE BIOELETROQUÍMICO

AUTOR : ERIC DE SOUZA GIL

ORIENTADOR : PROF. LAURO TATSUO KUBOTA

Palavras Chaves : *Dímeros de ródio, sensores eletroquímicos, eletrodos modificados, DNA*

RESUMO

Nos últimos anos, o interesse pela área da Eletroquímica aumentou de modo bastante expressivo, especialmente pela necessidade crescente por metodologias de baixo custo e mais específicas para a análise de determinadas espécies em sistemas de complexidade variada. Dentre os campos de maior impacto, tem-se o desenvolvimento de sensores, em que a busca por novos materiais para melhoria de suas propriedades é alvo de intensas investigações. Neste sentido, os compostos de ródio são potencialmente úteis já que aliam, entre outras características, potencial catalítico e mediador de elétrons. No trabalho em questão, foi desenvolvido um sensor com acetamidato de ródio para análise de hidrazina. O sensor apresentou uma boa resposta linear na faixa de 10^{-5} a 10^{-2} mol L⁻¹ ajustada pela equação $i = 23,13 (+/- 0,34) c$, onde i = intensidade de corrente em mA e c = concentração em mol L⁻¹. Outrossim, a boa estabilidade e repetibilidade, aliada ao baixo potencial aplicado e tempo de resposta confirmaram as potencialidades destes compostos para o desenvolvimento de sensores. Outro dímero investigado neste contexto foi o catalisador de Doyle Rh₂(5S-MEPY)₄ tetrakis [metil 2-oxipirrolidina - 5 S - carboxilato], o qual mereceu destaque pelo expressivo aumento dos níveis de corrente observado quando imobilizado na presença de DNA. Observou-se um aumento da constante de transferência de elétrons de 50% para o sistema contendo catalisador e DNA em relação ao eletrodo modificado apenas com catalisador. Estas observações, somadas ao reconhecido potencial antineoplásico dos carboxilatos de ródio, levou a investigação eletroquímica da interação DNA-Dímeros. Este estudo bioeletroquímico se baseou em um dos mecanismos mais propostos para a ação antineoplásica do acetato de ródio, ou seja, a coordenação axial via N7- adenina. Outrossim, a oxidação das bases guanina e adenina, já esta bem estabelecida, sendo estas influenciadas de modo diretamente proporcional à força destas interações. No presente trabalho, foram constatadas para diferentes dímeros (acetato, propionato, butirato, trifluoroacetato, citrato, gliconato, acetamidato, trifluoroacetamidato e carboxamidato) relações, entre níveis de supressão dos picos de oxidação das bases purínicas com parâmetros estéricos e eletrônicos, sugerindo as potencialidades da bioeletroquímica nos estudos de REA (Relação Estrutura Atividade).

TITLE : ELECTROCHEMICAL PROPERTIES STUDY OF RHODIUM DIMERS FOR SENSORS DEVELOPMENT AND A BIOELECTROCHEMISTRY SIGHT

AUTHOR : ERIC DE SOUZA GIL

ADVISER : PROF. LAURO TATSUO KUBOTA

Key Words : *Rhodium dimers, electrochemical sensors, modified electrodes, DNA*

ABSTRACT

The electrochemistry has increased meaningfully in recent years, especially due to the increasing of the necessity for low cost and specific methodologies to analyse some species in various complex systems. The sensors development where the search for new materials to improve the sensors properties has been widely investigated. On this purpose, the rhodium compounds are potentially useful, because their great catalytic potential and mediator properties. In this work the electrochemical behaviour of rhodium acetamidate immobilized in carbon paste electrode for hydrazine analyses were investigated. A good linear response range between 10^{-5} and 10^{-2} mol L⁻¹ hydrazine solution was fit by the equation $i = 23.13 (+/- 0.34) c$, where i = current in mA and c = concentration in mol L⁻¹. Moreover, the good stability and repeatability besides the low applied potential (300 mV) and response time (1 s) shows the potentialities of these compounds for sensor development. The Doyle catalyst Rh₂(5S-MEPY)₄ tetrakis [methyl 2-oxopyrrolidine - 5 S - carboxylate], was also investigated on this sense, showing in presence of DNA a remarkable improvement of its electrochemical properties. The rate constant increases 50 % for the system having DNA and Doyle catalyst, when compared with the electrode modified with Doyle catalyst without DNA. These observations, besides the knowledge that rhodium carboxylates have antineoplastic activity, motivated us to investigate by electrochemical tools the DNA-dimer interactions. This bioelectrochemistry study was based on the fact that one of the most proposed mechanism of action for rhodium acetate is the axial coordination through N7-adenine. Moreover, the DNA purinic bases oxidation is already well established, being affected proportionality to the strength of DNA interactions. At this work were observed for different dimers (acetate, propionate, butirate, citrate, trifluoroacetate, gliconate, acetamidate, trifluoroacetamidate and carboxamidate) a relationships between parameters like electronic and steric with the level of the peak currents suppressions of the purines oxidation, suggesting the potentialities of bioelectrochemistry in the QSAR (Quantitative Structure Relationships) studies.

CURRÍCULO

1. DADOS PESSOAIS

- 1.1 - Nome: Eric de Souza Gil
- 1.2 - Data de Nascimento: 04/01/1969
- 1.3 - Filiação: João Oscar Gil e Ana Clotilde de Souza Gil
- 1.4 - Nacionalidade: Brasileira
- 1.5 - Naturalidade: Campinas-SP.

2 - ESCOLARIDADE:

2.1 - Segundo Grau

Escola Técnica "Conselheiro Antonio Prado"- ETECAP
-Curso Técnico em Bioquímica (ETECAP- 4 anos)

2.2 - Curso Superior

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo
-Curso de Farmácia e Bioquímica (FCF/USP - 6 anos)

2.3 - Pós Graduação

Mestre em Fármaco e Medicamentos

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, FCF/USP de 01/03/95 a 15/03/97

Tese "Síntese e avaliação biológica de carboxilatos hidroxilados de ródio com atividade antineoplásica potencial"

Orientadora: Profa. Elizabeth Igne Ferreira

3 - TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS:

3.1 - "Investigação Eletroquímica da interação entre Dímeros de Ródio e DNA", 23ª. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, 23 a 26 de maio de 2000.

3.2 - "Evidência Eletroquímica da Interação entre o Catalisador de Doyle e DNA, XIV Congresso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica - SIBAE 2000, 7 a 12 de Maio de 2000.

3.3 - "Propriedades Eletroquímicas do Catalisador de Doyle imobilizado em pasta de carbono: Potencialidades para confecção de sensores", Gil, E.S.; Najjar, R.; Kubota, L.T., X ENQA-Encontro Nacional de Química Analítica, IQ-UFSM, Santa Maria, 31/08 a 5/09 de 1999.

3.4 - "Comportamento de acetamidato de ródio em pasta de carbono e polietilenoimina (PEI): Um sensor para hidrazina", Gil, E.S.; Najjar, R.; Kubota, L.T., XI SIBEE - Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Maragogi-AL, 5 à 9 de Abril de 1999.

3.5 - "Atividade citotóxica de carboxilatos solúveis de dirródio (II) frente a linhagens de células tumorais", Colin, C.; Torezan, C.; Gil, E.S.; Najjar, R.; Ferreira, E.I.; Borelli, P., FeSBE 98, Caxambu-MG, 26 à 29 Agosto de 1998.

3.6 - "Desenvolvimento de um método cromatográfico para purificação de carboxilatos de ródio derivados de carboidratos", Gil, E.S., Ferreira, E.I., Najjar, R., Kubota, L.T., IX

ENQA-Encontro Nacional de Química Analítica, IQ-USP, São Carlos, 1 a 3 de setembro de 1997.

3.7 - "Síntese, caracterização e avaliação biológica do lactobionato de ródio, um novo carboxilato derivado de carboidrato, potencialmente antineoplásico", Gil, E.S.; Ferreira, E.I.; Szulim, S.; Najjar, R., X Congresso Paulista de Farmacêuticos, II Seminário Internacional de Farmacêuticos, 29/07 a 2/08/97.

3.8 - " Water soluble cyclophosphamide adducts of rhodium(II) keto-gluconate and glucuronate. Synthesis, characterization and *in vitro* anticancer assays" Gil, E.S., Ferreira, E.I., Zyngier, S.; Najjar, R., 1st Congress of Pharmaceutical Sciences, 20-24 de Abril de 1997.

3.9 - "Synthesis and Biological assays of rhodium lactate and rhodium glycolate, a new rhodium carboxylate" Gil, E.S., Ferreira, E.I., Silva, E.C., Santos, A.V., Zyngier, S.; Najjar, R., 1st Congress of Pharmaceutical Sciences, 20-24 de Abril de 1997.

3.10 - "Síntese do cetogliconato de ródio, uma nova classe carboxilatos de Rh(II) com potencial farmacológico" Gil, E.S.; Najjar, R.; Ferreira, E.I.; XXXVI Congresso Brasileiro de Química, 1-5 de Setembro de 1996.

3.11 - "Synthesis of rhodium glucuronate, a new rhodium carboxylate" Gil, E.S.; Najjar, R.; Matos, J.R.; Ferreira, E.I., 212th ACS National Meeting, Orlando, FL, August 25-29, 1996.

4 - PUBLICAÇÕES:

4.1 - Gil, E.S.; Najjar, R.; Kubota, L.T., Potencialidades da utilização de compostos de ródio na confecção de sensores eletroquímicos, *Quim. Nova*, 21, 755 (1998).

4.2 - Gil, E.S., Ferreira E.I., Zyngier S.B., Najjar R., Water soluble cyclophosphamide adducts of rhodium(II) keto-gluconate and glucuronate. Synthesis, characterization and *in vitro* cytostatic assays, *Metal Based Drugs*, 6(1), 19-24 (1999).

4.3 - Gil, E.S., Kubota, L.T., Yamamoto, Y.I, Alguns aspectos de imunoenaios aplicados a Química Analítica, *Quim. Nova*, 22, 874 (1999).

4.4 - Gil, E.S., Ferreira E.I., Zyngier S.B., Negrón, A.C.V., Najjar R., Carboxilatos hidroxilados de Rodio II (gluconato, lactobionato e lactato). Síntesis, caracterización y ensayos de citotoxicidad *in vitro*, aceito para publicação na *Anal. Acad. Real de Farm.* Em 11/99.

4.5 - Gil, E.S., Kubota, L.T., Electrochemical behavior of rhodium acetamidate immobilized in carbon paste via polyethylenoimine (PEI): A hydrazine sensor, *J. Braz. Chem. Soc.* 11, 304 (2000).

4.6 - Gil, E.S., Kubota, L.T., Electrochemical properties of Doyle Catalyst immobilized on carbon paste in presence of DNA, *Bioelectrochem.*, 51, 145 (2000).

ÍNDICE

	pg.
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABELAS	iv
GLOSSÁRIO	v
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 SENSORES	2
1.1.1 IMPORTÂNCIA	2
1.1.2 FUNDAMENTOS	3
1.1.3 AVANÇOS - BUSCA DE NOVOS MATERIAIS	7
1.1.3.1 Compostos de Ródio no desenvolvimento de sensores	10
1.1.3.1.a <i>Dímeros de Ródio</i>	11
1.2 BIOELETROQUÍMICA	16
1.2.1 APLICAÇÕES DA BIOELETROQUÍMICA	17
2. OBJETIVOS	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 MATERIAIS	27
3.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	28
3.2.1 SÍNTESE	28
3.2.1.1 Aduto de acetamida com tetrakis-acetamidato de diródio(II) $Rh_2(HNOCCH_3)_4(H_2NOCCH_3)_2]$	28
3.2.1.2 Tetrakis-acetamidato de diródio(II) $[Rh_2(HNOCCH_3)_4]$	29
3.2.1.3 Tetrakis-benzamidato de diródio(II) $[Rh_2(HNOCC_6H_5)_4]$	29
3.2.1.4 Tetrakis-Trifluoroacetato de diródio(II) $[Rh_2(OOCCF_3)_4]$	30
3.2.1.5 Tetrakis-gliconato de diródio(II) $[Rh_2(OOCC_5O_5H_{11})_4]$	30
3.2.2 CARACTERIZAÇÃO	30
3.2.2.1 Análise Elementar	30
3.2.2.2 Análise por Infravermelho	30
3.2.2.3 Análise por UV-visível	31

3.3	SENSORES	31
3.3.3	ENSAIOS ELETROQUÍMICOS	31
3.3.3.1	Voltametria Cíclica	31
3.3.3.2	Voltametria Cíclica dos Compostos em Solução	31
3.3.3.3	Voltametria Cíclica dos Eletrodos Modificados	31
3.3.3.3a	<i>Amidatos de Ródio</i>	32
3.3.3.3b	<i>Carboxamidatos de Ródio</i>	32
3.3.3.4	Avaliação das Propriedades Eletrocatalíticas	33
3.4	BIOELETROQUÍMICA	34
3.4.1	ESTUDO DA INTERAÇÃO DNA-DÍMERO	34
3.4.1.1	Instrumentação	34
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DÍMEROS	35
4.1.1	ANÁLISE ELEMENTAR	36
4.1.2	ANÁLISE NO UV-VISÍVEL	37
4.1.3	ANÁLISE NO INFRAVERMELHO	39
4.2	ENSAIOS ELETROQUÍMICOS	41
4.2.1	VOLTAMETRIA CÍCLICA	41
4.2.1.1	Carboxilatos de Ródio	41
4.2.1.2	Amidatos de Ródio	41
4.2.1.2a	<i>Acetamidata de Ródio</i>	41
4.2.1.2b	<i>Benzamidata de Ródio</i>	52
4.2.1.3	Carboxamidatos de Ródio / Catalisadores de Doyle	52
4.2.2	CRONOAMPEROMETRIA	63
4.2.2.1	EMAC x Hidrazina	64
4.2.2.2	DOO / DOD x Hidrazina / Glutathiona	68
4.3	ESTUDO DA INTERAÇÃO DNA-DÍMEROS	71
5.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	77
5.1	CONCLUSÕES	77
5.2	PERSPECTIVAS	78
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.	Título	pg.
1	<i>Classificação dos sensores químicos.</i>	5
2	<i>Estrutura de ligantes naftiridínicos.</i>	11
3	<i>Estrutura geral de carboxilatos de ródio.</i>	12
4	<i>Estrutura de dímeros de ródio nitrogenados.</i>	14
5	<i>Esquema da abertura de poros lipídicos em membranas biológicas, A = membrana fechada, B = formação de poros, PL = poro lipofílico e PH = poro hidrofílico, Em = potencial de membrana e E = potencial externo (de aplicação).</i>	19
6	<i>Estrutura dos nitroimidazólicos (a) metronidazol, (b) benzimidazol.</i>	22
7	<i>Estrutura da a) Mitomicina C e b) guanina.</i>	24
8	<i>Sistema empregado para reações por fusão.</i>	28
9	<i>Sistema de sublimação Abderhalden.</i>	29
10	<i>Possíveis isômeros geométricos para os amidatos de ródio</i>	36
11	<i>Voltamogramas cíclicos obtidos para EMAC (registro do 2º ciclo) x SCE, em eletrólitos suporte contendo diferentes anions (0,5 mol L⁻¹, pH 7, 0-800 mV, 10 mVs⁻¹).</i>	43
12	<i>Voltamogramas cíclicos do EMAC em eletrólito suporte MCl 0,5 mol L⁻¹, (M = Li, Na, K, pH 7, 0-800 mV, 10 mV s⁻¹).</i>	45
13	<i>Perfil do voltamograma obtido para EMAC em função da concentração de KCl pH 7, 10 mV s⁻¹, 0-800 mV.</i>	46
14	<i>Voltamogramas Cíclicos obtidos em diferentes potenciais de inversão a) complexo imobilizado (EMAC), e b) "complexo livre" na concentração de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ ambos nas seguintes condições : KCl 0,5 mol L⁻¹, pH 7, 0-800 mV, 10 mV s⁻¹.</i>	48
15	<i>Varição da razão de corrente I_A / I_C do processo total (azul) e do segundo par redox (vermelho) em relação a variação de concentração de KNO₃, pH 7, a 10 mV/s, eletrodo EMAC x ESC.</i>	49
16	<i>Varição da corrente de pico anódico do segundo par redox (E_{m2}) em função da velocidade de varredura (KNO₃ 0,5 mol L⁻¹ pH 7, 0-800 mV).</i>	50

17	Estabilidade (registrados 3º, 9º e 15º ciclos) do eletrodo EMAC (modificado com 100 µL de DNA 10%) x ESC (KCl 0,5 mol L ⁻¹ pH7, 10 mV s ⁻¹ 0-800 mV)	51
18	Voltamograma obtido para EMB, em KCl 0,5 mol L ⁻¹ , pH 7, à 10 mV s ⁻¹ .	52
19	Perfis dos voltamogramas obtidos para DOD e DOO (KCl 0,5 mol L ⁻¹ , pH 7 à 10 mV s ⁻¹).	53
20	Variação do E _m para DOO e DOD, a 10 mV/s, pH 7 em função da concentração de KCl.	54
21	Razão de corrente x concentração, 10 mV/s, pH 7 para DOD e DOO.	55
22	Variação do ΔE _p em função da concentração de KCl para DOD e DOO, à 10 mV/s, pH 7.	56
23	Variação do ΔE _p em função da velocidade (A) e do log da velocidade (B) para DOO e DOD em KCl 0,5 mol L ⁻¹ , pH 7.	58
24	Corrente de pico x raiz quadrada da velocidade de varredura para DOO e DOD, em KCl 0,5 mol L ⁻¹ pH 7, 0-800 mV.	59
25	Efeitos da velocidade de varredura sobre E _{pa} e E _{pc} (ΔE _p) (KCl 0,5 mol L ⁻¹ pH 7, 0-800 mV, 10 mV s ⁻¹)	60
26	Voltamogramas obtidos em ensaios de velocidade para os eletrodos de pasta de carbono modificados com: A) isômero S + DNA (DOSD), B) isômero R + DNA (DORD) e C) apenas com isômero R (DOR), faixa de varredura de 0 à 800 mV em KCl 0,5 mol L ⁻¹ pH 7.	61
27	Voltamogramas obtidos para DOD(R), KCl 0,5 mol L ⁻¹ pH 7, 10 mV s ⁻¹ , a) pasta preparada com DNA previamente hidratado com 120 µL de água, b) pasta preparada com DNA seco, c) sem DNA.	62
28	Voltamogramas obtidos para catalisador de Doyle substituindo DNA (método descrito para DOD) por outros surfactantes (polietileno glicol PEG 4000, Dodecil sulfato de sódio DSS, álcool polivinílico PVA, polietilenoimina PEI), em KCl 0,5 mol L ⁻¹ pH 7, 10 mV s ⁻¹ , 0-800 mV.	62
29	Curva da corrente de pico de oxidação do EMAC vs. pH na presença de hidrazina 1 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , v = 200 rpm, E _p = 300 mV.	64
30	Atividade do EMAC frente à hidrazina em função da velocidade de rotação.	65

- 31 Dependência da corrente de pico anódica para EMAC em função do potencial de aplicação em pH 7, na presença de hidrazina $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 200 \text{ rpm}$. 66
- 32 Tempo de resposta nas melhores condições 66
- 33 Resposta do EMAC vs. ESC frente a concentrações de hidrazina na faixa de 10^{-3} à $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e reprodutibilidade da pasta. 67
- 34 Variação da resposta frente à adição de hidrazina em função do potencial para DOD. 68
- 35 Variação da resposta frente à adição de hidrazina em função do pH para DOD. 69
- 36 Variação da resposta do DOD em função da concentração de hidrazina (pH 7, 350 mV, 200 rpm). 69
- 37 Resposta eletrocatalítica do DOD(R) frente glutaciona 70
(KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, 350 mV, 200 rpm).
- 38 Voltamogramas de pulso diferencial obtidos após 3 dias de incubação para A) série acetato, propionato e butirato de ródio e B) para a série acetamidato, trifluoacetamidato e trifluoacetato, obtidos nas concentrações de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em células contendo 5 mL DNA $0,2 \text{ mg/mL}$ (10 mV s^{-1} , amplitude de pulso 25 mV e duração de pulso 50 s, KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH7). 76
-

ÍNDICE DE TABELAS

Tab.	Título	pg.
1	Potencias médios para acetamidato de ródio	13
2	Potenciais redox de complexos de ródio com substituintes de diferentes valores de $4\sigma^+$.	15
3	Resultados de micro análise	36
4	Atribuição das bandas do espectro na região do UV-visível	37
5	Bandas de absorção na região UV-visível obtidas para amidatos	38
6	Bandas de espectro obtidas para $Rh_2(BZA)_4$, $Rh_2(Acam)_4$ e $Rh_2(Acam)_4(Acam)_2$ na região do infravermelho (cm^{-1}).	39
7	Exemplos de Δ (ν ass CO- ν sim CO) para alguns compostos	39
8	Potencias médios para acetamidato de ródio	42
9	Valores de E_{m1} e E_{m2} para $Rh_2(Acam)_4$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ em diferentes eletrólitos suportes, obtido com eletrodo de disco de platina	42
10	Potenciais médios obtidos para EMAC em diferentes eletrólitos suporte solução aquosa 0,5 mol L ⁻¹ pH7	43
11	Propriedades iônicas em solução aquosa	44
12	Varição da razão de corrente I^* e potenciais médios E_{m1} e E_{m2} em pH, obtidos para EMAC x ECS, respectivamente, para solução 0,5 mol L ⁻¹ de KCl e KNO ₃	47
13	Potencial médio obtidos em soluções $[K^+A^-]$ 0,5 mol L ⁻¹ pH 7 (A^- = tipo de anion do eletrólito) obtidos com DOO e DOD, a 10 mV s ⁻¹	54
14	Comportamento do DOD e DOO frente a variação de pH	57
15	Constantes (k) e coeficientes (α) de transferência de elétrons para DOO(S) e DOD(S)	60
16	Potenciais de pico anódicos para dímeros de ródio	72
17	Efeito imediato na supressão do picos da guanina e adenina para solução de DNA 0,2 mg/mL contendo $Rh_2(XOCR)_4$ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ .	73
18	Efeito da supressão do picos da guanina e adenina, para diferentes tempos de incubação de solução de DNA 0,2 mg/mL contendo $Rh_2(XOCR)_4$ 1×10^{-4} mol L ⁻¹	74

GLOSSÁRIO

Simbolo	Nome
Acam	Acetamida
$Rh_2(Acam)_4$	Acetamidato de ródio
$Rh_2(Acam)_4(Acam)_2$	Aduto entre Acam e $Rh_2(Acam)_4$
$Rh_2(Ac)_4$	Acetato de ródio
$Rh_2(BZA)_4$	Benzamidato de ródio
$Rh_2(But)_4$	Butirato de ródio
$Rh_2(Cit)_4$	Citrato de ródio
$Rh_2(Gli)_4$	Gliconato de ródio
$Rh_2(Prop)_4$	Propionato de ródio
$Rh_2(TFA)_4$	Trifluoroacetato de ródio
$Rh_2(TFAcam)_4$	Trifluoroacetamidato de rodio
$Rh_2(5S-Mepy)_4$	Catalisador de Doyle (isômero S)
$Rh_2(5R-Mepy)_4$	Catalisador de Doyle (isômero R)
$Rh_2(XOCR)_4$	Dímeros de ródio, X = O, N ou NH
EMAC	Eletrodo modificado com $Rh_2(Acam)_4$
EMB	Eletrodo modificado com $Rh_2(BZA)_4$
DOO(S)	Eletrodo modificado com $Rh_2(5S-Mepy)_4$
DOD(S)	DOO(S) modificado com DNA
DOO(R)	Eletrodo modificado com $Rh_2(5R-Mepy)_4$
DOD(R)	DOO(R) modificado com DNA
ECS	Eletrodo de Calomelano Saturado
PEI	Polietilenoimina
REA	Relação Estrutura Atividade

ОАКОООИЗ-

1

1- INTRODUÇÃO

As funções da Química Analítica, dada a diversidade e complexidade dos analitos que se queira identificar ou quantificar, não só se multiplicam, como também se estendem a outras áreas¹⁻³.

Este trabalho, intitulado "Estudo das propriedades eletroquímicas de dímeros de ródio para o desenvolvimento de sensores sob um enfoque bioeletroquímico", foi abordado sob dois aspectos distintos mas intercorrelacionáveis em termos de Química Analítica.

Num primeiro momento avaliou-se a potencialidade destes complexos na confecção de sensores eletroquímicos. No segundo, sob um enfoque bioeletroquímico, avaliou-se as potencialidades da eletroanalítica no estudo dos mecanismos de reação entre diversos dímeros de ródio e algumas biomoléculas.

As justificativas para este estudo, embora possam ser resumidas em três características principais destes complexos tais como : eficiência em catálise⁴⁻⁹, potencial antineoplásico (citostático)⁹⁻¹⁵ e estrutura dimérica¹⁵⁻¹⁸ serão detalhadas ao longo da introdução.

Para tanto, serão inicialmente descritas algumas das razões relacionadas ao desenvolvimento de sensores¹⁹⁻⁴¹. Neste tópico, serão abordados desde alguns conceitos básicos, até os avanços mais recentes, na busca de novos materiais para a confecção de sensores cada vez mais seletivos e sensíveis⁴²⁻⁵².

Feito isto trataremos de mostrar a relevância do desenvolvimento de sensores, assim como das técnicas analíticas como um todo, nos estudos teóricos dos mecanismos de reações. Particularmente, será abordado neste tópico, o papel da eletroquímica como uma ferramenta útil para o estudo mecanístico de alguns processos biológicos, papel este que dá origem a bioeletroquímica⁵³⁻⁵⁷.

Nestes tópicos serão enfatizados respectivamente : as potencialidades dos complexos de ródio na confecção de sensores⁵⁸⁻⁶¹ e o uso das técnicas eletroquímicas para o estudo do mecanismo de interação entre dímeros de ródio e DNA⁶¹⁻⁶³.

1.1 - SENSORES

1.1.1 - IMPORTÂNCIA

Há uma necessidade crescente em se monitorar vários aspectos de nosso meio ambiente em tempo real, dado a questões associadas à poluição, saúde e segurança⁶⁴⁻⁶⁷. Há também uma busca por metodologias capazes de determinar contaminantes e analitos com rapidez de análise e em concentrações cada vez menores, de modo que o objetivo maior de toda Química Analítica moderna é reduzir tempo e limites de quantificação, sem comprometer os níveis adequados de precisão e exatidão. A instrumentação em Química Analítica se tornou tão sofisticada que hoje somos capazes de detectar níveis de traços que há poucos anos atrás, jamais seriam imaginados. Por outro lado, a grande gama de compostos químicos que são lançados todo ano em nosso sistema, vem requerer esforços no sentido de desenvolver sensores seletivos para cada composto ou mesmo classe⁶⁸⁻⁷².

As múltiplas aplicações de diferentes tipos de sensores, incluem desde medidas de grandezas associadas aos fenômenos físicos (temperatura corporal, batimento cardíaco, velocidade de vento, pressão atmosférica²⁰⁻²²) até a análise qualitativa ou quantitativa associada a fenômenos químicos (doseamento de substâncias²³⁻⁴², monitoramento de águas, solo, atmosfera⁶⁶⁻⁶⁸, ou mesmo o estudo mecanístico de uma reação química por meio do monitoramento de intermediários⁷³⁻⁷⁵). A ciência envolvida no desenvolvimento de sensores é igualmente múltipla, incluindo a participação de químicos, físicos, biólogos, engenheiros eletrônicos, entre outros¹⁹⁻⁴⁶.

Neste contexto, merecem destaque os estudos sobre eletrodos modificados, cujo interesse cresceu exponencialmente a partir da constatação, de que pequenas modificações superficiais poderiam conferir expressivos ganhos na seletividade e sensibilidade dos sensores químicos^{19-49,53-61,66-99}.

1.1.2 - FUNDAMENTOS

Sensores são dispositivos sensíveis a variações associadas a fenômenos físicos ou químicos. São compostos por três partes : i - fase sensora propriamente dita, capaz de sentir alterações relacionadas a fenômenos físicos ou químicos, ii - fase transdutora ou amplificadora, a qual torna o sinal em algo mensurável, iii - fase condutora, que transporta o sinal para o instrumento de medida. Deste modo, os sensores podem ser reunidos em dois grupos principais : físicos e químicos.

Os sensores físicos medem grandezas físicas, respondendo a fenômenos físicos, como variações de temperatura, pressão, campo magnético e força, as quais não têm nenhum evento químico na interface¹⁹⁻²².

Já os sensores químicos apresentam uma interface (reconhedora) onde ocorre fenômenos químicos, ligada a dispositivos (transdutores) que transformam uma informação química, oriunda de um sistema (analito), em um sinal analítico útil. A informação obtida no instrumento de medida, pode estar relacionada a uma reação química ou mesmo a uma propriedade química do analito²³⁻²⁹.

Os sensores químicos apresentam três partes básicas : i - *receptor*, região reconhedora onde ocorre a reação química seletiva, ii - *transdutor*, que traduz o sinal químico gerado pela reação em um sinal mensurável, iii - *condutor*, que transporta o sinal para a instrumentação de medida. De acordo com o tipo de transdutor utilizado, os sensores podem ser classificados em 4 tipos (*Fig. 1*) : ópticos, piezelétricos, calorimétricos e eletroquímicos²³⁻⁴³.

1) Ópticos - Baseiam-se em medidas espectroscópicas associadas a uma reação ou propriedade química. São referidos como optodos²³⁻²⁵ e os mais comuns, disponíveis comercialmente, são aqueles baseados na reflexão ou espalhamento da luz laser (crescimento da superfície) em função do tempo, que se relaciona diretamente com a constante de interação ou dissociação analito-fase sensora, pelo qual o mesmo terá afinidade²⁵.

2) Piezelétricos - São sensores sensíveis a variações de massa na superfície de um cristal. Esta alteração de massa por sua vez altera a frequência de oscilação do cristal de quartzo e, por esta razão, estes sensores são também denominados sensores acústicos²⁶⁻²⁹.

3) Calorimétricos - Baseiam-se na variação de temperatura, são comumente chamados de sensores calorimétricos^{29,30}.

4) Eletroquímicos - Baseiam-se em reações de transferência de carga, (processos faradaicos) ou em fenômenos de migração de cargas (processos não faradaicos). Dependendo da natureza da fase receptora podem ser classificados em sensores ou biossensores. Os sensores químicos podem ser:

a) Potenciométricos, baseiam-se na medida do potencial elétrico gerado na interface solução/sensor, sendo que na solução estariam presentes as espécies aptas a interagir com a superfície do sensor. Como exemplo, poderíamos citar os eletrodos íon seletivos³¹⁻³⁴.

b) Condutométricos, baseiam-se na medida de condutividade elétrica. Um exemplo destes sensores seriam os sensores a base de semicondutores para gases³⁵.

c) Amperométricos, constituem os sensores baseados na medida de corrente. Nesta técnica aplica-se um potencial fixo suficiente para a efetivação de um processo redox na cela eletroquímica³⁶⁻⁴¹.

d) Voltamétricos são úteis tanto em análise quantitativas^{42,43} como qualitativas na caracterização⁴⁴ e no estudo de mecanismos redox⁴⁵. Nesta técnica monitora-se os níveis de corrente em função do potencial. A faixa de varredura é escolhida de acordo com o objetivo, sendo que para análise quantitativas quanto menor e mais próximo de zero for o potencial, menores serão os problemas relacionados a interferentes.

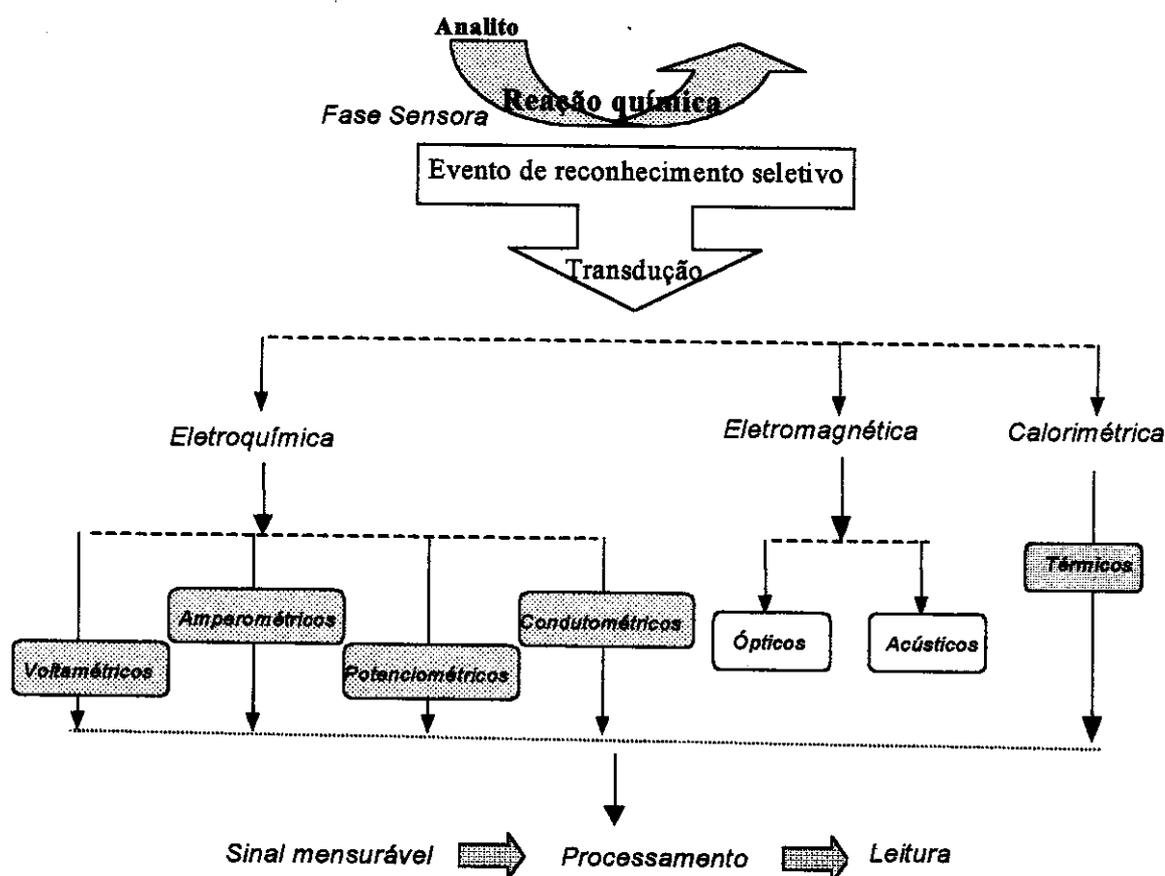


Fig. 1 - Classificação dos sensores químicos.

Biossensores podem ser considerados um subgrupo dos sensores químicos, sendo que nestes o receptor é de origem biológica^{67,69,74-88}. Os componentes biológicos mais comumente empregados são : enzimas^{69,76-83}, receptores de membranas biológicas⁸⁷, DNA^{67,74-77}, hormônios⁸⁷, anticorpos⁸⁸, organelas, células e até tecidos⁴⁸.

Uma característica que diferencia estes dos demais sensores é a especificidade da análise^{48,74-88}. Um biosensor é capaz de fornecer informação analítica específica, quantitativa ou semi-quantitativa. O reconhecimento de um determinado substrato (analito) se dá por meio de um processo bioquímico, que gera uma quantidade de energia proporcional à concentração do analito. A tradução desta energia em sinal analítico útil é também executada por um transdutor⁴⁸. Logo, os biossensores, dependendo do transdutor, poderão também ser eletromagnéticos, eletroquímicos e calorimétricos⁴⁸.

Dentro do contexto de desenvolvimento de sensores, os biossensores em vista de algumas de suas propriedades, tais como boa seletividade, baixo custo de construção ou estocagem, potencial para miniaturização, facilidade de automação, rapidez de análise e possibilidade de monitoramento *in situ*, representam uma ferramenta promissora para suplementar as técnicas existentes. Entretanto, apesar da marcante seletividade destes sensores, entre outras vantagens, são também características frequentes dos receptores de origem biológica a baixa estabilidade.

Entre os componentes biológicos mais importantes utilizados no desenvolvimento de sensores, como fase sensora, destacam-se as enzimas^{36-41,88-95}. Estas são, em sua maioria, proteínas de elevado peso molecular^{48,66-69,76-83}, com propriedades catalíticas específicas, presentes em todos os seres vivos. A razão principal para o amplo uso das enzimas no desenvolvimento de sensores se deve à sua alta especificidade e atividade catalítica. Como outros catalisadores elas aceleram ou viabilizam as reações. De acordo com o tipo de reações elas se dividem em seis grupos principais⁹⁵: 1- oxiredutases, 2- transferases, 3- hidrolases, 4- liases, 5- isomerases e 6- ligases, destacando-se entre estas, especialmente para a confecção de biossensores amperométricos as oxiredutases. As oxiredutases podem ainda ser subdivididas de acordo com o grupo prostético (flavina, quinona, heme ou cobre).

Os biossensores, assim como todos sensores, requerem como características desejáveis: boa estabilidade, resposta rápida, boa sensibilidade e seletividade. Características estas que são inerentes a espécie receptora utilizada na fase reconhecedora. A seletividade, sensibilidade e estabilidade dependem ainda, do tipo de imobilização e transdutor utilizado. No caso de biossensores baseados em enzimas as condições ótimas de pH, temperatura e força iônica são também fundamentais. Já o tempo de resposta, depende, além das condições ótimas, do tipo de imobilização que determinará a espessura da camada biocatalítica, e também de outros fatores tais como, agitação, concentração do substrato e da enzima.

Em resumo, a etapa crítica na construção de um biossensor é a imobilização e embora esta afirmação se estenda a todos sensores químicos, é mais gritante no caso específico dos biossensores^{48,81-96}. Os principais métodos de imobilização são : oclusão e adsorção (métodos físicos) e ligação covalente ou cruzada (métodos químicos)⁸¹⁻⁹⁶.

Logo, por esta razão seria de grande interesse a obtenção de receptores químicos com alta estabilidade e seletividade. Deste modo, é uma tendência comum a busca por novos materiais que possam ter estas características.

1.1.3 – AVANÇOS - BUSCA DE NOVOS MATERIAIS

A pesquisa de novos materiais para a confecção de sensores tem como meta a possibilidade de conferir a estes dispositivos seletividade, sensibilidade, baixo custo, simplicidade, rapidez de análise, análise *in situ*, etc⁴²⁻⁵². Estas características são de fundamental importância em análises químicas, principalmente em amostras complexas⁹⁷⁻¹⁰⁶.

Na última década, sensores capazes de fazer o papel dos sentidos humanos vêm sendo desenvolvidos, entre estes os chamados narizes eletrônicos^{66,97}. Pouco mais recente, foi desenvolvido também a língua eletrônica, baseada em uma combinação de potenciometria, voltametria e condutimetria⁹⁸. Estes fatos mostram claramente, a que velocidade que avançam o desenvolvimento de novos sensores.

Neste contexto, vários tipos de modificações de superfície de eletrodos, tais como imobilização de catalisadores⁸⁹⁻⁹⁶, polímeros condutores⁹⁹⁻¹⁰⁵, DNA^{61,105-108}, complexos¹⁰⁹, e partículas dispersas de metais nobres¹⁰⁹⁻¹¹⁰ têm sido empregados na busca do desenvolvimento de novos sensores mais específicos e sensíveis a diferentes propósitos. Logo, no desenvolvimento de sensores, também merecem destaque os avanços na busca de novos materiais.

A química de novos materiais pode ser útil ao desenvolvimento de sensores sobre vários aspectos, seja no aperfeiçoamento de materiais de suporte ou materiais eletródicos, seja na busca de espécies eletroativas, que possam

intermedeiar uma reação ou funcionarem como receptores específicos para determinado analito ou classe¹⁰⁶⁻¹²².

O emprego de novos materiais para o desenvolvimento de suportes para a fixação de espécies eletroativas, que possam ser empregadas em sensores químicos, tem sido uma excelente alternativa, principalmente pela possibilidade da construção de eletrodos modificados de pasta de carbono¹¹⁰⁻¹¹⁴, a qual se constitui numa técnica relativamente simples e de fácil execução.

Outras características positivas dos eletrodos preparados a base de pasta de carbono são: baixa corrente de fundo, baixo ruído, modificação conveniente, renovabilidade de superfície e possibilidade de miniaturização. Estas qualidades dos eletrodos a base de pasta de carbono os mantêm em extensivo uso na eletroanalítica¹¹⁰⁻¹¹⁴, apesar da falta de estabilidade estrutural que esta matriz mole (semi-sólida) apresenta. As pastas de carbono são elaboradas da mistura de grafite em pó e um líquido imiscível às soluções aquosas, em geral óleo mineral. O óleo serve para dar consistência à pasta, atuando como aglutinante e mantendo o grafite firme no eletrodo, bem como preencher cavidades vacantes entre as partículas de grafite e isolar o grafite do contato direto com soluções aquosas^{112,113}. A grande vantagem deste tipo de matriz para a construção de sensores é a flexibilidade na modificação da composição da pasta, ou seja os percentuais de grafite, óleo, mediador, catalisador, coadjuvantes (polímero condutores, tensoativos) que podem ser facilmente alterados na busca da melhor composição da pasta^{46,61,109-114}.

Por outro lado, o uso de polímeros condutores^{99-108,116-118} associados aos diversos materiais eletródicos disponíveis^{3,19,29,52}, tais como : derivados de carbono¹⁰⁶⁻¹¹⁵, ouro, platina entre outros metais, veio propiciar maior gama de versatilidade aos sensores, na busca por sensibilidade e seletividade^{3,19,29,52}. Entre os materiais eletródicos, os derivados de carbono merecem destaque pelo seus baixos custos. Dependendo do processo de fabricação e da morfologia, dos compostos de carbono podem-se obter o carbono vítreo¹⁰², pasta de carbono¹⁰⁹⁻¹¹⁴, filmes de carbono¹¹⁴, compósitos¹⁰², ou fibras de carbono¹¹⁷.

Outra estratégia bastante investigada tem sido a eletrodeposição de materiais eletródicos, em geral metais sobre a superfície de materiais suporte^{36,89,91,94,101,111}. Estes procedimentos visam aumentar ou modificar a região de eletroatividade, aumentar a área interfacial, melhorar a atividade eletrocatalítica, ou ainda em se tratando de um material não condutor, obter um material condutor ou semi condutor¹¹⁶.

Estes procedimentos contemplam também o aspecto econômico, já que com esta técnica metais nobres, mais raros que a platina como paládio, irídio e ródio podem ser investigados como materiais eletródicos¹¹⁹⁻¹²⁵.

Outra tecnologia que vem sendo explorada no campo dos sensores químicos, e que merece destaque é a tecnologia do sol-gel para preparação dos óxidos¹²⁶⁻¹²⁹. O emprego desta tecnologia na preparação de eletrodos convencionais de pastas de carbono modificados com sílica⁷⁸, assim como de outros compostos inorgânicos, tais como óxidos metálicos, ftalocianinas^{109,129}, porfirinas metálicas⁹², fosfatos e fosfonatos^{47,73,127}, γ -alumina e zeólitas deram origem a uma nova categoria de matrizes suporte para confecção e desenvolvimento de sensores¹²⁸.

O emprego da sílica, embora recente, merece destaque e tem sido alvo de intensas investigações¹²⁸. Apesar de apresentar fórmula mínima bastante simples, SiO_2 , a química de sua superfície principalmente por meio de grupos silanóis e siloxanos possibilita uma variedade de modificações resultando na grande diversidade de materiais a base de sílica, hoje disponíveis. Este fato somado à boa capacidade de adsorção, estabilidade térmica e química ácido-base são extremamente promissores para o desenvolvimento de novos suportes aplicados de interesse em sensores químicos¹²⁸. Entre as vantagens destes suportes encontra-se a possibilidade de medidas em estado sólido, a qual pode resultar em análises com consumo mínimo de solvente e até na redução de potenciais e consequentemente de interferentes^{43,82,85,127}. A química de estado sólido aplicada a voltametria foi recentemente revisada e discutida quanto às implicações eletroanalíticas de sistemas sólidos rígidos ou semi rígidos na ausência de fase líquida. Os ganhos obtidos com a utilização de eletrodos microdimensionais no

desenvolvimento da eletroquímica de estado sólido também foi abordada⁴³. Novos sensores para pH, uréia⁸² e gases³⁵ baseados neste conceito foram recentemente desenvolvidos⁸⁰.

No campo dos microeletrodos a pesquisa de novos materiais é de enorme valia para diferentes áreas da química ambiental e ciências biomédicas⁶⁶. Sensores com diferentes bioafinidade podem ser obtidos por meio da associação de diferentes materiais poliméricos¹⁰³.

Finalizando, o uso de complexos e / ou outras espécies eletroativas, capazes de promoverem a catálise de uma reação eletroquímica ou simplesmente intermedearem a transferência de elétrons são também alvos de intensa pesquisa¹²²⁻¹³⁰. Isto porque reduzindo-se os potenciais redox necessários para se efetivarem uma reação na interface eletrodo/solução, reduz-se também os interferentes potenciais.

Compostos de ródio dado o seu grande potencial catalítico^{62,121,122} destes, quando comparados aos outros metais, são uma excelente alternativa. Entre estes, destacam-se os dímeros análogos aos carboxilatos de ródio, dada a habilidade de coordenarem de modo reversível (lábil), a qual além da citotoxicidade¹³¹⁻¹⁴⁰, poderia conferir a estes alguma seletividade.

1.1.3.1- Compostos de Ródio no desenvolvimento de sensores

O maior motivo pelo interesse em utilizar os compostos de ródio na confecção de sensores⁵⁹ pode ser atribuído ao grande potencial catalítico destes compostos¹⁴²⁻¹⁴⁵.

A eletrodeposição⁹¹ e a dispersão^{110,111} de ródio metálico em materiais eletródicos têm sido bastante exploradas, revelando as vantagens no aumento da área superficial e das propriedades eletrocatalíticas obtidas por este metal^{69,71}.

Entre os complexos, aqueles contendo ligantes piridínicos¹¹⁹⁻¹²¹ e pirrólicos^{122,123} destacam-se tanto por suas propriedades catalíticas, quanto pela possibilidade de modificação de materiais eletródicos via eletropolimerização¹¹⁹⁻¹²⁵.

Também merecem destaque os ligantes que coordenam com dois centros metálicos em proximidade, viabilizando a ligação metal-metal (eixo z). O interesse por estas estruturas diméricas¹⁴⁵⁻¹⁵³ deve-se ao fato de que pode ocorrer sinergismo^{16,17} das propriedades dos metais envolvidos, tais como mediação da transferência de elétrons em processos redox e catálise,^{122,154} e principalmente porque este eixo (z) de ligação determina a coordenação axial^{135,155-162}.

1.1.3.1.a - *Dímeros de Ródio*

Entre os dímeros de ródio, merecem destaque aqueles obtidos com ligantes naftiridínicos (*Fig.2*). Estes complexos justificam suas potencialidades para aplicação em eletrodos modificados pelo bom potencial catalítico^{122,154} apresentado.

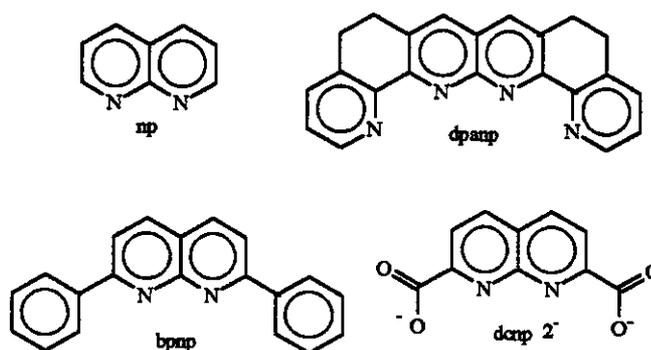


Fig. 2 - Estrutura de ligantes naftiridínicos.

Já os carboxilatos de ródio¹⁵⁵⁻¹⁶⁶, além de seus possíveis empregos em catálise^{6,9} vem sendo extensivamente investigados por suas propriedades antineoplásicas, especialmente após o advento da introdução da cisplatina no arsenal terapêutico do tratamento do câncer^{9-15,132-141}. Esta atividade é atribuída à coordenação axial com espécies doadoras contendo -SH (ex. cisteína de RNA polimerase) ou -NH (ex. adenina de DNA). Outrossim, as coordenações axiais ocorrem ao longo da ligação Rh-Rh (eixo z) no sítio axial. Os ligantes que coordenam por este sítio são denominados ligantes axiais (L) ao contrário dos ligantes equatoriais (R) são geralmente lábeis (*Fig. 3*).

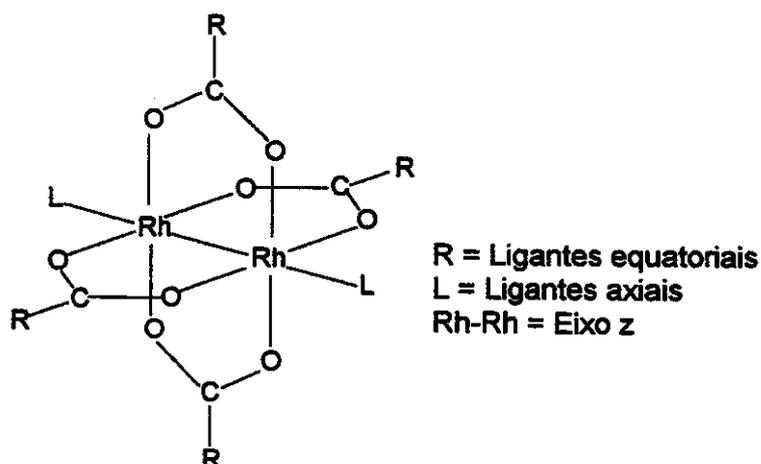


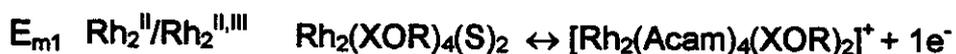
Fig. 3 - Estrutura geral de carboxilatos de ródio.

A afinidade preferencial por espécies doadoras contendo grupos -SH, -N somadas a labilidade da ligação axial são características potencialmente úteis para a idealização de eletrodos modificados com estes complexos.

Logo, se justifica uma investigação detalhada das propriedades eletroquímicas destes complexos sob este enfoque.

As propriedades eletroquímicas desses compostos são bastante influenciadas pelos 4 ligantes equatoriais (R), ligados em ponte, bem como pelos ligantes axiais (L)^{9,145,152,156}. Estudos eletroquímicos de uma série de carboxilatos, em que se utilizaram diferentes ligantes equatoriais, estabeleceram que parâmetros eletrônicos exercem grande influência nos potenciais redox, podendo estes variarem de 1,0 a 1,8V¹⁶⁴. Neste estudo verificou-se que, quanto maior a eletronegatividade dos ligantes equatoriais maiores eram os potenciais médios de oxidação (E_{m1} e E_{m2} esquema 1). Neste caso o efeito acceptor do ligante compete com o processo eletroquímico de oxidação, justificando assim, o aumento nos potenciais E_{m1} e E_{m2} .

Esquema 1



X = -O para carboxilatos, -NH para amidatos ou -N para carboxamidatos

Estudos semelhantes foram feitos substituindo-se progressivamente acetatos por ligantes acetamida (de menor eletronegatividade), constatando-se que para cada acetato substituído por acetamida havia um decréscimo de cerca

de 0,2 V, sendo que o potencial E_{m1} caia de 1,0 V para acetato para 0,15 V com acetamidato^{163,165}.

Este fato, provavelmente esteja correlacionado ao aumento da densidade eletrônica sobre eixo z (ligação Rh-Rh), ao longo dos sítios de coordenação axial (L) (Fig. 3), com conseqüente estabilização dos estados mais oxidados.

Outras amidas foram igualmente empregadas nestas reações de substituição, entre elas a fenilacetamida, benzamida e a trifluoroacetamida, respectivamente. Os potenciais de oxidação para o primeiro par estiveram entre 0,2 e 0,3 V para benzamida¹⁶⁶ e fenilacetamida¹⁶⁷ e em torno de 1,0 V para trifluoroacetamida^{59,63}, respectivamente.

Quando se estudou as propriedades eletroquímicas de análogos dinitrogenados, observou-se não só a queda dos potenciais (esquema 1) como também possibilidade de redução reversível com formação de espécies $Rh_2(II/II)$ ^{168,169}. Entre estes o anilino piridinato de diródio(II,III)¹⁶⁹ foi empregado num eletrodo modificado de pasta de carbono para monitorar a redução de O_2/H_2O ⁸.

Em relação ao efeito dos ligantes axiais observou-se que de uma maneira geral, quanto maior o poder doador, menores os potenciais médios E_{m1} e E_{m2} ^{59-63,162-169}. Os potenciais redox de reações, em que o solvente está axialmente coordenado, são mais positivos ou menos positivos, dependendo de qual estado de oxidação, o dímero seja predominantemente estabilizado pelo solvente. A Tabela 1 mostra resultados obtidos para acetamidato de ródio em diversos solventes^{59,162-169}.

TABELA 1 - Potencias médios para acetamidato de ródio¹⁶⁴

SOLVENTE	E_{m1} (V)	E_{m2} (V)
Acetonitrila	0,15	1,41
Piridina	0,08	-
Dimetilsulfóxido	0,31	-
PPh ₃ 0,1M / CHCl ₂	0,25	1,65

PPh₃ = trifenilfosfina

A exceção do dimetilsulfóxido (DMSO), em que se observou potenciais substancialmente mais positivos, a correlação entre poder doador e potenciais

médios (E_{m1} e E_{m2}) foi linear e inversamente proporcional. Mecanismos de retrodoação foram sugeridos para explicar ligantes como DMSO e trifetilfosfina (PPh_3) que embora apresentem grande poder σ doador, apresentam também potencial π aceptor^{59,162-169}.

A versatilidade em se alterar os potenciais redox destes complexos em função da troca de ligantes, somadas ao potencial catalítico^{5-9,143} e a relevância da atividade biológica¹⁶⁷ quanto a seletividade para espécies doadoras (contendo $-SH$ ou $-N$), reforçam o potencial destes complexos para o desenvolvimento de sensores.

Entre os dímeros mais promissores para o emprego em sensores destacam-se os amidatos^{60,165-167}, carboxamidatos^{7,61} e anilinpíridinatos⁸ (Fig.4), uma vez que estes complexos apresentam boa estabilidade, potencial médio, E_{m1} , relativamente baixos ($< 0,3$ V) e reversibilidade de potenciais.

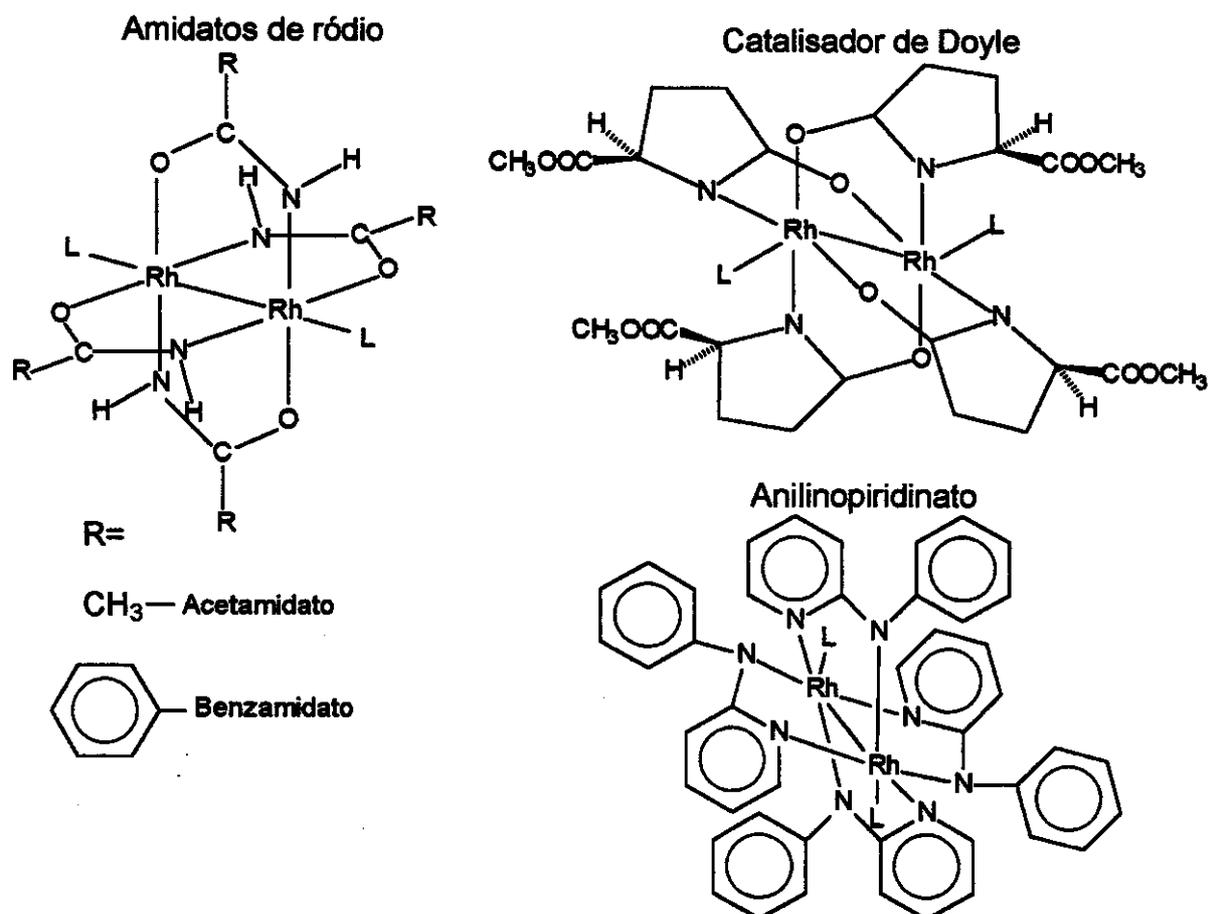


Fig. 4 - Estrutura de dímeros de ródio nitrogenados.

Outro aspecto pelo qual o estudo das propriedades eletroquímicas destes complexos torna-se relevante do ponto de vista de suas propriedades biológicas é a possibilidade de se correlacionar os potenciais redox (*esquema 1*) dos ligantes com seus respectivos parâmetros eletrônicos e investigar a associação destes potenciais redox diretamente com estudos de Relação Estrutura Atividade (REA)¹⁷²⁻¹⁷⁶, ou mesmo com os mecanismos de ação biológica^{170,171,177}.

Uma investigação eletroquímica destes complexos viria a complementar o estudo realizado para a série de carboxilatos, no qual foi descrito¹⁶⁴ uma correlação entre parâmetro eletrônico e potenciais redox (Tabela 2).

Tabela 2 - Potenciais de oxidação de complexos de ródio com substituintes de diferentes valores de $4\sigma^*$ ¹⁶⁴

Substituintes	$4\sigma^*$	$E_{1/2}$ V vs S.C.E.
$(\text{CH}_3)_3\text{C}-$	-1,20	0,93
<i>c</i> - C_5H_9-	-0,80	0,94
<i>n</i> - C_3H_7-	-0,46	0,97
C_2H_5-	-0,40	0,96
CH_3-	+0,00	0,97
$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2-$	+0,86	1,05
CH_3OCH_2-	+2,08	1,13
$\text{C}_6\text{H}_5\text{OCH}_2-$	+3,40	1,20
$\text{CH}_3\text{CHCl}-$	+4,20	1,27
CF_3-	$\cong 10,00$	1,80

$4\sigma^*$ = soma de efeitos indutivos e polares nos 4 substituintes (parâmetro eletrônico).

Este estudo é perfeitamente fundamentado no fato de que a atividade biológica está diretamente relacionada às características de seus ligantes

equatoriais, os quais vão conferir a estes as características de reatividade¹⁵⁷ e lipossolubilidade¹⁶². O estudos eletroquímicos destes compostos sob enfoque biológico enquadram-se numa sub-área da eletroquímica denominada "bioeletroquímica".

1.2- BIOELETRÓQUÍMICA

O primeiro experimento enquadrado dentro da área de bioeletroquímica foi realizado no ano de 1786 pelo médico italiano Luigi Galvani⁵⁴⁻⁵⁵. Neste experimento, Galvani observou contrações musculares nas pernas de uma rã morta, quando ele tocava seus nervos com um par de tesouras durante uma tempestade. Embora, a interpretação dada por Galvani naquele tempo, não tenha sido de todo correta, as controvérsias geradas serviram como um impulso inicial ao desenvolvimento da bioeletroquímica⁵⁴⁻⁵⁶, que só veio a aparecer na enciclopédia de eletroquímica por volta de 1964⁵³, definida por sua própria etimologia como a aplicação da eletroquímica nos estudos de fenômenos biológicos. Posteriormente, com os avanços obtidos na tecnologia de sensores e nas técnicas eletroquímicas de análise, o desenvolvimento da bioeletroquímica teve um grande salto, possibilitando a investigação eletroquímica de vários fenômenos biológicos¹⁷⁸⁻¹⁸¹.

Hoje este campo é tão extenso, que a bioeletroquímica poderia ser dividida em várias áreas, destacando-se neste contexto os estudos cinéticos e termodinâmicos de processos redox em sistemas vivos (ex: fosforilação oxidativa¹⁷⁹, bioeletrocatalise^{180,181}...), a bioeletroanálise^{181,182} e a separação e transporte de cargas em interfaces biológicas (ex: interface eletroquímica entre biomoléculas¹⁸³, eletroporação¹⁸⁴, potenciais transmembranares¹⁸⁴, eletroquímica do impulso nervoso¹⁸⁵...) e assim por diante.

1.2.1 - APLICAÇÕES DA BIOELETRQUÍMICA

Dada a tamanha diversidade dos fenômenos eletroquímicos associados a sistemas biológicos¹⁷⁶, as aplicações da bioeletroquímica poderiam ser subdivididas em quatro tópicos :

A - Aspectos eletroquímicos de fenômenos biológicos

B - Aplicações analíticas.

C - Aplicações em Medicina.

D - Aplicações voltadas às Ciências Farmacêuticas

Em relação aos aspectos voltados aos fenômenos biológicos poderíamos destacar: Reações faradaicas envolvendo biomoléculas e eletroquímica de membranas biológicas.

A.1 - *Reações faradaicas envolvendo biomoléculas de baixo PM*

Talvez a área mais ativa da bioeletroquímica envolva a eletroquímica de moléculas de baixo peso molecular (< 1000 daltons). A história desta sub-área teve início nos anos 30 com o estudo da oxidação da adrenalina por polarografia clássica¹⁸⁶. Seguindo nos anos 40 com a polarografia de vitaminas eletro-reduzíveis, tais como a tiamina e a riboflavina¹⁸⁷. Entretanto, o maior expoente neste campo de pesquisa provavelmente, envolva o estudo redox do sistema NAD^+/NADH ^{73,187-189}.

Este sistema está envolvido com uma ampla variedade de reações metabólicas, de modo que muitas pesquisas tem se direcionado ao estudo da redução do NAD^+ , assim como da oxidação do NADH ^{73,187-189}

Outros estudos que merecem destaque envolvem as porfirinas^{190,191}, flavinas^{73,187}, fármacos e DNA^{170,192-195}.

A.2 - *Reações faradaicas envolvendo macromoléculas biológicas*

A investigação de processos redox de macromoléculas tem sido muito ativa nos anos recentes, particularmente na área de transporte de elétrons em biopolímeros como DNA¹⁹⁶⁻¹⁹⁹ e proteínas²⁰⁰.

As aplicações da eletroquímica para o estudo de macromoléculas podem ser melhor entendidas sob dois aspectos, um envolvendo reações redox de macromoléculas diretamente sobre a superfície de eletrodo¹⁹³⁻¹⁹⁵ e outra envolvendo estudo indireto por meio de mediadores de transferência de carga ou interações com outras espécies¹⁰⁵.

A redução direta de macromoléculas foi executada em uma variedade de sistemas, incluindo DNA¹⁰⁵ e albumina de soro bovino (BSA)²⁰¹⁻²⁰³. Na redução polarográfica do BSA, a principal reação envolvia formação de ligações entre mercúrio e proteína através de resíduos sulfidríla²⁰¹⁻²⁰³.

Já as ondas de redução do DNA na região de -1,3 V tem sido atribuídas aos nucleosídeos adenina e citosina¹⁰⁵.

Tanto para o BSA, quanto DNA a interpretação dos resultados é dificultada devido a irreversibilidade e fenômenos de adsorção associados aos processos redox. Por outro lado, estas macromoléculas não exibem nenhuma reação redox de reconhecida importância para o sistema fisiológico, de modo que os estudos eletroquímicos não forneciam informações diretas sobre reações biológicas²⁰¹⁻²⁰⁴. Deste modo, investigações eletroquímicas diretas, eram mais promissoras para macromoléculas que apresentassem reações redox associadas a processos fisiológicos, tais como citocromo c²⁰⁵, relacionados aos mecanismos de fosforilação oxidativa.

Entretanto, os avanços obtidos na eletroquímica do DNA e suas bases²⁰⁶ ampliaram as aplicações da eletroquímica, especialmente nos estudos entre agentes antineoplásicos e ácidos nucleicos^{106,193}. Neste contexto, entre as aplicações indiretas da eletroquímica no estudo de macromoléculas, merecem destaque as aplicações da bioeletroquímica na elucidação dos mecanismos de ação¹⁷⁰.

A.3 - Eletroquímica de membranas biológicas

Quando uma membrana semi-permeável separa duas soluções de diferentes composições iônicas, sobre esta desenvolver-se à um potencial. A magnitude do potencial de membrana gerado dependerá da natureza da membrana e do gradiente de concentração das espécies carregadas^{184,185,204,207}.

Investigações relacionando a estrutura da membrana com o mecanismo de desenvolvimento do potencial tem sido efetuadas há algumas décadas²⁰⁷.

As membranas apresentam estrutura lipo-proteica e a passagem de espécies carregadas se dá em canais de estrutura protéica, os quais abrem e fecham mediante alteração da conformação tridimensional da proteína. Como exemplo poderíamos citar os canais de Ca^{++} , a abertura destes depende da interação de neurotransmissores a receptores de membrana^{184,185,204,207}. Entretanto, o transporte massivo de íons ocorre não apenas através de canais específicos, mas por toda a membrana por meio de um mecanismo que envolve a alteração da conformação da membrana pela movimentação dos ácidos graxos (Fig. 5), de modo que estes tendem a formar poros hidrofóbicos. Este mecanismo foi recentemente, revisado por Neumann e colaboradores¹⁸⁴.

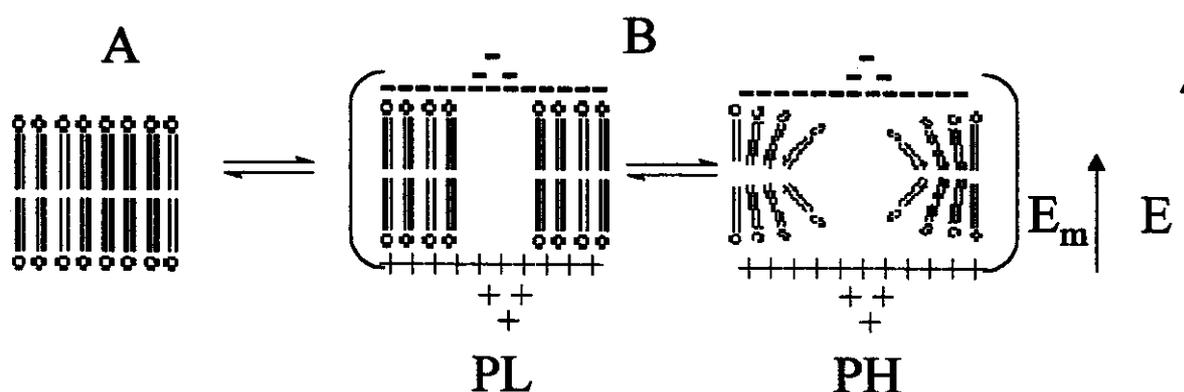


Fig. 5 – Esquema da abertura de poros lipídicos em membranas biológicas, A = membrana fechada, B = formação de poros, PL = poro lipofílico e PH = poro hidrofílico, E_m = potencial de membrana e E = potencial externo (de aplicação).

B - Aplicações analíticas

As aplicações analíticas da bioeletroquímica estão relacionadas aos avanços na eletroanálise de biomoléculas e fármacos, e no desenvolvimento de biossensores.

O interesse pela utilização dos métodos eletroanalíticos, para determinação de biomoléculas e fármacos, aumentou significativamente após o desenvolvimento

de métodos mais sensíveis como os de pulso de potencial¹⁰⁹, pré-concentração²⁰⁸, bem como devido a fusão destes a outras técnicas, como por exemplo os imunoensaios^{88,209}

Outro aspecto, que aumentou o interesse por estas técnicas foi decorrente da miniaturização dos sensores eletroquímicos^{99,110,210-212}, possibilitando análises *in vivo*²¹¹⁻²¹³. O uso de sistemas associando detectores potenciométricos a FIA²¹³ foi aplicado a análise de salicilato em soro humano. Com este mesmo objetivo, sensores modificados com DNA foram utilizados para a determinação de carboplatina¹⁰⁶ em soro humano, entre outros fármacos¹⁹³. A aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados com sílica-titânio na análise de glicose⁴¹ e salicilato⁷⁸ merecem destaque pela melhora significativa obtida no desempenho do sensor.

Análise simultânea de classes de fármacos ou biomoléculas endógenas, também vêm sendo desenvolvida com sensores eletroquímicos. Recentemente, foi desenvolvido um método para análise simultânea de retinal, retinol e ácido retinóico¹⁸² em amostras de cosméticos e medicamentos, bem como para determinação amperométrica de colina, acetilcolina e arsenocolina⁴⁰.

Outros avanços recentes obtidos no campo de sensores e biossensores eletroquímicos incluem o desenvolvimento de microbiossensores para salicilato^{211,213}, glutamato, ascorbato²¹² e glicose^{72,110}, o uso de voltametria de "stripping" adsorptivo na análise de fármacos²⁰⁸, a análise de fármacos em amostras biológicas a nível de picomolar²⁰⁹, bem como a confecção de sensores capazes de mimetizar com precisão os sentidos do olfato⁹⁷ e paladar⁹⁸.

Atualmente, com o desenvolvimento de ultramicroeletrodos, já é possível monitorar os níveis de neurotransmissores no espaço intra e extracelular^{211,212}, fato este relevante tanto para aplicações analíticas como aplicações em medicina.

C - Aplicações em Medicina

As aplicações da eletroquímica em medicina incluem desde o estudo do efeito de um campo eletromagnético em biologia celular²¹⁴, ao crescimento

assistido de ossos e tecidos²¹⁵ e o desenvolvimento de aparelhos e tecnologias de sustentação de órgãos humanos²¹⁶.

O estímulo de nervos e/ou músculos por meio da aplicação de um potencial elétrico marcou o início da bioeletroquímica, já no final do século XVIII pelo médico italiano Luigi Galvani em seus experimentos com a perna de rã.

O processo de estímulo de tecidos vivos por aplicação de um campo elétrico envolve 6 etapas²⁰⁴ :

1) Inicialmente, há o estímulo propriamente dito, de membrana excitáveis do tecido em questão.

2) Podem ocorrer reações faradaicas na superfície do eletrodo com produção ou consumo de íons metálicos ou H^+ .

3) Um campo elétrico deve causar migração e aumento da concentração de íons na região do eletrodo.

4) Este aumento da concentração pode causar uma alteração adicional na interface da membrana.

5) Há um aumento da temperatura próxima ao eletrodo devido ao efeito Joule.

6) Finalmente, há alteração ou estímulo da síntese de material genético na presença do campo elétrico ou dos processos faradaicos.

Os parâmetros envolvidos nestes tratamentos incluem além de condições do meio (temperatura, osmolaridade, condutividade, fatores nutricionais ...) da frequência, amplitude e tempo de aplicação do campo elétrico²¹⁴.

Hoje a eletroestimulação de células é amplamente explorada na medicina, tanto por campos elétricos, quanto eletromagnéticos. Entre as principais aplicações da eletroestimulação temos : proliferação celular, transporte iônico, ativação de enzimas e aumento da concentração de determinadas proteínas²¹⁴.

Outro aspecto cuja aplicação em medicina vêm sendo alvo de intensas investigações é a monitoração de espécies endógenas e exógenas *in vivo* por meio das técnicas eletroquímicas, especialmente após o desenvolvimento de ultramicroeletrodos^{211,212}.

D - Aplicações voltadas as Ciências Farmacêuticas

Entre as aplicações exclusivas da bioeletroquímica às ciências farmacêuticas poderíamos citar o uso da eletroquímica nos estudos dos mecanismos de ação e das relações estrutura-atividade.

O estudo do mecanismo de ação de fármacos pela eletroquímica se aplicam àqueles eletroativos¹⁷⁰ ou cujos mecanismos envolvam a indução de radicais livres¹⁹⁹, sendo raras as exceções dos fármacos que não pertençam a estas categorias¹⁹².

Entre os fármacos mais estudados, destacam-se os compostos nitroimidazólicos (antiprotozoários, antibacterianos ou antifúngicos)^{44,74,75,107,171,172}.

O mecanismo de ação biológica destes compostos (*Fig.6*) depende da redução do grupo nitro, o qual origina espécies intermediárias que irão interagir com DNA (protozoário, bactéria ou fungo), oxidando-o e liberando fosfatos de timidinas e radicais, que causarão assim lesão por desestabilização da dupla hélice de DNA¹⁷⁰.

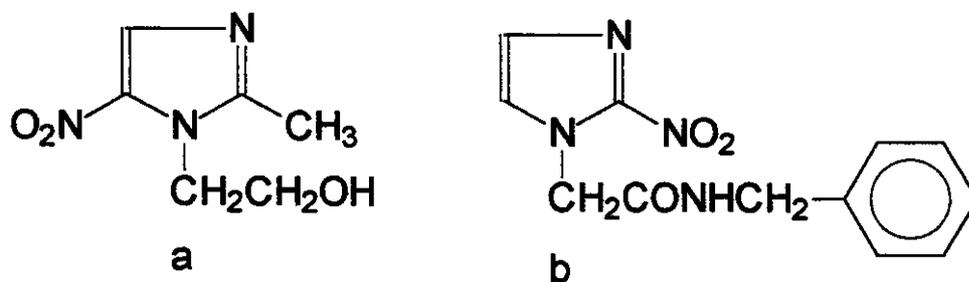
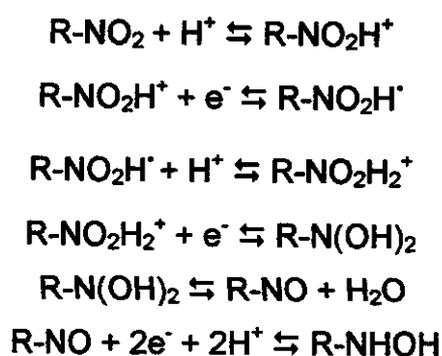


Fig. 6 – Estrutura dos nitroimidazólicos (a) metronidazol, (b) benznidazol.

As razões que estimulam o uso da eletroquímica na investigação destes antimicrobianos se devem não só a relevância em análises clínicas e farmacêuticas, como também ao instigante processo de redução do grupo nitro ao correspondente grupo amino.

Este processo complexo de redução envolve cerca 6 elétrons, sendo que em baixas concentrações de pressão de oxigênio esta redução ocorre de modo similar ao nitrobenzeno. A formação de nitro derivados (R-NO) e hidroxilamina (R-NHOH) requerem um total de 4 elétrons e 4 prótons^{107,170} (esquema 2).



Esquema 2

Outra classe de fármacos, também investigada sob este enfoque com relativa freqüência, é a dos antineoplásicos, alguns exemplos incluem o mitroxanteno⁴⁵, a carboplatina¹⁰⁶, o tiotepa¹⁹⁵ e a mitomicina C¹⁹⁴. O mecanismo de ação destes quimioterápicos envolve freqüentemente mecanismos de intercalação e/ou alquilação com cisão e/ou desestabilização da fita dupla de DNA.

Como exemplo a mitomicina C, um antineoplásico de amplo espectro para tumores sólidos, atua por sua habilidade de ligar-se covalentemente ao DNA, seja de modo bi ou mono funcional. Entretanto, mitomicina C é uma molécula de atividade latente, ou seja sua ativação depende da redução de dois grupos funcionais C-1 aziridina e C-10 carbamato (Fig. 7a). Logo, justifica-se a importância da eletroquímica na elucidação do mecanismo de ação deste fármaco¹⁹⁴. Os estudos voltamétricos sugeriram a coordenação via guanina. O decréscimo ou supressão do pico de oxidação da guanina sugeriu, neste estudo,¹⁹⁴ que a alquilação com a guanina ocorria via G-N7 (Fig. 7b), uma vez que coordenação via G-O6 ou G-N2 não produziria mudanças drásticas no perfil do voltamograma¹⁹⁴. O uso de DNA de dupla e simples hélice, bem como dos

respectivos nucleosídeos foi útil para avaliar o envolvimento de fatores estéricos neste mecanismo.

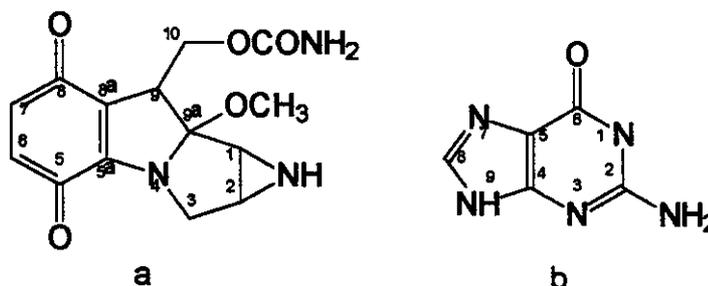


Fig. 7 - Estrutura da a) Mitomicina C e b) guanina.

Os mecanismos de interação entre fármacos e albumina também foram investigadas via eletroquímica. Estes estudo é de grande importância uma vez que a maioria dos fármacos são carregadas no soro sanguíneo complexadas a esta proteína²⁰¹⁻²⁰⁴. As interações entre dímeros de ródio e albumina já foram investigadas por dicroísmo circular e fluorescência^{159,160}, tendo constatado a interação via anéis imidazólicos de seus resíduos de aminoácidos.

Tanto a interação com DNA, quanto com albumina podem ser investigadas eletroquimicamente desde que seja possível verificar mudanças seja na amplitude de corrente de pico, seja no deslocamento de potenciais. Para isto faz-se necessário que se tenha bem estabelecido estes parâmetros sob condições normais, ou seja antes da interação.

Neste sentido, a eletroquímica do DNA foi amplamente investigada e apresenta-se bem definida²⁰⁶.

Logo, complexos de ródio como por exemplo o acetato, cuja interação com DNA já foi investigada por outros métodos^{161,177}, podem também ser investigados eletroquimicamente sob este enfoque, fornecendo informações adicionais, aos mecanismos de ação mais propostos para os carboxilatos de ródio, entre estes a interação com DNA via N7 da adenina¹⁶² ou a coordenação com resíduo cisteína de enzimas, especialmente as polimerases¹⁷⁷.

Finalizando, outro aspecto que vem ganhando força dentro da bioeletroquímica é a possibilidade de associarmos potenciais redox entre outros

parâmetros eletroquímicos aos parâmetros usuais de QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) nos estudos de REA.

Entretanto, esta área tem muito a crescer havendo poucos estudos relacionados a aplicação dos métodos eletroquímicos nos estudos de REA¹⁷²⁻¹⁷⁶.

Em trabalhos recentes, foi constatado^{13,139}, para os lactatos e gliconatos de ródio hidrossolúveis, que o derivado mono-hidroxilado se ligava de modo irreversível à amônia, enquanto o derivado poli-hidroxilado ligava-se labilmente.

Gil et al¹³⁹ comprovaram maior atividade citostática *in vitro* para lactato (mono hidroxilado) frente às células leucêmicas humanas K-562. Neste último caso, os parâmetros de solubilidade eram semelhantes, sendo as maiores mudanças atribuídas aos fatores estéricos e eletrônicos (Tabela - 2). Logo, pode-se inferir que se a força de coordenação com o amônio variou tão significativamente, em função de outros parâmetros que não apenas a hidrossolubilidade, anteriormente investigada¹⁶¹, o mesmo comportamento poderia ser esperado para outras interações, como por exemplo com as bases purínicas e pirimidínicas¹⁶¹, DNA^{62,63}, aminoácidos¹⁵⁸ e proteínas^{14,159}, explicando assim a atividade citostática diferenciada observada para diferentes dímeros^{11-14,138-141}.

Em adição, observou-se em estudos visando a aplicação do catalisador de Doyle (isômeros *R* e *S*) na confecção de eletrodos de pastas de carbono puros ou modificados com DNA comportamentos distintos, os quais sugeriram também interações diferenciadas^{61,62}. Neste último caso os únicos parâmetros usuais de REA que mudaram eram os estéricos, já que os parâmetros eletrônicos (eletronegatividade dos ligantes), hidrofóbicos (solubilidade) são os mesmos para quaisquer isômeros¹⁷⁰.

Estes dados, reforçam o interesse em se experimentar a eletroquímica como uma ferramenta para desvendar a influência dos ligantes equatoriais *R* (Fig. 2) sobre o mecanismo de interação complexo-bases DNA^{161,177}, ou complexo-resíduo cisteína (proteínas)^{159,160}.

A aplicação da bioeletroquímica sob este enfoque aos dímeros de ródio será portanto de grande valia, contribuindo para os avanços das aplicações das técnicas eletroquímicas nos estudos de REA.

СОВЕТ-КОС

2

2 - OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é estudar as propriedades eletroquímicas de diversos dímeros de ródio, em solução aquosa, tanto livres, quanto imobilizados em pasta de carbono. O interesse neste estudo é devido ao reconhecido potencial catalítico e antineoplásico desta classe de compostos.

No caso dos ensaios eletroquímicos em solução, pretende-se complementar os dados da literatura, e obter informações úteis sobre o mecanismo de ação biológica destes compostos. Neste intento, serão avaliadas as potencialidades da bioeletroquímica também nos estudos de Relação Estrutura Atividade (REA).

Os ensaios dos complexos imobilizados têm como meta investigar as potencialidades destes dímeros para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Neste intento, várias estratégias de imobilização, assim como diferentes composições da pasta serão testadas.

MATERIALS

&

METHODS

3

3 - MATERIAL E MÉTODOS**3.1 – MATERIAIS**

REAGENTES	PROCEDÊNCIA	GRAU
Acetamida	Aldrich Chemical Co., Milwaukee-USA.	PA
Acetato de ródio	Aldrich Chemical Co., Milwaukee-USA.	PA
Benzamida	Aldrich Chemical Co. , Milwaukee-USA.	PA
Butirato de ródio	Laboratório do Prof. Renato Najjar IQ-USP	*
Catalisador de Doyle (R)	Aldrich Chemical Co. , Milwaukee-USA.	PA
Catalisador de Doyle (S)	Aldrich Chemical Co. , Milwaukee-USA.	PA
Citrato de ródio	Laboratório do Prof. Renato Najjar IQ-USP	*
Cloreto de ródio	Aldrich Chemical Co., Milwaukee-USA.	PA
DNA "calf thymus" (D-1626)	Sigma Chemical Co., St. Louis-USA.	PA
Etanol absoluto	Merck S/A, Rio de Janeiro-BR.	PA
Éter etílico	Merck S/A, Rio de Janeiro-BR.	PA
Grafite em pó	BDH limited Poole England, London-UK.	PA
Nujol	Shering-Plough Ltda, Rio de Janeiro-BR.	PA
Propionato de ródio	Laboratório do Prof. Renato Najjar IQ-USP	*
Trifluoroacetamidato de ródio	Laboratório do Prof. Renato Najjar IQ-USP	*

PA = Para Análise

* = previamente sintetizado e purificado de acordo com os métodos da literatura.

3.2 - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

3.2.1 - SÍNTESES

Obtiveram-se ou sintetizaram-se todos os complexos de ródio aqui investigados, junto ao laboratório do Prof. Renato Najjar do IQ-USP.

3.2.1.1 - Aduto de acetamida com tetrakis-acetamidato de dirródio (II), $[\text{Rh}_2(\text{HNOCC}_2\text{H}_5)_4(\text{H}_2\text{NOC}_2\text{H}_5)_2]$.

Misturou-se 0,2g de $[\text{Rh}_2(\text{Ac})_4]$ com 4,0 g de acetamida em um frasco de 100 mL com sistema para vácuo (Fig. 8). Inflou-se o frasco com N_2 e então evacuou-se por cerca de 1 hora.

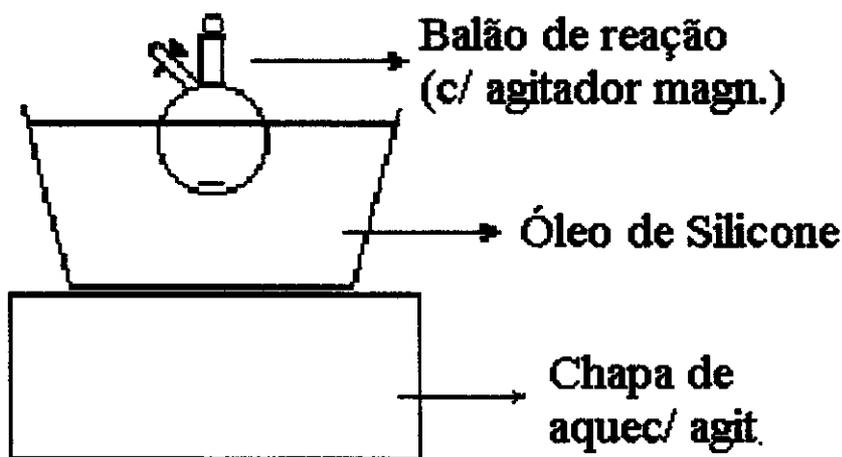


Fig. 8 - Sistema empregado para reações por fusão.

Após este processo, lacrou-se o sistema, transferindo-o para banho de óleo de silicone à temperatura de $130 \pm 5^\circ\text{C}$, mantendo-o por cerca de 20 horas.

Removeu-se o excesso de acetamida, bem como resíduos escuros por sublimação no sistema Abderhalden (Fig. 9), o produto puro apresenta cor purpúrea.

Repetiu-se o procedimento, adicionando-se mais 4,0 g de acetamida fresca. O rendimento aproximado é de 15 %.

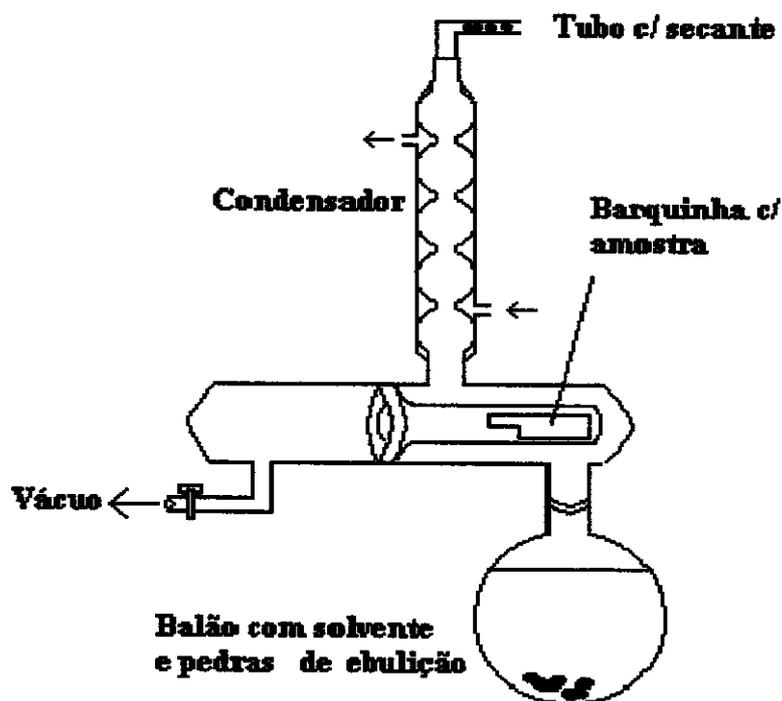


Fig. 9 - Sistema de sublimação Abderhalden.

3.2.1.2 - Tetrakis-acetamidato de dirródio (II), $[\text{Rh}_2(\text{HNOCC}_2\text{H}_5)_4]$

Dissolveu-se o produto anterior (obtido em 3.2.1.1) em 1 mL de etanol anidro, transferindo-o para um tubo de ensaio. Adicionou-se ao tubo de ensaio 3 mL de éter anidro, e deixou-se decantar o precipitado azul. Lavou-se o precipitado com 3 x 3 mL de éter, ressuspendendo-o em ultrassom e deixando-se decantar novamente.

O rendimento aproximado é de 70%.

3.2.1.3 - Tetrakis-benzamidamidato de dirródio (II), $[\text{Rh}_2(\text{HNOCC}_6\text{H}_5)_4]$

Transferiu-se cerca de 0,015 g de $[\text{Rh}_2(\text{Ac})_4]$ e 2 g de benzamida para balão de 125 mL com sistema de vácuo (Fig. 8) e inflou-se com N_2 , evacuando-se em seguida. Após remoção de O_2 aqueceu-se a 140°C por 48 h. Extraiu-se o excesso de benzamida por sublimação em sistema de Abderhalden (Fig. 9). Removeu-se um sólido castanho, lavando-o em seguida com cerca de 5 porções de 5 mL de

diclorometano e 5 porções de 5 mL de éter etílico até isolamento de um precipitado verde. O rendimento aproximado é de 10 %.

3.2.1.4.- Tetrakis-trifluoroacetato de dirródio (II), [Rh₂(OOCF₃)₄]

Dissolveu-se 16,1 g (121 mmol) de trifluoroacetato de sódio em 100 mL de etanol (solução A). Paralelamente preparou-se solução de 1,5 g (5,8 mmol) de RhCl₃ · 3H₂O em 150 mL de etanol (solução B). Adiciona-se lentamente (em cerca de 1 hora) a solução B sobre, a solução A, sob refluxo em atmosfera de N₂. Terminada a adição de toda a solução etanólica de RhCl₃, refluxou-se ainda por 20 minutos. Seguiu-se com remoção do solvente por evaporação a vácuo, e adição de 150 mL de água destilada ao resíduo, obtendo-se uma solução azul intensa. Filtrou-se e extraiu-se o produto desejado com diclorometano (5 x 60 mL). O rendimento aproximado é de 55 %.

3.2.1.5 - Tetrakis-gliconato de dirródio (II), [Rh₂(OOC₅H₁₁)₄]

Transferiu-se 0,4 g de RhCl₃·3H₂O para um balão de 250 mL. Adicionou-se 50 mL de etanol 95%. Paralelamente, preparou-se solução de 1,0 g de gliconato de cálcio em 50 mL de água quente. Misturou-se as duas soluções no balão e, sob atmosfera de N₂, refluxou-se por aproximadamente 11 horas, a temperatura não superior a 75 °C. O rendimento aproximado é de 22%.

3.2.2 - CARACTERIZAÇÃO

3.2.2.1 - Análise Elementar

Efetou-se no analisador de C,H,N da Perkin-Elmer modelo 240B.

3.2.2.2 - Análise por Infravermelho

Obtiveram-se os espectros de infravermelho em pastilhas de KBr de 10 mg com 3 mg do composto, em espectrofotômetro FTIR Perkin-Elmer PE 1700.

3.2.2.3 - Análise por UV-Visível

Obtiveram-se os espectros eletrônicos dos complexos em solução aquosa $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico, com espectrofotômetro da Pharmacia Biotech, modelo Ultrospec 2000.

3.3 - SENSORES

3.3.1 - ENSAIOS ELETROQUÍMICOS

3.2.3.1 - Voltametria Cíclica

Realizaram-se estes estudos em um potenciostato/galvanostato da PAR modelo 273A, utilizando-se contra eletrodo de Pt (espiral), eletrodo de referência de calomelano saturado ECS e KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 como eletrólito de suporte à 10 mV/s .

3.2.3.2 - Voltametria Cíclica dos Compostos em Solução

Para estudos de voltametria cíclica dos compostos em solução utilizaram-se soluções aquosas dos compostos com concentrações de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ preparadas em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, e eletrodos convencionais de Pt e eletrodo de calomelano saturado (SCE) como eletrodos auxiliar e de referência respectivamente.

3.2.3.3 - Voltametria Cíclica dos Eletrodos Modificados

Para os estudos destes eletrodos modificados, utilizou-se o ECS como eletrodo de referência e Pt como contra eletrodo. Os eletrodos suporte para pasta de carbono (eletrodo de trabalho) foram construídos com superfície de platina de 1 mm de espessura e 5 mm de diâmetro. Para a preparação das pastas utilizaram-se os menores percentuais possíveis dos complexos para obtenção de uma boa resolução dos voltamogramas.

3.2.3.3.a - *Amidatos de Ródio*

A) *Eletrodo Modificado com Acetamidato (EMAC) 4,8%.*

Para imobilização em pasta de carbono homogeneizou-se 80 mg de grafite, seco à 100 °C por 2 horas com 4 mg de acetamidato.

Adicionou-se em seguida 1 gota de polietilenoimina PEI (1:20 em água) no sentido de se garantir a imobilização do acetamidato de ródio. Deixou-se secar à temperatura ambiente por 3 horas, adicionando em seguida 80µL de nujol.

B) *Eletrodo Modificado com Aduto do Acetamidato (EMAA) 8%*

No caso do eletrodo modificado com aduto entre acetamidato de ródio e acetamida, utilizou-se 7 mg do complexo para 80 mg de grafite.

C) *Eletrodo Modificado com Benzamidato (EMB) 10%*

Para imobilização em pasta de carbono homogeneizou-se 80 mg de grafite, seco à 100 °C por 2 horas com 8 mg de benzamidato, adicionando em seguida 80µL de nujol.

3.2.3.3.b - *Carboxamidatos de Ródio*

Eletrodos modificados com Catalisadores de Doyle (S) e (R) 1,5%.

Para este composto foram elaborados dois tipos de pasta :

A) *Eletrodo Modificado com Catalisador de Doyle pré dissolvido em óleo mineral (DOO)*

Na elaboração da pasta denominada DOO, homogeneizou-se 130 mg de grafite, seco à 100 °C por 2 horas com 2 mg de $[Rh_2(5-MEPY)_4]$, previamente triturado em almofariz e dissolvido em 130 µL de nujol com auxílio de ultrassom.

B) Eletrodo Modificado com Catalisador de Doyle pré dissolvido em óleo mineral com DNA (DOD)

Na elaboração da pasta DOD, procedeu-se conforme esquema a seguir:

a) Dissolveu-se 2 mg de DNA (Sigma D-1626) em 120 μL de água destilada, homogeneizando-se em seguida com 64 mg de grafite.

b) Homogeneizou-se 64 mg de grafite com 2 mg de $[\text{Rh}_2(5\text{-MEPY})_4]$ dissolvido como para DOO em 80 μL de nujol.

c) Misturou-se pasta A e B, obtendo-se DOD.

Obs: Também foram testados além do DNA o uso de : Polietilenoimina (PEI), Dodecil sulfato de sódio (DSS), Polietileno glicol 4000 (PEG) e álcool polivinílico (PVA).

3.2.3.4 - Avaliação das Propriedades Eletrocatalíticas

Os sistemas EMAC, DOO e DOD foram investigados para fins práticos em $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria cíclica e posteriormente detectado seu potencial catalítico, por cronoamperometria. Para cronoamperometria utilizou-se como eletrodo de trabalho um eletrodo rotatório com cavidade de 0,8 mm de profundidade e diâmetro de 10 mm.

3.4 - BIOELETROQUÍMICA

3.4.1 - ESTUDO DA INTERAÇÃO DÍMERO-DNA EM SOLUÇÃO

Avaliou-se a interação entre DNA e os dímeros de ródio : acetato $[\text{Rh}_2(\text{Ac})_4]$, propionato $[\text{Rh}_2(\text{Prop})_4]$, butirato $[\text{Rh}_2(\text{But})_4]$, trifluoroacetato $[\text{Rh}_2(\text{TFA})_4]$, citrato $[\text{Rh}_2(\text{Cit})_4]$, glicolato $[\text{Rh}_2(\text{Gli})_4]$, acetamidato $[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4]$, trifluoroacetamidato $[\text{Rh}_2(\text{TFAcam})_4]$ e o carboxamidato (catalisador de Doyle S) $[\text{Rh}_2(\text{MEPY})_4]$ por voltametria de pulso diferencial na faixa de 0 a 1600 mV, velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , amplitude de pulso de 25 mV e tempo de pulso de 50 ms utilizando como eletrodo de trabalho fibra de carbono da Toray T-800. Para estes estudos prepararam-se soluções $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ dos complexos, adicionando-os em alíquotas de 200 μL à uma célula contendo 5 mL de DNA calf Thimus (D-1626) 0,2 mg/mL, ambas preparadas em solução de KCl $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ pH 7. O DNA em solução foi previamente denaturado por choque térmico, para isto aqueceu-se à ebulição ($100 \text{ }^\circ\text{C}$) resfriando-se em seguida em banho de gelo ($0 \text{ }^\circ\text{C}$).

Realizaram-se os ensaios em função da concentração dos dímeros, variando-se a mesma de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ à $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Em seguida avaliou-se o efeito do dímero em função do tempo de incubação, variando-se este de imediato ($< 5 \text{ min}$) até 360 horas. Para este estudo fixou-se a concentração no valor intermediário de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, a qual apresentou níveis razoáveis de supressão dos picos de oxidação das bases purínicas do DNA para todos compostos. Atribuiu-se a supressão total dos picos anódicos o valor de 100 % (valor este relacionado a linha base do pico), já supressão zero foi aquela em que não houve diferença entre corrente de pico da amostra e do branco (solução de DNA sem complexo).

3.4.1.1 - Instrumentação

Utilizou-se para estes estudos um potenciostato/galvanostato da PAR modelo 273A. Utilizando-se contra eletrodo de Pt (espiral), eletrodo de referência de calomelano saturado ECS e KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 como eletrólito de suporte.

RESEARCH

&

ASSOCIATED

4

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dado a indisponibilidade comercial da maioria dos compostos de ródio, aqui investigados foi necessária a síntese dos mesmos. Entre os compostos utilizados, enquanto o acetato e catalizador de Doyle já são disponíveis comercialmente, o citrato e o trifluoroacetamido de ródio, foram fornecidos pelo Prof. Renato Najjar (IQ-USP). Já o trifluoroacetato, gliconato, acetamido e benzamido de ródio foram sintetizados durante o projeto, salientando-se que a síntese dos amidatos é de modo geral, muito mais difícil que a dos análogos carboxilatos.

4.1 - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DÍMEROS

Observou-se, nas várias tentativas de obtenção dos amidatos, que a eficiência da síntese depende especialmente, do rigor empregado nos métodos de eliminação de oxigênio e umidade. Estes interferentes estariam relacionados a processos de oxidação, hidrólise e decomposição dos reagentes empregados e produtos gerados na síntese. Os produtos de decomposição mostraram deslocar a reação num sentido desfavorável, sendo aconselhável portanto interrompe-la em tempo hábil, assim que o produto de cor púrpura $[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4(\text{Acam})_2]$ é obtido. Assim sendo, o tempo de reação e temperatura também devem ser bem controlados. Esta hipótese condiz com a literatura, que sugere executar a reação em duas etapas de 24 horas, na qual se troca a porção de amida empregada na primeira etapa de reação por outra de amida fresca^{9,165}. A troca completa de amidatos por carboxilatos mesmo pela metodologia usual, tem sido descrita como uma tarefa difícil, dado que os ligantes equatoriais são bastante estáveis, especialmente para os carboxilatos^{9,163-169}. Outra ressalva, é que mesmo entre os produtos de troca completa são possíveis vários isômeros geométricos (Fig. 10), sendo a separação dos mesmos possíveis apenas por cromatografia¹⁶⁵.

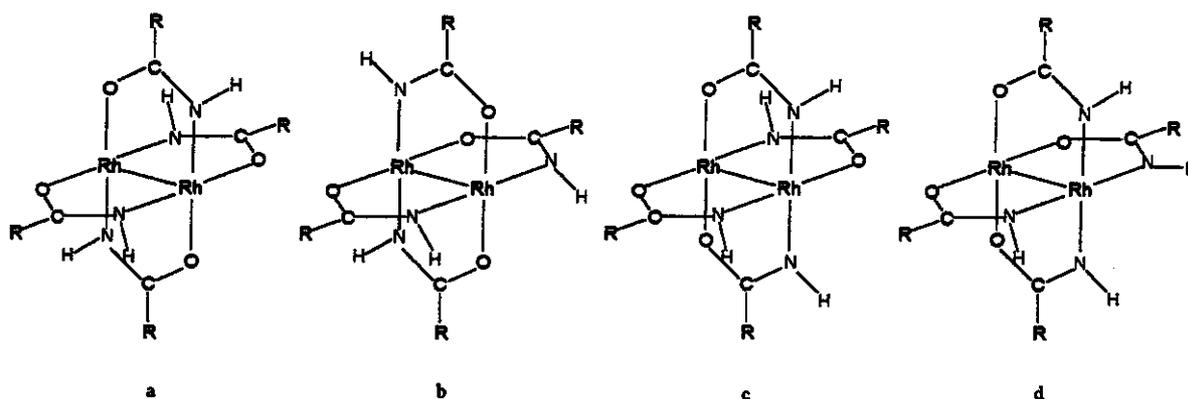


Fig. 10 - Possíveis isômeros geométricos para os amidatos de ródio.

O método proposto para remoção do ligante axial (acetamida) do aduto $[\text{Rh}_2(\text{HNOCCCH}_3)_4(\text{H}_2\text{NOCCH}_3)_2]$ na obtenção do acetamidato livre $[\text{Rh}_2(\text{HNOCCCH}_3)_4]$, em que dissolve-se em etanol e precipita-se com éter foi bastante prático e eficiente. O mesmo condiz com estudos realizados por Espósito e colaboradores^{159,217}, onde foi verificada uma competição entre metanol e amidas pela posição axial. A solubilidade do complexo em éter foi praticamente nula em relação à acetamida, por outro lado a volatilidade e baixo poder coordenante deste solvente, facilitam a sua eliminação.

4.1.1 - ANÁLISE ELEMENTAR

Os resultados da análise elementar dos compostos obtidos encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados de micro análise

Compostos	% Carbono		% Hidrogênio		% Nitrogênio	
	calc.	exptal.	calc.	exptal.	calc.	exptal.
$[\text{Rh}_2(\text{Gli})_4(\text{H}_2\text{O})_4]$	27,22	27,41	4,95	4,93	-	-
$[\text{Rh}_2(\text{TFA})_4]$	14,60	14,88	-	0,31	-	-
$[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4](\text{Acam})_2$	25,91	26,25	4,71	4,80	15,11	13,87
$[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4]$	21,94	21,80	3,68	3,66	12,79	11,89
$[\text{Rh}_2(\text{BZA})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$	46,56	46,59	3,91	3,57	7,76	6,70

Os valores experimentais para análise de CHN se encontram bem próximos aos teóricos, para os carboxilatos. Em parte, os bons índices de pureza obtidos para os carboxilatos, devem-se ao fato de que, as metodologias empregadas para estes compostos já estão bem estabelecidas^{9,132-144,157-169}, e fazem parte da rotina do laboratório do Prof. Renato Najjar.

Já os resultados obtidos para os amidatos, embora bastante próximos aos valores teóricos para carbono e hidrogênio, apresentaram valores sistematicamente menores para nitrogênio. Pode-se atribuir este fato a presença de contaminação por subprodutos de reação $[\text{Rh}_2(\text{ONHCCH}_3)_{4-n}(\text{OOCCH}_3)_n]$ como descrito anteriormente por Bear & colaboradores¹⁶⁵⁻¹⁶⁸.

Cabe ressaltar aqui que, embora o aumento do tempo de reação eleve os níveis de pureza (troca completa), isto comprometeria o rendimento da síntese, que, no caso os amidatos, é bastante baixo.

4.1.2 - ANÁLISE NO UV-VISÍVEL

As quatro bandas características da classe dos carboxilatos de ródio⁴ são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Atribuição das bandas do espectro na região do UV-visível

	λ típicos em carboxilatos	TRANSIÇÃO
BANDA 1	~590 nm	$\pi^*\text{Rh-Rh} \rightarrow \sigma^*\text{Rh-Rh}$
BANDA 2	~460 nm	$\pi^*\text{Rh-Rh} \rightarrow \sigma^*\text{Rh-O}$
BANDA 3	~250 nm (ombro)	$\sigma \text{Rh-Rh} \rightarrow \sigma^*\text{Rh-Rh}$
BANDA 4	~210nm	$\sigma \text{Rh-O} \rightarrow \sigma^*\text{Rh-Rh}$

Os espectros eletrônicos dos carboxilatos são, em geral, caracterizados por absorções fracas na região do visível e ultravioleta próximo, típicas de transições proibidas (bandas 1 e 2) e absorção intensa na região do ultravioleta, típicas de transições permitidas (bandas 3 e 4). Segundo Norman e Kolari^{146,147} a pequena absorção observada para as bandas 1 e 2 no espectro visível (transições proibidas), são explicadas por transições viabilizadas devido a efeito de dipolo

elétrico. Entre estas, a banda 1 é fortemente influenciada pela natureza dos ligantes axiais $L^{146-153}$, o que evidencia muitas vezes o sítio de coordenação. Já a banda 2 altera-se apenas com mudanças de ligantes equatoriais.

Na região do ultravioleta (bandas 3 e 4), absorções em torno de 260 nm (ombro) e 220 nm $^{146-150}$, apresentam deslocamento para o vermelho, à medida que se aumenta a força doadora do ligante e podem ser consideradas parte da impressão digital destes carboxilatos.

Em relação aos amidatos, tanto a presença de um sistema heterogêneo de coordenação O-C-N, quanto a presença de vários isômeros geométricos possíveis resultam em queda na simetria, quando comparados aos carboxilatos. Entretanto, as 4 bandas características da estrutura em "gaiola" foram também observadas para estes compostos. Na Tabela 5 são mostrados os comprimentos de onda de absorção para o acetamidato de ródio e seu aduto.

Tabela 5 - Bandas de absorção na região UV-visível obtidas para amidatos

	$[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4]$	$[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4(\text{Acam})_2]$
BANDA 1	560 nm	570 nm
BANDA 2	427 nm	424 nm
BANDA 3	368 nm	370 nm
BANDA 4	222 nm	221 nm

Nas Tabela 4 e 5, verifica-se que a similaridade, entre os espectros dos amidatos e carboxilatos é apenas superficial 9,146,163,169 . Entretanto, algumas das principais bandas características destes dímeros foram detectadas, evidenciando a formação da estrutura de "gaiola" 9 . A maioria dos espectros dos amidatos apresentam duas absorções principais no visível, uma abaixo de 400 nm e outra em ~ 450 nm, valores estes, condizentes com os resultados obtidos, onde os espectros apresentaram bandas em 368 nm e 427 nm para o $[\text{Rh}_2(\text{Acam})_4]$ e 370 nm e 424 nm para seu aduto.

4.1.3 - ANÁLISE NO INFRAVERMELHO

A Tabela 6 apresenta as bandas observadas no espectro na região do infravermelho para os compostos $Rh_2(BZA)_4$, $Rh_2(Acam)_4$ e $[Rh_2(Acam)_4(Acam)_2]$.

Tabela 6 - Bandas de espectro obtidas para $Rh_2(BZA)_4$, $Rh_2(Acam)_4$ e $[Rh_2(Acam)_4(Acam)_2]$ na região do infravermelho (cm^{-1})

$Rh_2(BZA)_4$	$Rh_2(Acam)_4$	$Rh_2(Acam)_4(Acam)_2$	Atribuições tentativas
3360-3180(14)	3559-3336(14)	3563-3327(13)	v N-H, v O-H ligação H
3040 (65)	2921 (55)	2928(74)	v C-H
-	-	1669(6)	v C=O amidas secundárias
1595 (10)	1601(10)	1605(5)	v CO ass
1445 (31)	1471(31)	1473(35)	v C-N
1425(38)	1431(38)	1430(20)	v CO sim
1218(31)	1223(31)	1216(29)	δ (CNH) + v C-N
695-540(40)	698-602(40)	697-569(40)	δ N-H

() intensidade de transmitância das bandas
v estiramento, δ deformação angular

As frequências de absorção no infravermelho para estiramento assimétrico e simétrico do grupo carbonila da amida na interação ródio-amida em analogia a ródio-carboxila são mostradas na Tabela 7.

Tabela 7 - Exemplos de Δ (v ass CO-v sim CO) para alguns compostos

Compostos	v ass CO	v sim CO	Δ
$Rh_2(BZA)_4$	1595	1425	170
$Rh_2(Acam)_4$	1601 cm^{-1}	1431 cm^{-1}	170
$Rh_2(Acam)_4(Acam)_2$	1605 cm^{-1}	1430 cm^{-1}	175
$Rh_2(Gli)_4(H_2O)_4$	1605 cm^{-1}	1433 cm^{-1}	172
$Rh_2(Ac)_4$	1589 cm^{-1}	1439 cm^{-1}	159

De acordo com Deacon e colaboradores¹⁵⁰, carboxilatos que possuem valores de Δ maiores que 200 cm^{-1} devem funcionar como ligantes monodentados e bidentados para os compostos com Δ menores que 200 cm^{-1} . Fazendo-se uma analogia entre os valores encontrados para os amidatos e carboxilatos, pode-se dizer que estes são característicos de ligações, cuja coordenação se dá de forma bidentada.

As atribuições das bandas na região de baixa frequência, relacionadas à ligação metal-ligante, são dificultadas pelo aparecimento de vibrações do retículo cristalino e a possibilidade de acoplamentos vibracionais. Entre estas, as mais fortes são $\nu_{\text{ass}}\text{ CO Rh-O}$ ($487\text{-}402\text{ cm}^{-1}$) e $\nu_{\text{sim}}\text{ CO Rh-O}$ ($364\text{-}315\text{ cm}^{-1}$). Já as bandas relacionadas a vibrações Rh-Rh, só são visíveis no Raman^{9,149-152}. No caso do aduto, a coordenação por NH, causaria deslocamento para números de onda menores, o pequeno aumento na frequência $\nu\text{ C-NH}$ pode ser indício de coordenação axial via oxigênio. Este aumento pouco significativo condiz com o caráter fraco da ligação axial. O estiramento C=O em torno de 1669 cm^{-1} foi encontrado apenas para o aduto por ser exclusivo de amidas secundárias^{9,163,165,217}.

A ausência do mesmo no espectro obtido para o acetamidato livre (não coordenado axialmente por acetamida), confirma a eficácia do método proposto para eliminação do ligante axial.

As principais bandas foram atribuídas com base na literatura^{9,145-152}, estando as mesmas coerentes com os valores encontrados.

4.2 - ENSAIOS ELETROQUÍMICOS

4.2.1 - VOLTAMETRIA CÍCLICA

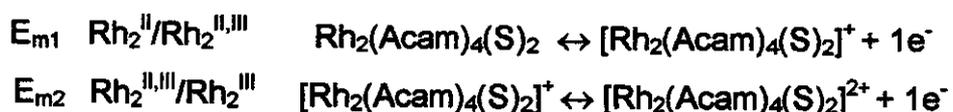
4.2.1.1 – Carboxilatos de Ródio

A caracterização eletroquímica dos carboxilatos de ródio em solução aquosa, bem como seu emprego no desenvolvimento de sensores foi inviabilizada pelos altos potenciais redox destes dímeros^{9,163-169}. Estes potenciais foram igualmente altos ou mesmo superiores quando os complexos foram imobilizados.

4.2.1.2 – Amidatos de Ródio

4.2.1.2 a - *Acetamidato*

A caracterização eletroquímica dos dímeros de ródio, de uma maneira geral, tem sido efetuada, quase que exclusivamente em soluções não-aquosas¹⁶³⁻¹⁶⁹. Nesses experimentos foram relatadas duas reações simples de transferência de elétron. Bear e colaboradores^{9,167}, no sentido de verificar o número total de elétrons envolvidos em cada passo, oxidaram e re-reduziram a potenciais controlados, relatando o fenômeno como sendo um processo reversível monoeletrônico.



Os potenciais redox destas reações, em que o solvente está axialmente coordenado, serão deslocados anódica ou catódicamente, dependendo do estado de oxidação no qual o dímero seja predominantemente estabilizado. De uma maneira geral, quanto maior o poder doador, menores os potenciais médios E_{m1} e E_{m2} . A Tabela 8 mostra resultados obtidos para acetamidato de ródio em diversos solventes¹⁶³⁻¹⁶⁹.

Tabela 8 - Potencias médios para acetamidato de ródio^{163,164}

SOLVENTE	E_{m1} (mV)	E_{m2} (mV)
Acetonitrila	150	1410
Piridina	080	-
Dimetilsulfóxido	310	-
PPh_3 0,1 mol L ⁻¹ / $CHCl_2$	250	1650

PPh_3 = trifenilfosfina

À exceção do dimetilsulfóxido (DMSO), em que se observou potenciais substancialmente mais positivos, a correlação entre poder doador e potenciais médios (E_{m1} e E_{m2}) foi linear e inversamente proporcional. Mecanismos de retrodoação foram sugeridos para explicar ligantes como DMSO e trifenilfosfina (PPh_3) que, embora apresentem grande poder σ doador, apresentam também potencial π acceptor¹⁶³⁻¹⁶⁹.

Os resultados obtidos por voltametria cíclica em solução aquosa com diferentes eletrólitos para o acetamidato de ródio apresentaram dois pares redox E_{m1} e E_{m2} na faixa de 270 mV e 492 mV (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores de E_{m1} e E_{m2} para $[Rh_2(Acam)_4]$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em diferentes eletrólitos suportes, obtido com eletrodo de disco de platina

Solução aquosa de	E_{m1} (mV)	E_{m2} (mV)
KNO_3 0,1 mol L ⁻¹	280	492
$KClO_4$ 0,1 mol L ⁻¹	278	488
KCl 0,1 mol L ⁻¹	270	470
KCl 0,5 mol dm ⁻³	250	381

Na Tabela 9, observa-se que, assim como para os resultados obtidos na literatura em diferentes sistemas não aquosos (Tabela 8), há uma correlação inversamente proporcional entre poder coordenante do eletrólito e potenciais redox observados¹⁶³⁻¹⁶⁹. No caso de eletrólitos coordenantes como o cloreto, o aumento da concentração também resulta em deslocamento para potenciais menos positivos.

Em relação aos sistemas imobilizados, observou-se que de uma maneira geral os picos relacionados a formação dos estados de transição intermediários $Rh_2^{II,III}$ são suprimidos e esta supressão, bem como a resolução dos voltamogramas, sofre uma forte influência do eletrólito (Fig.11). Os valores dos potenciais médios encontrados para EMAC em diferentes analitos encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 – Potenciais médios obtidos para EMAC em diferentes eletrólitos suporte solução aquosa $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7

Eletrólito	E_{m1} (mV)	E_{m2} (mV)
K_2SO_4	-	478
KAc	-	450
KNO_3	-	430
$KClO_4$	-	425
KCl	245	-
NaCl	245	-
LiCl	245	-

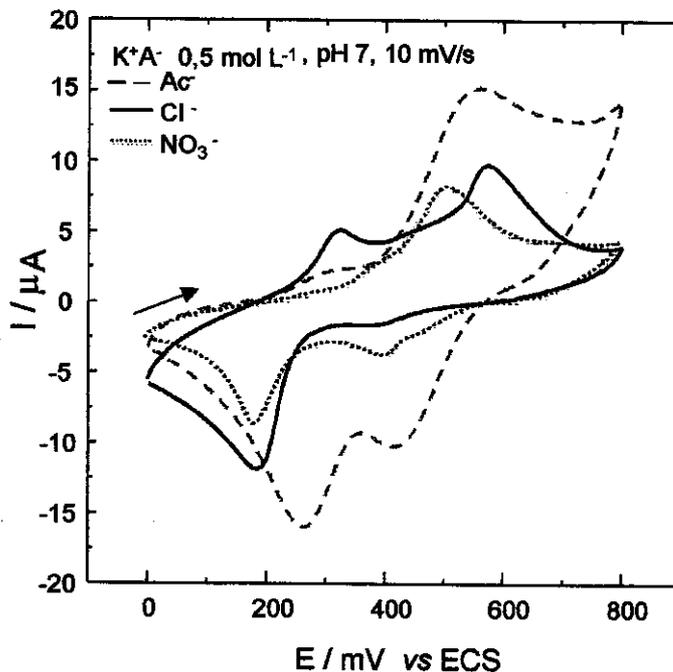


Fig. 11 - Voltamogramas cíclicos obtidos para EMAC (registro do 2º ciclo) x ECS em eletrólitos suporte contendo diferentes anions ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, $0-800 \text{ mV}$, 10 mVs^{-1}).

Para o cloreto, estes picos são predominantemente suprimidos no processo catódico enquanto que, para os eletrólitos não coordenantes no processo anódico. No processo anódico, apenas o íon cloreto parece se coordenar com o complexo neutro (Rh_2^{II}), favorecendo a formação de espécies ($\text{Rh}_2^{\text{II,III}}$). Em contrapartida, os demais anions provavelmente devem interagir melhor com o complexo na forma totalmente oxidada (Rh_2^{III}), quando este se encontra positivamente carregado, estabilizando as espécies intermediárias ($\text{Rh}_2^{\text{II,III}}$) formadas na redução.

Por outro lado, o fato deste comportamento não ter sido observado para o complexo livre em soluções aquosas (Tabela 9) ou orgânicas^{9,163-169} (Tabela 8), sugere também a influência da imobilização via PEI. Já que os estados intermediários são resultados de um sinergismo, comumente observado para ligações metal-metal^{9,163-169}, em que um elétron é dividido ao longo do orbital molecular da ligação Rh-Rh, pode-se inferir que a coordenação axial com este polímero policationico, dificulta este sinergismo. Outro ponto em favor a esta teoria, é que o aumento da quantidade de PEI, resultou em voltamogramas menos definidos.

Ainda em relação à influência dos eletrólitos para os sistemas imobilizados, observaram-se diferenças bastante significativas na resolução do perfil dos voltamogramas (Fig. 12). Constatou-se que íons pequenos de maior mobilidade (Tabela 11) interagem melhor na superfície do eletrodo facilitando os processos de transferência de elétrons.

Tabela 11 - Propriedades iônicas em solução aquosa*

Íons	λ^0 , $\text{cm}^2 \Omega^{-1} \text{eq}^{-1\text{a}}$	U , $\text{cm}^2 \text{sec}^{-1} \text{V}^{-1\text{b}}$
K^+	73,52	$7,619 \times 10^{-4}$
Na^+	50,11	$5,193 \times 10^{-4}$
Li^+	38,69	$4,010 \times 10^{-4}$
$1/2 \text{SO}_4^{2-}$	79,8	$8,27 \times 10^{-4}$
Cl^-	76,34	$7,912 \times 10^{-4}$
NO_3^-	71,44	$7,404 \times 10^{-4}$
Ac^-	40,9	$4,24 \times 10^{-4}$

*diluição infinita à 25 °C

Já em relação aos cátions, exceto quando o contra íon era o cloreto (Fig. 12), não houve alteração significativa dos perfis dos voltamogramas.

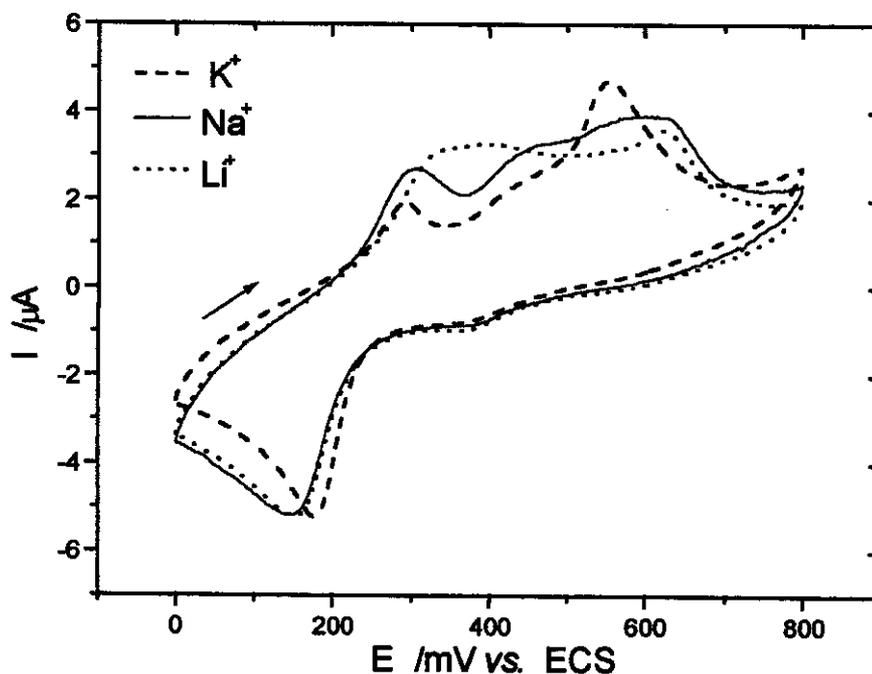


Fig. 12 - Voltamogramas cíclicos do EMAC em eletrólito suporte M^+Cl^- $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, ($M = \text{Li, Na, K}$, $\text{pH } 7$, $0\text{-}800 \text{ mV}$, 10 mV s^{-1}).

As diferenças observadas para este anion coordenante, se devem provavelmente, ao fato de que, após a coordenação, o balanço de cargas é feito pelo cátion, de modo que a eficiência deste processo dependerá da mobilidade do contra-íon.

Ainda para o caso específico de medidas feitas em presença de anions Cl^- , observaram-se desdobramento ou aparecimento de novos picos anódicos em voltamogramas obtidos em soluções mais diluídas (Fig. 13).

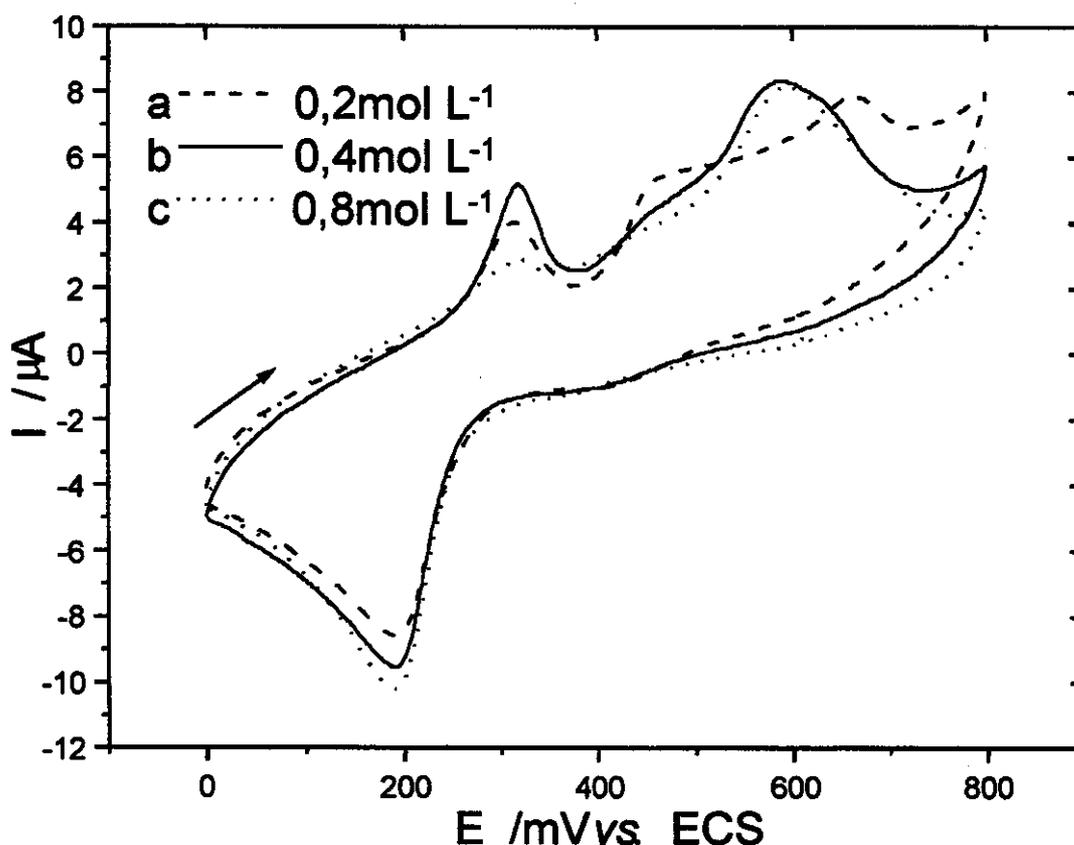
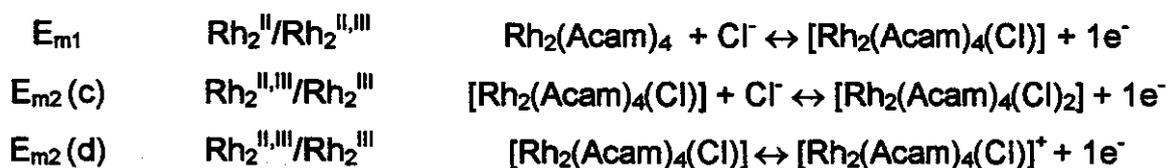


Fig. 13 - Perfil do voltamograma obtido para EMAC em função da concentração de KCl pH 7, 10 mV s^{-1} , 0-800 mV.

A constante de coordenação é diretamente relacionada a concentração ⁹, de modo que provavelmente, em diferentes concentrações ocorra formação de espécies de coordenação completa e parcial, com estabilização em potenciais distintos.



c = [Cl] concentrado, d = [Cl] diluído

Como não foram observadas alterações significativas dos perfis dos voltamogramas para demais eletrólitos em função da concentração ou respectivo contra-íon, pode-se comprovar que a interação com este anion seja mais forte que com os demais. No sentido de se avaliar esta hipótese foram realizados ensaios

nos quais foram adicionadas quantidades crescentes de KCl aos demais eletrólitos. Nestes ensaios, constatou-se que a percentagem mínima de cloreto por solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ dos demais eletrólitos, suficiente para alterar os perfis de seus voltamogramas foram da ordem de 3% a 14%. Num trabalho anterior foi verificado que em presença de cloreto havia precipitação do trifluoroacetamido de ródio $[\text{Rh}_2(\text{TFAcam})_4]$ em solução aquosa ²¹⁷. Pode-se concluir que, especialmente, para espécies neutras de acetamido de ródio, ocorre coordenação apenas dos íons Cl^- . Enquanto que, para os demais ânions a interação é fraca regida principalmente por interações eletrostáticas, mais efetivas para espécies carregadas positivamente como $[\text{Rh}_2^{\text{III}}]^+$.

A independência dos parâmetros eletroquímicos em função do pH, *Tabela 12* indicam que o processo é centrado no metal e que a estrutura em gaiola (*Fig. 3,4*) do acetamido de ródio permanece intacta ^{9,145}.

Tabela 12 - Variação da razão de corrente I^* e potenciais médios E_{m1} e E_{m2} em pH, obtidos para EMAC x ECS, respectivamente, para solução $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl e KNO_3

pH	E_{m1} (mV), KCl	I_{1a} / I_{1c}	E_{m2} (mV), KNO_3	I_{2a} / I_{2c}
2	258	0,33	426	1,73
3	259	0,34	424	1,73
4	260	0,35	420	1,72
5	261	0,36	421	1,72
6	262	0,37	420	1,71
7	261	0,38	420	1,72
8	262	0,39	424	1,73

- I_{1c} = corrente de pico catódica para E_{m1} e I_{1a} = corrente de pico anódica para E_{m1}
- I_{2c} = corrente de pico catódica para E_{m2} e I_{2a} = corrente de pico anódica para E_{m2}

As diferenças nas razões de pico de corrente anódico e catódico para primeiro e segundo par redox, resultam num valor médio próximo da unidade. Esta observação se soma a supressão diferenciada dos estados intermediários (*Fig. 11-13*), sugerindo uma interdependência entre os pares redox E_{m1} e E_{m2} .

Este fato foi comprovado por varreduras feitas sucessivamente com potenciais de inversão menores (Fig. 14), constatando-se que pico catódico E_{1c} era afetado pelo anódico E_{2a} .

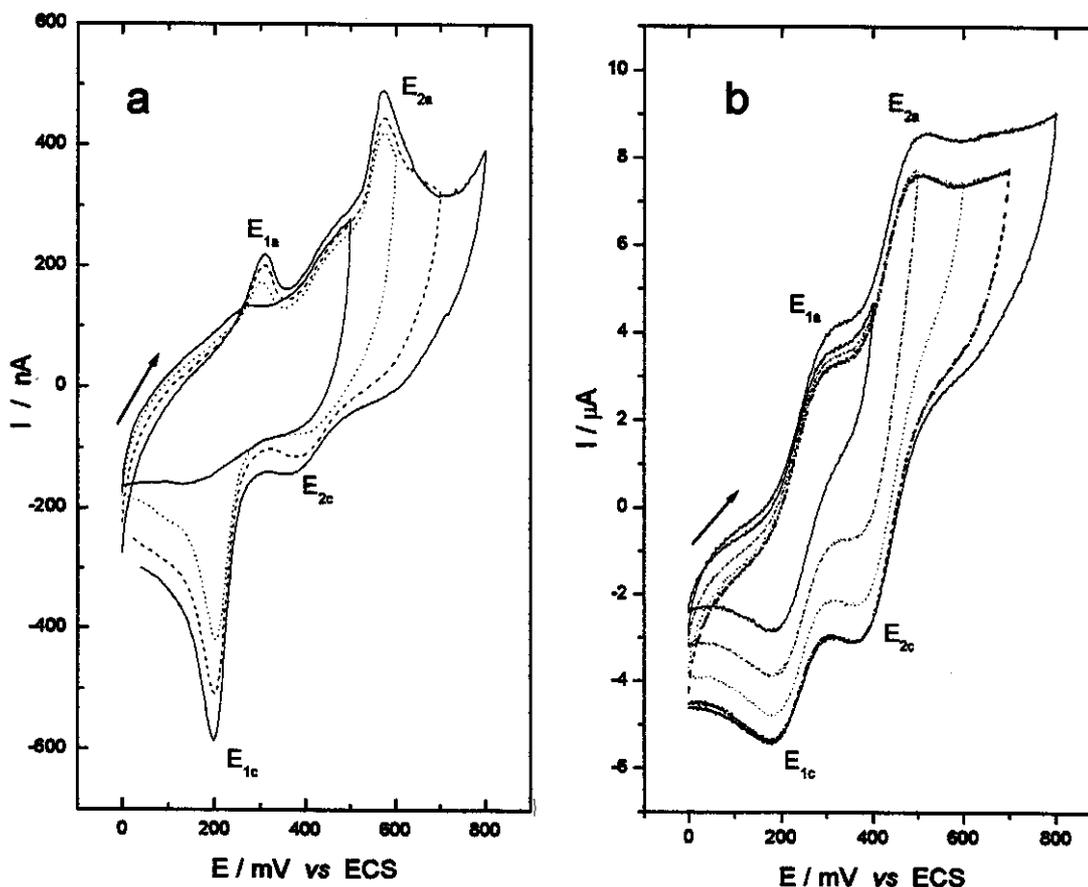


Fig. 14 – Voltamogramas Cíclicos (2º registro) obtidos em diferentes potenciais de inversão a) complexo imobilizado (EMAC), e b) “complexo livre” na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ambos nas seguintes condições : KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, 0-800 mV, 10 mV s^{-1} .

Para investigação dos parâmetros eletroquímicos do EMAC, foram escolhidos dois eletrólitos: KCl devido a melhor definição do par redox E_{m1} e KNO_3 , pelo fato de não ocorrer desdobramentos no segundo par E_{m2} , tanto em função da concentração quanto do contra-íon (Fig. 12 e 13).

A razão entre corrente anódica e catódica I_{2A}/I_{2C} variou sensivelmente de maneira inversamente proporcional à concentração de NO_3^- (Fig. 15), entretanto

quando se mediu a razão de corrente do processo global I_A/I_C (média) esta se manteve constante em torno de 1. Este fato reafirma a interdependência destes processos envolvendo a passagem de Rh_n^{II}/Rh_n^{III} seja $n=1$ (processo parcial) ou 2 (processo global).

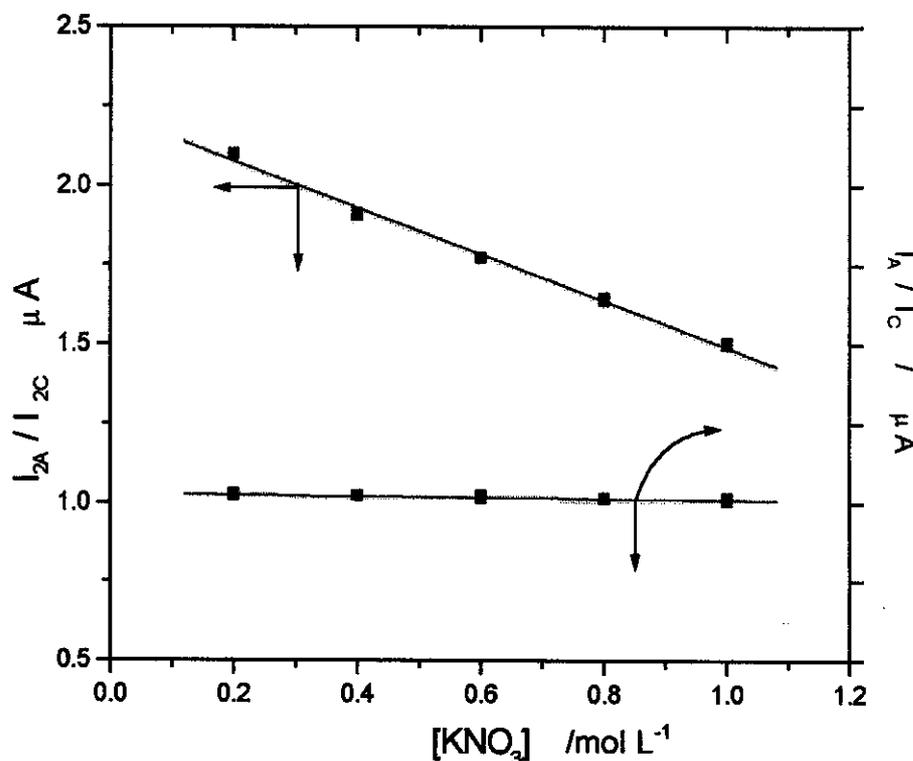


Fig. 15 - Variação da razão de corrente I_A/I_C do processo total (azul) e do segundo par redox (vermelho) em relação a variação de concentração de KNO_3 , pH 7, a 10 mV/s, eletrodo EMAC x ECS.

A diferença entre potenciais anódicos e catódicos ΔE variou proporcionalmente em relação a velocidade de varredura e de maneira inversamente proporcional em relação a concentração.

A redução dos valores de ΔE com o aumento da concentração é perfeitamente natural, mostrando que a transferência é facilitada com aumento da concentração eletrolítica, diminuindo-se a resistência.

De um modo geral, o comportamento em ambos eletrólitos frente a velocidade de varredura foi similar, embora a interpretação ou definição dos

dados tenha sido mais fácil em KNO_3 . Razão pela qual, tomaremos predominantemente estes dados para ilustrar este comportamento.

Observou-se entre 2 e 60 mV/s uma variação linear da intensidade de corrente em função da raiz quadrada da velocidade (Fig. 16), mostrando que o processo é difusional. Outrossim, a partir de 60 mV/s havia queda progressiva da linearidade e comprometimento da resolução do voltamograma.

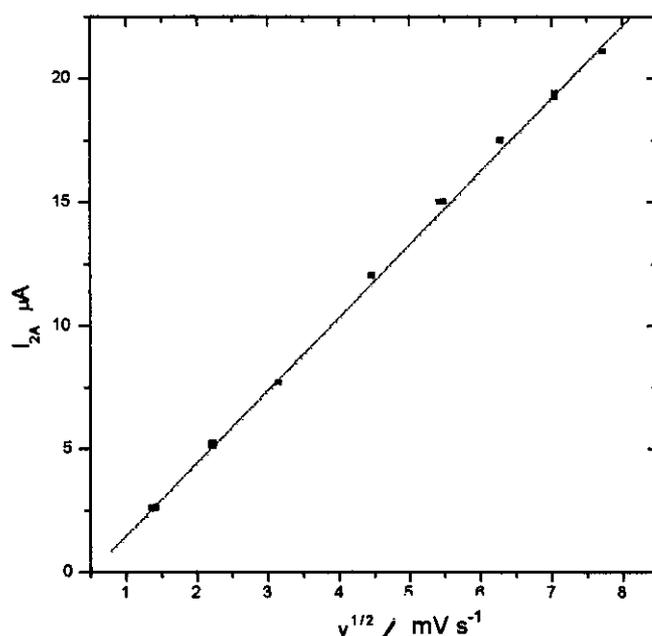


Fig. 16 - Variação da corrente de pico anódico do segundo par redox (E_{m2}) em função da velocidade de varredura (KNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, 0-800 mV).

Nos estudos de estabilidade, tanto em função de ciclagens sucessivas, quanto em função do tempo de acondicionamento não se observaram alterações dos potenciais médios ou correntes de pico mesmo após 60 ciclos ou 6 meses de estocagem. Entretanto, o perfil do voltamograma pode variar consideravelmente dependendo das condições do ensaio ou acondicionamento da pasta. O perfil estável do voltamograma mostrou ser dependente de um certo número de ciclagens (2 a 5), que por sua vez, mostrou ser menor para ânions menores. Este fato pode ser explicado facilmente pela maior facilidade que íons menores teriam para interagir com o sistema EMAC, devido a suas mobilidades.

Outro ponto a ser ressaltado, é que se faz necessária pelo menos uma ciclagem para definição do perfil do voltamograma, no caso do complexo imobilizado, enquanto que, quando livre em solução ambos pares são definidos já na primeira ciclagem⁶⁰. Como já foi justificado anteriormente, a coordenação entre PEI e o complexo provavelmente altera a densidade eletrônica sobre o orbital da ligação metal-metal, comprometendo a capacidade deste em compartilhar a deficiência monoelétrica ao longo da ligação Rh-Rh^{9,145,163}. Deste modo, apenas parte dos complexos imobilizados neste sistema heterogêneo apresentariam ainda características sinérgicas^{9,145-148}, e seriam responsáveis pelos potenciais de pico correspondentes aos processos intermediários^{9,163-168}. Outrossim, a estabilização destes processos mostrou-se dependente da interação com o eletrólito, sendo efetivada após o primeiro ciclo.

Ainda sobre o acetamidato, alguns testes realizados para otimização da pasta EMAC merecem destaque, entre estes, o uso de DNA e/ou PEI em várias proporções. Entretanto, não se observou melhora na resolução dos picos e houve aparente lixiviação do composto com quedas nos picos de corrente em ciclagens sucessivas (Fig. 17).

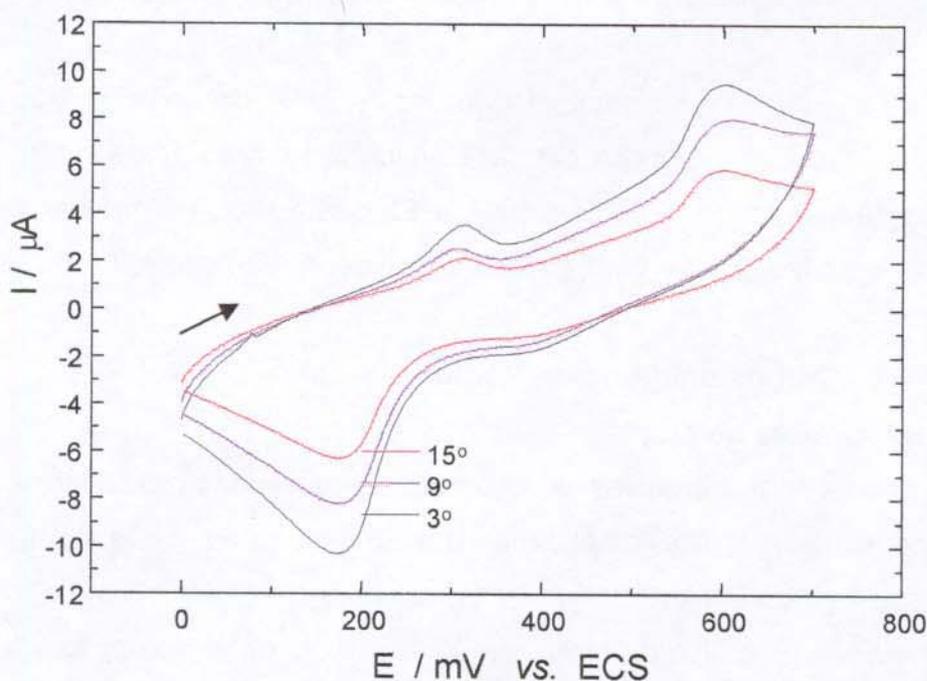


Fig. 17 - Estabilidade (registrados 3°, 9° e 15° ciclos) do eletrodo EMAC (modificado com 100 μL de DNA 10%) x ESC (KCl 0,5 mol L⁻¹ pH7, 10 mV s⁻¹ 0-800 mV)

4.2.1.2 b - **Benzamidato**

Infelizmente, ao contrário do que esperavamos o benzamidato de ródio não apresentou um voltamograma com um perfil promissor para posteriores aplicações. A *Figura 18* mostra o melhor resultado obtido após várias tentativas em termos de preparação e otimização da pasta.

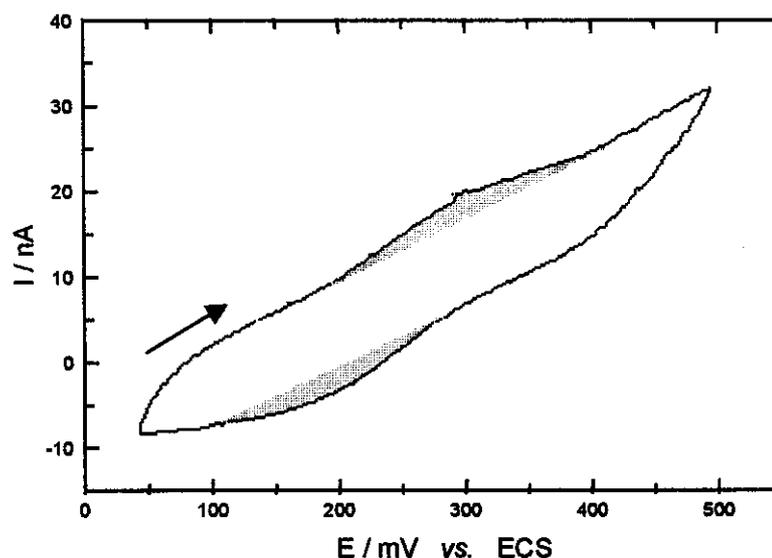


Fig. 18 - Voltamograma obtido para EMB, em KCl 0,5 Mol L⁻¹, pH 7, à 10 mV s⁻¹.

Nota-se que tanto a resolução quanto, o nível de corrente são bastante inferiores aos resultados obtidos com acetamidato de ródio. Ressalta-se aqui que todas as tentativas feitas, seja com DNA, PEI, pasta mais ou menos aglutinante, bem como variações de eletrólito, pH e velocidade de varredura, foram frustradas.

4.2.1.3 - **Carboxamidatos de Ródio**

Catalisadores de Doyle

Entre as várias tentativas de obtenção do eletrodos modificados de pasta de carbono contendo este catalisador destacaram-se: a pasta contendo DNA (DOD) e a pasta sem DNA (DOO) (*Fig. 19*) descritas no (item 3.3.3.3.b). Ambos os eletrodos modificados tiveram em comum na fase de preparação da pasta a dissolução do catalisador em nujol, ponto este que pareceu determinante na busca

da melhor definição dos picos, uma vez que a dissolução do complexo em óleo era dificultada pelo grafite.

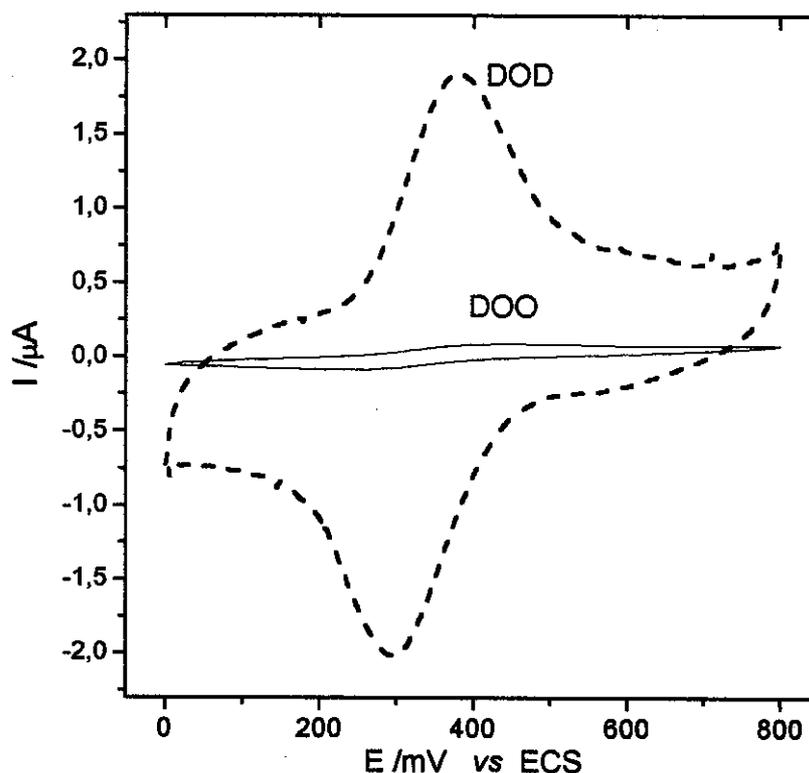


Fig. 19 - Perfis dos voltamogramas obtidos para DOD e DOO ($KCl\ 0,5\ mol\ L^{-1}$, $pH\ 7$ à $10\ mV\ s^{-1}$).

Considerando-se na Figura 20, que ambos os eletrodos foram preparados com quantidades idênticas de catalisador de Doyle e que foi dado a ambos eletrodos o mesmo tempo e condições de condicionamento, pode-se assumir numa primeira instância, que a pasta contendo DNA viabiliza a transferência de elétrons de forma bastante expressiva.

Assim como para o EMAC, o menor E_m para estes eletrodos foi obtido em solução contendo ânions cloreto (Tabela 13).

Tabela 13 - Potenciais médios obtidos em soluções $[K^+A^-]$ $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 (A^- = tipo de anion do eletrólito) com DOO e DOD, à 10 mV s^{-1}

Eletrólitos	DOD	DOO
	E_m / mV	E_m / mV
Cl^-	350	351
SO_4^-	378	378
NO_3^-	376	377
AC^-	416	418

Como pode ser visto na Tabela 13 não houve diferenças entre os E_m dos sistemas DOO e DOD para concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Por outro lado, quando se variou a concentração do eletrólito, o comportamento do DOD e DOO (para ambos isômeros) apresentou pequenas diferenças (Fig. 20), a que atribui-se uma maior interação do eletrólito para pasta contendo DNA.

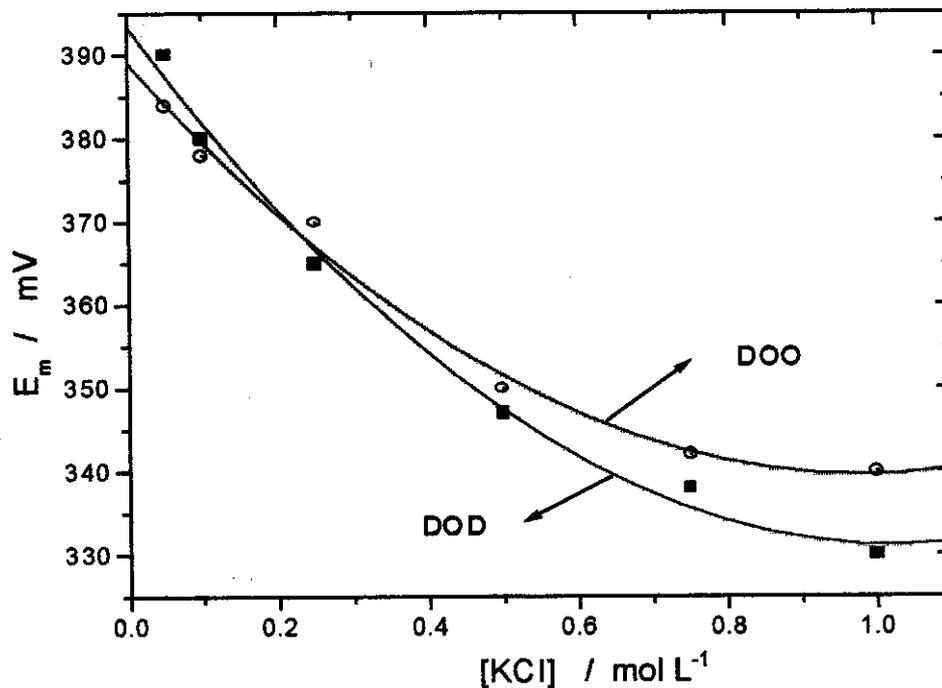


Fig. 20 - Variação do E_m para DOO e DOD, a 10 mV/s , pH 7 em função da concentração de KCl.

Outro aspecto, bastante relevante que merece ser enfatizado é a presença de um único par redox E_m . Este fato, a princípio não era esperado, entretanto verificou-se que os valores da distância de ligação Rh-Rh eram maiores para os carboxamidatos que para amidatos e carboxilatos respectivamente. Considerando que a separação entre os pares E_{m1} e E_{m2} é proporcional a força de ligação metal-metal, esta se tornaria reduzida para o carboxamidato¹⁴²⁻¹⁴⁴.

Outra diferença para estes sistemas em comparação ao EMAC, é que a razão entre as correntes catódica e anódica, foi relativamente constante e de valor próximo a 1, fato que evidência a reversibilidade do processo e descarta favorecimento diferenciado de determinado estado redox (Fig. 21).

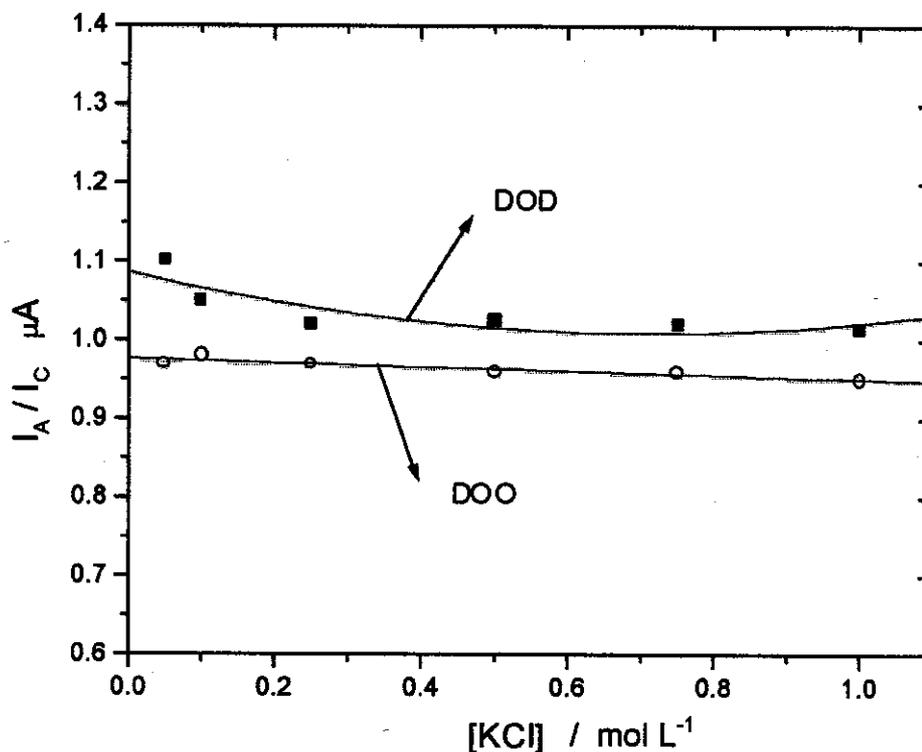


Fig. 21 - Razão de corrente x concentração, 10 mV/s, pH 7 para DOD e DOO.

Finalizando os estudos em função da concentração do eletrólito, o ΔE_p como seria esperado diminui com o aumento da concentração. A curva mostrada na Figura 22 sugere que a participação do eletrólito na transferência eletrônica se torna mais efetiva a partir de 0,5 mol L⁻¹. Também são evidentes na Figura 22, os menores valores de ΔE_p para a pasta contendo DNA. Este fato reafirma a

participação positiva deste biopolímero na transferência eletrônica, bem como no aumento da hidrofiliçidade do sistema DOD.

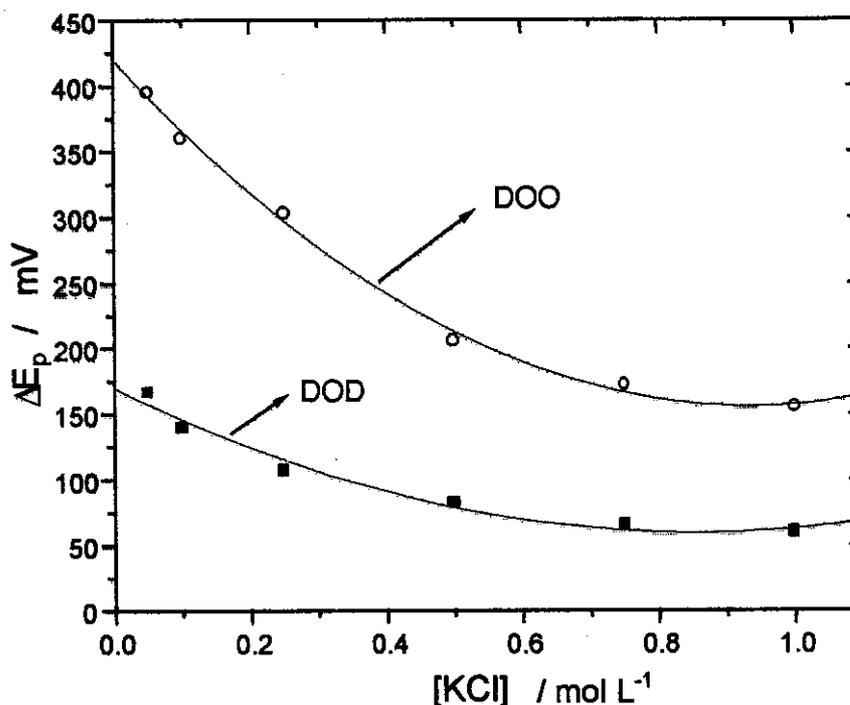


Fig. 22 - Variação do ΔE_p em função da concentração de KCl para DOD e DOO, à 10 mV/s, pH 7.

Outra característica marcante, entre DOD e DOO (para ambos isômeros) é o modo como estes são influenciados pela mudança de pH (Tabela 14). Sendo estas diferenças mais pronunciadas em pHs mais ácidos, em que o deslocamento do E_m é antagônico.

A Tabela 14 arrola os resultados obtidos para a variação do potencial médio e razão de corrente em função do pH.

Tabela 14 - Comportamento do DOD e DOO frente a variação de pH

pH	E_m /mV		I_a / I_c	
	DOD	DOO	DOD	DOO
2	330	400	1,3	1,4
3	341	385	1,0	1,2
4	341	344	1,0	1,0
5	341	344	1,0	1,1
6	340	344	1,0	1,0
7	340	345	1,0	1,0
8	340	344	1,0	1,0
9	341	345	1,0	1,0

O efeito diferenciado no processo redox, destes complexos imobilizados em presença ou não de DNA, em pHs menores que três, reafirma a suposição de ter se efetivado a interação DNA-complexo. O catalisador de Doyle apresenta um anel heterocíclico contendo um nitrogênio e um grupo éster adicional protonáveis, fato que torna este complexo mais susceptível às variações de pHs que o acetamidato de ródio, que no caso manteve-se inerte com a variação de pH, mesmo em pH 2. Em adição a incorporação do DNA e a não lixiviação do composto pode ser explicada por estas diferenças estruturais, bem como pela sua menor hidrosolubilidade, em comparação ao acetamidato. Uma vez incorporado o DNA, cuja conformação é bastante influenciável pelo pH, o complexo deverá se comportar diferentemente. Para o DOO houve aumento do potencial médio. Este fato condiz com a suposta protonação de seus ligantes equatoriais, já que a presença da carga positiva dificultaria a oxidação. No caso do DOD esta carga deve ser distribuída pelas bases nitrogenadas ou minimizada pelos grupos fosfatos do DNA.

Os ensaios de velocidade para DOO e DOD (isômero S) são apresentados na *Figura 23* em função da velocidade e logaritmo da velocidade de varredura.

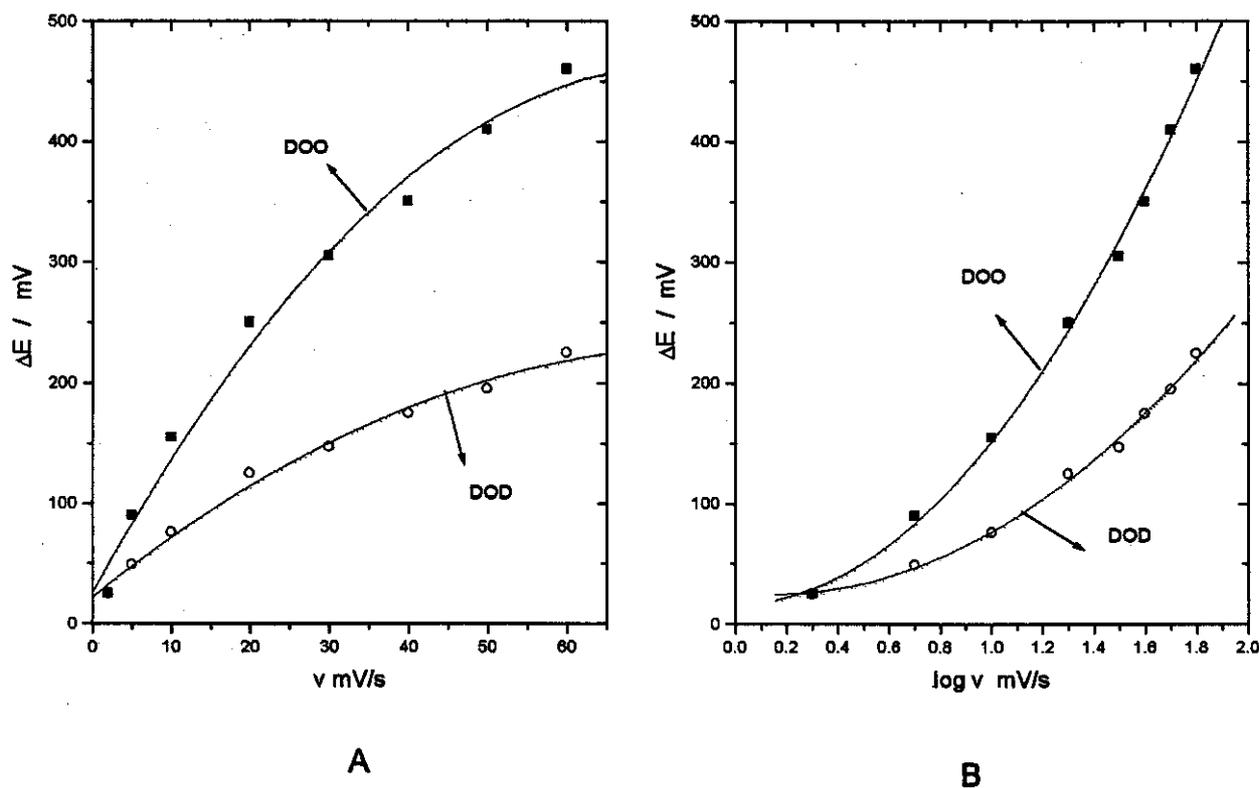


Fig. 23 - Variação do ΔE_p em função da velocidade (A) e do log da velocidade (B) para DOO e DOD em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7.

Observa-se que, a partir de velocidades maiores que 5 mV/s o ΔE_p aumenta significativamente ($>> 60 \text{ mV}$), mostrando um comprometimento da reversibilidade do processo.

A variação de corrente de pico em função da velocidade de varredura para DOD e DOO é ilustrada na Figura 24.

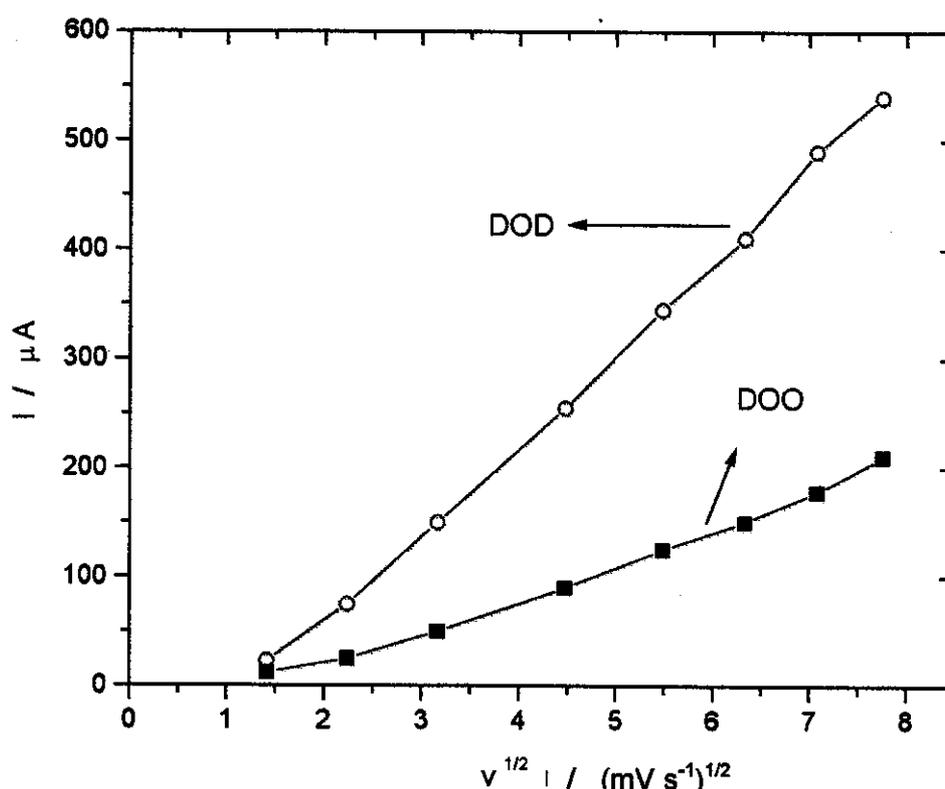


Fig. 24 - Corrente de pico \times raiz quadrada da velocidade de varredura para DOO e DOD, em KCl 0,5 mol L⁻¹ pH 7, 0-800 mV.

O perfil observado em ambas curvas $I \times v^{1/2}$ mostram uma ampla faixa de linearidade (2 à 60 mV/s) que sugere que o sistema contendo a espécie eletroativa adsorvida na pasta é também controlado por difusão, talvez devido à necessidade de difusão do eletrólito dentro da pasta para fazer o balanço de cargas. A cinética química de interação com eletrólito nesta faixa de velocidade de varredura deve ser rápida o suficiente para os casos do DOO e DOD, mantendo a proporcionalidade de corrente.

A partir dos ensaios de velocidade (Fig. 25) determinaram-se para as pastas contendo isômero S, os coeficientes de transferência de elétrons (α) e constantes (k) de velocidade pela adaptação do método de Laviron²¹⁸, que estão mostradas na Tabela 15.

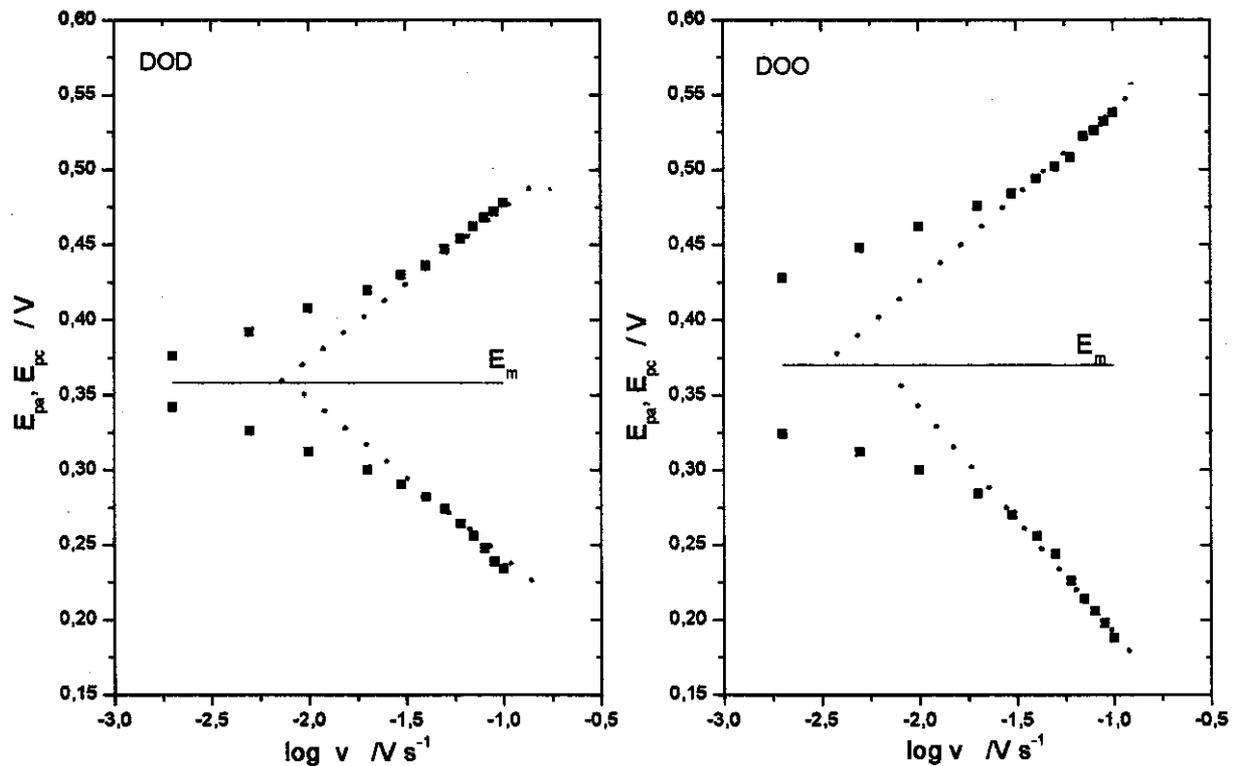


Fig. 25 - Efeitos da velocidade de varredura sobre E_{pa} e E_{pc} (ΔE) (KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, 0-800 mV , 10 mV s^{-1}).

Observou-se um aumento de cerca de 50% na taxa de transferência de elétrons, quando em presença de DNA, mostrando uma participação positiva do DNA na transferência de elétrons aumentando a reversibilidade do sistema (Tabela 15).

Tabela 15 - Constantes (k) e coeficientes (α) de transferência de elétrons para o isômero (S) do catalisador de Doyle sem (DOO) ou com DNA (DOD)

	α	k / s^{-1}
DOO (S)	0,22	17
DOD (S)	0,33	26

Esta determinação entretanto, não foi possível para o isômero R (Fig. 26), por ter apresentado perfil diferenciado do voltamograma em velocidades mais altas.

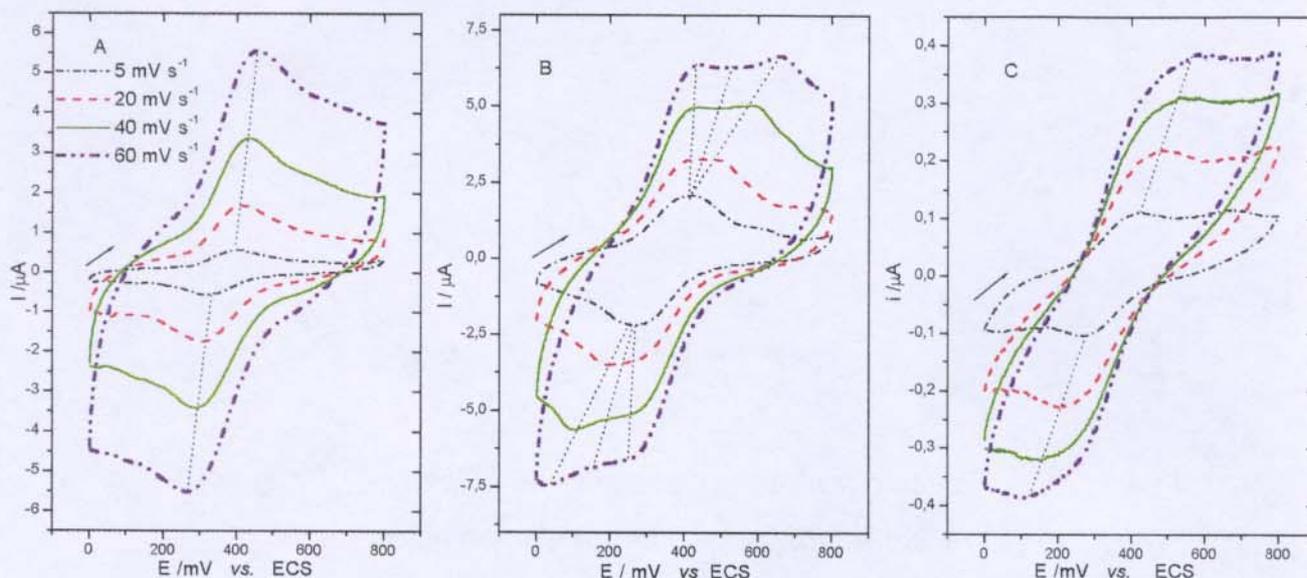


Fig. 26 – Voltamogramas obtidos em ensaios de velocidade para os eletrodos de pasta de carbono modificados com: A) DOD(S), B) DOD(R) e C) DOO(R), faixa de varredura de 0 à 800 mV em KCl 0,5 mol L⁻¹ pH 7.

O desdobramento observado para o isômero R (Fig. 26) indica que provavelmente, em presença de DNA a velocidade de transferência de elétrons para cada etapa de oxidação (E_{m1} Rh₂^{III,III} e E_{m2} Rh₂^{II,III/III}) seja afetada de maneira diferente. Considerando ainda, que nenhuma outra diferença no comportamento eletroquímico foi encontrada entre estes isômeros ópticos, pode-se inferir que há uma interação diferenciada entre eles e o DNA.

Em relação ao preparo da pasta, convém ressaltar que o grau de hidratação do DNA durante o preparo é de extrema importância na reprodutibilidade dos níveis de corrente de pico, bem como da resolução dos voltamogramas, obtidos para estes sistemas (Fig. 27).

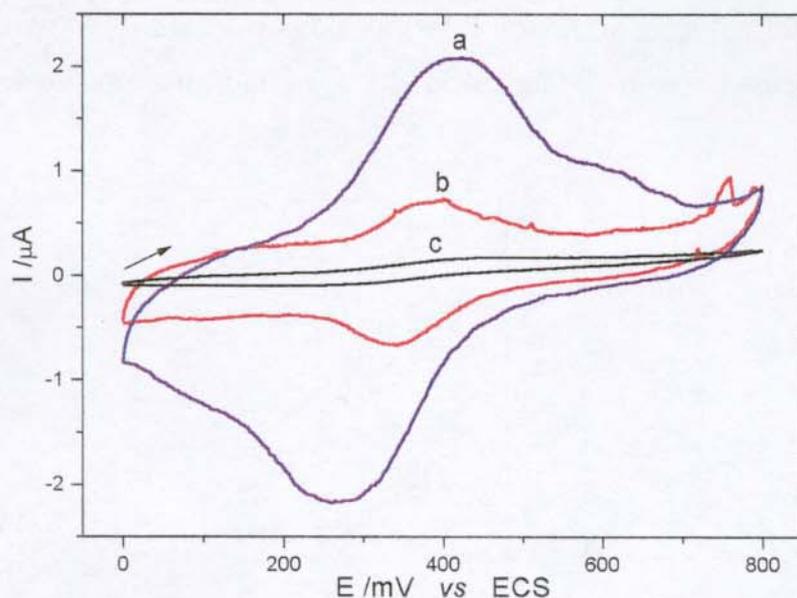


Fig. 27 - Voltamogramas obtidos para DOD(R), KCl 0.5 mol L^{-1} pH 7, 10 mV s^{-1} , a) pasta preparada com DNA previamente hidratado com $120 \mu\text{L}$ de água, b) pasta preparada com DNA seco, c) sem DNA.

O uso de outros surfactantes e /ou polímeros, na elaboração das pastas contendo catalisador de Doyle foram testados sem sucesso (Fig. 28).

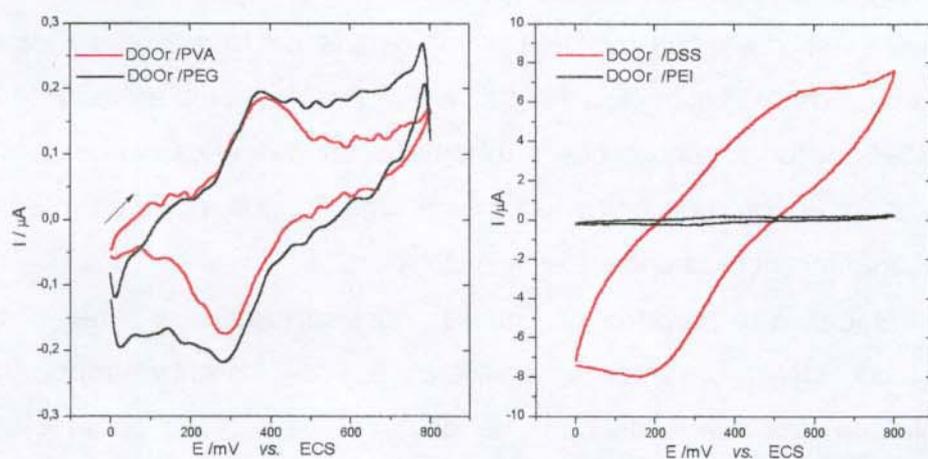


Fig. 28 - Voltamogramas obtidos para catalisador de Doyle substituindo DNA (método descrito para DOD) por outros surfactantes (polietileno glicol PEG 4000, Dodecil sulfato de sódio DSS, álcool polivinílico PVA, polietilenoimina PEI), em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, 10 mV s^{-1} , 0-800 mV.

As vantagens observadas para DNA em relação a estes surfactantes e/ou polímeros se deve tanto a sua condutividade inerente, quanto a sua capacidade de melhorar a hidrofiliabilidade do sistema.

Depois de testados várias composições de pasta de carbono contendo diferentes dímeros, foram então avaliadas as potencialidades dos melhores sistemas, entre estes EMAC, DOO e DOD para aplicações analíticas.

4.2.2 - CRONOAMPEROMETRIA

Inicialmente, as potencialidades dos sistemas EMAC, DOO e DOD, foram investigadas por voltametria cíclica para diversos analitos, entre estes : os aminoácidos (alanina, ácido glutâmico, cisteína, fenilalanina, glutamina e histidina), as biomoléculas : DNA (calf thimus D-1626), dopamina, glutathione e serotonina, o antibiótico β -lactâmico : penicilina G-potássica e a hidrazina.

Embora não tenha sido observado por voltametria cíclica nenhuma melhora significativa da atividade eletrocatalítica para estes analitos, quando utilizaram-se os sistemas DOO ou DOD, observou-se, para o EMAC, um comportamento bastante distinto para a hidrazina, quando comparado a um eletrodo de pasta de carbono preparado sem adição dos complexos de ródio. Embora sua eletrocatalise para hidrazina tenha gerado menores incrementos de corrente, esta ocorreu em potenciais menores, com nível de ruído menor, maior faixa de resposta linear e melhor reprodutibilidade, quando utilizou-se da técnica de cronoamperometria.

Outrossim, a relevância do sistema EMAC na análise da hidrazina ($\text{NH}_2=\text{NH}_2$) justifica-se pela importância toxicológica desta classe de compostos, já que estas interagem com DNA por ligações covalentes e inúmeros compostos hidrazínicos são lançados ao meio ambiente pela indústria^{219,220}.

4.2.2.1 – EMAC x Hidrazina

A aplicação do eletrodo EMAC para a determinação de hidrazina foi testada nas melhores condições (pH 7, $E = 300$ mV, $\omega = 200$ rpm). Houve resposta linear em concentrações entre 10^{-5} e 10^{-2} mol L⁻¹, entretanto sem boa correlação ($R = 0,988$). Quando se reduziu a faixa de concentração para hidrazina de 1×10^{-5} a 1×10^{-4} mol L⁻¹, um coeficiente de correlação linear de 0,999, ajustado pela equação $i = 19.9 (\pm 0.3) c$, onde i = corrente em mA e c = concentração de hidrazina em mol L⁻¹ foi obtido. Este sistema foi bem estável e apresentou boa repetibilidade mesmo após 30 medições com uma variância relativa de 0,5 %. O limite de detecção considerando como sinal/ruído = 3 foi de 1×10^{-5} mol L⁻¹ e a sensibilidade de 66 mA L / mol cm².

As condições ideais de análise foram investigadas, variando-se faixas de pH, velocidade de rotação e potencial aplicado.

Definiu-se a partir do gráfico da *Figura 29*, como o pH ideal o neutro. Como seria esperado o nível de corrente cai com pH, mostrando que a protonação da hidrazina em pH menores que 7 e a carga positiva gerada dificulta sua aproximação do anodo.

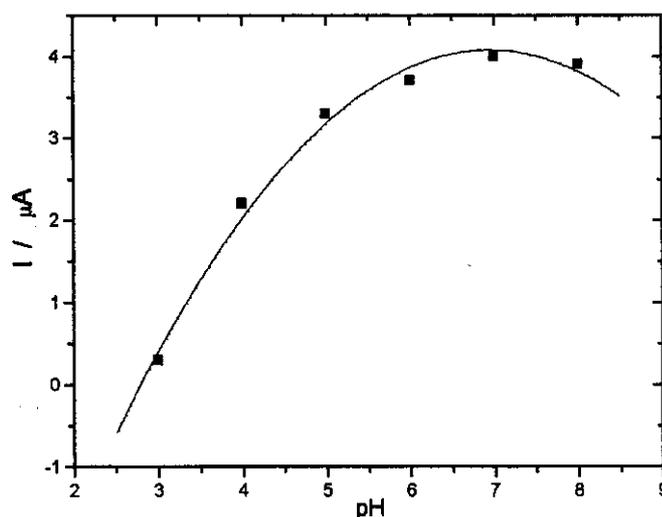


Fig. 29 – Curva da corrente de pico de oxidação do EMAC vs. pH na presença de hidrazina 1×10^{-4} mol L⁻¹, $v = 200$ rpm, $E_p = 300$ mV.

Em relação a velocidade de rotação do eletrodo, verificou-se que o nível de resposta aumenta de maneira mais brusca até 200 rpm (*Fig. 30*). A formação de bolhas na superfície do eletrodo, sugere alta eficiência catalítica do eletrodo com formação de N_2 ^{219,220}. Este fato, embora pudesse prejudicar o sinal foi contornado com aumento da velocidade de rotação nos intervalos de adição, assumindo-se como ideal 200 rpm.

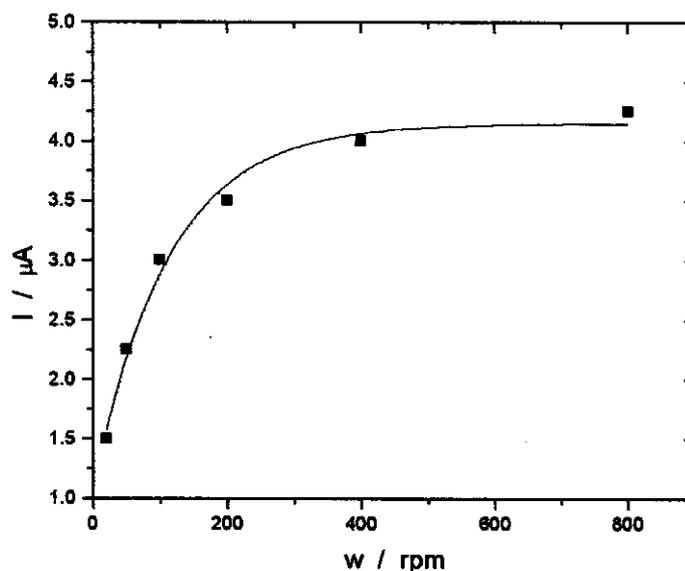


Fig. 30 - Atividade do EMAC frente à hidrazina em função da velocidade de rotação.

Quanto ao potencial aplicado, as melhores respostas são obtidas a partir de 300 mV, definindo-se como potencial ideal de trabalho (*Fig. 31*). Convém ressaltar que potenciais mais altos não são interessantes, dado a maior possibilidade de ação de interferentes, embora o eletrodo possa ter maior sensibilidade^{219,220}.

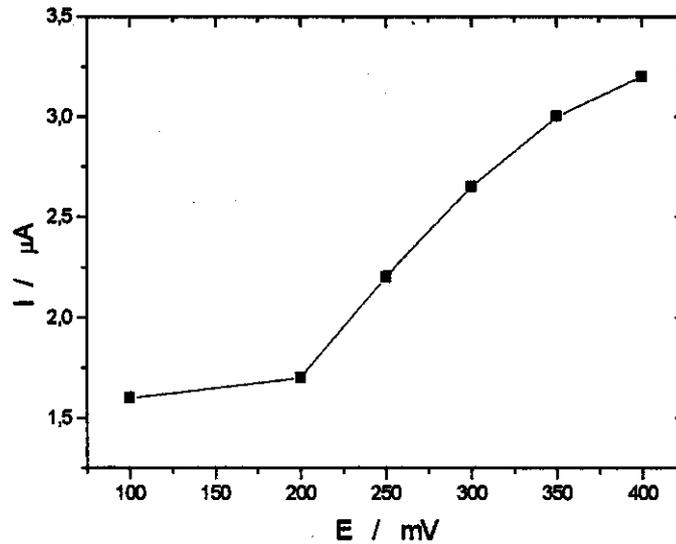


Fig. 31 - Dependência da corrente de pico anódica para EMAC em função do potencial de aplicação em pH 7, na presença de hidrazina $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 200 \text{ rpm}$.

O tempo de resposta nas melhores condições, ou seja pH 7, 300 mV e 200 rpm foi de apenas 1 s, caindo para 0,6 s (Fig. 32), quando se fixou o potencial em 350 mV. Por outro lado este valor foi superior a 1,4 s em medidas executadas com eletrodo estático.

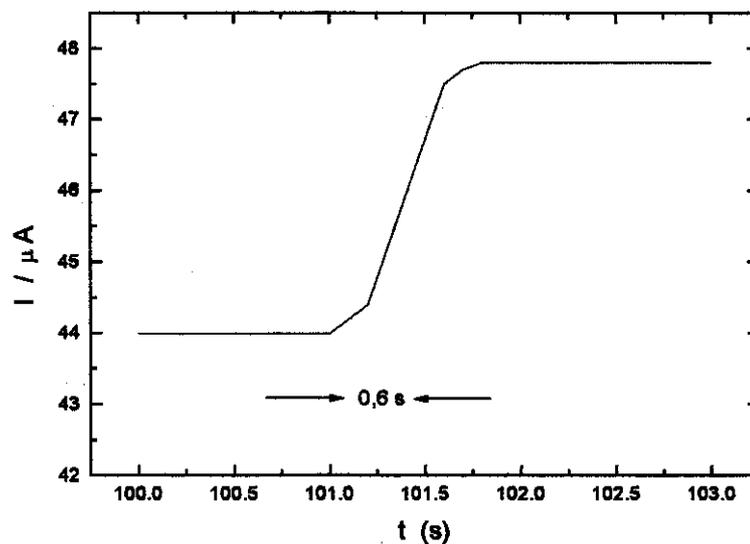


Fig. 32 - Tempo de resposta nas melhores condições.

A aplicação do eletrodo EMAC para a determinação de hidrazina na faixa de concentração entre $1,0 \times 10^{-3}$ e $1,5 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ (Fig. 33) apresentou uma boa resposta linear para este analíto com $R = 0,9988$.

A Figura 33 mostra ainda a reprodutibilidade do sistema, ilustrando a superposição de duas curvas obtidas de ensaios feitos em seguida, com simples lavagem do eletrodo e troca de solução. O sistema EMAC para análise de hidrazina veio confirmar as expectativas em relação à aplicabilidade destes dímeros para a confecção e desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Com relação às vantagens do sensor aqui desenvolvido, podem-se destacar os baixos potenciais de aplicação e tempo de resposta, quando comparado a outros sistemas descritos na literatura^{219,220}.

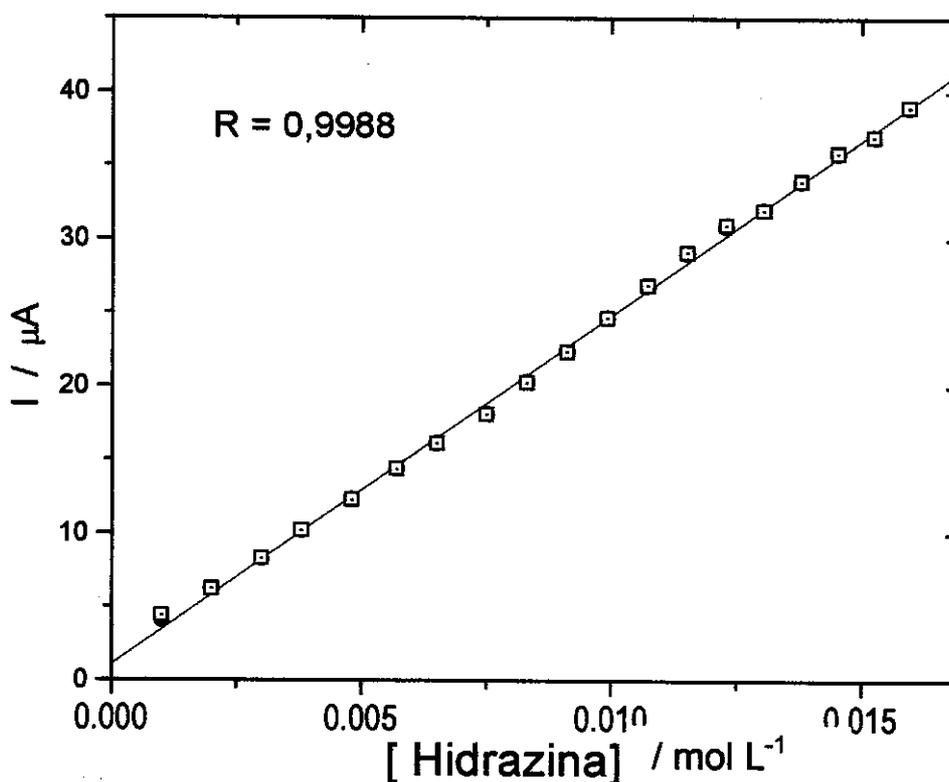


Fig. 33 - Resposta do EMAC vs. ECS frente a concentrações de hidrazina na faixa de 10^{-3} a $1,5 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ e reprodutibilidade da pasta.

4.2.2.1 - DOO / DOD x Hidrazina / Glutaciona

O nível de ruído dos cronoamperogramas das pastas contendo catalisador de Doyle foram bastante grandes em alguns potenciais e/ou pH. Este fato dificultou bastante a definição das melhores condições de trabalho, tendo sido necessário as várias repetições destes ensaios. O nível de ruído foi maior em pH menores que 7 e em potenciais mais próximos do potencial médio do sistema, entre 250 e 350 mV. A *Figura 34* mostra que a melhor resposta em função do potencial aplicado foi em 350 mV. Entretanto, houve boa resposta em 250 mV com nível de ruído igual ou menor dependendo do pH.

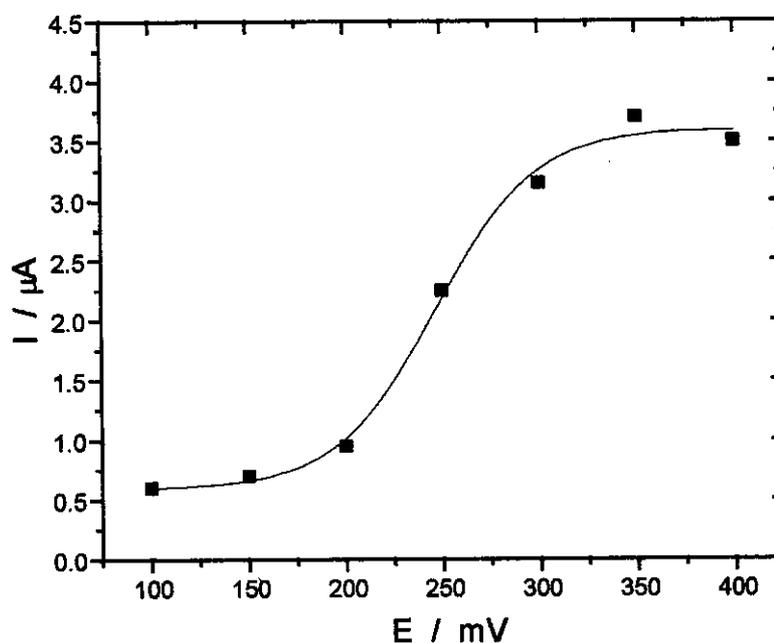


Fig. 34 - Variação da resposta frente a adição de hidrazina ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em função do potencial para DOD.

Em relação ao pH, as melhores respostas foram obtidas para pH entre 6 e 8 (*Fig. 35*).

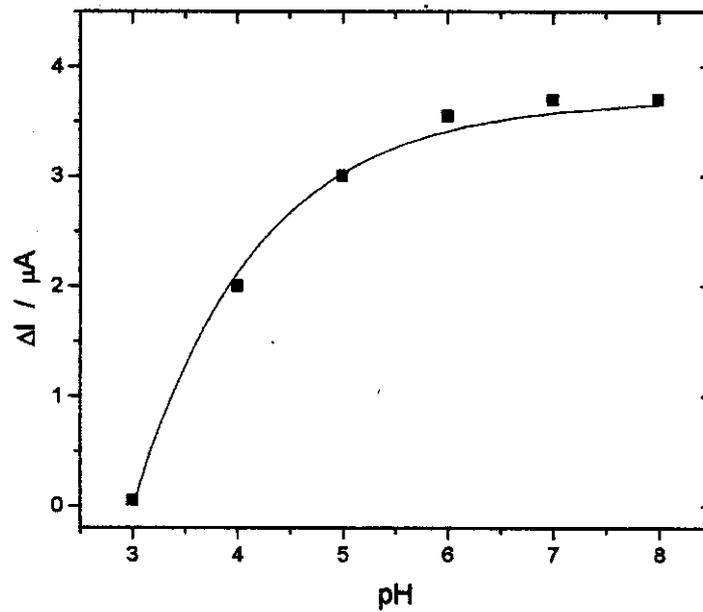


Fig. 35 - Variação da resposta frente a adição de hidrazina ($1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em função do pH para DOD.

Embora a resposta em pH 7 e 350 mV, quanto aos níveis de corrente de pico tenha sido boa, houve saturação a partir da 4ª adição (Fig. 36), como pode ser constatada pela queda da linearidade.

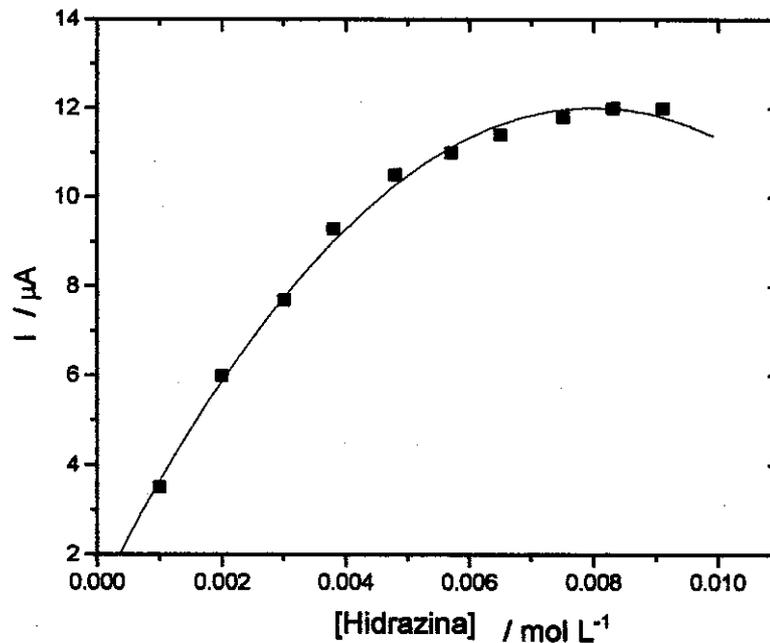


Fig. 36 - Variação da resposta do DOD em função da concentração de hidrazina (pH 7, 350 mV, 200 rpm).

Em relação aos demais analitos testados, não se observou para estes eletrodos modificados nenhuma melhora em relação a um eletrodo de pasta de carbono preparado nas mesmas condições e sem adição dos complexos.

A evidente queda de corrente observada para glutatona, quando utilizou-se o DOD (Fig. 37) pode ser atribuída a alta afinidade destes dímeros por grupos sulfidríla SH^{9,135,149,155-165}, presentes na cisteína e no tripeptídeo glutatona resultando em provável passivação do eletrodo ou mesmo no desproporcionamento do dímero.

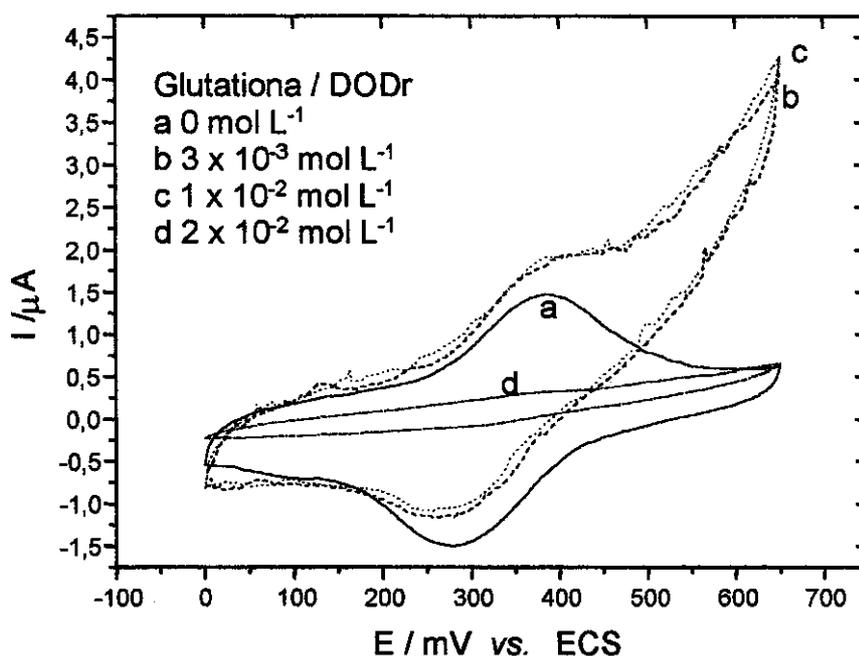


Fig. 37 – Resposta eletrocatalítica do DOD(R) frente glutatona (KCl 0,5 mol L⁻¹ pH 7, 350 mV, 200 rpm).

No caso dos estudos da aplicação destes eletrodos (EMAC, DOO ou DOD) para análise da cisteína, embora houvesse um deslocamento para potenciais ligeiramente mais negativos, observou-se por cronoamperometria a potenciais de 350 mV queda acentuada da linearidade, podendo ser também um indício de interação com os dímeros por coordenação axial ou mesmo troca dos ligantes equatoriais^{9,155-165}.

3.2 - ESTUDO DA INTERAÇÃO DNA-DÍMEROS EM SOLUÇÃO

Em vista, do conhecimento prévio de que as duas principais hipóteses para o mecanismo de ação dos carboxilatos de ródio é a coordenação axial com sítios -SH presentes em resíduos cisteína de enzimas (ex: polimerases) e/ou a com -N7 de resíduos adenina de ácidos nucleicos, somado ao fato de que muitos quimioterápicos induzem à formação de radicais livres por processos redox, justifica-se o interesse em investigar a interação destes compostos via eletroquímica.

Inicialmente, os potenciais formais dos dímeros foram obtidos em solução de KCl 5×10^{-3} mol L⁻¹ mostrando, conforme relatado, dependência da densidade eletrônica sobre o eixo da ligação metal-metal (Tabela 2). As diferença entre os potenciais requeridos para cada processo foram inversamente proporcionais a distância de ligação Rh-Rh. Esta distância é maior para os carboxilatos, que para os análogos amidatos e carboxamidatos. No caso do acetato de ródio cerca de 2,38 Å, observando-se uma maior separação entre os pares redox, Rh^{III,III} e Rh^{II,II/III}, já no caso do carboxamidato de menor força de ligação Rh-Rh e portanto maior distância (2,45 Å), a separação entre os pares é praticamente nula^{9,142-145}. A explicação para este fato se deve que, com o aumento da separação entre os dois núcleos de ródio, eles passam a se comportar independentemente, de modo que cada ródio se oxida de ródio II a ródio III em tempo e de modo igual, haja visto que ambos possuem a mesma vizinhança. Por outro lado para dímeros cujos centros metálicos estão mais próximos, o que prevalece é a orbita molecular, de modo cada elétron será dividido igualmente por ambos átomos de ródio, sendo portanto necessário diferentes níveis de energias (potencial) para que cada etapa de oxidação E₁ ou E₂ ocorra.

Os valores de potencial de pico obtidos por voltametria de pulso diferencial para todos dímeros em solução são apresentados na Tabela 16, e estão de acordo com estas afirmações.

Tabela 16 - Potenciais de pico anódicos para dímeros de ródio

Composto	E_{m1} / mV	E_{m2} / mV
$Rh_2(Ac)_4$	973	-
$Rh_2(Prop)_4$	951	-
$Rh_2(But)_4$	949	-
$Rh_2(Cit)_4$	1084	-
$Rh_2(Gli)_4$	1086	-
$Rh_2(TFA)_4$	1180	-
$Rh_2(Acam)_4$	234	463
$Rh_2(TFAcam)_4$	889	-
$Rh_2(5\text{-MEPY})_4$	350	350

Em relação as condições de análise, o uso de KCl como eletrólito suporte ao invés de tampão acetato, mais comumente utilizado ¹⁶⁴, se deve que nestas condições haveria possivelmente troca dos ligantes equatoriais pelos íons acetato presentes em excesso na solução ¹⁶³⁻¹⁶⁶, este fato na verdade foi confirmado experimentalmente. A baixa concentração de KCl (0,005 mol L⁻¹), foi escolhida porque em presença de altas concentrações de cloreto a denaturação do DNA poderia ser dificultada ²⁰⁶, também convém ressaltar que para isto o pH deve ser ligeiramente ácido (~ 4,5) ^{193,206}.

Os valores médios obtidos para 10 experimentos referentes aos valores de potencial para os picos de oxidação dos resíduos guanina e adenina foram respectivamente de 885 (±10) mV e 1252 (±10) mV. Nas condições experimentais aqui utilizadas, estes apresentaram ainda, correntes de pico de 14 (±1) μA e 23 (± 3) μA (n=10), outrossim estes valores se encontram próximos aos encontrados na literatura, em condições semelhantes ^{49,105-108,193,206}. Nestes estudos procurou-se abordar o efeito concentração e do tempo de incubação na cinética de interação, associando-os aos aspectos comuns em estudos de relação estrutura atividade (REA), tais como parâmetros estéricos, eletrônicos e hidrofóbicos ¹⁷⁶.

De um modo geral, observou-se para todos os complexos com exceção do acetamidato de ródio, após a primeira adição e com tempo de incubação inferior a 30 minutos, supressão proeminente dos picos da adenina (Tabela 17).

Tabela 17 – Efeito imediato na supressão do picos da guanina e adenina para solução de DNA 0,2 mg/mL contendo $Rh_2(XOCR)_4$ 1×10^{-4} mol L⁻¹

Composto	Supressão observada para pico da Guanina (%)	Supressão observada para pico da Adenina (%)
$Rh_2(Ac)_4$	0	15
$Rh_2(Prop)_4$	2	30
$Rh_2(But)_4$	5	25
$Rh_2(Cit)_4$	0	8
$Rh_2(Gli)_4$	3	4
$Rh_2(TFA)_4$	0	10
$Rh_2(Acam)_4$	10	3
$Rh_2(TFACam)_4$	1	6
$Rh_2(5\text{-MEPY})_4$	0	0

Obs : ($I_{DNA} = 100\%$), $I =$ corrente de pico

Esta supressão indica bloqueio do nitrogênio no sítio oxidável da molécula de adenina.

Os resultados obtidos para tempo maior de incubação (Tabela 18), mostram, de forma mais evidente as diferenças associadas à estrutura dos ligantes. Este fato condiz com resultados realizados por outras técnicas em que se verificou que a interação DNA-acetato de ródio requeria grande tempo de incubação e era predominantemente feita pela adenina¹⁷⁷. Em relação ao acetato de ródio, observou-se claramente na série acetato, propionato e butirato que a seletividade para adenina, diminui e com aumento da cadeia (Tabela 18) e (Fig. 38 A). Este fato poderia ser atribuído tanto a impedimentos estéricos, quanto

ao aumento de possibilidades de interações hidrofóbicas dada a flexibilidade dos ligantes desta série.

Tabela 18 – Efeito da supressão do picos da guanina e adenina, para diferentes tempos de incubação de solução de DNA 0,2 mg/mL contendo $Rh_2(XOCR)_4$ 1×10^{-4} mol L⁻¹

Composto	Supressão observada para pico da Guanina (%)			Supressão observada para pico da Adenina (%)		
	1h	72 hs	360 hs	1 h	72 hs	360 hs
$Rh_2(Ac)_4$	0	0	7	17	81	100
$Rh_2(Prop)_4$	0	22	100	53	65	100
$Rh_2(But)_4$	19	49	95	30	54	92
$Rh_2(Cit)_4$	7	8	53	11	32	61
$Rh_2(Gli)_4$	11	11	44	6	8	18
$Rh_2(TFA)_4$	1	22	75	15	36	65
$Rh_2(TFAcam)_4$	2	50	78	7	47	90
$Rh_2(Acam)_4$	29	51	100	39	57	77
$Rh_2(5S-Mepy)_4$	0	0	0	0	0	0

Da Tabela 18 podemos extrair para 72 horas de incubação que enquanto o acetato apresenta um percentual de supressão de 0 para guanina e 81 para adenina, o butirato apresenta 49 % de supressão da guanina e 54 % para adenina, reafirmando claramente as diferenças de seletividade para esta série, bastante explorada em estudos de REA, já que os parâmetros eletrônicos são constantes, variando apenas os parâmetros estéricos e hidrofóbicos.

Ainda em relação aos parâmetros estéricos, observou-se que os ligantes mais volumosos como citrato, gliconato e carboxamidato (catalisador de Doyle) de uma maneira geral apresentaram menores percentuais de supressão para os picos de oxidação das bases purínicas (Tabela 17 e 18). No caso do catalisador de Doyle, por exemplo, mesmo em tempos mais elevados de incubação não

houve evidência de supressão destas bases. Este fato pode ser atribuído ao volume e rigidez de seus ligantes equatoriais. Outrossim, a presença de grupos éster, bem como hidroxila e carboxila (para gliconato e citrato de ródio), poderiam propiciar interações eletrostáticas relativamente estáveis com outros resíduos do DNA, tais como pontes de hidrogênio com as desoxiribose ou com os grupos fosfato¹⁷⁵⁻¹⁷⁷.

Em relação aos parâmetros eletrônicos, pode-se observar que, de uma maneira geral, os maiores percentuais de supressão (a exceção do catalisador de Doyle) foram obtidos para os complexos formados por ligantes menos eletronegativos. Pode-se inferir que os ligantes serão mais favoráveis, para a coordenação axial, se contribuírem para elevar a densidade eletrônica sobre o eixo z Rh-Rh ao longo do sítio de coordenação axial, de modo que, com o aumento da densidade eletrônica sobre este eixo, aumenta-se também, por sua vez, a capacidade de coordenação entre os complexos e as bases. Os parâmetros eletrônicos podem, por sua vez, ser diretamente correlacionados com os potenciais de oxidação dos dímeros (Tabela 16), uma vez que, quanto maior for a eletronegatividade dos ligantes, maior serão os potenciais necessários para os processos redox $Rh_2^{II/III}$ e/ou $Rh_2^{II,III/III}$.

Este aumento da capacidade de coordenação, em função do aumento da densidade eletrônica sobre eixo z, diminui por sua vez as diferenças observadas entre percentuais de supressão para cada base. De modo que, a aparente seletividade pela adenina, diminui quando esta densidade aumenta, ou seja quando a eletronegatividade dos ligantes diminui. Na *Figura 38 b*, observa-se para o acetamidato, em tempos de incubação prolongado, supressão total de ambos picos das bases purínicas, enquanto no caso do trifluoroacetato embora este não apresente elevado impedimento estérico, observaram-se menores percentuais de supressões, especialmente para a guanina. Pode-se atribuir a isto, a elevadíssima eletronegatividade de seus ligantes, o que confirmaria a teoria aqui proposta, em que a maior densidade sobre eixo z, favorece a coordenação axial para qualquer espécie, diminuindo assim a seletividade para adenina.

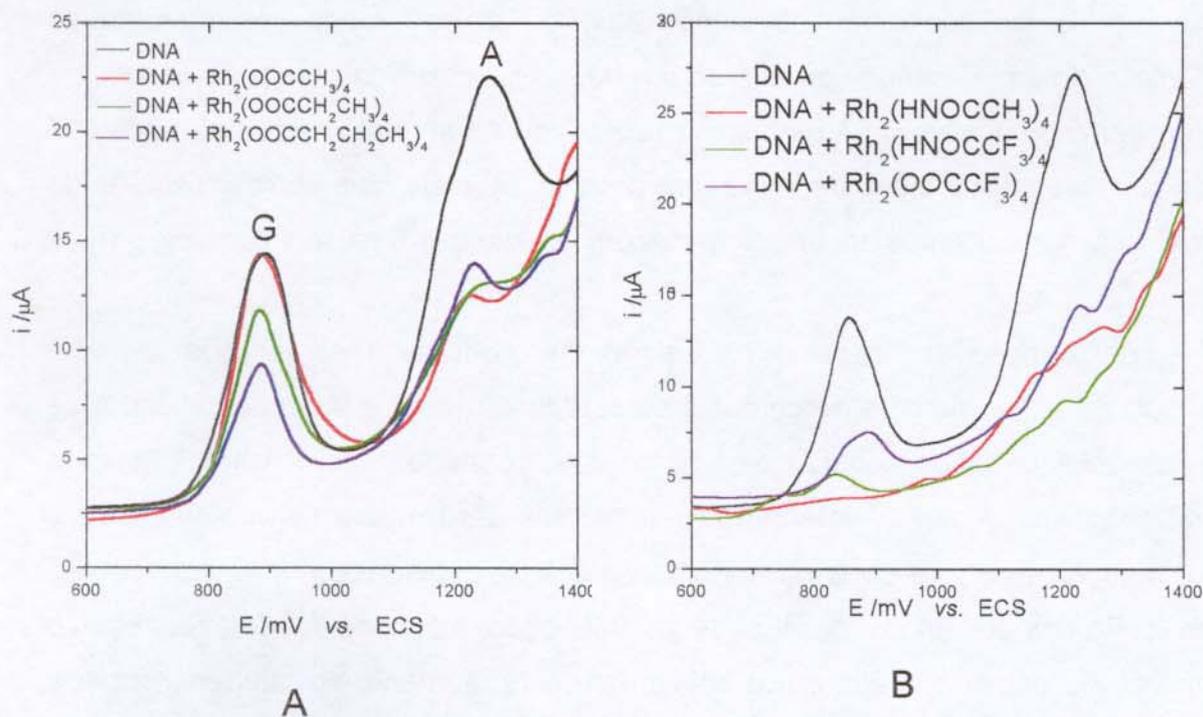


Fig. 38 – Voltamogramas de pulso diferencial obtidos após 3 dias de incubação para A) série acetato, propionato e butirato de ródio e B) para a série acetamido, trifluoacetamido e trifluoacetato, obtidos nas concentrações de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em células contendo 5 mL DNA 0,2 mg/mL, eletrodo de fibra de carbono (10 mV s^{-1} , amplitude de pulso 25 mV e duração de pulso 50 s, KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pH7).

Convém ressaltar, que para elevados tempos de incubação, não havendo elevado impedimento estérico e / ou sítios alternativos (OH, COOH ou COOR) que viabilizem a formação de pontes de hidrogênio com outros resíduos do DNA, a interação DNA-dímero via coordenação axial com adenina ou guanina deverá ocorrer mesmo que mais lentamente, de modo que justificam-se os razoáveis índices de supressão observados para estas bases na Tabela 18.

0020300000

&

57 0AK-10M02MP

5 – CONCLUSÕES & PERSPECTIVAS

5.1 – CONCLUSÕES

O comportamento eletroquímico dos dímeros de ródio em solução aquosa apresentaram deslocamento negativo dos potenciais anódicos, quando utilizou-se anions mais coordenantes (ex: M^+Cl^-), concordando com os dados da literatura para solventes orgânicos. Outrossim, observou-se que a resolução dos voltamogramas é melhor em sistemas de maior mobilidade. Estes fatos mostram que, os processos redox são viabilizados, quando a interação com o ânion ou solvente é mais efetiva e que especialmente no caso de sistemas aquosos o balanceamento de carga é favorecido por cátions de maior mobilidade, determinando assim uma melhora significativa da resolução.

A imobilização do $(Rh_2(Acam)_4)$ mostrou-se efetiva após adição de PEI à pasta podendo-se concluir, em vista dos resultados obtidos, que o complexo provavelmente se liga a esta matriz polimérica por meio de pelo menos um de seus sítios axiais. Por outro lado, esta coordenação parcial ou integral entre acetamidato de ródio e PEI comprometeria a interação dímero-eletrólito (ânion), justificando-se assim a perda de resolução dos voltamogramas para os sistemas imobilizados. Em adição, a presença de DNA foi prejudicial para o EMAC resultando em lixiviação devido à competição pelos sítios axiais com PEI.

Por outro lado, dada a boa lipossolubilidade do catalisador de Doyle foi possível imobilizá-lo à pasta apenas com o uso de proporções adequadas de aglutinante (óleo nujol). A presença de DNA, basicamente resultou na melhora da condutividade do sistema. Entretanto, pode-se verificar algum grau de interação entre DNA e complexo, já que pequenas mudanças estruturais (isomeria óptica) resultaram na interferência diferenciada das constantes de transferência de elétrons nos sistemas DOD(S) e DOD(R).

Nos estudos da interação DNA-dímeros em solução constatou-se que, a estrutura dos ligantes é determinante no grau de coordenação axial. Pode-se concluir que além dos parâmetros hidrofóbicos, os parâmetros estéricos e eletrônicos são determinantes no modo (seletividade e força de ligação) pelo qual ocorre a interação DNA-dímero.

A atividade biológica (antineoplásica) depende não apenas da solubilidade do dímero, a qual é expressa pelo coeficiente de partição resultante e depende basicamente da polaridade de seus ligantes, como também da reatividade do dímero em sistemas biológicos, a qual é expressa tanto pela força quanto pelo modo de interação axial, os quais dependerão respectivamente do número de elétrons disponíveis no sítio axial e de fatores estéricos aliados ou não a presença de sítios axiais.

Como conclusões finais, pode-se inferir que, embora os dímeros de ródio se constituam numa alternativa apenas razoável para confecção de sensores, o uso da bioeletroquímica se destacou como uma ferramenta bastante promissora para estudos qualitativos e quantitativos de REA. Este fato abre portanto novas perspectivas para o campo da bioeletroquímica.

5.2 – PERSPECTIVAS

Tentar imobilizar os dímeros em outras matrizes, tais como fibra de carbono.

Utilizar eletrodos de ouro modificados com glutatona e / ou cisteína para investigar e comprovar via eletroquímica a afinidade destes complexos por resíduos -SH.

Fazer estudos quantitativos de REA.

Aplicar o método bioeletroquímico aqui proposto a outros sistemas (fármacos).

Verificar para outros isômeros ópticos de importância farmacológica ou toxicológica, tais como a talidomida o modelo utilizado para DOO e DOD.

6

УД-0277777

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, New York, Saunders College Publishing, (1998).
- 2- Leite, F., *Validação em análise química*, 3 ed., Campinas, Editora Átomo (1998).
- 3- Brett, A.M.O., Brett, C.M.A., *Eletroquímica princípios e aplicações*, Oxford, University Press (1996).
- 4- Housecroft, C. E., *Rhodium 1993*, *Coord. Chem. Rev.*, 152, 107 (1996).
- 5- Astakhova, R.K., Balushkina, S.R., Belen'kii, A.B., Krasikov, B.S., *Catalytic hydrogen evolution in the presence of rhodium (II) complexes*, *Sov. Electrochem.*, 27, 772 (1991).
- 6- Démonceau, A., Noels, A.F., Hubert, A.J., *Effects of secondary interactions on the stereochemical outcome of rhodium (II) carboxylate catalyzed cyclopropanation of olefins*, *Tetrahedron*, 11, 3889 (1990).
- 7- Doyle, M.P., *Chiral dirhodium carboxamidates: Catalysts for highly enantioselective syntheses of lactones and lactams*, *Aldrichimica Acta*, 29, 3-11 (1996).
- 8- Bear, J.L., Yao, C.L., Capdevielle, F.J., *Superoxide complexes of tetrakis (μ -2-anilinopyridinato) dirhodium (II,II) and dirhodium (II,III). The one electron catalytic reduction of dioxygen*, *Inorg. Chem.*, 27, 3782 (1988).
- 9- Boyar, E.B., Robinson, S.D., *Rhodium Carboxylates*, *Coord. Chem. Rev.*, 50, 109 (1983).
- 10-Haiduc, I., Silvestru, C., *Organometallics in cancer chemotherapy*, Boca Raton: CRC Press, 1990, v.2.
- 11-Souza, A.R., Najjar, R., Glikmanas, S., Zyngier, S., *Water-soluble rhodium(II) carboxylate adducts: Cytotoxicity of the new compounds*, *J. Inorg. Biochem.*, 64, 1 (1996).
- 12-Joesten, M.D., Najjar, R., Hebrank, G., *Metal complexes of alkylating agents. 3. Complexes by cyclophosphamide*, *Polyhedron*, 1, 637 (1982).
- 13-Gil, E.S.; Ferreira E.I., Zyngier S.B., Najjar R., *Water soluble cyclophosphamide adducts of rhodium(II) keto-gluconate and glucuronate. Synthesis, characterization and in vitro cytostatic assays*, *Metal Based Drugs*, 6, 19 (1999).

- 14-Zyngier, S.B., Esposito, B.P., Souza, A.R., Najjar, R., *Increase in life span of mice bearing Ehrlich tumor treated with a rhodium (II) amidate*, **N-S Arch. Pharmacol.**, 358, R530 (1998).
- 15-Willians, D.R., *Metals, Ligands and Cancer*, **Chem. Rev.**, 72, 203 (1972).
- 16-Drago, R.S., Long, J.R., Cosmano, R., *Metal synergism in the coordination chemistry of a metal-metal bonded system $[Rh_2(OOCC_3H_7)_4]$* , **Inorg. Chem.**, 20, 2920 (1981).
- 17-Drago, R.S., Long, J.R., Cosmano, R., *Comparison of the chemistry and inductive transfer through the metal-metal bond in adducts of dirhodium and dimolybdenum carboxylates*, **Inorg. Chem.**, 21, 2196 (1982).
- 18- Cotton, F.A., Walton, R.A., *Multiple bonds between metal atoms*, Malabar: Robert ed. Krieger, (1988).
- 19-Janata, J., *Principles of chemical sensors*, New York, Plenum (1989).
- 20-Fairaill, C.W., Hare, J.E., Edson, J.B., McGillis, W., *Parameterization and micrometeorological measurement of air-sea gas transferairail*, **Bound-Lay Meteorol.**, 96, 63 (2000).
- 21- Rennie, K., Rowsell, T., Jebb, S.A., Holburn D., Wareham, N.J., *A combined heart rate and movement sensor: proof of concept and preliminary testing study*, **Eur. J. Clin. Nutr.**, 54, 409 (2000).
- 22-Kay, L., *Auditory perception of objects by blind persons, using a bioacoustic high resolution air sonar*, **J. Acoust. Soc. Am.**, 107, 3266 (2000).
- 23- Kim, K., Minamitani, H., *Active optical poly(vinylchloride) thin-film waveguide ion sensor*, **Opt. Rev.**, 7, 152 (2000).
- 24-Henke, L., Piunno, P.A.E., McLure, A.C., Krull, U.J., *Covalent immobilization of single-stranded DNA onto optical fibers using various linkers*, **Anal. Chim. Acta**, 344, 201 (1997).
- 25- Lu, J.Z., Rosenzweig, Z., *Nanoscale fluorescent sensors for intracellular analysis*, **Fresen. J. Anal. Chem.**, 366, 569 (2000).
- 26-Tressler, J.F., Alkoy, S., Newnham, R.E., *Piezoelectric sensors and sensors materials*, **J. Electroceram.**, 2, 257 (1998).
- 27-Ebersole, R.C., Miller, J.A., Noran, J.A., Ward, M.D., *Spontaneously formed functionally active avidin monolayers on metal surfaces. Estrategy for immobilizing biological reagents and design of piezoelectric biosensors*, **J. Am. Chem. Soc.**, 112, 3239 (1990).

- 28-O'Sullivan, C.K., Guilbault, G.G., *Commercial quartz crystal microbalances - theory and applications*, **Biosens. & Bioelectron.**, 14, 663 (1999).
- 29-Catral, R.W., *Chemical sensors*, Oxford Science Publications, Oxford (1997).
- 30-Mosbach, K., *Thermal biosensors*, **Biosens. & Bioelectr.**, 6, 179 (1991).
- 31-Moody, G.J., *Role of polymeric materials in the fabrication of ion selective electrodes and biosensors*, **ACS Sym. Ser.**, 487: 99 (1992).
- 32-Teixeira, M.F.S., Ramos, L.A., Neves, E.A., Fatibello, O., *Potentiometric determination of acids and bases using a silica gel based carbon-epoxy indicator electrode*, **Fresen. J. Anal. Chem.**, 367, 86 (2000).
- 33-Rover, L., Neto, G.D., Kubota, L.T., *Potentiometric transducers based in conducting polymers: Analytical applications*, **Quim. Nova**, 20, 519 (1997).
- 34-Ion, A., Ion, I., Moutet, J.C., Pailleret, A., Popescu, A., Saint-Aman, E., Ungureanu, E., Siebert, E., Ziessel, R., *Electrochemical recognition of metal cations by redox-active receptors in homogeneous solution and in polymer films: some relevant examples*, **Sens. Actuat. B-Chem.**, 59, 118 (1999).
- 35-Azad, A.M., Akbar, S.A., Mhaisalkar, S.G., Birkefeld, L.D., Goto, K.S., *Solid-State Gas sensors - A Review*, **J. Electrochem. Soc.**, 139, 3690 (1992).
- 36-Harwood, G.W.J., Pouton, C.W., *Amperometric enzyme biosensors for the analysis of drugs and metabolites*, **Adv. Drug Deliv. Rev.**, 18, 163 (1996).
- 37-Gorton, L.; Jonsson, P.; Csoregi, E.; Johansson, K.; Dominguez, E. and Marko-Varga, E.; *Amperometric biosensors based on an apparent direct electron-transfer between electrodes and immobilized peroxidases- Plenary lecture*, **Analyst**, 117, 1235 (1992).
- 38-Zen, J.M., Tang, J.S., *Flow-injection amperometric detection of hydrazine by electrocatalytic oxidation at a perfluorosulfonated ionomer ruthenium oxide pyrochlore chemically modified electrode*, **Anal. Chem.**, 67, 208 (1995).
- 39-Habermuller L, Mosbach M, Schuhmann W., *Electron-transfer mechanisms in amperometric biosensors*, **Fresen. J. Anal. Chem.**, 366, 560 (2000).
- 40-Ruiz, B.L., Dempsey, E., Hua, C., Smyth, M.R. e Wang, J.; *Development of amperometric sensors for choline, acetylcholine and arsenocholine*, **Anal. Chim. Acta**, 273, 425 (1993).
- 41-Milagres, B.G.; Oliveira Neto, G. de and Kubota, L.T.; *Immobilized ferrocene and glucose oxidase on titanium(IV) oxide grafted onto a silica gel surface and its application as an amperometric glucose biosensor*, **Electroanalysis**, 8, 489 (1996).

- 42-Maistrenko, V.N., Sapel'nikova, S.V., Kudasheva, F.K., Amirkhanova, F.A., *Isomer-selective carbon-paste electrodes for the determination of nitrophenol, nitroaniline, and nitrobenzoic acid by adsorption-stripping voltammetry*, *J. Anal. Chem.*, **55**, 586 (2000).
- 43-Kulesza, P.J., Cox, J.A., *Solid-state voltammetry - Analytical prospects*, *Electroanalysis*, **10**, 73 (1998).
- 44-Oliveira-Brett, A.M., Serrano, S.H.P., Gutz, I.G.R., La-Scalea, M.A., *Comparison of the voltametric behavior of metronidazole at a DNA modified glassy carbon electrode, a mercury thin film electrode and a glassy carbon electrode*, *Electroanalysis*, **9**, 110 (1997).
- 45- Oliveira-Brett, A.M., Serrano, S.H.P., Macedo, T.A., Raimundo, D., Marques, M.H., La-Scalea, M.A., *Voltametric behaviour of mitroloxantrone at a DNA biosensor*, *Electroanalysis*, **8**, 992 (1996).
- 46- Tess, M.E., Cox, J.A., *Chemical and biochemical sensors based on advances in materials chemistry*, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **19**, 55 (1999).
- 47- Kubota, L.T., Gouvea, F., Milagres, B.G., Andrade, A.N., Oliveira-Neto, G., *Electrochemical sensor for NADH based on Meldola's Blue immobilized on silica gel modified with titanium phosphate*, *Electrochim. Acta*, **41**, 1465 (1996).
- 48- Gorton, L.; *Carbon-Paste electrodes modified with enzymes, tissues and cells*, *Electroanalysis*, **7**, 23 (1995).
- 49-Brett, C.M.A.; Brett, A.M.O. and Serrano, S.H.P.; *On the adsorption and electrochemical oxidation of DNA at glassy-carbon electrodes*, *J. Electroanal. Chem.*, **366**, 225 (1994).
- 50-Aurbach, D., Markousky, B., Levi, M.D., Schechler, A., Moshkovich, M., Cohen, Y., *New insights into the interactions between electrode materials and electrolyte solutions for advanced non-aqueous batteries*, *J. Power Sources*, **82**, 95 (1999).
- 51- Souza, M.F.B., *Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: Uma breve abordagem*, *Quim. Nova*, **20**, 191 (1997).
- 52- Kolb, D.M., *Structure studies of metal electrodes by in-situ scanning tunneling microscopy*, *Electrochim. Acta*, **45**, 2387 (2000).
- 53-Hampel, C.A., ed., *The Encyclopedia of Electrochemistry*, Reinhold, New York (1964).
- 54-Milazzo, G., *Bioelectrochemistry*, *J. Electroanal. Chem.*, **100**, 1 (1979).
- 55-Milazzo, G., *Bioelectrochemistry and bioenergetics - An interdisciplinary survey -Introduction*, *Experientia*, **36**, 1243 (1980).

- 56-Koryta, J., *What is bioelectrochemistry?*, **Electrochim. Acta**, 29, 1291 (1984).
- 57-Armstrong, F.A., Wilson, G.S., *Recent developments in faradaic bioelectrochemistry*, **Electrochim. Acta**, 45, 2623 (2000).
- 58-Yao, C.L., Park, K.H., Bear, J.L., *Chemically modified carbon paste electrode for chronoamperometric studies reduction of oxygen by tetrakis (MU-2-anilinopyridinato) dirhodium (II,III) chloride*, **Anal. Chem.**, 61, 279 (1989).
- 59-Gil, E.S., Najjar, R., Kubota, L.T., *Potencialidades da utilização de compostos de ródio no desenvolvimento de sensores eletroquímicos: Uma breve revisão*, **Quim. Nova**, 21, 755 (1998).
- 60-Gil, E.S., Kubota, L.T., *Electrochemical behavior of rhodium acetamidate immobilized on a carbon paste electrode: A hydrazine sensor*, **J. Braz. Chem. Soc.**, 11, 304 (2000).
- 61-Gil, E.S., Kubota, L.T., *Electrochemical properties of Doyle catalyst immobilized on to carbon paste in the presence of DNA*, **Bioelectrochem.**, 51, 145 (2000).
- 62-Gil, E.S., Serrano, S.H.P., Kubota, L.T., *Evidência eletroquímica da interação entre o catalisador de Doyle e DNA*, **Memórias Del XV Congreso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica-(SIBAE)**, Mol41 (2000).
- 63-Gil, E.S., Najjar, R., Serrano, S.H.P., Negrón, A.C.V., Carvalho, R.M., Ferreira, E.I., Kubota, L.T., *Investigação eletroquímica da interação entre dímeros de ródio e DNA*, **23ª. Reunião Anual SBQ**, (2000).
- 64-Rajeshwar, K., Ibanez, J.G., Swain, G.M., *Electrochemistry and the environment*, **J. App. Electrochem.**, 24, 1077 (1994).
- 65-Ibanez, J.G., Takimoto, M.M., Vasquez, R.C., Basak, S., Myung, N., Rajeshwar, K., *Laboratory experiments on electrochemical remediation of the environment: Electrocoagulation of oily wastewater*, **J. Chem. Educ.**, 1050, (1994).
- 66-Koudelka-Hep, H.M., Van der Wal, P.D., *Microelectrode sensors for biomedical and environmental applications*, **Electrochim. Acta**, 45, 2437 (2000).
- 67-Wang, J., Rivas, G., Cai, X., Palecek, E., Nielsen, P., Shiraishi, H., Dontha, N., Luo, D., Parrado, C., Chicharro, M., Farias, P.A.M., Valera, F.S., Grant, D.H., Ozsoz, M., Flair, M.N., *DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. A review*, **Anal. Chim. Acta**, 347, 1 (1997).
- 68-Mielle, P., Marquis, F., *An alternative way to improve the sensitivity of electronic olfactometers*, **Sensors Actuat. B**, 58, 526 (1999).
- 69-Wang, J., Chen, Q., Pedrero, M., *Highly selective biosensing of lactate at lactate oxidase containing rhodium dispersed carbon paste electrodes*, **Anal. Chim. Acta.**, 304, 41 (1995).

- 70-Sauvan, M., Pijolat, C., *Selectivity improvement of SnO₂ films by superficial metallic films*, **Sensors Act. B**, 58, 295 (1999).
- 71-Wang, J., Liu, J., Chen, L., Lu, F., *Highly selective membrane free mediator free glucose biosensor*, **Anal. Chem.**, 66, 3600 (1994).
- 72-Yang, Q.L., Atanasov, P., Wilkins, E., *Development of needle-type glucose sensor with high selectivity*, **Sensors & Actuat. B**, 46, 249 (1998).
- 73-Kubota, L.T., Gorton, L., *Electrochemical investigations of the reaction mechanism and kinetics between NADH and riboflavin immobilised on amorphous zirconium phosphate*, **J. Sol. State Electrochem.**, 3, 370 (1999).
- 74- Brett, A.M.O., Serrano, S.H.P., La-Scalea, M.A., Gutz, I.G.R., Cruz, M.L., *Mechanism of interaction of in situ produced nitroimidazole derivatives with DNA using electrochemical DNA biosensor*, **Method. Enzymol.**, 300, 314 (1999).
- 75- Oliveira-Brett, A.M., Serrano, S.H.P., Gutz, I., La-Scalea, M.A., Cruz, M.L., *Voltametric behavior of nitroimidazoles at a DNA biosensor*, **Electroanalysis**, 9, 1132 (1997).
- 76- Wang, J., Palecek, E., Nielsen, P.E., Rivas, G., Cai, X.H., Shiraishi, H., Dontha, N., Luo, D.B., Farias, P.A.M., *Peptide nucleic acid probes for sequence-specific DNA biosensors*, **J. Am. Chem. Soc.**, 118, 7667 (1996).
- 77- Millan, K.M., Mikkelsen, S.R., *Sequence selective biosensor for DNA based on electroactive hybridization indicators*, **Anal. Chem.**, 65, 2317 (1993).
- 78-Kubota, L.T.; Gouvea, F.; Milagres, B.G.; DeOliveira-Neto, G.; *A modified carbon paste electrode with silica gel coated with Meldola's blue and salicylate hydroxylase as a biosensor for salicylate*, **Anal. Lett.**, 29, 893 (1996).
- 79- Csoregi, E.; Gorton, L.; Marko-Varga, G.; Tudos, A.J., Kok, W.T.; *Peroxidase-modified Carbon-fiber microelectrodes in flow-through detection of hydrogen-peroxide and organic peroxides*, **Anal. Chem.**; 66, 3604 (1994).
- 80- Vijayakumar, A.R., Csoregi, E., Heller, A. and Gorton, L.; *Alcohol biosensors based on coupled oxidase-peroxidase systems*, **Anal. Chim. Acta**, 327, 223 (1996).
- 81- Wang, J., *Sol-gel materials for electrochemical biosensors*, **Anal. Chim. Acta**, 399, 21 (1999).
- 82-Pandey, P.C., Upadhyay, S., Singh, G., Prakash, R., Srivastava, R.C., Seth, P.K., *A new solid-state pH sensor and its application in the construction of all solid-state urea biosensor*, **Electroanalysis**, 12, 517 (2000)

- 83- Arjsiriwat S, Tanticharoen M, Kirtikara K, *Metal-dispersed conducting polymer-coated electrode used for oxidase-based biosensors*, **Electrochem. Comm.**, 2, 441 (2000).
- 84- Cosnier S., *Biomolecule immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review*, **Biosens. & Bioelectron.**, 14, 443 (1999).
- 85- Gilmartin, M.A.T., Hart, J.P.; *Prototype, Solid-phase, glucose biosensor*, **Analyst**, 120, 1029 (1995).
- 86- Paddle, B.M., *Biosensors for chemical and biological agents of defence interest*, **Biosens. & Bioelectr.**, 11, 1079 (1996).
- 87- Graumann, K., Jungbauer, A., *Quantitative assessment of complex formation of nuclear-receptor accessory proteins*, **Biochem. J.**, 345, 627 (2000).
- 88- Gil, E.S., Kubota, L.T., Yamamoto, Y.I., *Alguns aspectos de imunoensaios aplicados a química analítica*, **Quim. Nova**, 22, 874 (1999).
- 89- Wang, J, Zhang, XJ, *Screen printed cupric-hexacyanoferrate modified carbon enzyme electrode for single-use glucose measurements*, **Anal. Lett.**, 32, 1739 (1999).
- 90- Céspedes, F., Fabregas, M.J., Bartrolí, J. e Alegret, S.; *Amperometric enzymatic glucose electrode based on a epoxy graphite composite*, **Anal. Chim Acta**, 273, 409 (1993).
- 91- Somasundrum, M., Tanticharoen, M., Kirtikara, K., *H₂O₂ from an oxidase enzyme can be detected cathodically using metal microparticles dispersed in a polymeric film electrode*, **J. Electroanal. Chem.**, 407, 247 (1996).
- 92- Ikeda, T.; Kobayashi, D.; Matsushita, F.; Sagara, T., Niki, K.; *Bioelectrocatalysis at electrodes coated with alcohol-dehydrogenase, A quinoxaline protein with heme-C serving as a built in mediator*, **J. Electroanal. Chem.**, 361, 221 (1993)
- 93- Bindra, D.S.; Zhang, Y.; Wilson, G.S.; Sternberg, R.; Thevenot, D.R.; Moatti, D., Reach, G.; *Design and in vitro studies of a needle-type glucose sensor for subcutaneous monitoring*, **Anal. Chem.**, 63, 1692 (1991).
- 94- Ohara, T.; Rajagopalan, R and Heller, A.; *Glucose electrodes based on cross-linked [Os(BPY)₂]²⁺ complexed poly(L-vinylimidazole) films*, **Anal. Chem.**, 65, 3512 (1993).
- 95- Guibault, G.G., *Handbook of enzymatic methods of analysis*, Marcel Decker, New York, 4 (1976).

- 96- Battaglini, F., Koutroumanis, M., English, A.M., Mikkelsen, S.R., *Targeting glucose oxidase at aspartate and glutamate residues with organic 2-electron redox mediators*, **Bioconjug. Chem.**, 5, 430 (1994).
- 97- Hines, E.L., Llobet, E., Gardner, J.W., *Electronic noses: a review of signal processing techniques*, **IEE Proceed. Circ. Dev. Syst.**, 146, 297 (1999).
- 98- Winqvist, F., Holmin, S., Krantz-Rutcker, C., Wide, P., Lundstrom, I., *A hybrid electronic tongue*, **Anal. Chim. Acta**, 406, 147 (2000).
- 99- Gardner, J.W., Bartlett, P.N., *Application of conducting polymer technology in Microsystems*, **Sensors Actuat. A**, 51, 57 (1995).
- 100- Yang QL, Atanasov P, Wilkins E , *Needle-type lactate biosensor*, **Biosens. & Bioelectron.**, 14, 203 (1999).
- 101- Daly, D.J., O'Sullivan, C.K., Guibault, G.G., *The use of polymers coupled with metallised electrodes to allow H₂O₂ detection in the presence of electrochemical interferences*, **Talanta**, 49, 667 (1999).
- 102- Cespedes, F., Alegret, S., *New materials for electrochemical sensing - II. Rigid carbon-polymer biocomposites*, **Trac Trend Anal. Chem.**, 19, 276 (2000).
- 103- Sadik, O.A., *Bioaffinity sensors based on conducting polymers: A short review*, **Electroanalysis**, 11, 839 (1999).
- 104- Akmal, N., Lauer, J., *Electrochemical oxygen sensors: Principles and applications*, **ACS Sym. Ser., Polym. Sensors**, 690, 149 (1998).
- 105- Palecek, E., *From polarography of DNA to microanalysis with nucleic acid-modified electrodes*, **Electroanalysis**, 8, 7 (1996).
- 106- Brett, A.M.O.; Serrano, S.H.P.; La-Scalea, M.A.; *Electrochemical determination of carboplatin in serum using a DNA-modified glassy carbon electrode*, **Electroanalysis**, 8, 992 (1996).
- 107- Oliveira-Brett, A.M., Serrano, S.H.P., Gutz, I., La-Scalea, M.A., *Electrochemical reduction of metronidazole at DNA modified glassy carbon electrode*, **Bioelectrochem. & Bioenerg.**, 42, 175 (1997).
- 108- Millan, K.M., Spurmanis, A.J., Mikkelsen, S.R., *Covalent immobilization of DNA onto glassy carbon electrodes*, **Electroanalysis**, 4, 929 (1992).
- 109- Cookeas, E.G., Efstathiou, C.E., *Flow injection-pulse amperometric detection of ephedrine at a cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode*, **Analyst**, 125, 1147 (2000).

- 110- Wang, J., Angnes, L., *Miniatured glucose sensor based on electrochemical co-deposition of rhodium and glucose oxidase on to carbon fibre electrodes*, **Anal. Chem.**, 64, 456 (1992).
- 111- Wang, J., Naser, N., Angnes, L., Wu, H., Chen, L., *Metal dispersed carbon paste electrodes*, **Anal. Chem.**, 64, 1285 (1992).
- 112- Kalcher, K.; Kauffmann, J.M.; Wang, J.; Svancara, I.; Vytras, K.; Neuhhold, C., Zhongping, Y.; *Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis - A review with particular emphasis on the period 1990-1993*, **Electroanalysis**, 7, 1 (1995).
- 113- Vytras, K., Svancara, I., *Applications of carbon paste electrodes in electroanalysis*, **Chem. Listy**, 88, 412 (1994).
- 114- Kinoshita, K.; *Carbon: Electrochemical and Physicochemical Properties*, Wiley, New York, p 1 (1988).
- 115- De-Carvalho, R. M.; Kubota, L. T. e Rohwedder, J. J.; *Carbon fibers: Electroanalytical applications as electrodic material*, **Quim. Nova**, 22, 591 (1999).
- 116- Ibanez, J.G., Gomez, D.E., Solorza, O., *Preparation of semiconducting materials in the laboratory – production of CDS thin films and estimation of their band gap energy*, **J. Chem. Educ.**, 68, 872 (1991).
- 117- Gross, M., Muller, D.C., Nothofer, H.G., Scherf, U., Neher, D., Brauchle, C., Meerholz, K., *Improving the performance of doped pi-conjugated polymers for use in organic light-emitting diodes*, **Nature**, 405, 661(2000).
- 118- Appel, G., Mikalo, R., Henkel, K., Oprea, A., Yfantis, A., Paloumpa, I., Sohmeisser, D., *Polymeric electrodes*, **Sol. State Electron.**, 44, 855 (2000).
- 119- Oliveira, I.M.F., Moutet, J.C., *Electrochemical properties and electropolymerization of poly (pyridine) rhodium (III) complexes*, **J. Electroanal. Chem.**, 361, 203 (1993).
- 120- Moutet JC, Duboc-Toia C, Menage S, Tingry S, *A chiral poly(2,2'-bipyridyl rhodium(III) complex) film electrode for asymmetric induction in electrosynthesis*, **Adv. Mater.**, 10 665 (1998).
- 121- Noblat, S.C., Cosnier, S., Deronzier, A., *Electrochemical properties of (C₅Me₅) Rh(III) (L) Cl] + complexes (L= 2,2'-bipyridine or 1,10 phenantroline derivatives in solution and in related polypyrrolic films application to electrocatalytic hydrogen generation*, **J. Electroanal. Chem.**, 352, 213 (1993).
- 122- Beley, M., Collin, J.P., *Electrochemical regeneration of nicotinamide cofactor using a poly(pyridine) Rhodium (III) complexes*, **J. Mol. Catalysis.**, 79, 133 (1993).

- 123- Adekola, F.A., Colin, C., Bauer, D., *Electrochemical regeneration of nicotinamide cofactor using a poly pyrrole rhodium Bis-terpyridine modified electrode*, **Electrochim. Acta**, 38, 1331 (1993).
- 124- Bakir, M., McKenzie, J.A.M., *Rhenium(I) di- and tri-carbonyl compounds of polypyridyl-like ligands: electrochemical reactions of fac-[Re(CO)(3)(dpk)Cl] (dpk equals di-2-pyridyl ketone) with electrophiles and Group I and II metal ions*, **J. Chem. Soc. Dalton**, 19, 3571 (1997).
- 125- Lu XQ, Meng XR, Kang JW, Gao JZ, *Study on electroanalytical chemistry of rare earths - part 1 - Catalytic wave of Yb³⁺-MnO₄-HClO₄ system*, **Rare Metals**, 19, 21 (2000).
- 126- Dunn, B., Zink, J., *Optical properties of sol-gel glasses doped with organic molecules*, **J. Mat. Chem.**, 1, 903 (1991).
- 127- Ferreira, C.U., Gushikem, Y., Kubota, L.T., *Electrochemical properties of Meldola's Blue immobilized on silica-titania phosphate prepared by the sol-gel method*, **J. Sol. State Electrochem.**, 4, 298 (2000).
- 128- Walcarius, A., *Analytical applications of silica-modified electrodes - A comprehensive review*, **Electroanalysis**, 10, 1217 (1998).
- 129- Fujiwara, S.T., Gushikem, Y., *Cobalt(II) phthalocyanine bonded to 3-n-propylimidazole immobilized on silica gel surface: Preparation and electrochemical properties*, **J. Braz. Chem. Soc.**, 10, 389 (1999).
- 130- Moutet, J.C., *Molecular electrode materials: Catalysis and analysis*, **Actual Chim.**, (8-9), 63 (1998).
- 131- Bien, M., Pruchnik, F.P., Seniuk, A., Lachowicz, T.M., Jakimowicz, P., *Studies of antibacterial activity of binuclear rhodium(II) complexes with heterocyclic nitrogen ligands*, **J. Inorg. Biochem.**, 73, 49 (1999).
- 132- Nothenberg, M.S., Takeda, G.K.F., Najjar, R., *Adducts of nitroimidazole derivatives with rhodium (II) carboxylates - syntheses characterization and evaluation of antichagasic activities*, **J. Inorg. Biochem.**, 42, 217 (1991).
- 133- Pruchnik, F.P., Kluczevska, G., Wilczok, A., *Rhodium(II) complexes with phenanthrolines and their metabolic action on synchronized cell culture*, **J. Inorg. Biochem.**, 65, 25 (1997).
- 134- Keppler, B.K., ed. *Metal complexes in cancer chemotherapy*, Weinheim: VCH (1993).
- 135- Kitchens, J., Bear, J.L., *A study of some rhodium (2) acetate adducts*, **J. Inorg. Nucl. Chem.**, 31(8), 2415 (1969).

- 136- Najjar, R., DeOliveira, W., Carducci, J.B., *Synthesis of rhodium (II) hydrocinnamate and some complexes with nitrogen ligands*, *Polyhedron*, 8(9), 1157 (1989).
- 137- DeSouza, A.R., Najjar, R., Matos, J.R., *Thermal behavior of some rhodium (II) cycloalkanocarboxylate complexes*, *Thermochim. Acta*, 343, 119 (2000).
- 138- Sinisterra, R.D., Shastri, V.P., Najjar, R., Langer, R., *Encapsulation and release of rhodium(II) citrate and its association complex with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin from biodegradable polymer microspheres*, *J. Pharm. Sci.*, 88, 574 (1999).
- 139- Gil, E.S.; Ferreira E.I., Negron, A.C.V., Zyngier S.B., Najjar R., *Carboxilatos hidroxilados de Rodio II (gluconato, lactobionato e lactato). Síntesis, caracterización y ensayos de citotoxicidad in vitro*, *Anal. Real Acad. Farm.*, no prelo.
- 140- Najjar, R., DosSantos, F.S., Seidel, W., *Synthesis and characterization of the rhodium (II) citrate complex*, *An. Acad. Bras. Cien.*, 59, 13 (1987).
- 141- Najjar, R., Netto, E.R., Takano, I., *The cinnamate complex of rhodium (II) and some of its adducts*, *Inorg. Chim. Acta*, 89, 53 (1984).
- 142- Doyle, M.P., Bagheri V., Wandless, T.J., Harn, N.K., Brinker, D.A., Eagle, C.T., Loh, K.L., *Exceptionally high trans (anti) stereoselectivity in catalytic cyclopropanation*, *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 1906-12 (1990).
- 143- Doyle, M.P., Winchester, W.R., Hoorn, A.A., Lynch, V., Simonsen, S.H., Ghosh, R., *Dirhodium (II) tetrakis (carboxamidates) with chiral ligands – Structure and selectivity in catalytic metal carbene transformations*, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 9968 (1993).
- 144- Doyle, M.P., Davies, S.B., Hu, W.H., *Dirhodium(II) tetrakis [methyl oxazetidone-4-carboxylate] A chiral dirhodium (II) carboxamidate of exceptional reactivity and selectivity*, *Org. Lett.*, 2, 1145 (2000).
- 145- Housecroft, C. E., *Rhodium*, *Coord. Chem. Rev.*, 115, 191 (1992).
- 146- Casas, J.M., Cayton, R.H., Chisholm, M.H., *Comments on the substitutional lability of the dimetal carboxylates of molybdenum and rhodium effects of M-M MO configuration*, *Inorg. Chem.*, 30, 358 (1991).
- 147- Norman, J.G., Kolari, H.J., *Strength and trans influence of Rh-Rh bond in rhodium (II) carboxylate dimers*, *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 791-9 (1978).
- 148- Norman, J.G., Kolari, H.J., Gray, H.B., Trogler, W.C., *Electronic structure of $MO_2(O_2CH_3)_4$, MO_2^{4+} and MO_2* , *Inorg. Chem.*, 16, 987 (1977).

- 149- Sinisterra, R.D., Najjar, R., *Synthesis and spectroscopic studies on dirhodium(II) carboxylate adducts with sulfadiazine*, **Spectrosc. Lett.**, 26(2), 245 (1993).
- 150- Deacon, G.B., Huber, F., Philips, R.J., *Diagnosis of the nature of carboxylate coordination from the direction of shifts of carbon oxygen stretching frequencies*, **Inorg. Chim. Acta**, 104, 41-5 (1985).
- 151- Cotton, F.A., Dikarev, E.V., Feng, X., *Unligated dirhodium tetra(trifluoroacetate)-preparation, crystal-structure and electronic structure*, **Inorg. Chim. Acta**, 237, 19-26 (1995).
- 152- Rotov, A. V., Ugolkova, E. A., Rakitin, Y. V., *Effect of ligand electron structure on metal-metal bond in rhodium dimmers*, **J. Inorg. Chem. Engl. Transl.**, 36, 1026 (1991).
- 153- McGrady, J.E., Stranger, R., *Redox induced changes in the geometry and electronic structure of di- μ -oxo bridged manganese dimmers*, **J. Am. Chem. Soc.**, 119, 8512 (1997).
- 154- Tikkanen, W.R., Soriaga, E.B., Kaska, W.C., Ford, P.C., *Crescent shaped dinuclear complexes A dirhodium (II) complexes of the new tetradentate ligand 2,7-bis (2-pyridil) 1,8 naphthyridine (BPN), $[Rh_2(BPNP)(\mu-CH_3CO_2)_3](PF_6)$* , **Inorg. Chem.**, 22, 1147 (1983).
- 155- Howard, R.A., Wynne, A.M., Bear, J.L., *Thermal decomposition of dimethyl sulfoxide and pyridine adducts of rhodium (II) acetate, propionate and butyrate*, **J. Inorg. Nucl. Chem.**, 38(5), 1015 (1976).
- 156- Bear, J.L., Howard, R.A., Korn, J.E., *Thermodynamic and kinetic stabilities of some tetra- μ -carboxylato di rhodium (II) adducts*, **Inorg. Chim. Acta**, 32, 123 (1979).
- 157- Pruchnik, F.P., *Structure and reactivity of rhodium(II) complexes*, **Pure Appl. Chem.**, 61, 795 (1989).
- 158- Koralewicz, M., Pruchnik, F.P., Szymaszek A, *Binuclear rhodium(II) complexes with leucine and proline*, **Transit. Met. Chem.**, 23, 523 (1998).
- 159- Esposito, B.P., Faljoni-Alario, A., DeMenezes, J.F.S., DeBrito, H.F., Najjar, R., *A circular dichroism and fluorescence quenching study of the interactions between rhodium(II) complexes and human serum albumin*, **J. Inorg. Biochem.**, 75, 55 (1999).
- 160- TryndaLemiesz, L., Pruchnik, F.P., *Studies on the interaction between human serum albumin and $[Rh_2(OAc)_2(bpy)_2(H_2O)_2](OAc)_2$* , **J. Inorg. Biochem.**, 66, 187 (1997).

- 161- Waysbort, D., Tarien, E., Eichhorn, G.L., *Nature specific interaction of rhodium acetate dimer with adenosine*, **Inorg. Chem.**, 32, 4774 (1993).
- 162- Howard, R.A., Sherwood, E., Erck, A., Kimbal, A.P., Bear, J.L., *Hydrophobicity of several rhodium(II) carboxylates correlated with their biologic activity*, **J. Med. Chem.**, 20, 943 (1977).
- 163- Chavan, M.Y., Zhu, T.P., Lin, X.Q., Ahsan, M.Q., Bear, J.L., Kadish, K.M., *Axial ligand dependent electrochemical and spectral properties of a series of acetamidate and acetamidate bridged dirhodium complexes*, **Inorg. Chem.**, 23, 4538 (1984).
- 164- Das, K., Kadish, M., Bear, J.L., *Substituent and solvent effects on the electrochemical properties of tetra μ -carboxylate dirhodium (II)*, **Inorg. Chem.**, 17, 930 (1978).
- 165- Ahsan, M.Q., Bernal, I., Bear, J.L., *Reaction of $Rh_2(OOCH_3)_4$ with acetamide crystal and molecular structure of $[Rh_2(HNOCCH_3)_4 \cdot 2H_2O] \cdot 3H_2O$* , **Inorg. Chem.**, 25, 260 (1986).
- 166- Chakravarty, A.R., Cotton, F.A., Tocher, D.A., Tocher, J.H., *Synthesis, structures and redox properties of tetrakis - (μ -benzamidato) dirhodium (II) complexes*, **Inorg. Chim. Acta**, 101, 185 (1985).
- 167- Bear, J.L., Zhu, T.P., Malinski, T., Dennis, A.M., Kadish, K.M., *Electrochemical characterization of rhodium(II) dimer with *n*-phenylacetamido bridging ligands*, **Inorg. Chem.**, 23, 674 (1984).
- 168- Le, J.C., Chavan, M.Y., Chau, L.K., Bear, J.L., Kadish, K.M., *Synthesis and characterization of dirhodium complexes with 4 *N,N*, diphenyl-benzamidine bridging ligands electrochemical generation and electron spin resonance properties of $[Rh_2(N_2R_2CR)_4]n$, where $R = \text{phenyl}$ and $n = 1$ and -1* , **J. Am. Chem. Soc.**, 107, 7195 (1985).
- 169- Yao, C.L., Park, K.H., Khokhar, A.R., Bear, J.L., *Synthesis and molecular structure of $Rh_2(\text{Anilinopyridinato})_4(\text{CCH})$, Spectroscopic and electrochemical properties of carbon sigma bonded dirhodium complexes*, **Inorg. Chem.**, 29, 4033 (1990).
- 170- La-Scalea, M.A., *Comportamento voltamétrico e mecanismo de ação biológica de nitroimidazóis*, **Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo**, 34, 59 (1998).
- 171- Chien, Y.W., *Electrochemistry of drug action. 1 Electroreduction of ferredoxins*, **J. Pharm. Sci.**, 65, 1471 (1976).
- 172- Chien, Y.W., Mizuba, S.S., *Activity electroreduction relationships of anti-microbial metronidazole analogs*, **J. Med. Chem.**, 21, 374 (1978).

- 173- Cundari, T.R., Fu, W.T., *Conformational analysis of platinum antitumor drugs*, **Theochem. J. Mol. Struct.**, 425, 51 (1998).
- 174- Tömpe, P., Clementis, G., Peteneházy, I., Jászay, Z.M., Töke, L., *Quantitative electrochemistry relation ships of alpha, beta - unsaturated ketones*, **Anal. Chim. Acta**, 305, 295 (1995).
- 175- Yurev, E., Orbell, J.D., *Modelling steric effects in DNA-binding platinum (II)-amine complexes*, **J. Comp. Mol. Design**, 10, 589 (1996).
- 176- Patrick, G., *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 2 ed. Oxford University Press, Oxford, (1997).
- 177- Tselepi-Kalouli, E., Katsaros, N., *The interaction of Rh(II) and Rh(III) with DNA*, **J. Inorg. Biochem.**, 40, 95-102 (1990).
- 178- Hill, H.A.O., *The development of bioelectrochemistry*, **Coord. Chem. Rev.**, 151, 115 (1996).
- 179- Pethig, R., in Gutmann, F., Keyser, H., ed., *Modern bioelectrochemistry*, Plenum, New York, (1986).
- 180- Kennedy, J.F., Cabral, J.M.S., in *Biotechnology*, VCH, Weinheim, v 7^a, cap. 7 (1987).
- 181- Parker, S.A., in Turner, A.P.F., Karube, I., Wilson, G.S., ed., *Biosensors, fundamentals and applications*, Oxford, University Press (1987).
- 182- Wang, L.H., *Simultaneous determination of retinal, retinol and retinoic acid (all-trans and 13-cis) in cosmetics and pharmaceuticals at electrodeposited metal electrodes*, **Anal. Chim. Acta**, 415, 193 (2000).
- 183- Reymond, F., Fermin, D., Lee, H.J., Girault, H.H., *Electrochemistry at liquid/liquid interfaces: methodology and potential applications*, **Electrochim. Acta**, 45, 2647 (2000).
- 184- Neumann, E., Kakorin, S., Toesing, K., *Fundamentals of electroporative delivery of drugs and genes*, **Bioelectrochem. Bioenerg.**, 48, 3 (1999).
- 185- Hodgkin, A.L., Huxley, A.F., *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve*, **J. Physiol.**, 117, 500 (1952).
- 186- Kolthoff, I.M., Lingane, J.L., *Polarography*, Interscience, New York, 878 (1952).
- 187- Moiroux, J., *Some aspects of bioelectrochemistry - Electrochemical behavior of combined NAD⁺/NADH oxidation reduction*, **Actual Chimique**, 10, 75 (1998).

- 188- Cantet, J., Bergel, A., Comtat, M., *Coupling of the electroenzymatic reduction of NAD(+) with a synthesis reaction*, **Enzyme Microb. Tech.**, 18, 79 (1996).
- 189- Ryabov, A.D., Kurova, V.S., Goral, V.N., Reshetova, M.D., Razumiene, J., Simkus, R., Laurinavicius, V., *p-ferrocenylaniline and p-ferrocenylphenol: Promising materials for analytical biochemistry and bioelectrochemistry*, **Chem. Mater.**, 11, 600 (1999).
- 190- Guerra, S.V., Xavier, C.R., Nakagaki, S., Kubota, L.T., *Electrochemical behavior of copper porphyrin synthesized into zeolite cavity: A sensor for hydrazine*, **Electroanalysis**, 10, 462 (1998).
- 191- Gorton, L., Lindgren, A., Larsson, T., Munteanu, F.D., Ruzgas, T., Gazaryan, I., *Direct electron transfer between heme-containing enzymes and electrodes as basis for third generation biosensors*, **Anal. Chim. Acta**, 400, 91 (1999).
- 192- Reymond, F., Steyart, G., Pagliara, A., Carrupt, P.A., Testa, B., Girault, H., *Transfer mechanism of ionic drugs: Piroxicam as an agent facilitating proton transfer*, **Helv. Chim. Acta.**, 79, 1651 (1996).
- 193- La-Scalea, M.A., Serrano, S.H.P., Gutz, I.G.R., *Eletrodos modificados com DNA: Uma nova alternativa em eletroanálise*, **Quim. Nova**, 22, 417 (1999).
- 194- Perez, P., Teijeiro, C., Marin, D., *Interactions of surface-confined DNA with electroreduced mitomycin C comparison with acid-activated mitomycin C*, **Chem. Biol. Int.**, 117, 65 (1999).
- 195- Marin, D., Valera, R., Red, E., Teijeiro, C., *Electrochemical study of antineoplastic drug thiotepa hydrolysis to thiol form and thiotepa-DNA interactions*, **Bioelectrochem. Bioenerg.**, 44, 751(1997).
- 196- Porath, D., Bezryadin, A., de Vries, S., Dekker, C., *Direct measurement of electrical transport through DNA molecules*, **Nature**, 403, 635 (2000).
- 197- Stemp, E.D.A., Barton, J.K., *Electron transfer between metal complexes bound to DNA: variations in sequence, donor, and metal binding mode*, **Met. Ion Biol. Syst.**, 11, 325 (1993).
- 198- Sitali, A., Barton, J.K., *Sequence especific recognition of DNA by phenanthrenequinone diimine complexes of rhodium (III) importance of steric and van der Waals interactions*, **Biochemistry**, 23, 12100 (1994).
- 199- Ames, J.R., Ryan, M.D., Kovacic, P., *Mode of action of antiprotozoan agents electron- transfer and oxy radicals*, **Life Sci.**, 41, 1895 (1987).

- 200- Comtat, M., Durliat, H., *Some examples of the use of thin-layer spectroelectrochemistry in the study of electron-transfer between metals and enzymes*, **Biosens. Bioelectron.**, 9, 663 (1994).
- 201- Kolthoff, I.M., Kihara, S., *Voltammetric and Polarographic catalytic hydrogen currents of modified bovine serum albumin*, **J. Electroanal. Chem.**, 71, 2972 (1979).
- 202- Nunezvergara, L.J., Gonzalez, E.M., Squella, J.A., *Bioelectrochemistry – Human serum albumin-benzodiazepine binding*, **J. Chim. Phys. PCB.**, 86, 2215 (1989).
- 203- Squella, J.A., Becerra, R., Nunezvergara, L.J., *Polarography – A new tool in the elucidation of drug albumin interactions*, **Biochem. Pharmacol.**, 36, 3533 (1987).
- 204- McCreery, R.L., *Bioelectrochemistry: an examination of some examples*, **CRC Critical Rev. Anal. Chem.**, 7, 89 (1978).
- 205- Li, G.X., Shi, H.R., Fang, H.Q., Chen, H.Y., Zhu, D.X., *Current response of cytochrome C promoted by dodecyl benzene sodium sulfonate*, **Anal. Lett.**, 30, 235 (1997).
- 206- Oliveira-Brett, A.M., Serrano, S.H.P., *The electrochemical oxidation of DNA*, **J. Braz. Chem. Soc.**, 23, 97 (1995).
- 207- Dolowy, K., *Bioelectrochemistry of cell surfaces*, **Prog. Surf. Sci.**, 15, 245 (1984).
- 208- Gratteri, P., Pinzauti, S., Papeschi, G., Laporta, E., Furlanetto, S., *Adsorptive stripping voltammetry in pharmaceutical analysis*, **Farmaco**, 47, 695 (1992).
- 209- Kronkvist, K., Lovgren, U., Edholm, L.E., Johansson, G., *Determinations of drugs in biosamples at picomolar concentrations using competitive elisa with electrochemical detection i application to steroids*, **J. Pharm. Biomed. Analysis**, 11, 459 (1993).
- 210- Schlue, W.R., Kilb, W., Gunzel, D., *Ultramicroelectrodes for membrane research*, **Electrochim. Acta**, 42, 3197 (1997).
- 211- Carvalho, R.M., Neto, G.D., Kubota, L.T., *Microbiosensor for salicylate based on modified carbon fibre*, **Anal. Lett.**, 33, 425 (2000).
- 212- Kulagina, N.V., Michael, A.C., *Monitoring glutamate and ascorbate in the extracellular space of grain tissue with electrochemical microsensors*, **Anal. Chem.**, 71, 5093 (1999).

- 213- Junior, L.R., Neto, G.O., Fernandes, J.R., Kubota, L.T., *Determination of salicylate in blood serum using an amperometric biosensor based on salicylate hydroxylase immobilized in a polypyrrole-glutaraldehyde matrix*, *Talanta*, **51**, 547 (2000).
- 214- Berg, H., *Problems of weak electromagnetic field effects in cell biology*, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **48**, 355 (1999).
- 215- Campbell, C.E, Higginbotham, D.V., Baranowski, T.J., *A constant cathodic potential device for faradic stimulation of osteogenesis*, *Med. Eng. Phys.*, **17**, 337 (1995).
- 216- Schultze, J.W., Tsakova, V., *Electrochemical microsystem technologies from fundamental research to technical systems*, *Electrochim. Acta*, **44**, 3605 (1999).
- 217- Espósito, B.P., *Estudo dos produtos de reação entre carboxilatos de ródio (II) e amidas*, São Paulo, 1997, **Dissertação de Mestrado**, Instituto de Química, USP.
- 218- Laviron, E., *General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems*, *J. Electroanal. Chem.*, **101**, 19 (1979).
- 219- Zagal, J.H., Lira, S., Ureta, S., *A mechanistic study of the electrooxidation of hydrazine on phthalocyanines of VO, Cr, Mn, Ni, Cu and Zn attached to graphite electrodes*, *J. Electroanal. Chem.*, **210**, 95 (1986).
- 220- Perez, E.F., Oliveira-Neto, G., Tanaka, A., Kubota, L.T., *Electrochemical sensor for hydrazine based on silica modified with nickel tetrasulfonated phthalocyanine*, *Eletroanalysis*, **10**, 111 (1997).