



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

Desenvolvimento de mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD) e fotossensibilizadores à base de metaloporfirinas hidrossolúveis do tipo $[A_3B]^{3+}$ ou $[A_4]^{4+}$ (A = 2-N-alkilpiridínio; B = vanilina ou O-alkilvanilina)

José Ferreira Sarmiento Neto

João Pessoa – PB – Brasil

Novembro/2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

Desenvolvimento de mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD) e fotossensibilizadores à base de metaloporfirinas hidrossolúveis do tipo $[A_3B]^{3+}$ ou $[A_4]^{4+}$ (A = 2-N-alkilpiridínio; B = vanilina ou O-alkilvanilina)

José Ferreira Sarmiento Neto*

Tese de doutorado apresentada como um
dos requisitos para a obtenção do título
de Doutor em Química pela
Universidade Federal da Paraíba

Orientador: Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças

*** Bolsista CAPES**

João Pessoa – PB – Brasil

Novembro/2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S246d Sarmento Neto, José Ferreira.

Desenvolvimento de mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD) e fotossensibilizadores à base de metaloporfirinas hidrossolúveis do tipo [A3B]3+ ou [A4]4+ (A = 2-N-alkilpiridínio; B = vanilina ou O-alkilvanilina) / José Ferreira Sarmento Neto. - João Pessoa, 2021.

224 f. : il.

Orientação: Júlio Santos Rebouças.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

1. Química. 2. Mn-porfirinas. 3. Agentes terapêuticos redox-ativos. 4. Porfirinas do tipo A3B. 5. Zn-porfirinas. 6. Fotossensibilizadores para aPDI. I. Rebouças, Júlio Santos. II. Título.

UFPB/BC

CDU 54(043)

Elaborado por RUSTON SAMMEVILLE ALEXANDRE MARQUES DA SILVA -
CRB-15/0386

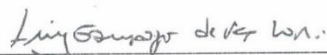
“Desenvolvimento de mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD) e fotossensibilizadores à base de metaloporfirinas hidrossolúveis do tipo $[A_3B]^{3+}$ ou $[A_4]^{4+}$ (A = 2-N-alkilpiridínio; B = vanilina ou O-alkilvanilina)”.

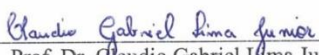
Tese de Doutorado apresentada pelo aluno José Ferreira Sarmiento Neto e aprovada pela banca examinadora em 09 de novembro de 2021.


Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças
Departamento de Química – CCEN/UFPB
Orientador/Presidente



Prof. Dra. Heloisa de Oliveira Beraldo
Departamento de Química – ICEx/UFGM
Examinadora


Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes
Departamento de Química – CC/UFC
Examinador


Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior
Departamento de Química – CCEN/UFPB
Examinador


Prof. Dra. Antonia Lúcia de Souza
Departamento de Química – CCEN/UFPB
Examinadora

Epígrafe

**“Quem combate monstruosidades deve cuidar
para que não se torne um monstro. Se você
olhar por muito para um abismo, o abismo
também olhará para dentro de você.”**

Friedrich Nietzsche

Agradecimentos

- Primeiramente, quero agradecer a todas as pessoas amigas e preciosas que estão presentes na minha vida.
- Aos meus pais Fátima e Francisco, à minha vó/mãe Auxiliadora e meu irmão Francisco Sá pelo amor incondicional. Aos meus outros familiares mais próximos, como meu tio Paulo. Também aos menos próximos.
- Ao meu orientador Júlio Santos Rebouças, por ser uma pessoa extremamente inteligente e competente. Obrigado pela paciência, confiança e atenção ao longo desses 11 anos de orientação: Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado.
- Às Profas. Dra. Adriana Fontes (UFPE), Dra. Beate S. Santos (UFPE), Dra. Regina C.B.Q. Figueiredo (IAM-Fiocruz/PE) e Dra. Martha S. Ribeiro (IPEN-CNEN/SP). À Sueden, Tiago, Camila, Bruna, Bruno, e Paulo Cabral.
- À amizade de Caline, Márcio, Lucas e Renan. À amizade fraterna dentro do grupo das porfirinas, em ordem randomizada: Jacqueline/Clarissa/Victor Hugo. À dona Margarida.
- Aos meus amigos que conheci na UFPB, em ordem randomizada: Iran, Israel, Gilvan, Paulo, Jandeílson, André, Taíza, Anna Paula, Nathália, Geórgia, Flávio, Luiz André, Julianne, Laércia, Fernando, Dariston, Kátia, Elaine, Joaldo, Cristiano, Gabi, Renato, Max, Thyago, João Maurício, Isaque, Barbara, Larissa, Igor, Caio, Yolanda, Katharinne, Karol, Carol, Amauri, João Marcos, Heberton, Handerson, Annaíres, Welisson, Evandro, pela amizade, conselhos, conversas e principalmente pelos momentos de descontração compartilhados.
- Agradeço pela vida ter me trazido pessoas ímpares: Hanna, Juliana, Anderson, Rayna, Adrielly, Tamara, Carolina, Bia. E a muitas outras que não mantenho contato constantemente, mas cultivo carinho.
- Aos meus amigos provindos no grupo da CAPES, em ordem randomizada: Diego, Muriel, Patrícia, Viviane, Cesar Hoffmann, Ítalo, Jéssica, Márcio.
- Aos professores Cláudio Gabriel, Wagner Faustino, Ercules Teotonio, Heloísa Beraldo, Luiz Gonzaga, Christiane Borges e Dayse Moreira pela disponibilidade e contribuições na avaliação das bancas de qualificação e defesa de doutorado.
- Aos técnicos da Central Analítica-UFPB e UFMG, pela aquisição dos espectros de RMN de ^1H .

- À Legião Urbana, System of a Down, Alice in Chains, Pink Floyd, Arch Enemy, Judas Priest, Led Zeppelin, Paralamas do Sucesso, Titãs e muitas outras bandas e artistas, pela inspiração em momentos complicados.
- À Rede de Cooperação Acadêmica em Porfirinas Aplicadas a Problemas Químicos, Biológicos, Medicinais e Ambientais (REPORFIRINA).
- Ao PPGQ-UFPB, à PRPG-UFPB, ao CNPq, à FINEP e à CAPES pelo apoio, tanto financeiro quanto de infraestrutura, concedido para a execução dos estudos.
- À CAPES pela bolsa concedida.
- E a todos que direta ou indiretamente contribuíram alguma forma para a concretização deste trabalho, que acabei esqueci pela correria de entrega deste trabalho.

SUMÁRIO

Resumo	vii
Abstract	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xxiii
1 Introdução Geral	1
1.1 Objetivos Gerais	3
1.2 Aspectos gerais de porfirinas e metaloporfirinas de Mn(III) e Zn(II)	4
1.2.1 <i>Propriedades estruturais e espectroscópicas das porfirinas e metaloporfirinas</i>	4
1.2.2 <i>Síntese de porfirinas meso-substituídas</i>	6
1.2.3 <i>Síntese de metaloporfirinas de Mn(III) e Zn(II) meso-substituídas</i>	9
1.3 Apresentação da Tese	12
2 Mn(III)-porfirinas derivadas do sistema $[A_3B]^{3+}$ (A = 2-N-metilpiridínio; B = vanilina ou O-aquilvanilina) como agentes terapêuticos redox ativos em potencial	13
2.1 Introdução	13
2.1.1 <i>Estresse oxidativo e Mn-porfirinas como agentes terapêuticos redox ativos</i>	13
2.1.2 <i>Modelo da Ataxia-Telangiectasia</i>	20
2.1.3 <i>Desenho de uma nova classe de porfirinas</i>	22
2.1.4 <i>Desenvolvimento das rotas de síntese das porfirinas do tipo A_3B</i>	25
2.2. Objetivos	26
2.2.1 <i>Objetivo geral</i>	26

2.2.2 Objetivos específicos	27
2.3. Parte experimental	28
2.3.1 Reagentes, solventes e adsorventes	28
2.3.1.1. Tosilatos de alquila e O-alquilvanilina	29
2.3.2. Análises e Equipamentos	30
2.3.2.1 Cromatografia de camada delgada (CCD)	30
2.3.2.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis	31
2.3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H	31
2.3.2.4 Voltametria Cíclica	31
2.3.3 Obtenção das porfirinas neutras do tipo A_3B ($\text{A} = 2\text{-piridil}$ e $\text{B} = \text{vanilina}$ ou O-alquilvanilina)	31
2.3.4 Obtenção das porfirinas catiônicas	37
2.3.5 Obtenção das porfirinas de Mn(III)	39
2.3.5.1 Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) ($\text{MnVanTriM-2-PyPCL}_4$)	39
2.3.5.2 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) ($\text{MnMVanTriM-2-PyPCL}_4$)	40
2.3.5.3 Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-n-propoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) ($\text{MnnPrVanTriM-2-PyPCL}_4$)	43
2.3.5.4 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hexiloxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) ($\text{MnnHexVanTriM-2-PyPCL}_4$)	44
2.3.6 Estudos iniciais da acidez das porfirinas catiônicas do tipo $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$	46
2.3.7 Determinação da atividade SOD das MnPs usando o método do citocromo c	46
2.4 Resultados e Discussão	47

2.4.1. Obtenção das porfirinas neutras do tipo A_3B ($A = 2$ -piridil, $B =$ vanilina ou O -alquilvanilina)	47
2.4.1.1 Síntese e purificação inicial das porfirinas do tipo A_3B : Obtenção da “porfirina bruta”	47
2.4.1.2 Eliminação seletiva de parte das impurezas das amostras de “porfirina bruta”	53
2.4.1.3 Cromatografia em coluna de sílica-gel	54
2.4.1.4 Caracterizações das porfirinas neutras do tipo A_3B	58
2.4.2 Porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$	64
2.4.2.1 Síntese das porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$	64
2.4.2.2 Caracterizações das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$	67
2.4.2.3 Estudos iniciais da acidez das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$	74
2.4.3 Obtenção dos Complexos de $Mn(III)$ do tipo $[MnA_3B]^{4+}$	77
2.4.3.1 Rota 1	78
2.4.3.2 Rota 2	80
2.4.3.3 Potenciais de redução $Mn(III)/Mn(II)$ da $MnVanTriM-2-PyP^{4+}$ e $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$	83
2.4.3.4 Atividade SOD da $MnVanTriM-2-PyP^{4+}$ e $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$	83
2.4.3.5 Estimativa da lipofilia das $MnPs$ do tipo $[MnA_3B]^{4+}$	85
2.5 Conclusões	87
3 Zn(II)-porfirinas catiônicas do tipo $[ZnA_4]^{4+}$ e $[ZnA_3B]^{3+}$ ($A = 2$-N-alquilpiridínio; $B = O$-metilvanilina) como candidatas a fotossensibilizadores para inativação fotodinâmica de Leishmanias	88
3.1 Introdução	88

3.1.1 Inativação fotodinâmica antimicrobiana (aPDI, do inglês “antimicrobial photodynamic inactivation”)	88
3.1.2 Processos fotodinâmicos mediados pelo fotossensibilizador	90
3.1.3 Fotossensibilizadores à base de porfirinas	92
3.1.4 Fotossensibilizadores à base de Zn(II)-porfirinas	95
3.1.4.1 Zn(II) N-alkilpiridínioporfirinas em aPDI de bactérias e fungos	99
3.1.4.2 Zn(II)-porfirinas na aPDI de <i>Leshmania</i>	102
3.1.4.3 Sistemas do tipo ZnA_3B e $[ZnA_3B]^{3+}$ em aPDI	104
3.1.5 Síntese de Zn(II)-porfirinas hidrossolúveis e estabilidade frente à solvólise	105
3.2 Objetivos	111
3.2.1. Objetivo geral	111
3.2.2 Objetivos específicos	111
3.3 Metodologia	111
3.3.1 Reagentes, solventes e adsorventes	111
3.3.2 Equipamentos	113
3.3.3 Síntese das Zn(II) N-alkilpiridínioporfirinas do tipo $[ZnA_4]^{4+}$	113
3.3.3.1 Síntese da cloreto de meso-tetraquis(N-etilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnTE-2-PyPCL ₄)	113
3.3.3.2 Síntese da cloreto de meso-tetraquis(N-n-Hexilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnTnHex-2-PyPCL ₄)	115
3.3.4 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnMVanTriM-2-PyPCL ₃)	115
3.3.5 Estabilidade da ZnTE-2-PyP ⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP ⁴⁺ frente à solvólise	116

3.3.6 Estudos exploratórios de <i>aPDI</i> de <i>Leshmania</i> usando <i>ZnTE-2-PyP⁴⁺</i> e <i>ZnTnHex-2-PyP⁴⁺</i> como fotossensibilizadores	117
3.4 Resultados e Discussão	119
3.4.1 Síntese da <i>ZnTE-2-PyP⁴⁺</i> e <i>ZnTnHex-2-PyP⁴⁺</i>	119
3.4.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (<i>ZnMVanTriM-2-PyPCL₃</i>)	124
3.4.3 Estudos de estabilidade dos fotossensibilizadores <i>ZnTE-2-PyP⁴⁺</i> e <i>ZnTnHex-2-PyP⁴⁺</i> frente à solvólise	128
3.4.4 Estudos exploratórios de <i>aPDI</i> de <i>Leshmania</i> usando <i>ZnTE-2-PyP⁴⁺</i> e <i>ZnTnHex-2-PyP⁴⁺</i> como fotossensibilizadores	131
3.5 Conclusões	133
4 Considerações Finais e Perspectivas	135
4.1 Conclusões gerais	135
4.2 Perspectivas	138
5 Referências	140
6 Apêndices	164
Apêndice A – Caracterizações das porfirinas do tipo <i>A₃B</i>	164
A.1 Espectros eletrônicos UV-vis comparativos das porfirinas do tipo <i>A₃B</i>	164
A.2 - RMN de ¹ H das porfirinas neutras do tipo <i>A₃B</i>	167
Apêndice B - Caracterizações das porfirinas do tipo [<i>A₃B</i>]³⁺	180
B.1 Espectros eletrônicos UV-vis das porfirinas catiônicas do tipo [<i>A₃B</i>] ³⁺	180
B.2 RMN de ¹ H das porfirinas catiônicas do tipo [<i>A₃B</i>] ³⁺	181
B.3 Estudos iniciais da acidez das porfirinas catiônicas do tipo [<i>A₃B</i>] ³⁺	184
B.4 Curvas de TGA/DSC das porfirinas catiônicas do tipo [<i>A₃B</i>] ³⁺	187
Apêndice C - Caracterizações das Mn-porfirinas do tipo [<i>MnA₃B</i>]⁴⁺	189

C.1 Espectros eletrônicos UV-vis comparativos das Mn-porfirinas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$	189
C.2 Voltametria Cíclica das Mn-porfirinas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$	191
C.3 Dados da atividade SOD da MnVanTriM-2-PyP ⁴⁺ e MnMVanTri-2-PyP ⁴⁺	192
Apêndice D – Produção científica	195
D.1 Artigos completos publicados em periódicos	195
D.2 Inovação – Patentes	195
D.3 Premiação em evento internacional	196

RESUMO

As Mn(III)- e Zn(II)-porfirinas (MnPs e ZnPs) hidrossolúveis derivadas das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, Mn**Talquil**-2-PyP⁵⁺ e Zn**Talquil**-2-PyP⁴⁺, têm sido amplamente exploradas como agentes terapêuticos redox-ativos ou fotossensibilizadores (FSs), respectivamente. A eficiência *in vivo* das Mn-porfirinas está relacionada não apenas às atividades redox (como mímico de superóxido dismutase, SOD, ou catalisador de decomposição de peroxinitrito, entre outros), mas também à lipofilia, biodisponibilidade e toxicidade. Baseando-se na relação estrutura-atividade das Mn**Talquil**-2-PyP⁵⁺, planejou-se o desenho e a síntese de uma nova classe de porfirinas do tipo A₃B (A = 2-piridil, B = vanilina ou *O*-alquilvanilina, onde alquil = **Me**, **nPr**, **nBu**, **iBu**, **nHex**, **nNon**, **2-cicloexiletil**), a metilação destes compostos para obtenção de porfirinas catiônicas do tipo [A₃B]³⁺ (H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂**RVan**TriM-2-PyP³⁺; **R** = **Me**, **nBu**, **nHex**) e a preparação das MnPs do tipo [MnA₃B]⁴⁺ (MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e Mn**RVan**TriM-2-PyP⁴⁺; **R** = **Me**, **nPr**, **nHex**), sendo descritos 18 compostos inéditos. Os fatores de retenção cromatográficos (R_f) destes compostos aumentaram linearmente com o número de carbonos do grupo alquil **RVan**, sugerindo que a lipofilia siga tendência semelhante. O potencial de redução Mn(III)/Mn(II) (E_{1/2}) e a atividade SOD (log k_{cat}) dos protótipos MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e Mn**MVan**TriM-2-PyP⁴⁺ (E_{1/2} ~ 110 mV vs NHE; log k_{cat} ~ 6,25) foram inferiores à MnP análoga do tipo [MnA₄]⁵⁺, Mn**TM**-2-PyP⁵⁺ (E_{1/2} = 220 mV vs NHE; log k_{cat} = 7,79), sendo consistentes com o desenho estrutural resultante da substituição de um grupo eletrorretirador 2-*N*-metilpiridínio por um grupo eletrodoador vanilina ou *O*-metilvanilina e consequente redução da facilitação eletroestática, associada à redução da carga global dos complexos [MnA₃B]⁴⁺. Dados cromatográficos indicam que a lipofilia dos compostos [MnA₃B]⁴⁺ é consideravelmente maior que aquela do análogo Mn**Talquil**-2-PyP⁵⁺. Estas características de atividade e lipofilia são reminiscentes daquelas dos sistemas à base de 3-*N*-piridilporfirinas, o que faz destes compostos [MnA₃B]⁴⁺ promissores candidatos a agentes terapêuticos redox-ativos. Adicionalmente, estenderam-se os estudos para os sistemas de ZnPs de interesse para o desenvolvimento de candidatos a FSs para inativação fotodinâmica antimicrobiana (aPDI). A síntese das Zn**Talquil**-2-PyP⁴⁺ (**alquil** = **Et**, **nHex**) foi revisitada e a estabilidade destas ZnPs frente à solvólise em ácidos e fluidos biológicos simulados foi avaliada. A ordem de estabilidade Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ > Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ refletiu o efeito estérico da cadeia *N*-alquila sobre a solvólise ácida e, em ambos os casos, observou-se enorme dependência da estabilidade à natureza dos contra-íons do ácido: fosfatos >> nitrato > cloreto. A ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺ Zn**MVan**TriM-2-PyP³⁺ foi obtida e parcialmente caracterizada. Dados cromatográficos sugeriram que esta ZnP pode ter lipofilia semelhante ao FS potente, biodisponível do tipo [ZnA₄]⁴⁺ *meso*-tetraquis(*N*-*n*-butilpiridínio-2-il)porfirinatozínco(II) (Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺). A Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ e a Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ mostraram-se excelentes FSs em aPDI dos parasitas do gênero *Leshmania* em ambas formas promastigotas e amastigotas. A maior atividade da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ foi associada à sua maior lipofilia.

Palavras-chave: Mn-porfirinas, Agentes Terapêuticos Redox-Ativos, porfirinas do tipo A₃B, Zn-porfirinas, fotossensibilizadores para aPDI

ABSTRACT

Water-soluble Mn(III)-porphyrins and Zn(II)-porphyrins (MnPs ou ZnPs) derived from 2-*N*-alkylpyridiniumporphyrins, **MnTalkyl-2-PyP⁵⁺** or **ZnTalkyl-2-PyP⁴⁺**, have been widely explored as redox-active therapeutics or photosensitizers (PSs). The *in vivo* efficiency of these Mn(III)-porphyrins is related not only to their redox activities (such as superoxide dismutase mimics, or peroxynitrite scavengers) but also their lipophilicity, bioavailability, and toxicity. Based on the structure-activity relationships described for **MnTalkyl-2-PyP⁵⁺**, the design and synthesis of a new class of A₃B-type porphyrins (A = 2-pyridyl, B = vanillin or *O*-alkylvanillin, where alkyl = **Me**, ***n*Pr**, ***n*Bu**, ***i*Bu**, ***n*Hex**, ***n*Non**, **2-cyclohexylethyl**), the methylation of these compounds to yield [A₃B]³⁺-type cationic porphyrins (H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂**RVanTriM-2-PyP³⁺**; **R** = **Me**, ***n*Bu**, ***n*Hex**) and the preparation of [MnA₃B]⁴⁺-type MnPs (MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e Mn**RVanTriM-2-PyP⁴⁺**; **R** = **Me**, ***n*Pr**, ***n*Hex**) were carried out, resulting in 18 new compounds. The chromatographic retention factors (R_f) of these compounds increased linearly with number of carbons in the **RVan** alkyl group, suggesting that lipophilicity follows a similar trend. The Mn(III)/Mn(II) reduction potential (E_{1/2}) and the SOD activity (log k_{cat}) of the prototypes MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ and Mn**MVanTriM-2-PyP⁴⁺** (E_{1/2} ~ 110 mV vs NHE; log k_{cat} ~ 6.25) were smaller than those of the [MnA₄]⁵⁺-type MnP analogue Mn**TM-2-PyP⁵⁺** (E_{1/2} = 220 mV vs NHE; log k_{cat} = 7.79), being consistent with the structural design resulting from the substitution of an electron-withdrawing group (2-*N*-methylpyridinium) for an electron-donor group (vanillin or *O*-methylvanillin), and consequent reduction in electrostatic facilitation, associated with a reduction in the overall charge of these [MnA₃B]⁴⁺ complexes. Chromatographic data indicated that the lipophilicity of the [MnA₃B]⁴⁺ compounds is remarkably higher than **MnTalkyl-2-PyP⁵⁺** analogues. These activities and lipophilicity properties are reminiscent of those of 3-*N*-pyridylporphyrin-based systems, making these [MnA₃B]⁴⁺ compounds promising candidates for the development of redox-active therapeutics. Additionally, these studies were extended to ZnP systems of interest for the development of PS candidates for antimicrobial photodynamic inactivation (aPDI). The **ZnTalkyl-2-PyP⁴⁺** (**alkyl** = **Et**, ***n*Hex**) syntheses were revisited and the stability of these ZnPs against solvolysis in acids and simulated biological fluids was evaluated. The stability order, **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺** > **ZnTE-2-PyP⁴⁺**, reflected the steric hindrance effect of *N*-alkyl chain toward acid solvolysis and, in both cases, a significant acid-counterion-dependence was observed for ZnP stability: phosphates >> nitrate > chloride. The [ZnA₃B]⁴⁺-type ZnP **ZnMVanTriM-2-PyP³⁺** was obtained and partially characterized. Chromatographic data for **ZnMVanTriM-2-PyP³⁺** suggested that this ZnP may have similar lipophilicity to the potent, bioavailable [ZnA₄]⁴⁺ PS *meso*-tetrakis(*N*-*n*-butylpyridinium-2-yl)porphyrinatezinc(II) (**ZnTnBu-2-PyP⁴⁺**). **ZnTE-2-PyP⁴⁺** and **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺** showed excellent photosensitizing properties in aPDI of both promastigote and amastigote forms of *Leishmania* genus parasites. The higher PS activity of **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺** was associated to its higher lipophilicity.

Keywords: Mn porphyrins, Redox-active therapeutics, A₃B-type porphyrins, Zn porphyrins, aPDI photosensitizers

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

H ₂ P	Porfirina base-livre
MnP _s	Mn-porfirinas ou Mn(III)-porfirinas
ZnP _s	Zn-porfirinas ou Zn(III)-porfirinas
2-Py	2-Piridila
Van	Vanilina
MVan	Metilvanilina/veratradeído
M	metila
<i>n</i>PrVan	<i>O-n</i> -propilvanilina
<i>i</i>BuVan	<i>O-iso</i> -butilvanilina
<i>n</i>BuVan	<i>O-n</i> -butilvanilina
<i>n</i>HexVan	<i>O-n</i> -hexilavanilina
CyEVan	<i>O</i> -cicloexiletilvanilina
<i>n</i>NonVan	<i>O-n</i> -nonilavanilina
SiO ₂	Sílica gel/óxido de silício
Al ₂ O ₃	Alumina/óxido de alumínio
CCD-SiO ₂	Cromatografia de camada delgada em sílica gel
CCD-Al ₂ O ₃	Cromatografia de camada delgada em alumina
MeOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de metila (ou tosilato de metila)
EtOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de etila (ou tosilato de etila)
<i>n</i>PrOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de <i>n</i> -propila (ou tosilato de <i>n</i> -propila)
<i>n</i>BuOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de <i>n</i> -butila (ou tosilato de <i>n</i> -butila)
<i>i</i>BuOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de <i>iso</i> -butila (ou tosilato de <i>iso</i> -butila)
<i>n</i>HexOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de <i>n</i> -hexila (ou tosilato de <i>n</i> -hexila)
CyEOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de 2-cicloexiletila (ou tosilato de 2-cicloexiletila)
<i>n</i>NonOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de <i>n</i> -nonila (ou tosilato de <i>n</i> -nonila)
MeCN	Acetonitrila
CHCl ₃	Clorofórmio
AcOEt	Acetato de etila
MeOH	Metanol
<i>i</i> -PrOH	<i>iso</i> -propanol
SOD	Superóxido dismutase
UV-vis	Ultravioleta-Visível
H ₂ T-2-PyP	<i>meso</i> -tetraquis(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
H ₂ Ph Tri-2-PyP	5-fenil-10,15,20-tris(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
H ₂ Py Tri-2-PyP	5-(2-piridil)-10,15,20-tris(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
H ₂ VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ MV anTri-2-PyP	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ <i>n</i>Pr VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -propoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ <i>n</i>Bu VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -butoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ <i>i</i>Bu VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4- <i>i</i> -butoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ <i>n</i>Hex VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -hexiloxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ <i>n</i>Non VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -noniloxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ TM -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirina

H ₂ TnHex -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-2-il)porfirina
H ₂ TM -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirina
H ₂ TM -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirina
H ₂ THOE -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(4- <i>N</i> -(2-oxietil)piridínio)porfirina
H ₂ TAlI -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(4- <i>N</i> -alilapiridínio-4-il)porfirina
H ₂ TTriMAPP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N,N,N</i> -trimetilaniônio-4-il)porfirina
H ₂ TPP	<i>meso</i> -tetraquisfenilporfirina
H ₂ TPPS ₄ ⁴⁻	<i>meso</i> -tetraquis(4-sulfonatofenil)porfirina
H ₂ TBAP ⁴⁻	<i>meso</i> -tetraquis(4-benzoato)porfirina
H ₂ PhTriM -2-PyP ³⁺	5-fenil-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirina
H ₂ PyTriM -2-PyP ³⁺	5-(2-piridil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirina
H ₂ VanTriM -2-PyP ³⁺	5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirina
H ₂ MVanTri -2-PyP ³⁺	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirina
H ₂ nBuVanTriM -2-PyP ³⁺	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -butoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirina
H ₂ nHexVanTriM -2-PyP ³⁺	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -hexiloxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirina
H ₂ PFPPhTriM -4-PyP ³⁺	5-(pentafluorofenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirina
H ₂ DiPhDiM -3-PyP ²⁺	5,10-difenil-15,20-di(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirina
H ₂ DiPhDiM -4-PyP ²⁺	5,10-difenil-15,20-di(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirina
Mn TM -2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TE -2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TnPr -2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -propilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TnHex -2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TnBuOE -2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -butoxietilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn PyTriM -2-PyP ⁴⁺	5-(2-piridil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn VanTriM -2-PyP ⁴⁺	5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn MVanTri -2-PyP ⁴⁺	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn nPrVanTriM -2-PyP ⁴⁺	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -propoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn nHexVanTriM -2-PyP ⁴⁺	5-(3-metoxi-4- <i>n</i> -hexiloxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TM -3-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TE -3-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-3-il)porfirinatomanganês(III)
Mn TnHex -3-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-3-il)porfirinatomanganês(III)
Zn TM -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TE -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnBu -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnOct -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -octilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn MVanTri -2-PyP ⁴⁺	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TM -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TE -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnBu -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnHex -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnOct -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -octilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnBu -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirinatozinco(II)
Zn TAlI -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -alilapiridínio-4-il)porfirinatozinco(II)
Zn TetOAc -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(4- <i>N</i> -(3-etoxi-2-acetil)piridínio)porfirinatozinco(II)

ZnTHOE-4-PyP⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(4- <i>N</i> -(2-oxietil)piridínio)porfirinatozinco(II)
ZnT4EtPP	<i>meso</i> -tetraquis(4-etilfenil)porfirinatozinco(II)
ZnTBAP⁴⁻	<i>meso</i> -tetraquis(4-benzoato)porfirinatozinco(II)
SnTBAP²⁻	<i>meso</i> -tetraquis(4-benzoato)porfirinatoestanho(IV)
ZnT-2-ThP	<i>meso</i> -tetraquis(2-tienila)porfirinatozinco(II)
ZnM4HPTri-2-ThP	5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-tienila)porfirinatozinco(II)
ZnM4BATri-2-ThP	5-(4-carboxifenil)-10,15,20-tris(2-tienila)porfirinatozinco(II)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1** - Representação das estruturas de Mn(III)- e Zn(II)-porfirinas *meso*-substituídas da classe das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas_____1
- Figura 1.2** – Representação de porfirinas *meso*-substituídas do tipo [A₄] e seus respectivos complexos de Mn(III) ([MnA₄]⁺) e Zn(II) ([ZnA₄]) (à esquerda), e porfirinas do tipo [A₃B] e complexos de Mn(III) ([MnA₃B]⁺) e Zn(II) ([ZnA₃B]) (à direita)._____3
- Figura 1.3** - Novos complexos porfirínicos do tipo [A₃B]³⁺: [MnA₃B]⁴⁺ e [ZnA₃B]³⁺ de interesse para este trabalho; R = grupos alquila._____4
- Figura 1.4** - Representação do núcleo central estrutural de uma porfirina (esquerda) e uma metaloporfirina (direita), sendo indicadas as posições *meso* e β -pirrólicas do anel porfirínico. Nas Mn(III)-porfirinas, M = M(III), enquanto nas Zn(II)-porfirinas, M = Zn(II)._____4
- Figura 1.5** - Espectros de absorção eletrônica típicos de (A) uma porfirina de base livre representativa e (B) duas metaloporfirinas representativas de Zn(II) (vermelho) ou Mn(III) (azul)._____5
- Figura 1.6** – Representação da síntese de porfirinas pelo Método de Alder-Longo: refluxo de ácido acético ou propiônico por 1 hora (onde R = grupos alquila ou arila). Na modificação introduzida por Gonsalves o solvente é uma mistura de ácido acético:nitrobenzeno na proporção (7:3, v/v)._____7
- Figura 1.7** - Produtos que podem ser formados através da condensação de pirrol e uma mistura de dois aldeídos A e B. A distribuição dos produtos depende da natureza/reactividade dos aldeídos A e B, das relações estequiométricas e condições gerais de reação._____8
- Figura 1.8** – Representação das duas principais etapas na síntese de porfirinas pelo Método de Lindsey: condensação de aldeído e pirrol a porfirinogênio (1ª etapa) e oxidação subsequente à porfirina (2ª etapa)._____8
- Figura 1.9** - Esquema da obtenção das 2-*N*-alquilpiridínioporfirina de Mn(III) (MnTR-2-PyP⁵⁺) e de Zn(II) (ZnTR-2-PyP⁴⁺). R: grupos alquila; a) Mn(OAc)₂ em refluxo de CHCl₃/MeOH ou b) MnSO₄ em solução aquosa de H₂SO₄._____11

Figura 2.1 – Representação simplificada da dismutação de superóxido catalisada pelas enzimas SOD (à esquerda) e por Mn-porfirinas (à direita).	14
Figura 2.2 - Mn-porfirinas que têm se destacado como mímicos de enzimas SOD. À esquerda, os isômeros Mn Talquil -2-PyP ⁵⁺ e, à direita, os isômeros Mn Talquil -3-PyP ⁵⁺ .	15
Figura 2.3 – Representação do efeito eletrostático do complexo de Mn sobre a dismutação do íon superóxido: (a) Atração eletrostática ao ânion superóxido exercida por Mn-porfirinas catiônicas; (b) Repulsão eletrostática exercida por Mn-porfirinas aniônicas.	17
Figura 2.4 - Compostos presentes na mistura comercial vendida como “Mn TM -2-PyPCL ₅ ” e testada no modelo celular experimental de Ataxia-Telangiectasia (REBOUÇAS <i>et al.</i> , 2008; POLLARD <i>et al.</i> , 2009), onde A = grupo 2- <i>N</i> -metilpiridínio e B = grupo 2-piridil.	21
Figura 2.5 – Proposta inicial da obtenção de uma Mn-porfirina parcialmente alquilada através de uma síntese sequencial cujo reagente inicial seria a H ₂ T-2-PyP e o produto final a Mn PyTriM -2-PyP ⁴⁺ .	22
Figura 2.6 – Segunda proposta de síntese de uma porfirina do tipo A ₃ B para derivatização, complexação e futuros testes biológicos em modelos SOD.	23
Figura 2.7 – Desenho dos precursores de uma nova classe de porfirinas que pode ser testada como mímico SOD.	24
Figura 2.8 – Comparativo entre as Mn(III) 2- <i>N</i> -alquilpiridínioporfirinas do tipo [MnA ₄] ⁵⁺ (Mn TR -2-PyP ⁵⁺) e as Mn-porfirinas tetracatiônicas do tipo [MnA ₃ B] ⁴⁺ (Mn RVanTriM -2-PyP ⁴⁺). A classe das Mn TR -2-PyP ⁵⁺ possuem excelente atividade SOD, mas o controle de cargas/lipofilia não pode ser feito de maneira independente (seta preta). A nova classe Mn RVanTriM -2-PyP ⁴⁺ deve ser inferior cataliticamente, mas a lipofilia (seta vermelha) pode ser controlada de maneira independente das cargas (seta verde).	25
Figura 2.9 – Porfirinas e Mn-porfirinas do tipo [MnA ₃ B] ⁴⁺ desenvolvidas no mestrado (SARMENTO-NETO, 2016).	26

Figura 2.10 - Moléculas-alvo baseadas em uma nova classe de MnPs contendo os grupos 2-piridinacarboxaldeído e RO-vanilina. Substituintes alquilas (R) dos grupos O-alkilvanilinas são apresentados em destaque nos círculos.	27
Figura 2.11 - Esquema de síntese da porfirina $H_2RVanTri-2-PyP$ a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e a respectiva R -vanilina.	32
Figura 2.12 – Esquema de <i>N</i> -metilação das porfirinas neutras $H_2RVanTri-2-PyP$ com tosilato de metila e obtenção das porfirinas catiônicas $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ (R = H , Me , nBut , nHex).	37
Figura 2.13 - Esquema de síntese da Mn-porfirina catiônica $MnVanTriM-2-PyP^{3+}$.	40
Figura 2.14 - Síntese da Mn-porfirina catiônica $MnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ pela Rota 1. Rota 1A: metalação com $MnCl_2$ em $NaOH(aq)$ pH 12,5. Rota 1B: metalação com $Mn(OAc)_2$ em refluxo de EtOH.	41
Figura 2.15 - Esquema de síntese da Mn-porfirina tetracatiônica $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$ pela Rota 2.	42
Figura 2.16 - Esquema de síntese da Mn-porfirina tetracatiônica $MnnPrVanTriM-2-PyP^{4+}$ pela Rota 2.	43
Figura 2.17 - Esquema geral de síntese da Mn-porfirina catiônica $MnnHexVanTriM-2-PyP^{3+}$ pela Rota 1A.	44
Figura 2.18 - Esquema de síntese da Mn-porfirina tetracatiônica $MnnHexVanTriM-2-PyP^{4+}$ pela Rota 2.	45
Figura 2.19 - Produtos possíveis de serem obtidos a partir da condensação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e R-vanilina. Em destaque, a porfirina A_3B de interesse com fórmula geral $H_2RVanTri-2-PyP$.	48
Figura 2.20 – Espectro UV-vis de alíquota do meio de reação da síntese da $H_2VanTri-2-PyP$. Espectro registrado em $CHCl_3$ contendo 2 gotas de trietilamina para neutralizar o AcOH proveniente do solvente da reação.	50
Figura 2.21 - Comportamento ácido-base das $H_2RVanTri-2-PyP$, também pode ser aplicável a outras porfirinas bases-livres neste trabalho.	51

- Figura 2.22** – Esquema geral da purificação das porfirinas do tipo A₃B deste trabalho. _____52
- Figura 2.23** – Espectros de absorção no UV-vis registrados em acetona da H₂T-2-PyP (linha azul) e H₂VanTri-2PyP (pontilhado vermelho). A ampliação corresponde à região das bandas Q. _____58
- Figura 2.24** – Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz) da H₂**nPr**VanTri-2-PyP em *d*⁶-DMSO na região de 7,3-9,5 ppm, correspondente aos hidrogênios aromáticos. ____61
- Figura 2.25** – Espectro RMN de ¹H (400 MHz) em *d*⁶-DMSO da H₂**nPr**VanTri-2-PyP na região próxima ao TMS, registrado com supressão do sinal de água residual. _____62
- Figura 2.26** – Gráfico da correlação entre Fator de retenção cromatográfico (R_f) em CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1, v/v) e número de carbonos (nC) ligados ao grupo R-vanilina das porfirinas do tipo A₃B H₂**R**VanTri-2-PyP. Os pontos correspondentes às cadeias não-ramificadas (R = **Me**, **nPr**, **nHex**, **nNon**) estão em azul, enquanto os compostos com cadeias ramificada (**iBu**) ou cíclica (**CyE**) estão indicadas com triângulos em vermelho. _____63
- Figura 2.27** – Esquema geral de obtenção das porfirinas catiônicas do tipo [A₃B]³⁺ via N-alquilação com tosilato de metila (**MeOTs**). _____64
- Figura 2.28** – Esquema de derivatização da H₂VanTri-2-PyP para obtenção das porfirinas catiônicas (a) H₂VanTriM-2-PyP³⁺ via N-metilação seletiva e (b) H₂**M**VanTriM-2-PyP³⁺ via N- e O-metilações simultâneas em meio básico. _____65
- Figura 2.29** – Representação esquemática da mistura de atropoisômeros das porfirinas catiônicas H₂**R**VanTriM-2-PyP³⁺ e seus análogos O-alquilados. As metilas dos 3 grupos 2-N-metilpiridínio (representado por “Me”) não possuem livre rotação e posicionam-se acima (α) ou abaixo (β) do plano do anel porfirínico. O grupo vanilina/O-alquilvanilina, por não conter substituinte *orto*, possui livre rotação e está representado apenas por um traço. _____66
- Figura 2.30** – Espectros UV-vis normalizados da H₂**nBu**VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂**nHex**VanTriM-2-PyP³⁺ registrados em H₂O. A expansão compreende à região das bandas Q. _____69

Figura 2.31 – Espectros UV-vis normalizados registrados em **a)** tampão fosfato pH 7,8 da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (pontilhado preto) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (linha verde), **b)** tampão borato pH 9,3 da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (pontilhado vermelho) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (linha cinza)._____70

Figura 2.32 - Espectro de RMN de 1H da $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$ (200 MHz; d^6 -DMSO) na região dos sinais aromáticos. β^* = β -pirrólicos das porfirinas; $2-Py^{3+}$ = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas; **b/b'** = posições 6 do 2-Py/2-Py $^{3+}$ das porfirinas; **nBuVan** = sinais arila do grupo *O-n*-butilvanilina._____71

Figura 2.33 – Espectro de RMN de 1H (200 MHz; d^6 -DMSO) das regiões correspondentes aos grupos alcóxila e hidrogênios internos (NH-pirrólicos; **a** *) da $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$. O grupo **Me** (em verde) correspondente aos metilas ligados ao grupo 2-metilpiridínio na mistura de atropoisômeros presentes nas porfirinas catiônicas. Os sinais **i** * , **j** * , **k** * , **l** * correspondem aos hidrogênios do alcano *n*-butila._____72

Figura 2.34 – Desprotonação da hidroxila fenólica ácida da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ através da ação da base OH^- ._____73

Figura 2.35 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em H_2O (linha verde), HCl 0,1 mol L $^{-1}$ e HCl 0,2 mol L $^{-1}$ (linha preta). A expansão correspondente à região das bandas Q._____75

Figura 2.36 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em HCl 0,3 mol L $^{-1}$ (linha azul), HCl 0,4 mol L $^{-1}$ (pontilhado vermelho), e HCl 0,5 mol L $^{-1}$ (linha vermelha) e HCl 0,6 mol L $^{-1}$ (linha vermelha). A expansão da esquerda corresponde à região da banda *Soret* e a expansão à direita à região das bandas Q._____75

Figura 2.37 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em HCl 0,7 mol L $^{-1}$ (linha azul), HCl 0,8 mol L $^{-1}$ (pontilhado vermelho), HCl 0,9 mol L $^{-1}$ (linha cinza) e HCl 1 mol L $^{-1}$ (pontilhado laranja). A expansão correspondente à região das bandas Q._____76

Figura 2.38 – Esquema geral de síntese da $MnVanTriM-2-PyP^{4+}$ pela Rota 1A, através da metalação da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ com $MnCl_2$ em meio aquoso básico aeróbio.____78

Figura 2.39 - Esquema geral de síntese da Mn MVan TriM-2-PyP ⁴⁺ pela rota 1B, através da metalação da H ₂ M Van TriM-2-PyP ³⁺ com Mn(AcO) ₂ .	79
Figura 2.40 – Espectro UV-Vis representativo da H ₂ M Van TriM-2-PyP ³⁺ (pontilhado preto) e Mn MVan TriM-2-PyP ⁴⁺ (linha verde) registrados em H ₂ O.	80
Figura 2.41 - Esquema de síntese das MnPs do tipo [MnA ₃ B] ⁴⁺ pela Rota 2. a) DMF a 105 °C para a Mn MVan TriM-2-PyP ⁴⁺ e Mnn PrVan TriM-2-PyP ⁴⁺ ou b) DMF a 70°C, K ₂ CO ₃ para a Mnn HexVan TriM-2-PyP ⁴⁺ .	81
Figura 3.1 – Adaptação do diagrama de Jablonski para um FS, com os mecanismos fotodinâmicos que podem ser desencadeados (Adaptado de BAYONA <i>et al.</i> , 2016).	90
Figura 3.2 - Porfirinas que se destacaram como FSs em PDT e aPDI.	94
Figura 3.3 - Diagramas do tipo Latimer representando os processos redox de estado fundamental e de estado excitado de Zn(II)-porfirinas hidrossolúveis catiônicas (Zn TM -4-PyP ⁴⁺) e aniônicas (Zn TPPS ₄ ⁴⁻) frequentemente usadas como fotossensibilizadores em aPDI. As cargas catiônicas (4+) e aniônicas (4-) associadas aos substituintes do anel porfirina foram omitidas para maior clareza. Todos os valores de potencial são vs. NHE (eletrodo normal de hidrogênio). As energias do estado singleto são 1,98 eV e 2,05 eV para Zn TM -4-PyP ⁴⁺ e Zn TPPS ₄ ⁴⁻ , respectivamente. Diagrama desenhado com base em dados relatados por Neumann-Spallart e Kalyanasundaram (NEUMANN-SPALLART; KALYANASUNDARAM, 1981; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982).	98
Figura 3.4 – Zn(II) <i>N</i> -alquilpiridínioporfirinas e derivados da tetrafenilporfirina envolvidas nos estudos de aPDI em bactérias, fungos e <i>Leshmania</i> .	101
Figura 3.5 – Porfirinas e Zn-porfirinas do tipo A ₃ B envolvidas nem estudos comparativos de aPDI.	104
Figura 3.6 - Representação geral do comportamento ácido-base dos nitrogênios internos das porfirinas.	106
Figura 3.7 - Esquema geral de síntese das Zn-porfirinas Zn TE -2-PyP ⁴⁺ e Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺ pela Rota Alternativa (VIANA <i>et al.</i> , 2015), revisitada neste trabalho.	113
Figura 3.8 - Esquema geral de síntese da Zn-porfirina catiônica Zn MVan TriM-2-PyP ³⁺ .	116

Figura 3.9 - Rotas para obtenção de 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Zn(II): a clássica (em vermelho) e a alternativa, realizada neste trabalho (em preto)._____120

Figura 3.10 - Espectros UV-vis normalizados da ZnTE-2-PyP⁴⁺ (linha vermelha) e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (pontilhado preto) registrados em H₂O. A expansão corresponde à região das bandas de menor energia._____123

Figura 3.11 – Estrutura da ZnTM-2-PyP⁴⁺, ZnP do tipo [ZnA₄]⁴⁺ que foi modelo estrutural para a ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺, a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺._____125

Figura 3.12 - Espectros UV-vis normalizados da porfina base-livre H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (pontilhado vermelho) e seu respectivo complexo ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (linha azul) registrados em H₂O. A expansão corresponde à região das bandas de menor energia._____126

Figura 3.13 - Viabilidade das formas promastigotas de *L. brasiliensis* após tratamento com a ZnTE-2-PyP⁴⁺ (barras laranjas) e 5 min de irradiação de luz (90 J cm⁻²). Grupos estatisticamente significantes (p <0,05) quando comparados ao controle (barra amarela), ao tratamento com luz (barra azul) e à ZnP no escuro na concentração correspondente (barras cinzas); ZnTE = ZnTE-2-PyP⁴⁺._____132

Figura 3.14 - Viabilidade das formas promastigotas de *L. amazonensis* após tratamento com a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺. Controle - células não tratadas; Luz 1 – Irradiação de 38,2 mW cm⁻² por 1 min (2,3 J cm⁻²); Luz 2 – irradiação de 19,1 mW cm⁻² durante 3 min (3,4 J cm⁻²); ZnP – ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ a 1,25 mmol L⁻¹; PDT A1 - ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ a 0,62 mmol L⁻¹; ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ + Luz 1; PDT A2 - ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ a 0,62 mmol L⁻¹ + Luz 2; PDT B1 - ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ a 1,25 mmol L⁻¹ + Luz 1; PDT B2 - ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ a 1,25 mmol L⁻¹ + Luz 2. Dados apresentados como média ± erro padrão. Grupos estatisticamente significativos (p <0,0001) quando comparados ao controle. Quatro experimentos independentes foram realizados em duplicata (n = 8); ZnTnHex = ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (Adaptado de SOUZA et al., 2021)._____133

Figura 4.1 – Esquema da O-alkilação do grupo vanilina da H₂VanTri-2-PyP para obtenção dos derivados H₂RVanTri-2-PyP (R= *n*Pr, *i*Bu, *n*Bu, *n*Hex, *n*Non, CyE)._138

Figura A.1.1 – Espectro UV-vis da H₂MVanTri-2PyP registrado em acetona. A expansão compreende as bandas Q._____164

Figura A.1.2 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nPrVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q. _____	164
Figura A.1.3 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nBuVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q. _____	165
Figura A.1.4 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2iBuVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q. A expansão corresponde às bandas Q. _____	165
Figura A.1.5 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nHexVanTri-2PyP$ registrado em $CHCl_3$. A expansão compreende às bandas Q. _____	166
Figura A.1.6 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nNonVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q. _____	166
Figura A.1.7 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2CyEVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q. _____	167
Figura A.2.1 – Espectro de RMN de 1H 500 MHz em d^6 -DMSO da $H_2VanTri-2-PyP$, com destaque para os hidrogênios NH-pirrólicos a , OH da vanilina e do grupo $m-OCH_3$ z da vanilina. As atribuições da região dos hidrogênios aromáticos serão detalhadas na Fig.A.2.2 . _____	168
Figura A.2.2 - Espectro RMN de 1H das regiões correspondentes aos átomos de hidrogênio do grupo fenil e 2-piridil da $H_2VanTri-2-PyP$. _____	169
Figura A.2.3 - Espectro de RMN de 1H de 200 MHz da $H_2MVanTri-2-PyP$ registrado em d^6 -DMSO da região dos hidrogênios aromáticos: β -pirrólicos (preto), piridilas (verde), metilvanilina (azul). _____	170
Figura A.2.4 - Espectro de RMN de 1H de 200 MHz da $H_2MVanTri-2-PyP$ registrado em d^6 -DMSO da região dos hidrogênios alcóxila, perto do sinal do TMS. _____	171
Figura A.2.5 – Espectro de RMN de 1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $H_2nPrVanTri-2-PyP$. Destaque para as atribuições dos hidrogênios NH internos a , $m-OCH_3$ z e do grupo $p-OCH_2$ i . As regiões expandidas compreendem aos deslocamentos dos hidrogênios aromáticos dos grupos <i>O-n</i> -propilvanilina, 2-piridila e β -pirrólicos e os hidrogênios $p-OCH_2CH_2$ (i) e $p-OCH_2CH_2CH_3$ (k). _____	172

Figura A.2.6 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) da $\text{H}_2\text{nBuVanTri-2-PyP}$ registrado em CDCl_3 na região dos hidrogênios aromáticos.	173
Figura A.2.7 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em CDCl_3 da $\text{H}_2\text{nBuVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS.	174
Figura A.2.8 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) da $\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$ registrado em CDCl_3 na região dos hidrogênios aromáticos.	175
Figura A.2.9 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em CDCl_3 da $\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS.	176
Figura A.2.10 – Espectro RMN de ^1H de 400 MHz da $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ registrado em d^6 -DMSO na região dos hidrogênios aromáticos.	177
Figura A.2.11 – Espectro RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS, registrado com supressão do sinal de água residual.	178
Figura A.2.12 – Espectro RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $\text{H}_2\text{nNonVanTri-2-PyP}$ na região dos aromáticos.	178
Figura A.2.13 - Espectro RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $\text{H}_2\text{nNonVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS.	179
Figura B.1.1 – Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{VanTriM-2PyP}^{3+}$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas Q.	180
Figura B.1.2 – Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas Q.	180
Figura B.2.1 - Espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (500 MHz; d^6 -DMSO) na região dos sinais aromáticos. β^* = β -pirrólicos; $2\text{-Py}^{3+}/\text{Me}$ = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas; b/b' = posições 6 do $2\text{-Py}/2\text{-Py}^{3+}$ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.	181
Figura B.2.2 - Espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (200 MHz; d^6 -DMSO) na região dos sinais aromáticos. β^* = β -pirrólicos; $2\text{-Py}^{3+}/\text{Me}$ = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas; b/b' = posições 6 do $2\text{-Py}/2\text{-Py}^{3+}$ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.	183

Figura B.3.1 – Espectros UV-vis normalizados da $H_2VanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em H_2O (linha vermelha), HCl $0,1\ mol\ L^{-1}$ (pontilhado verde) e HCl $1\ mol\ L^{-1}$ (linha preta). A expansão compreende às bandas Q._____184

Figura B.3.2 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6\ \mu mol\ L^{-1}$) registrados em H_2O (linha verde) e HCl $0,1\ mol\ L^{-1}$ (linha preta). A tabela corresponde aos valores das bandas._____184

Figura B.3.3 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6\ \mu mol\ L^{-1}$) registrados em H_2O (linha verde) e HCl $1\ mol\ L^{-1}$ (linha laranja). A tabela corresponde aos valores das bandas._____185

Figura B.3.4 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6\ \mu mol\ L^{-1}$) registrados em HCl $0,2\ mol\ L^{-1}$ (pontilhado dourado), HCl $0,3\ mol\ L^{-1}$ (linha azul) e HCl $0,4\ mol\ L^{-1}$ (linha vermelha). A tabela corresponde aos valores das bandas._____185

Figura B.3.5 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6\ \mu mol\ L^{-1}$) registrados em HCl $0,5\ mol\ L^{-1}$ (linha azul) e HCl $0,6\ mol\ L^{-1}$ (pontilhado vermelho). A tabela corresponde aos valores das bandas._____186

Figura B.3.6 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6\ \mu mol\ L^{-1}$) registrados em HCl $0,7\ mol\ L^{-1}$ (linha azul), HCl $0,8\ mol\ L^{-1}$ (pontilhado vermelho), HCl $0,9\ mol\ L^{-1}$ (linha cinza) e HCl $1\ mol\ L^{-1}$ (pontilhado laranja). A tabela corresponde aos valores das bandas._____186

Figura B.3.7 – Estimativa rudimentar do pK_{a3} da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ utilizando o método gráfico de Benesi-Hildebrand a partir de dados espectrofotométricos no comprimento de onda $417\ nm$ e concentração de HCl de 0 a $0,6\ mol\ L^{-1}$. O coeficiente linear da linearização corresponde ao valor de pK_a ._____187

Figura B.4.1 – TGA, DTG, DTA da $H_2VanTriM-2-PyPcl_3.6H_2O$._____187

Figura B.4.2 - TGA, DTG, DTA da $H_2MVanTriM-2-PyPcl_3.3H_2O$._____188

Figura C.1.1 – Espectro UV-vis normalizado da $MnnPrVanTri-2PyP^+$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas α e β ._____189

Figura C.1.2 – Espectro UV-vis normalizado da amostra de **MnnPrVanTriM-2PyP⁴⁺** contendo traços de base-livre registrado em H₂O. A expansão compreende às bandas α e β ._____189

Figura C.1.3 – Espectro UV-vis normalizado da **MnnHexVanTri-2PyP⁺** registrado em H₂O. A expansão compreende às bandas α e β ._____190

Figura C.1.4 – Espectro UV-vis normalizado da **MnnHexVanTriM-2PyP⁴⁺** registrado em H₂O. A expansão compreende às bandas α e β ._____190

Figura C.2.1 - Voltamogramas cíclicos das MnPs **MnVanTriM-2-PyP⁴⁺**, **MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺** e do padrão **MnTM-2-PyP⁵⁺** obtidos em 0,05 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH = 7,8), 0,1 mol L⁻¹ de NaCl, 5 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ de **MnTM-2-PyP⁵⁺** utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,35 a 0,25 V vs. Ag^o/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹._____191

Figura C.3.1 - Representação dos dados obtidos nos testes do urato (295 nm), como medida indireta de geração de O₂^{•-}, nos experimentos para determinação da atividade SOD. (a) Reação de formação de urato em função do tempo e (b) formação de urato na presença de 1 μ mmol L⁻¹ de **MnVanTriM-2-PyP⁴⁺** ou **MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺**, demonstrando não haver inibição do sistema gerador de O₂^{•-}._____192

Figura C.3.2 - Representação dos dados obtidos no acompanhamento da reação de redução do FeIII-Citc pelo íon O₂^{•-} (550 nm), nos experimentos para determinação da atividade SOD. (a) Reação não-inibida (v₀) (linha marrom) e (b) reação inibida pelas concentrações de 0,5 μ mol L⁻¹ (linha cinza) e 2 μ mol L⁻¹ (linha preta) da **MnVanTriM-2-PyP⁴⁺** (v_i), por exemplo._____193

Figura C.3.3 - Gráfico de (v₀/v_i) – 1 vs concentração de MnP para o padrão **MnTE-2-PyP⁵⁺**. Condições: solução tampão de fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8), xantina 40 μ mol L⁻¹, Fe^{III}-citc (10 μ mol L⁻¹), xantina oxidase ~ 2 nmol L⁻¹, EDTA 0,1 mmol L⁻¹, 25° C._193

Figura C.3.4 - Gráfico de (v₀/v_i) – 1 vs concentração de MnP para (a) **MnVanTriM-2-PyP⁴⁺** e (b) **MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺**. Condições: solução tampão de fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8), xantina 40 μ mol L⁻¹, Fe^{III}-citc (10 μ mol L⁻¹), xantina oxidase ~ 2 nmol L⁻¹, EDTA 0,1 mmol L⁻¹, 25° C._____194

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Reagentes, solventes e adsorventes utilizados nos estudos descritos neste capítulo.	28
Tabela 2.2 – Eluentes utilizados nas análises por CCD-SiO ₂ e purificação por coluna cromatográfica dos <i>O</i> -alquilvanilina.	30
Tabela 2.3 – Condições experimentais da primeira coluna em CHCl ₃ :MeOH e composição relativa qualitativa da fração agrupada rica em porfirinas, em particular a porfirina A ₃ B de interesse.	55
Tabela 2.4 – Proporção do eluente da segunda etapa cromatográfica de purificação das porfirinas e a composição qualitativa das frações recolhidas.	57
Tabela 2.5 - Dados dos espectros de RMN de ¹ H com os respectivos deslocamentos químicos δ (ppm) das porfirinas do tipo A ₃ B de representação geral H ₂ RVanTri -2-PyP.	59
Tabela 2.6 – Dados comparativos de fator de retenção em CCD-SiO ₂ com o eluente CHCl ₃ :MeCN (9:1, v/v) das porfirinas de relevância para este trabalho.	63
Tabela 2.7 – Fatores de retenção cromatográficos (R _f) em CCD-SiO ₂ e dados espectroscópicos registrados em H ₂ O das porfirinas catiônicas do tipo [A ₃ B] ³⁺ e [A ₄] ⁴⁺ de relevância para este trabalho.	68
Tabela 2.8 - Dados dos espectros de RMN de ¹ H com os respectivos deslocamentos químicos δ (ppm) das porfirinas do tipo [A ₃ B] ³⁺ de representação geral H ₂ RVanTriM -2-PyP ³⁺ .	70
Tabela 2.9 – Dados de UV-vis espectroscópicos registrados em H ₂ O das MnPs catiônicas do tipo [MnA ₃ B] ⁴⁺ e [MA ₄] ⁵⁺ de relevância para este trabalho.	82
Tabela 2.10 – Potenciais de meia onda (E _{1/2}) das MnPs de interesse medidos em tampão fosfato 0,05 mol L ⁻¹ (pH 7,8).	83
Tabela 2.11 - Valores de E _{1/2} (Mn ^{III} /Mn ^{II}), atividade SOD e R _f para diferentes complexos de Mn(III) derivados das <i>N</i> -aquilpiridilporfirinas.	84
Tabela 2.12 – Dados comparativos dos valores de R _f de CCD-SiO ₂ em KNO ₃ (sat)/H ₂ O/MeCN (1:1:8, v/v/v) das MnPs deste trabalho com a literatura.	86

Tabela 3.1 - Constantes de equilíbrio para reações de metalação de ZnPs hidrossolúveis em pH 7 e a acidez da base-livre.	107
Tabela 3.2 - Meia-vida ($t_{1/2}$) para a solvólise de ZnPs da classe das <i>N</i> -piridilporfirinas e derivados metilados. (Adaptado de HAMBRIGHT; GORE; BURTON, 1976)	110
Tabela 3.3 – Reagentes, solventes e adsorventes utilizados neste capítulo.	111
Tabela 3.4 – Dados espectroscópicos (registrados em água) das porfirinas catiônicas e seus complexos de Zn(II) de relevância neste trabalho.	126
Tabela 3.5 - Dados comparativos dos fatores de retenção cromatográficos (R_f) da ZnP do tipo $[ZnA_3B]^{3+}$ Zn MVan TriM-2-PyP ³⁺ deste trabalho com ZnPs $[ZnA_4]^{4+}$ da literatura, usando sílica, como fase estacionária, e $KNO_{3(sat)}/H_2O/MeCN$ 1:1:8 (v/v/v), como fase móvel.	127
Tabela 3.6 - Meia-vida ($t_{1/2}$) para a solvólise de ZnPs em estudos de estabilidade acelerada à temperatura ambiente.	129

1 Introdução Geral

As metaloporfirinas hidrossolúveis de Mn(III) e de Zn(II) derivadas das *meso*-tetraquis(2-*N*-alquilpiridínio)porfirinas, Mn**Talqu**il-2-PyP⁵⁺ ou Zn**Talqu**il-2-PyP⁴⁺ (**Fig 1.1**, com o grupo alquil variando geralmente entre metil e *n*-hexil, e incluindo éteres como *n*-butoxietil, por exemplo) são compostos importantes para o desenho de catalisadores biomiméticos de oxidoredutases (PINTO *et al.*, 2016) e agentes terapêuticos redox-ativos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2016), no caso dos complexos de Mn(III), e fotossensibilizadores (BENOV, 2015), no caso dos complexos de Zn(II) (**Fig. 1.1**).

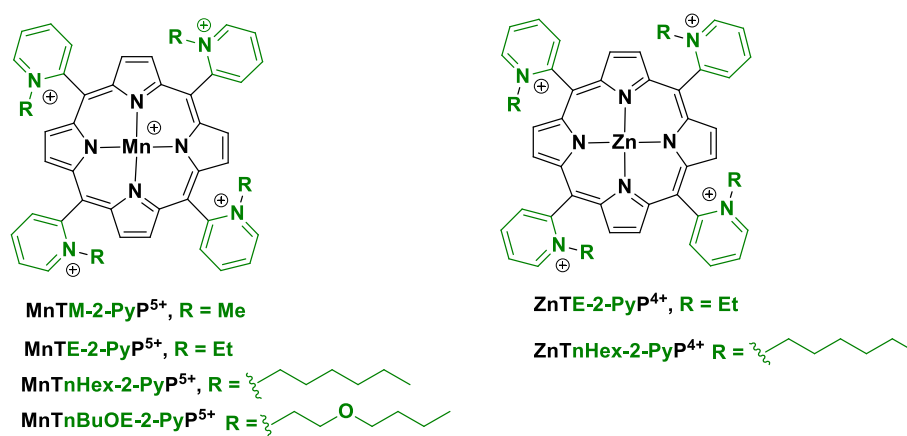


Figura 1.1 - Representação das estruturas de Mn(III)- e Zn(II)-porfirinas *meso*-substituídas da classe das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas.

As Mn**Talqu**il-2-PyP⁵⁺ têm sido amplamente estudadas como modelos das enzimas citocromos P450 (PINTO *et al.*, 2016) e como potentes mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2016). Essa classe de Mn-porfirinas (MnPs) catiônicas possuem potenciais de redução Mn^{III}/Mn^{II} termodinamicamente apropriados para reações redox com inúmeras moléculas bioativas. Além disso, as cargas positivas presentes nos grupos 2-*N*-alquilpiridínio resultam em uma facilitação eletrostática cinética para aproximação de compostos aniônicos (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b). A combinação entre as propriedades físico-químicas das MnPs e aquelas das espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre, presentes nos sistemas biológicos, permite e suporta a aplicação das MnPs em diferentes modelos celulares ou animais associados ao estresse oxidativo. Dentre as MnPs em detalhes como moduladores redox e agentes terapêuticos redox-ativos, estão a *meso*-tetraquis(*N*-etilpiridínio-2-il)porfinatomangânês(III) (MnTE-2-PyP⁵⁺) e a *meso*-tetraquis(*N*-butoxietilpiridínio-2-il)porfinatomangânês(III)

(Mn**TnBuOE**-2-PyP⁵⁺) (**Fig. 1.1**), que avançaram dos estudos pré-clínicos para cinco testes clínicos em humanos no Canadá e EUA (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2018). Estes complexos apresentaram-se seguros e bem tolerados na Fase I de estudos clínicos, progredindo para vários estudos clínicos em Fase II, que incluem terapias para dermatite atópica e prurido (Mn**TE**-2-PyP⁵⁺), glioma (Mn**TnBuOE**-2-PyP⁵⁺), câncer de cabeça e pescoço (Mn**TnBuOE**-2-PyP⁵⁺), metástases cerebrais múltiplas (Mn**TnBuOE**-2-PyP⁵⁺) e carcinoma de células escamosas anal (Mn**TnBuOE**-2-PyP⁵⁺) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2021; GAD *et al.*, 2013, 2016, 2019).

As Zn(II)-porfirinas (ZnPs) catiônicas derivadas das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, Zn**Talquil**-2-PyP⁴⁺ (onde **alquil** = **etila** ou ***n*-hexila**, por exemplo) (**Fig. 1.1**) têm se mostrado potenciais fotossensibilizadores (FSs) para Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês “photodynamic therapy”) (BENOV *et al.*, 2011; 2015) e/ou Inativação Fotodinâmica antimicrobiana (aPDI, do inglês “antimicrobial photodynamic inactivation”) (THOMAS *et al.*, 2015; VIANA *et al.*, 2015; CHARARA *et al.*, 2017; ANDRADE *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2021). Esta classe de ZnPs possui características adequadas para PDT e aPDI, tais como: (i) baixa toxicidade *in vitro* e/ou *in vivo* no escuro; (ii) alta eficiência para geração intracelular de espécies reativas de oxigênio; (iii) elevados rendimentos quânticos para geração de oxigênio singlete ($\Phi^1\text{O}_2$); e (iv) versatilidade estrutural que permite o desenho de fotossensibilizadores anfifílicos, permitindo boa solubilidade no meio biológico, biodisponibilidade e interação com estruturas celulares (MONDAL; BERA, 2014; AMOS-TAUTUA; SONGCA; OLUWAFEMI, 2019). As ZnPs têm se mostrado FSs ainda mais eficazes do que as porfirinas bases-livres precursoras (H₂P) (PAVANI *et al.*, 2009; MARYDASAN; NAIR; RAMAIAH, 2013). A inserção do Zn(II) aumenta a estabilidade química da porfirina e pode potencializar sua interação com as membranas celulares (PAVANI *et al.*, 2009). Além disso, as ZnPs geralmente possuem maior $\Phi^1\text{O}_2$ do que as H₂Ps, uma vez que os metais diamagnéticos facilitam o cruzamento intersistema e têm longo tempo de vida do estado tripleto (PAVANI *et al.*, 2009; MARYDASAN; NAIR; RAMAIAH, 2013). Outra vantagem do emprego das ZnPs em aPDI, frente aos complexos de Pd(II) ou Sn(IV), por exemplo, é o fato de o Zn(II) ser um componente natural da fisiologia humana (MONDAL; BERA, 2014; AMOS-TAUTUA; SONGCA; OLUWAFEMI, 2019).

O desenho de MnPs (como agentes terapêuticos redox-ativos) e de ZnPs (como fotossensibilizadores para PDT/aPDI) é predominantemente baseado em sistemas contendo 4 substituintes idênticos no anel porfirínico (usualmente rotulados como

sistemas $[A_4]$ (**Fig. 1.2**). Sistemas bimodais do tipo $[A_3B]$ (**Fig. 1.2**), onde 1 substituinte do anel diferente dos 3 demais, apesar de permitirem o controle de propriedades associadas independentemente aos grupos arilas A e B, ainda são pouco explorados como plataforma de desenho de moduladores redox ou fotossensibilizadores (MERCHAT *et al.*, 1996b; ENGELMANN *et al.*, 2002; ALVARADO *et al.*, 2018; ALVES *et al.*, 2009), muito provavelmente devido aos desafios intrínsecos associados à síntese e purificação destes compostos.

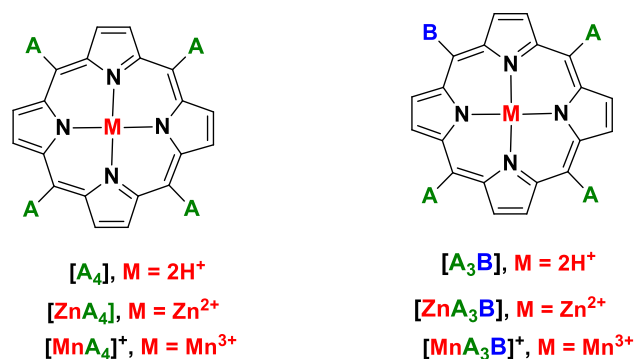


Figura 1.2 – Representação de porfirinas *meso*-substituídas do tipo $[A_4]$ e seus respectivos complexos de Mn(III) ($[MnA_4]^+$) e Zn(II) ($[ZnA_4]$) (à esquerda), e porfirinas do tipo $[A_3B]$ e complexos de Mn(III) ($[MnA_3B]^+$) e Zn(II) ($[ZnA_3B]$) (à direita).

1.1 Objetivos Gerais

O presente trabalho de tese tem como objetivo geral amplo desenvolver complexos de Mn(III) e Zn(II) de porfirinas hidrossolúveis à base de uma nova classe de porfirinas bifuncionais do tipo $[A_3B]^{3+}$ (onde A = 2-*N*-metilpiridínio; B = vanilina ou *O*-alquilvanilina; **Fig. 1.3**). Estes sistemas incorporam as propriedades eletrorretiradoras e eletrostáticas dos grupos 2-*N*-metilpiridínio e a possibilidade de modulação das lipofilia dos compostos à partir da derivatização dos grupos vanilina.

Assim, utilizando as 2-*N*-aquilpiridilporfirinas de Mn(III) (**Fig. 1.1 e 1.2**) como guia, espera-se desenvolver candidatos a mímicos de SOD e potenciais agentes terapêuticos redox-ativos à base de Mn(III)-porfirinas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ (A = 2-*N*-metilpiridínio; B = vanilina ou *O*-alquilvanilina; **Fig. 1.3**).

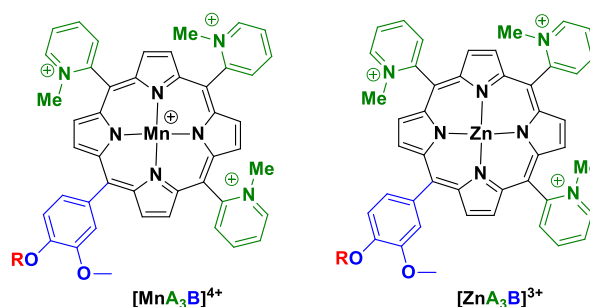


Figura 1.3 - Novos complexos porfirínicos do tipo $[A_3B]^{3+}$: $[MnA_3B]^{4+}$ e $[ZnA_3B]^{3+}$ de interesse para este trabalho; R = grupos alquila.

Nos sistemas à base de Zn(II)-porfirinas, propõe-se revisitar a rota de síntese das ZnTalquil-2-PyP⁴⁺ (onde **alquil** = Et ou *n*Hex), preparar, como prova de conceito, um complexo do tipo $[ZnA_3B]^{3+}$ (A = 2-*N*-metilpirídínio; B = *O*-metilvanilina) (Fig. 1.3) e, finalmente, contribuir para o desenvolvimento de candidatos a fotossensibilizadores para aPDI de *Leshmania* à base de Zn(II)-porfirinas catiônicas.

1.2 Aspectos gerais de porfirinas e metaloporfirinas de Mn(III) e Zn(II)

1.2.1 Propriedades estruturais e espectroscópicas das porfirinas e metaloporfirinas

Porfirina é um macrociclo tetrapirrólico ligado por quatro carbonos sp^2 , compreendendo um sistema de 22 elétrons π altamente conjugados. Os quatro átomos centrais de nitrogênio são apropriados para quelar um elemento químico, geralmente um metal, resultando em uma metaloporfirina (COOK *et al.*, 2017) (Fig. 1.4).

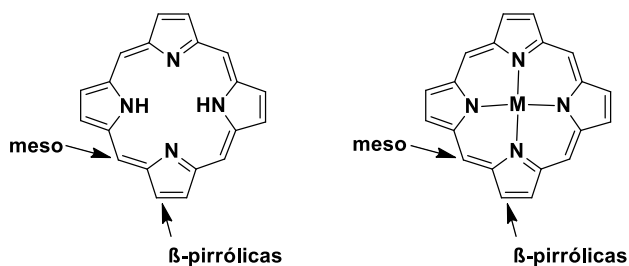


Figura 1.4 - Representação do núcleo central estrutural de uma porfirina (esquerda) e uma metaloporfirina (direita), sendo indicadas as posições *meso* e β -pirrólicas do anel porfirínico. Nas Mn(III)-porfirinas, M = M(III), enquanto nas Zn(II)-porfirinas, M = Zn(II).

As porfirinas possuem uma grande diversidade estrutural, podendo ser de origem natural ou sintética. As propriedades espectroscópicas das porfirinas são muito características, com bandas bem definidas de intensa absorção eletrônica na região do

visível (vis). Devido à alta conjugação π do anel, as transições eletrônicas ($\pi \rightarrow \pi^*$) se encontram localizadas na região do ultravioleta próximo e majoritariamente no visível (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1995; COOK *et al.*, 2017). A banda mais intensa (com absorvidade molar $\sim 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) é conhecida como banda *Soret*, geralmente localizada em torno de 420 nm, nas *meso*-tetraarilporfirinas. Há ainda outras quatro bandas de menor intensidade (com absorvidade molar $\sim 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), entre 500 e 800 nm, denominadas bandas Q e representadas por algarismos romanos em ordem crescente de energia (**Fig. 1.5A**).

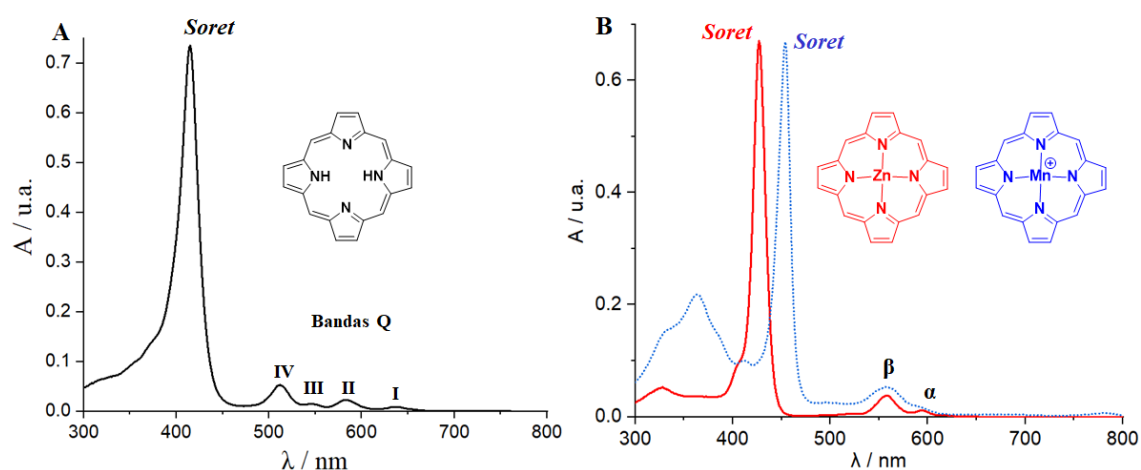


Figura 1.5 - Espectros de absorção eletrônica típicos de (A) uma porfirina de base livre representativa e (B) duas metaloporfirinas representativas de Zn(II) (vermelho) ou Mn(III) (azul).

A localização e a intensidade relativa das bandas Q são influenciados por fatores como a natureza química dos grupos de substituição, solvente, pH, concentração e interação entre porfirinas em solução (agregação). No caso das metaloporfirinas, sua formação, a partir da base-livre correspondente, é acompanhada por um aumento na simetria local do anel porfirínico de D_{2h} para D_{4h} , levando a uma diminuição no número de transições eletrônicas e, portanto, uma redução no número de bandas. Enquanto a metalação é geralmente acompanhada por alguma deslocamento na banda de *Soret*, a característica espectral mais marcante é o desaparecimento das quatro bandas Q, que são geralmente substituídas por duas bandas, denominadas α e β , como ilustrado para as MnPs e ZnPs na **Fig. 1.5B**. As características gerais do perfil do espectro eletrônico dependem da natureza do cátion metálico central: tamanho, localização na tabela periódica, número de coordenação e estado de oxidação (WIJESEKERA; DOLPHIN, 2010; COOK *et al.*, 2017).

As porfirinas apresentam grande abundância e importância biológica (ABREU; CABELLI, 2010). Este fato sempre despertou o interesse sintético nesses compostos com o objetivo de mimetizar (imitar) aspectos eletrônicos, estruturais ou de reatividade dos sistemas biológicos (MEUNIER, 1992; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2018; MANIKADAN; NAGINI, 2018). As porfirinas e os seus respectivos complexos metálicos têm contribuído de maneira bastante relevante nas áreas de medicina e biologia (CALZAVARA-PINTON, *et al.*, 2012; MOURAVIEV, *et al.*, 2012; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2018), nanotecnologia (ELEMANS *et al.*, 2006; SÁFAR *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2016) e catálise (MEUNIER, 1992; MANSUY, 2000; BARROS; ASSIS, 2013; NAKAGAKI *et al.*, 2014).

1.2.2 Síntese de porfirinas meso-substituídas

As porfirinas de origem natural, como o grupo heme de hemoglobinas e citocromos, possuem substituição nas posições β -pirrólicas (**Fig. 1.4**). Contudo, devido à dificuldade de síntese destes compostos *via* modificação prévia do pirrol, as porfirinas obtidas por rotas sintéticas mais simples geralmente contêm substituintes nas posições *meso* (**Fig. 1.3**). Além disso, os substituintes arilas nas posições *meso* introduzem, na ausência de grupos proteicos naturalmente presentes nas hemoproteínas, uma certa proteção estérea que reduz a suscetibilidade do anel porfirínico a reações indesejadas ou destruição oxidativa. Destacam-se na literatura duas rotas gerais de síntese dessas porfirinas *meso*-aril substituídas: 1) rotas derivadas do método de Adler-Longo e 2) rotas derivadas do método de Lindsey.

Adler, Longo e colaboradores otimizaram a metodologia de Rothmund (1936), o primeiro a descrever a síntese com êxito da *meso*-tetrafenilporfirina (H_2TTP). Alder *et al.* (1964; 1967; 1968) sintetizaram uma série de *meso*-tetrarilporfirinas através da condensação de pirrol e um aldeído aromático sob refluxo em ácido acético ou propiônico em meio aeróbio. O ácido carboxílico atua simultaneamente como solvente e catalisador. Esta estratégia permitiu a obtenção da *meso*-tetrafenilporfirina (H_2TTP) em menos de 1 h, com rendimentos isolados em torno de 20% (**Fig. 1.6**). A principal limitação desta rota é, sem dúvida, a formação de muitas impurezas distintas, conhecidas genericamente como polipirróis, que podem dificultar a purificação da(s) porfirina(s) de interesse. Um outro contaminante típico desse método são as clorinas (porfirinas reduzidas em uma das posições β -pirrólicas), que estão presentes em torno de 1-5% nas preparações pelo método de Adler-Longo, mas podem ser prontamente oxidadas à porfirina correspondente por

tratamentos com quinonas ou peróxido de hidrogênio (ROUSSEAU; DOLPHIN *et al.*, 1974; BARNETT *et al.*, 1975; GROVES *et al.*, 1983; JOHNSTONE *et al.*, 1996; SERRA *et al.*, 2008).

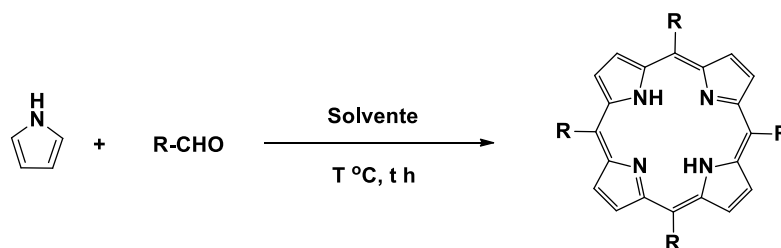


Figura 1.6 – Representação da síntese de porfirinas pelo Método de Adler-Longo: refluxo de ácido acético ou propiônico por 1 hora (onde R = grupos alquila ou arila). Na modificação introduzida por Gonsalves o solvente é uma mistura de ácido acético:nitrobenzeno na proporção (7:3, v/v).

Gonsalves e pesquisadores modificaram o método de Adler-Longo e otimizaram a síntese da H₂TPP e seus derivados. A modificação consiste na reação de pirrol com um aldeído (ou uma mistura de aldeídos) a 130 °C durante 1 hora, utilizando como solvente uma mistura de ácido acético:nitrobenzeno na proporção (7:3, v/v) (**Fig. 1.6**). O nitrobenzeno, neste caso, atua como oxidante dos intermediários de reação (incluindo clorinas) a porfirinas, minimizando as contaminações. É um método geralmente mais apropriado quando as porfirinas de interesse não apresentam muitos grupos polares na estrutura ou são de baixa solubilidade no solvente de reação (GONSALVES *et al.*, 1991).

A metodologia de Adler-Longo e a modificação de Gonsalves são bem versáteis e permitem a obtenção de porfirinas derivadas da condensação de pirrol com misturas de dois aldeídos aromáticos A e B, levando à formação de *meso*-tetraarilporfirinas bifuncionalizadas, incluindo *N*-piridilporfirinas do tipo A₃B (ENGELMANN *et al.*, 2002; TOME *et al.*, 2004) e *cis*-A₂B₂ ou *trans*-A₂B₂, AB₃ (ENGELMANN *et al.*, 2002), além das tradicionais A₄ e B₄ (**Fig. 1.7**).

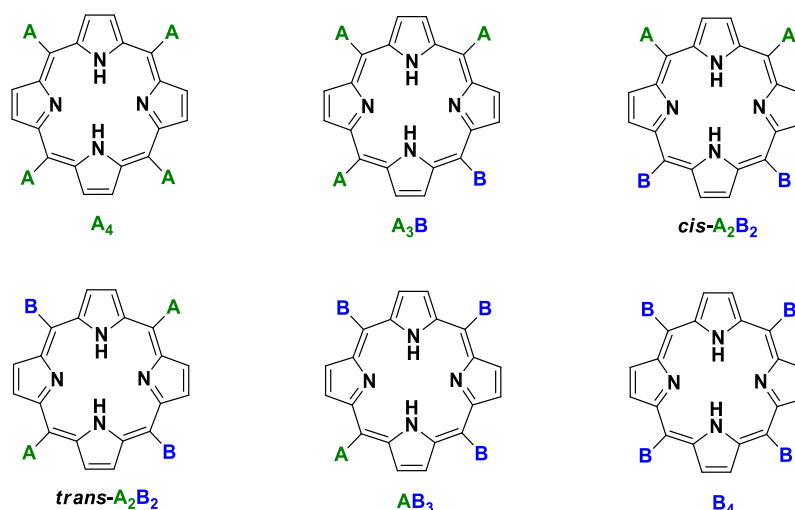


Figura 1.7 - Produtos que podem ser formados através da condensação de pirrol e uma mistura de dois aldeídos A e B. A distribuição dos produtos depende da natureza/reatividade dos aldeídos A e B, das relações estequiométricas e condições gerais de reação.

O método de Lindsey é um marco na síntese de vários tipos de porfirinas *meso*-aril substituídas do tipo A_4 derivadas da H_2TPP , sistemas *trans*- A_2B_2 dos mais variados e *meso*-tetraalquilporfirinas, com rendimentos de 30–50 %. Este método de duas etapas em um vaso (“one pot”) consiste inicialmente na condensação anaeróbia de pirrol e aldeído em CH_2Cl_2 ou $CHCl_3$, catalisada por trifluoreto de boro (BF_3) ou ácido trifluoroacético (TFA) (**Fig. 1.8**), na qual se forma o intermediário porfirinogênio, que é, em uma segunda etapa, oxidado *in situ* à respectiva porfirina por por quinonas ou H_2O_2 (LINDSEY *et al.*, 1987; 2000; 2010).

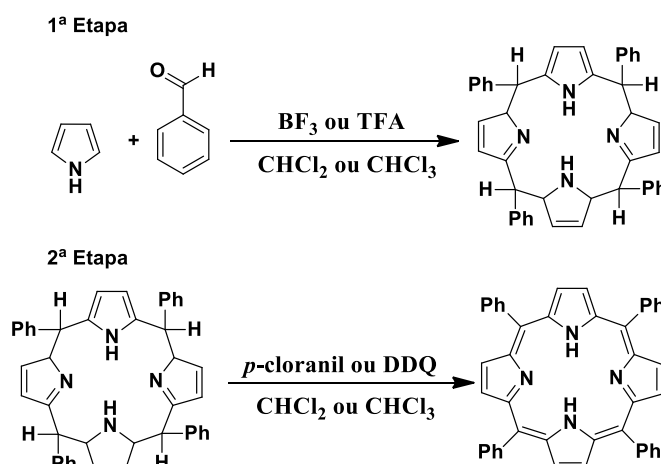


Figura 1.8 – Representação das duas principais etapas na síntese de porfirinas pelo Método de Lindsey: condensação de aldeído e pirrol a porfirinogênio (1ª etapa) e oxidação subsequente à porfirina (2ª etapa).

Apesar do inegável sucesso do método de Lindsey para a obtenção de tetrafenilporfirinas diversas, inclusive (e especialmente) aquelas derivadas de benzaldeídos *orto*-substituídos, o emprego de aldeídos contendo grupos básicos, por exemplo 2-, 3- ou 4-piridinacarboxaldeídos levam à desativação do catalisador e frustram as tentativas de obtenção de *N*-piridilporfirinas por este método (DOGUTAN; PTASZEK; LINDSEY, 2008). Assim, as rotas de síntese das *N*-piridilporfirinas têm sido particularmente limitadas às condições do método de Adler-Longo com uma ou outra pequena adaptação ou modificação (por exemplo, mudança do ácido carboxílico empregado simultaneamente como solvente e catalisador, temperatura, tempo de reação etc).

1.2.3 Síntese de metaloporfirinas de Mn(III) e Zn(II) meso-substituídas

A obtenção de MnPs e ZnPs ocorre através da metalação da H₂P com excesso de sal de (MnX₂ ou ZnX₂), formando a Mn^{II}P ou Zn^{II}P e o correspondente ácido (HX) (**Fig. 1.9**). No caso das metaloporfirinas de Mn, a Mn^{II}P inicialmente formada é rapidamente oxidada *in situ* em condições aeróbias a Mn^{III}P, resultando numa metalação irreversível. A reação inversa, a desmetalação, é comumente favorecida em presença de ácido forte, mas a velocidade e extensão da desmetalação depende também da natureza dos grupos substituintes porfirínicos e da presença de determinados ânions (BUCHLER, 1975; LAVALLEE, 1985).

Dentre os métodos para obtenção de MnPs e ZnPs, destaca-se o método conhecido como “método de clorofórmio/metanol”, no qual uma solução concentrada de sal de Mn²⁺ ou Zn²⁺ em metanol é adicionada a uma solução concentrada de H₂P em clorofórmio, sob refluxo. A depender da solubilidade e reatividade da H₂P precursora e do sal metálico, a proporção de clorofórmio/metanol pode ser alterada. (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). Outro destaque é o método da *N,N*-dimetilformida (DMF), no qual a metalação geralmente é realizada com sais de cloreto de Mn(III) ou Zn(II) sob refluxo de DMF (ponto de ebulição em torno de 150 °C), reduzindo os tempos de metalação. O método da DMF é bastante utilizado para *meso*-tetrafenilporfirinas e também porfirinas *beta*-substituídas, devido à alta estabilidade térmica delas. Além disso, para porfirinas insolúveis em água, a adição de água ao término da reação resulta na precipitação das metaloporfirinas, eliminando-se o excesso de sal metálico e a DMF (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). Contudo, a DMF se decompõe, o que pode levar a reações paralelas, levando à destruição através do ataque às posições *meso*-porfirínicas e abertura do anel.

Porfirinas com grupos aceptores de elétrons são mais susceptíveis a esse tipo de evento, como exemplo as *meso*-tetrafenilporfirinas fluoradas (KADISH *et al.*, 1990), as *N*-alquilpiridínioporfirinas (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998) apresentaram decomposição em DMF durante a metalação com Mn(III). Os análogos *beta*-octabromados das *N*-alquilpiridínioporfirinas se decompõem rapidamente em refluxo de DMF (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994; REBOUÇAS; CARVALHO; IDEMORI, 2002).

Contornando os problemas apresentados pelo método da DMF, a metalação das *N*-alquilpiridínioporfirinas (e muitas outras porfirinas hidrossolúveis) pode ser realizada em meio aquoso. A reação pode ocorrer sob refluxo de água destilada pH 7,0 (PASTERNAK *et al.*, 1983) ou à temperatura ambiente ajustando-se o pH para 12 (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1997), que facilita a desprotonação interna dos nitrogênios pirrólicos, devido à acidez apropriada das *N*-alquilpiridínioporfirinas (pK_a na faixa de 10 a 13) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998; 2002).

A obtenção da classe das *N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III) e Zn(II) geralmente ocorre em duas etapas (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998; 1999; 2002; BENOVA *et al.*, 2002; EZZEDDINE *et al.*, 2013). Na primeira, a alquilação da *meso*-tetraquis(X-piridil)porfirina ($H_2T-X-PyP$) ($X = 2, 3$ ou 4) com tosilato ou haleto de alquila resulta na base-livre catiônica correspondente, $H_2\text{Talquil-2-PyP}^{4+}$, que, numa segunda etapa, é metalada em solução aquosa (pH 12) para resultar na metaloporfirina de interesse $Mn\text{Talquil-2-PyP}^{5+}$ ou $Zn\text{Talquil-2-PyP}^{4+}$ (Rota 1, **Fig. 1.9**). Todos os compostos catiônicos são purificados via reações de metátese com NH_4PF_6 em água, seguida de metátese do sal de PF_6^- com um cloreto de *N*-tetraalquilamônio (por exemplo, cloreto de *N*-tetra-*n*-butilamônio ou Aliquat 336) em acetona para se isolar o derivado porfirínico na forma de sal de cloreto.

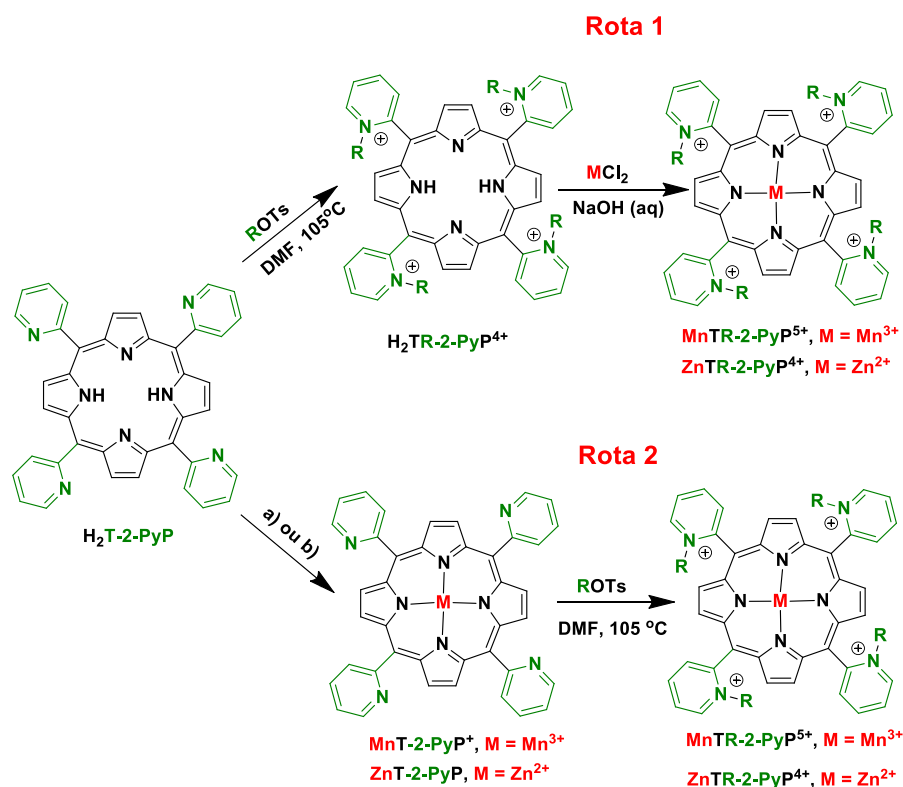


Figura 1.9 - Esquema da obtenção das 2-*N*-alquilpiridínioporfirina de Mn(III) (MnTR-2-PyP⁵⁺) e de Zn(II) (ZnTR-2-PyP⁴⁺). **R**: grupos alquila; a) Mn(OAc)₂ em refluxo de CHCl₃/MeOH ou b) MnSO₄ em solução aquosa de H₂SO₄.

Nosso grupo propôs uma rota alternativa para obtenção dessas porfirinas de Mn(III) (PINTO, 2013; JESUS, 2020) e Zn(II) (VIANA *et al.*, 2015), realizando a inversão das etapas de alquilação e metalação (Rota 2, **Fig. 1.9**). Por esta rota, a MnT-X-PyP⁺ resultante de metalação da H₂T-X-PyP representa um intermediário comum para a síntese das várias Mn**Talquil**-X-PyP⁵⁺, reduzindo pela metade os processos de purificação e gastos com reagentes de metátese caros (NH₄PF₆ e cloreto de *N*-tetraalquilamônio). Neste contexto, a síntese da MnT-2-PyP⁺ também foi modificada (JESUS, 2020) para eliminar (i) o uso de solvente orgânico, que foi substituído por solução aquosa de H₂SO₄; e (ii) a etapa de purificação cromatográfica descrita anteriormente para este composto (REBOUÇAS; DE CARVALHO; IDEMORI, 2002). Adicionalmente, as condições de reação para metalação da H₂T-2-PyP com MnSO₄ em H₂SO₄ aquoso foram otimizadas quimiometricamente (JESUS, 2020). No caso das Zn(II)-porfirinas, a prova conceitual desta rota alternativa (Rota 2, **Fig 1.9**) foi realizada para obtenção da ZnTE-2-PyP⁴⁺ (**Fig. 1.1**) (VIANA *et al.*, 2015).

1.3 Apresentação da Tese

A presente tese foi organizada em 6 capítulos. Neste primeiro Capítulo, foram apresentados, de maneira resumida, alguns dos aspectos gerais da química da classe das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas que nortearão e permearão os demais Capítulos.

As contribuições específicas deste presente trabalho para os sistemas à base de 2-*N*-alquilpiridilporfirinas de Mn(III) e de Zn(II) são apresentadas, respectivamente, nos Capítulos 2 e 3. Cada capítulo possui leitura independente e foi subdividido em seções correspondentes à introdução (onde se apresenta a fundamentação teórica relevante para a temática do Capítulo), objetivos, resultados e discussão e conclusões específicas.

Em particular, explora-se no Capítulo 2 o desenvolvimento de Mn(III)-porfirinas derivadas do sistema $[A_3B]^{3+}$ ($A = 2\text{-}N\text{-metilpirídínio}$; $B = \text{éteres de vanilina}$) como mímicos SOD e agentes terapêuticos redox ativos em potencial.

No Capítulo 3, apresentam-se os estudos de síntese e estabilidade de Zn(II)-porfirinas catiônicas do tipo $[ZnA_4]^{4+}$ e $[ZnA_3B]^{3+}$ ($A = 2\text{-}N\text{-alquilpirídínio}$; $B = O\text{-metilvanilina}$) como candidatos a fotossensibilizadores para inativação fotodinâmica de Leishmanias. Destaca-se que a introdução do Capítulo 3 integra um artigo de Revisão, submetido à publicação, sobre ZnPs como candidatos a fotossensibilizadores para aPDI.

No Capítulo 4 são apresentadas as considerações finais da tese e perspectivas de continuidade deste estudo.

As referências citadas ao longo de toda a tese foram compiladas no Capítulo 5. A tese conta ainda com o Capítulo 6 para os Apêndices, que contêm dados e informações suplementares.

2 Mn(III)-porfirinas derivadas do sistema $[A_3B]^{3+}$ (A = 2-N-metilpiridínio; B = vanilina ou O-aquilvanilina) como agentes terapêuticos redox ativos em potencial

2.1 Introdução

2.1.1. Estresse oxidativo e Mn-porfirinas como agentes terapêuticos redox ativos

O estresse oxidativo é uma condição biológica caracterizada por desequilíbrio redox, na qual os níveis de espécies oxidantes predominam em detrimento ao controle antioxidante, ocasionando danos oxidativos (AHMADINEJAD *et al.*, 2017). A depender do nível de dano, o estresse oxidativo pode implicar em uma série de patologias e estados fisiopatológicos, tais como processos de isquemia/reperfusão, alguns tipos de câncer (incluindo processos de metástase) (KRUK; ABOUL-ENEIN, 2017), esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, acidente vascular cerebral, diabetes, lesões pulmonares, dentre outros (AHMADINEJAD *et al.*, 2017; BATINIĆ-HABERLE; TOVMASYAN; SPASOJEVIĆ, 2018). As espécies que são comumente associadas ao estresse oxidativo são as espécies reativas de oxigênio e/ou nitrogênio (ERO/ERN) (FRIDOVICH, 1995).

As enzimas superóxido dismutase (SOD) constituem o sistema mais eficiente no controle, a nível celular e extracelular, de ERO (*via* modulação direta do ânion radical superóxido, $O_2^{\bullet-}$) e de ERN (*via* modulação indireta do ânion peroxinitrito, $ONOO^-$) e, por consequência, na regulação do nível de estresse oxidativo (FRIDOVICH, 1995). Existem quatro enzimas superóxido dismutases (SOD) caracterizadas até então: Cu,ZnSOD (SOD1 e SOD3), MnSOD (SOD2), FeSOD e NiSOD, sendo a Cu,ZnSOD e MnSOD de grande relevância para a maioria dos mamíferos (FRIDOVICH, 1995). O sítio ativo das enzimas SOD contém um metal de transição redox ativo coordenado por resíduos de aminoácidos da cadeia proteica: Cu^+/Cu^{2+} (na Cu,ZnSOD, o íon Zn^{2+} tem função estrutural), Mn^{2+}/Mn^{3+} , Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Ni^{2+}/Ni^{3+} . O controle de $O_2^{\bullet-}$ nos sistemas biológicos é realizado por meio de uma rápida dismutação enzimática do $O_2^{\bullet-}$ em O_2 e H_2O_2 (**Fig. 2.1**) (ABREU; CABELLI, 2010).

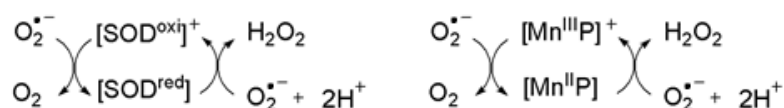


Figura 2.1 – Representação simplificada da dismutação de superóxido catalisada pelas enzimas SOD (à esquerda) e por Mn-porfirinas (à direita).

O estresse oxidativo pode ser resultado da inativação ou baixa expressão das enzimas SOD. Compostos com baixa massa molecular, que sejam capazes de imitar a enzima SOD (mímicos) poderiam ser candidatos excelentes a fármacos para controle de fisiopatologias relacionadas ao estresse oxidativo (DISSEMOND; GOOS; WAGNER, 2002; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2011). Estudos envolvendo Mn-porfirinas (MnPs) demonstraram que elas podem atuar como potentes mímicos de SOD *in vitro* e *in vivo* (FAULKNER *et al.*, 1994; BATINIĆ-HABERLE; REBOUÇAS; SPASOJEVIĆ, 2010; RAJIĆ *et al.*, 2012; TOVMASYAN *et al.*, 2014; BATINIĆ-HABERLE; TOVMASYAN; SPASOJEVIĆ, 2018). Esses estudos foram realizados em modelos celulares, como *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) SOD-deficientes (TOVMASYAN *et al.*, 2014) e em animais superiores, como ratos, camundongos, coelhos e primatas não-humanos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2011). As MnPs se mostraram capazes de minimizar os efeitos nocivos de danos causados por radiação, inibir os tumores (*via* ação antiangiogênica ou pró-oxidante), aumentar a eficácia da radioterapia e hipertermia no tratamento de câncer (ação sinérgica) e de proteger órgãos e tecidos em transplantes e/ou processos de isquemia/reperfusão (TOVMASYAN *et al.*, 2014; BATINIĆ-HABERLE; TOVMASYAN; SPASOJEVIĆ, 2018).

De modo análogo às enzimas SOD, as MnPs catalisam o desproporcionamento do $\text{O}_2^{\bullet -}$ em duas etapas: i) *via* oxidação de uma molécula de $\text{O}_2^{\bullet -}$ a O_2 ; e ii) redução de outra molécula de $\text{O}_2^{\bullet -}$ a H_2O_2 (**Fig. 2.1**), em um processo redox no qual o estado de oxidação do manganês se alterna entre +3 e +2.

As MnPs que mais se destacaram como mímicos SOD em modelos biológicos foram aquelas derivadas das 2-*N*-alquilpiridínioporfirina (Mn**Talquil**-2-PyP⁵⁺; **alquil** sendo, por exemplo, **Me**, **Et**, **nHex**, **nButOE**) e de seus isômeros de posição 3-*N*-alquilpiridínioporfirina (Mn**Talquil**-3-PyP⁵⁺) (**Fig. 2.2**).

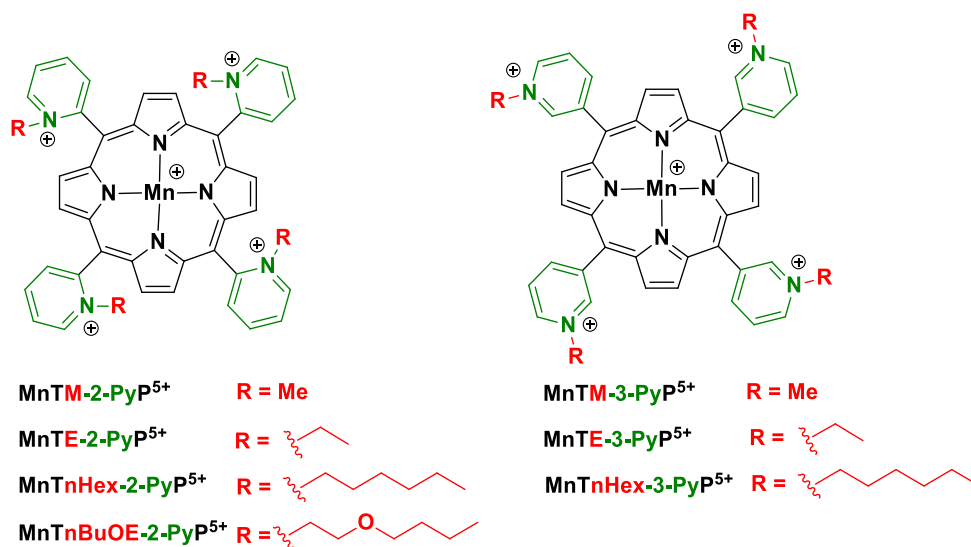


Figura 2.2 - Mn-porfirinas que têm se destacado como mímicos de enzimas SOD. À esquerda, os isômeros MnTalquil-2-PyP⁵⁺ e, à direita, os isômeros MnTalquil-3-PyP⁵⁺.

A atividade SOD-mimética das MnPs pode ser medida em termos da constante de velocidade de dismutação do superóxido ($\log k_{\text{cat}}$), onde as enzimas SOD apresentam $\log k_{\text{cat}} \sim 9$ (ELBERLY *et al.*, 1996; VANCE *et al.*, 1998; GOLDSTEIN *et al.*, 2006). O $\log k_{\text{cat}}$ pode ser determinado por métodos indiretos como, por exemplo, o método do citocromo *c*, ou diretos como, por exemplo, a radiólise de pulso e método de fluxo interrompido (“stopped flow”). O método do citocromo *c* foi originalmente configurado para estabelecer a atividade da enzima SOD (MCCORD; FRIDOVICH, 1969), sendo bastante utilizado para a determinação da atividade SOD de MnPs e outros agentes terapêuticos redox-ativos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2014; POLICAR, 2016). Neste ensaio, o $\text{O}_2^{\cdot-}$ é produzido a uma velocidade constante como subproduto da oxidação da xantina (X) a urato pela xantina-oxidase (XO), buscando-se manter a concentração próxima àquelas dos sistemas biológicos sob estresse oxidativo (POLICAR, 2016). O $\text{O}_2^{\cdot-}$ produzido reage com o centro metálico do ferricitocromo *c* (Fe^{III} -cit *c*), reduzindo-o a Fe^{II} -cit *c* em uma reação que é acompanhada por espectrofotometria no comprimento de onda de 550 nm (FRIDOVICH, 1970). A adição de um candidato a mímico SOD (ou a própria SOD) provoca uma competição cinética entre o Fe^{III} -cit *c* e o mímico SOD pelo superóxido tendo como resultado líquido a inibição da formação do Fe^{II} -cit *c*. Uma vez que a redução de Fe^{III} -cit *c* a Fe^{II} -cit *c* pelo superóxido é cineticamente bem definida, a atividade SOD pode ser determinada a partir da relação entre a concentração do mímico e o correspondente grau de inibição da redução de Fe^{III} -cit *c*.

A radiólise de pulso consiste na rápida deposição pulsada de energia, na escala abaixo de μs , na forma de elétrons acelerados, em uma solução (SCHWARZ, 1981; BUXTON, 1987). Na presença de O_2 e formiato (ou etanol), ela fornece um grande excesso de $\text{O}_2^{\bullet-}$, em relação ao candidato a mimico de SOD, permitindo a catálise SOD em meio aquoso contendo não mais do que concentrações em mmol L^{-1} dos mímicos SOD (SCHWARZ, 1981; BUXTON, 1987). A formação e a eliminação de $\text{O}_2^{\bullet-}$ são acompanhadas por UV-Vis (220-290 nm) (BIELSKI, 1985). Esses recursos tornaram a radiólise de pulso uma ferramenta importante no estabelecimento dos detalhes dos mecanismos enzimáticos para todas as SODs. As principais limitações desta técnica são (i) a concentração de $\text{O}_2^{\bullet-}$ em um pulso de elétrons é baixa ($0,5$ e $50 \mu\text{mol L}^{-1}$) e (ii) é uma técnica cara, pois precisa de um acelerador e não é uma técnica de rotina laboratorial (ABREU; CABELLI, 2010). O método do citocromo c e a radiólise de pulso possuem pouca disparidade entre si e são considerados complementares para determinação da atividade SOD (POLICAR, 2016).

A modulação da atividade SOD ($\log k_{\text{cat}}$) depende de diversos fatores, como o potencial de redução centrado no metal e a natureza dos grupos substituintes das porfirinas. A alquilação dos grupos 2-piridila das 2-*N*-piridilporfirinas gera derivados catiônicos com grupos aceptores de elétrons (2-*N*-alquilpiridínio) e provoca um aumento maior que 490 mV no potencial de redução Mn(III)/Mn(II) nas MnPs: enquanto o potencial de redução da MnP não-alquilada MnT-2-PyP⁺ é de -270 mV vs. NHE, os potenciais das Mn**Talquil**-2-PyP⁵⁺ apresentam valores positivos (variando de $+220$ a $+367$ mV vs. NHE, dependendo do grupo alquila) e próximos àqueles das enzimas SOD ($+300$ mV vs. NHE) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1997; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b; 2008c; DEFREITAS-SILVA, 2008; BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 2011).

Além de fatores termodinâmicos associados à modulação do potencial de redução do sítio ativo (centro metálico redox: $\text{Cu}^{2+/+}$, $\text{Mn}^{3+/2+}$, $\text{Fe}^{3+/2+}$ ou $\text{Ni}^{3+/2+}$), as enzimas SOD possuem em sua estrutura resíduos de aminoácidos catiônicos que direcionam o $\text{O}_2^{\bullet-}$ eletrostaticamente ao metal redox ativo (MICHELSON *et al.*, 1977; YU *et al.*, 1994). A presença de cargas positivas próximas ao centro metálico nos mímicos de SOD à base de Mn(III) 2-*N*-alquilpiridinioporfirinas cumprem a mesma função de direcionamento do $\text{O}_2^{\bullet-}$, conforme evidenciado por estudos de efeito cinético salino (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a). No caso dos compostos derivados das Mn(III) 2-*N*-piridilporfirinas, a alquilação resulta no aumento da carga positiva próximo ao sítio ativo redox (Mn) (**Fig. 2.3a**) e no aumento na atividade SOD. Ao contrário da facilitação

observada nas MnPs catiônicas, nas Mn-porfirinas aniônicas o $O_2^{\bullet-}$ sofre repulsão eletrostática (**Fig. 2.3b**) resultando em modelos de SOD ineficientes ou sem atividade, mesmo em MnPs com potencial de redução Mn(III)/Mn(II) próximos ao ótimo termodinâmico e enzimático de +300 mV vs. NHE (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b).

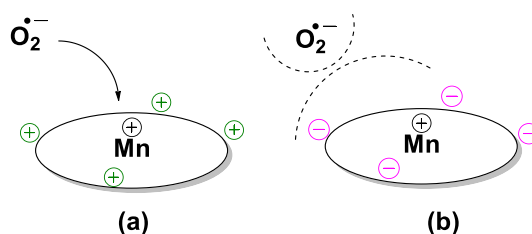


Figura 2.3 – Representação do efeito eletrostático do complexo de Mn sobre a dismutação do íon superóxido: (a) Atração eletrostática ao ânion superóxido exercida por Mn-porfirinas catiônicas; (b) Repulsão eletrostática exercida por Mn-porfirinas aniônicas.

A combinação de um potencial mais próximo aos 300 mV (vs NHE), característico das enzimas SOD, e a facilitação eletrostática do complexo catiônico fazem com que as Mn(III) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, tais como a MnTE-2-PyP⁵⁺ e a MnTnHex-2-PyP⁵⁺, apresentem atividades catalíticas SOD geralmente na faixa de log k_{cat} 7,48 – 7,79, próximas àquelas das enzimas SOD (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b; 2008c).

Embora a MnTE-2-PyP⁵⁺ e a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ tenham aproximadamente as mesmas atividades SOD intrínsecas, a maior lipofilia da MnTnHex-2-PyP⁵⁺ tem permitido o uso *in vivo* de doses de 30 a 100 vezes menores, que as doses da MnTE-2-PyP⁵⁺. Apesar da MnTnHex-2-PyP⁵⁺ ter cadeias alquílicas mais volumosas que a MnTE-2-PyP⁵⁺, a maior lipofilia da MnTnHex-2-PyP⁵⁺ facilita sua biodistribuição e acúmulo nas células e tecidos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010). A melhor eficácia *in vivo* é então associada a uma maior concentração intracelular do catalisador (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2009a).

Estudos sobre o impacto dos substituintes em MnPs derivadas das *meso*-tetraquis(*N*-piridil)porfirinas na lipofilia dos complexos mostraram que os isômeros 3-*N*-alquilpiridino (por exemplo, MnTE-3-PyP⁵⁺ e MnTnHex-3-PyP⁵⁺), mesmo sendo menos eficientes cataliticamente (log k_{cat} 6,61 – 6,69 para a série de MnTalquil-3-PyP⁵⁺), são uma ordem de magnitude mais lipofílicos que os análogos 2-*N*-alquilpiridínio. A maior lipofilia dos isômeros 3-alquilpiridino resultou em maior acúmulo em ensaios *in vivo* em

E. coli SOD-deficiente, o que resultou em uma compensação da menor atividade intrínseca e levou a uma eficiência *in vivo* semelhante aos potentes isômeros 2-alquilpiridínio (KOS *et al.*, 2009a; 2009b).

Os potenciais de redução das Mn(III) *N*-alquilpiridínioporfirinas pentacatiônicas, em destaque os isômeros 2-*N*-alquilpiridínio, são compatíveis com reações com inúmeras outras moléculas biológicas aniônicas e neutras, incluindo ERO/ERN como ONOO⁻, CO₃^{•-}, OCl⁻ (FERRER-SUETA *et al.*, 1999; 2003). Observações dessas reações em sistemas químicos modelo fomentaram investigações biológicas *in vitro* e *in vivo* que indicaram que as MnPs não são seletivas para O₂^{•-}; neste sentido, por exemplo, observou-se que MnPs que são potentes mímicos de SOD são também excelentes catalisadores de decomposição de peroxinitrito, tanto *in vitro*, quanto *in vivo* (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2009); a ampliação do escopo dos estudos das MnPs em sistemas biológicos mostrou que o mecanismo de ação é diverso e complexo (BATINIĆ-HABERLE; REBOUÇAS; SPASOJEVIĆ, 2010; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2011a; BATINIĆ-HABERLE, 2016). Assim, os compostos originalmente desenhados como mímicos de SOD passaram a incorporar modos de ação mais abrangentes, incorporando reações com várias espécies do Redoxoma celular, sendo redenominados como agentes terapêuticos redox-ativos (BATINIĆ-HABERLE; REBOUÇAS; SPASOJEVIĆ, 2016).

Além da ação direta sobre ERO/ERN típicas, comumente descritas como antioxidantes, as Mn(III) *N*-alquilpiridínioporfirinas atuam também como pró-oxidantes (PINTO *et al.*, 2016). Isto inclui, por exemplo, a oxidação de substratos orgânicos biológicos como ascorbato e glutathiona, de relevância clínica e mecanística. Estudos das MnPs em células de câncer apontaram para reação com glutathiona e outros tióis em proteínas específicas (por exemplo, a unidade p65 do fator de transcrição NF-κB envolvido em diversos processos celulares). A proposta mecanística apontou que as MnPs utilizam H₂O₂ e glutathiona para catalisar a reação de S-glutationilação de proteínas de sinalização, desencadeando apoptose celular (JARAMILLO *et al.*, 2012; 2015). Além disso, as ações das MnPs levam à inibição da atividade de componentes da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, reduzindo a produção de ATP (BATINIĆ-HABERLE; TOME, 2019). Essas reações ocorrem no tecido tumoral em proporção maior do que em tecido normal, devido a: i) células tumorais apresentarem níveis mais elevados de H₂O₂, devido à baixa expressão de peroxidases por parte de alguns tipos de câncer (TOVMASYAN *et al.*, 2015; 2018), ii) embora ainda não se conheça o mecanismo molecular envolvido, foi observado que as MnPs pentacatiônicas, como a MnTE-2-PyP⁵⁺

e **MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺**, acumulam-se até 10 vezes mais em tecido tumoral do que em tecido normal (TOVMASYAN *et al.*, 2015; 2018).

O ascorbato possui a capacidade de inibir células tumorais *via* produção de H₂O₂, porém a faixa de concentração inibitória média (IC₅₀) tumoral, que é de 1 a 20 mmol L⁻¹, só foi alcançada pelas *vias* intravenosa e intraperitoneal. A concentração plasmática de ascorbato em ratos após administração por *via* oral não excede 0,2 mM, o que acaba limitando o uso clínico (CHEN *et al.*, 2008; WELSH *et al.*, 2013). Foi observado que a combinação de ascorbato com agentes redox como MnP (TIAN; PEEHL; KNOX, 2010), quinonas (VERRAX *et al.*, 2011) ou vitamina K₃ (TAREEN *et al.*, 2008) otimizaram a formação de H₂O₂, auxiliando os efeitos anticâncer. MnP/ascorbato exógeno aumentaram o rendimento da reação de S-glutationilação de proteínas de sinalização (TOVMASYAN *et al.*, 2015; 2018). A administração de 30 µmol L⁻¹ de **MnTE-2-PyP⁵⁺** (**Fig. 2.2**), **MnTnHex-2-PyP⁵⁺** (**Fig. 2.2**) ou **MnTnHex-3-PyP⁵⁺** (**Fig. 2.2**) concomitante com ascorbato (1 mmol L⁻¹) produziu H₂O₂ *in situ* de maneira eficiente, diminuindo a viabilidade de células HTC116 (células humanas de câncer colorretal) e 4T1 (células de câncer de mama de camundongos) (YE *et al.*, 2011). Administração conjunta de ascorbato (1 mmol L⁻¹), **MnTE-2-PyP⁵⁺** (**Fig. 2.2**) ou **MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺** (**Fig. 2.2**) (5 mmol L⁻¹) com radioterapia contribuiu para produção de H₂O₂ em células 4T1 e tecido tumoral de ratos. O maior acúmulo da **MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺** nas células cancerosas (*in vitro*) e no tumor (*in vivo*) induziu a maior supressão da viabilidade celular e crescimento do tumor (TOVMASYAN *et al.*, 2018).

Por fim, um estudo publicado recentemente apontou que a **MnTE-2-PyP⁵⁺** é capaz de preservar a contratilidade de cardiomiócitos *in vitro* e também de reduzir e prevenir arritmias em coração isolado de rato e em experimentos *in vivo* em ratos Wistar. Embora tenha sido observado que a MnP não altera os níveis basais de ERO/ERN em cardiomiócitos, em situação de estresse induzido ela passa a exercer seus efeitos de cardioproteção *via* modulação de ERO/ERN. Os resultados foram bem semelhantes nos experimentos *in vivo* em ratos Wistar. Ao contrário da maioria dos antiarrítmicos clássicos, a **MnTE-2-PyP⁵⁺** conseguiu preservar contratilidade do coração *in vivo* (BARBOSA *et al.*, 2020).

2.1.2 Modelo da Ataxia-Telangiectasia

Dentre os vários modelos experimentais que as MnPs foram testadas como moduladores redox ativos, o modelo celular da Ataxia-Telangiectasia (A-T) (POLLARD *et al.*, 2009) apresentou resultados importantes para inspirar no nosso grupo o desenho de mímicos de SOD e moduladores redox à base de MnPs. Ataxia-Telangiectasia é uma patologia genética na qual os indivíduos acometidos apresentam várias complicações clínicas, sendo as mais danosas a sensibilidade à radiação e a pré-disposição do indivíduo a desenvolver câncer (BODER, 1985). No modelo experimental celular de A-T foram testados 11 compostos redox-ativos, de 4 classes distintas, incluindo Mn-salens (que são bases de Schiff *bis*-coordenadas derivadas do salicilaldeído e etilenodiamina) e aminas policíclicas de Mn, como agentes radioprotetores, tendo se destacado duas MnPs catiônicas (POLLARD *et al.*, 2009). Foi observado que as porfirinas hidrofílicas MnTM-2-PyP⁵⁺ e MnTE-2-PyP⁵⁺ não foram capazes de proteger da radiação culturas de células linfoblastoides de indivíduos com A-T, porém o análogo anfifílico MnTnHex-2-PyP⁵⁺ mostrou-se bastante ativo (POLLARD *et al.*, 2009), corroborando dados anteriores sobre a importância da lipofilia na eficiência dos moduladores redox eficientes para distúrbios do sistema nervoso central (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2009b). Incidentalmente, foi testada no mesmo estudo uma mistura comercial vendida como “MnTM-2-PyP⁵⁺”, mas que se tratava, de fato, de uma mistura de 6 compostos correlatos contendo vários graus distintos de metilação (**Fig. 2.4**), onde a Mn-porfirina pentacatiônica MnTM-2-PyP⁵⁺ era um componente minoritário e a espécie do tipo MnA₃B³⁺ (A = grupo 2-*N*-metilpiridínio e B = grupo 2-piridil) MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ era o componente majoritário da amostra (REBOUÇAS *et al.*, 2008c).

Curiosamente, esta mistura comercial apresentou atividade radioprotetora no modelo de A-T. Como foi constatado que a amostra pura da MnTM-2-PyP⁵⁺ não é radioprotetora neste modelo de A-T, a eficiência da mistura comercial deve provavelmente estar associada a uma das espécies parcialmente metiladas (POLLARD *et al.*, 2009).

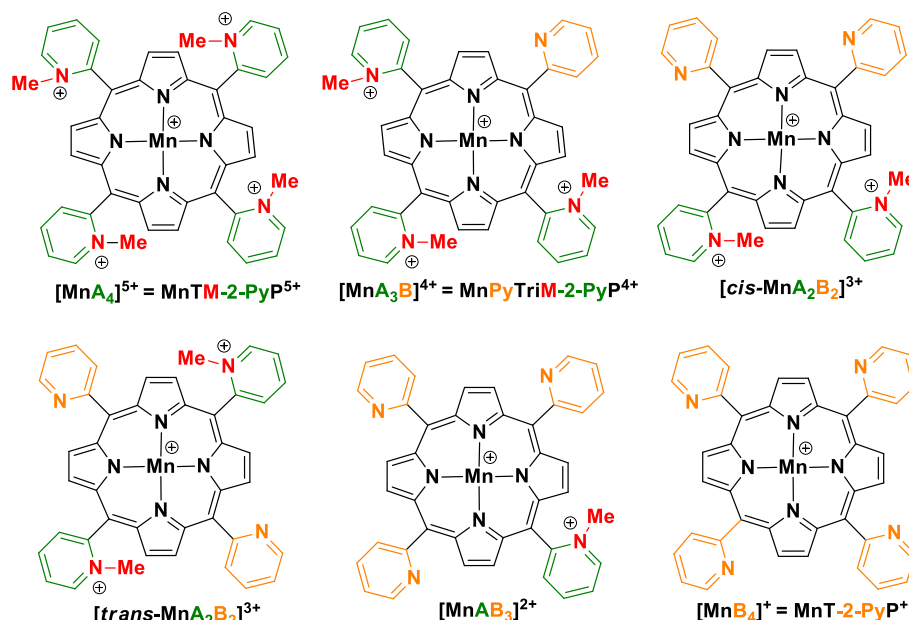


Figura 2.4 - Compostos presentes na mistura comercial vendida como “MnTM-2-PyPCL₅” e testada no modelo celular experimental de Ataxia-Telangiectasia (REBOUÇAS *et al.*, 2008; POLLARD *et al.*, 2009), onde A = grupo 2-*N*-metilpiridínio e B = grupo 2-piridil.

Apesar de os estudos não terem estabelecido qual dos componentes parcialmente alquilados da mistura comercial apresentou radioproteção no modelo de A-T (POLLARD *et al.*, 2009), especula-se que a MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ (espécie [MnA₃B]⁴⁺, **Fig. 2.4**) seja o responsável pela atividade. Enquanto a MnP sem grupos metila, MnT-2-PyP⁺ (espécie [MnB₄]⁺, **Fig. 2.4**) não possui atividade SOD (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003), as Mn-porfirinas mono e dimetiladas (espécie [MnAB₃]²⁺, *cis*-[MnA₂B₂]³⁺, e *trans*-[MnA₂B₂]³⁺; **Fig. 2.4**), além de apresentarem potencial de redução Mn(III)/Mn(II) incompatíveis com qualquer dismutação catalítica apreciável do O₂^{•-} (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), possuem poucas cargas em relação à MnTM-2-PyP⁵⁺, diminuindo também de forma bastante significativa o efeito cinético associado à facilitação eletrostática (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b). Assim, é de interesse o estudo de MnPs do tipo [MnA₃B]⁴⁺, como potenciais mimicos de SOD e agentes terapêuticos redox-ativos; esta investigação foi iniciada na UFPB na ocasião dos meus projetos de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq/UFPB) e de Mestrado (PPGQ/UFPB) (SARMENTO-NETO, 2016), cujos principais resultados aspectos são sumarizados a seguir.

A eficácia das Mn-porfirinas catiônicas em modelos de estresse oxidativo depende não apenas da atividade SOD intrínseca, mas também de lipofilia, biodisponibilidade,

biodistribuição e toxicidade (BATINIĆ-HABERLE; REBOUÇAS; SPASOJEVIĆ, 2016). Apesar de a atividade SOD dos compostos ser reduzida de maneira gradativa conforme a diminuição do grau de alquilação (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), os resultados do modelo A-T permitiram supor a atividade radioprotetora da Mn-porfirina tetracatiônica do tipo $\text{MnA}_3\text{B}^{4+}$, $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$ (**Fig. 2.4**). A menor atividade SOD da $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$ frente ao seu análogo MnA_4^{5+} , MnTM-2-PyP^{5+} , poderia ser compensada pela maior lipofilia, devido à menor carga do composto (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011), em similaridade ao que foi observado *in vivo* com os complexos de Mn(III) derivados dos isômeros 3-*N*-piridilporfirina (KOS *et al.*, 2009a, 2009b). Assim, a $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$ pode ser um modelo viável para o desenho de uma nova classe de mímicos de SOD à base de Mn-porfirinas.

2.1.3 Desenho de uma nova classe de porfirinas

A proposta inicial do desenho de uma nova classe de MnPs do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ envolvia a metilação controlada da $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$, formação e isolamento do derivado trialquilado $\text{H}_2\text{PyTriM-2-PyP}^{3+}$ e obtenção do complexo $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$ (**Fig. 2.5**), majoritário na mistura comercial de “ MnTM-2-PyP^{4+} ” (**Fig. 2.4**). Porém, a obtenção seletiva de um composto trialquilado puro por esta rota é muito improvável, pois a tendência seria a formação de uma mistura de porfirinas catiônicas parcialmente metiladas. Esta estratégia acabaria exigindo etapas de separação cromatográfica bastante laboriosas, dispendiosas e complexas (BATINIĆ-HABERLE, 1999; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008c; SARMENTO-NETO, 2016).

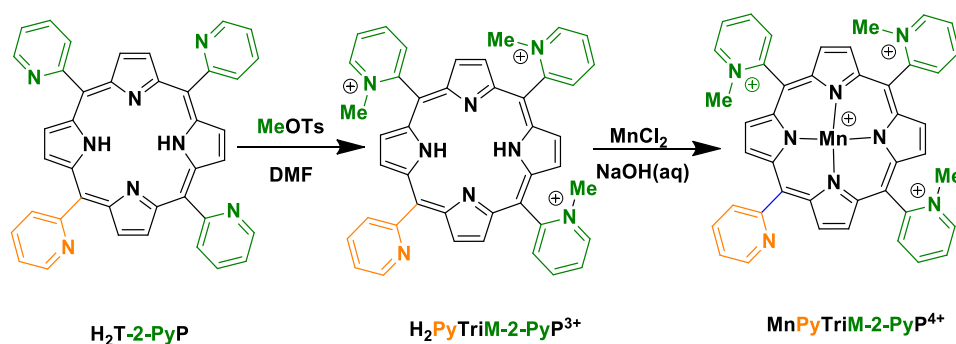


Figura 2.5 – Proposta inicial da obtenção de uma Mn-porfirina parcialmente alquilada através de uma síntese sequencial cujo reagente inicial seria a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ e o produto final a $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$.

A segunda proposta envolvia a substituição de um dos grupos piridila da porfirina padrão $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ por um grupo fenila, conforme já explorado na literatura para estudos

de intercaladores de DNA (SARI *et al.*, 1990). O resultado seria a obtenção de outra porfirina de do tipo A₃B com três grupos 2-piridila (A) e um grupo fenila (B) denominada H₂PhTri-2-PyP (**Fig. 2.6**), a qual é isolada na literatura a partir da mistura de porfirinas resultantes da reação de pirrol com 2-piridinacarboxaldeído e benzaldeído (SARI *et al.*, 1990). A derivatização desta porfirina via alquilação seguida de metalação com manganês resultaria na Mn-porfirina tetracatiônica MnPhTriM-2-PyP⁴⁺ e representaria uma estratégia de aumento da lipofilia (redução da carga global) em relação ao mímico SOD típico MnTM-2-PyP⁵⁺. Contudo, essa estratégia também foi descartada, pelo fato de a mistura dos produtos porfirínicos precursores neutros com grupos fenila e piridila ser de difícil separação cromatográfica (SARI *et al.*, 1990). O grupo fenila em porfirinas é cromatograficamente semelhante ao 2-N-piridila neutro, o que dificultaria o isolamento da porfirina de interesse H₂PhTri-2-PyP (**Fig. 2.6**). Portanto seria necessário, como indicado na literatura, cromatografia em camada delgada preparativa para separação efetiva dos compostos (SARI *et al.*, 1990).

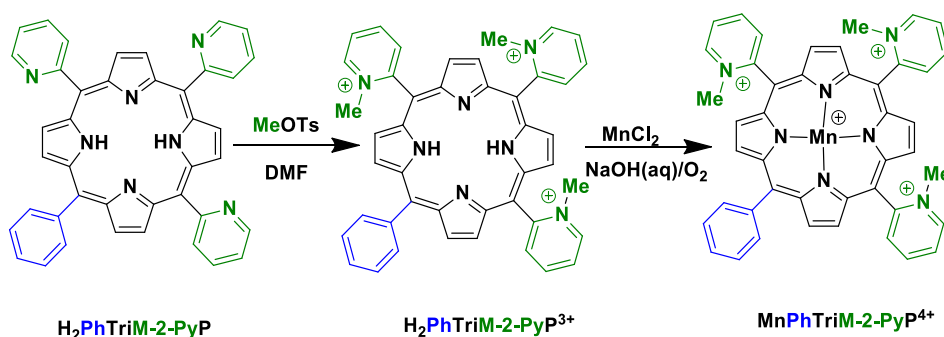


Figura 2.6 – Segunda proposta de síntese de uma porfirina do tipo A₃B para derivatização, complexação e futuros testes biológicos em modelos SOD.

A escolha de um aldeído derivado do benzaldeído contendo substituintes que permitam modificações mais rápidas e simples se tornou uma alternativa de desenho atraente. Com base nesse raciocínio, o aldeído escolhido como protótipo de desenho da classe de novos mímicos em potencial das SOD foi o 3-metoxi-4-hidroxi-benzaldeído (vanilina). A vanilina possui algumas vantagens como, por exemplo:

- i. a presença do grupo *m*-OCH₃ na vanilina leva a um substituinte *meso*-arila estruturalmente muito diferente dos grupos *meso*-2-piridila em termos estéricos de ocupação das faces α e β do anel porfirínico (acima e abaixo do plano da porfirina), o que facilitaria a separação cromatográfica das porfirinas resultantes da mistura desses aldeídos;

- ii. a presença de um grupo OH (posição *para*) funcionalizável pode ser alvo de derivatizações subsequentes (alquilação, acilação, etc.);
- iii. é um reagente de baixo custo, abundante na natureza, que possui atividade terapêutica, baixa toxicidade e é utilizado na indústria alimentícia como flavorizante (principal constituinte da baunilha) (BRENES *et al.*, 1999).

A condensação do pirrol com a mistura de 2-piridinacarboxaldeído e vanilina resulta no composto H₂VanTri-2-PyP (**Fig. 2.7**), conforme investigado durante o Mestrado (SARMENTO-NETO, 2016). A derivatização através da metilação e metalação com Mn resulta no complexo MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ como produto final. Neste contexto, a modificação prévia do aldeído vanilina com grupos alquila permitiria a obtenção de derivados mais lipofílicos (**Fig. 2.7**).

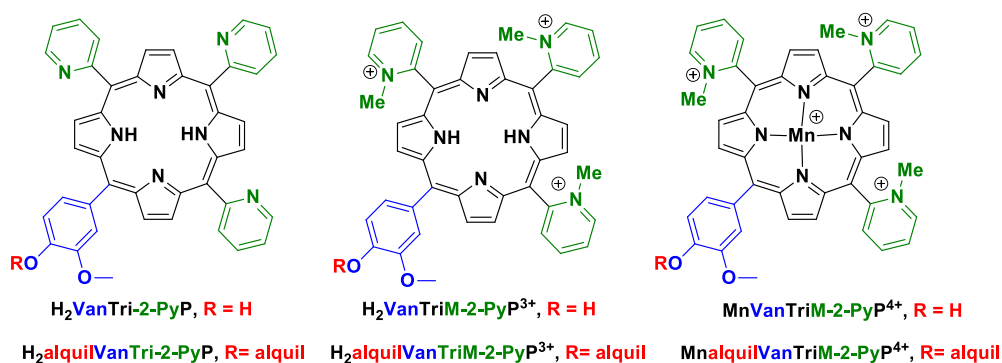


Figura 2.7 – Desenho dos precursores de uma nova classe de porfirinas que pode ser testada como mímico SOD.

O desenho desse sistema do tipo [MnA₃B]⁴⁺ pode permitir, de maneira independente, o controle da lipofilia através da modificação da vanilina e o controle das cargas através da alquilação dos grupos 2-*N*-piridilas. O centro redox-ativo de Mn(III) é mantido. As Mn(III) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas simétricas [MnA₄]⁵⁺, apesar de terem originado potentes mímicos de SOD e eficientes agentes terapêuticos redox-ativos, não possuem a flexibilidade do controle independente de cargas e lipofilia/volume em seu desenho (**Fig. 2.8**).

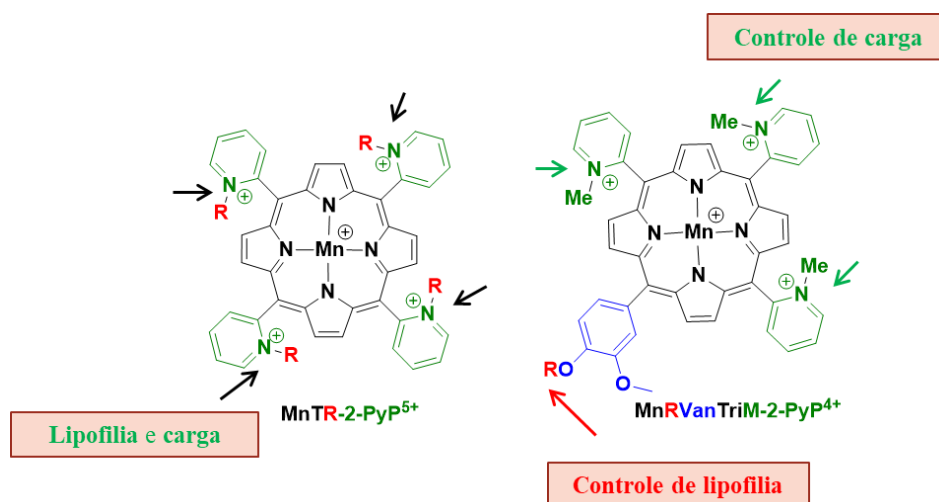


Figura 2.8 – Comparativo entre as Mn(III) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas do tipo $[\text{MnA}_4]^{5+}$ (MnTR-2-PyP^{5+}) e as Mn-porfirinas tetracatiônicas do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ ($\text{MnRVanTriM-2-PyP}^{4+}$). A classe das MnTR-2-PyP^{5+} possuem excelente atividade SOD, mas o controle de cargas/lipofilia não pode ser feito de maneira independente (seta preta). A nova classe $\text{MnRVanTriM-2-PyP}^{4+}$ deve ser inferior cataliticamente, mas a lipofilia (seta vermelha) pode ser controlada de maneira independente das cargas (seta verde).

2.1.4. Desenvolvimento das rotas de síntese das porfirinas do tipo A_3B

O desenvolvimento das rotas de síntese e obtenção das porfirinas do tipo A_3B foi iniciado durante os estudos de mestrado (SARMENTO-NETO, 2016). Foram investigadas, desenvolvidas e descritas as condições experimentais necessárias para obtenção em escala preparativa das porfirinas bases livres neutras $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ e $\text{H}_2\text{MVanTri-2-PyP}$. Elas foram caracterizadas por cromatografia em camada delgada em sílica (CCD- SiO_2), UV-vis e RMN de ^1H .

Em uma segunda etapa, a $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ e a $\text{H}_2\text{MVanTri-2-PyP}$ foram metiladas com tosilato de metila (**MeOTs**) em DMF, resultando nos derivados tricatiônicos $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$, que foram caracterizadas também por CCD- SiO_2 , UV-vis e RMN de ^1H .

A última etapa se configurou na preparação das Mn(III)-porfirinas tetracatiônicas $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ por meio da metalação em meio aquoso básico aeróbio (pH ~ 12) com cloreto de manganês(II). Após isolamento dos produtos, foram obtidos como compostos finais o cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) ($\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}\text{Cl}_4$) e o cloreto

de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (Mn**MVanTriM-2-PyP**Cl₄) (**Fig. 2.9**).

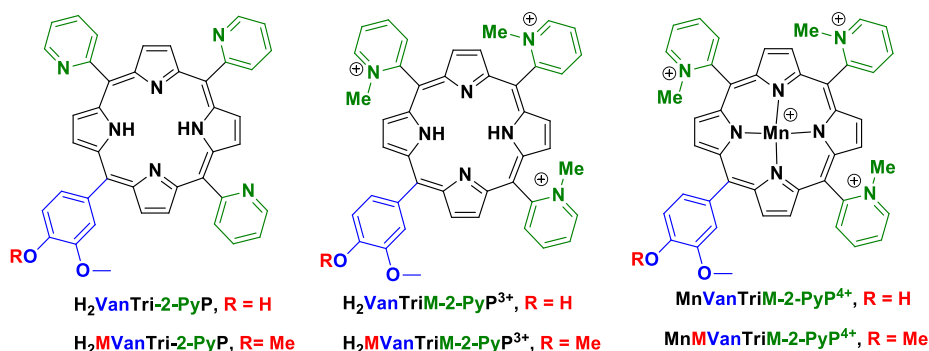


Figura 2.9 – Porfirinas e Mn-porfirinas do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ desenvolvidas no mestrado (SARMENTO-NETO, 2016).

As propriedades espectroscópicas, eletroquímicas e de lipofilia dos dois complexos do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ foram comparadas com o complexo do tipo $[\text{MnA}_4]^{5+}$ derivado das 2-*N*-alquilpiridilporfirina, Mn**TM-2-PyP**⁵⁺. Os complexos tetracatiônicos MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e Mn**MVanTriM-2-PyP**⁴⁺ foram caracterizados por CCD-SiO₂, UV-vis e os dados eletroquímicos foram obtidos por voltametria cíclica. As medidas do fator de retenção cromatográfico (R_f) em CCD-SiO₂ indicaram que os complexos da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da Mn**MVanTriM-2-PyP**⁴⁺ têm lipofilias semelhantes a análogos $[\text{MnA}_4]^{5+}$ da classe das Mn**Talquil-2-PyP**⁵⁺ (aquil = *n*-propila e *n*-butila). Isto sugere uma biodisponibilidade promissora dos compostos $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ para testes *in vitro* e *in vivo*. Os valores dos potenciais de redução Mn(III)/Mn(II) dos complexos $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ ($E_{1/2} \approx 110$ mV vs NHE) indicaram relevância para o desenvolvimento de mímicos SOD, pois estão a meio caminho dos representantes dos isômeros Mn(III) 3-*N*-alquilpiridilporfirina ($E_{1/2} = 50 - 60$ mV) e Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirina ($E_{1/2} > 219$ mV). (SARMENTO-NETO, 2016).

As atividades SOD da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da Mn**MVanTriM-2-PyP**⁴⁺ não foram determinadas durante os trabalhos do mestrado.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo expandir os conceitos inicialmente explorados no trabalho de mestrado e realizar a síntese e caracterização de uma nova classe de Mn-porfirinas catiônicas do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$, utilizando as 2-*N*-piridilporfirinas como guia para o desenvolvimento de potenciais mímicos SOD. A proposta explora a

condensação de pirrol com uma mistura de 2-piridinacarboxaldeído (A) e vanilinas ou *O*-alquiladas (B), buscando-se preparar as porfirinas neutras A_3B de partida que, após derivatização *via* *N*-metilação e metalação, darão origem a Mn-porfirinas tetracatiônicas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ (**Fig. 2.10**), análogas à $MnPyTriM-2-PyP^{4+}$ dos sistemas de Ataxia-Telangiectasia.

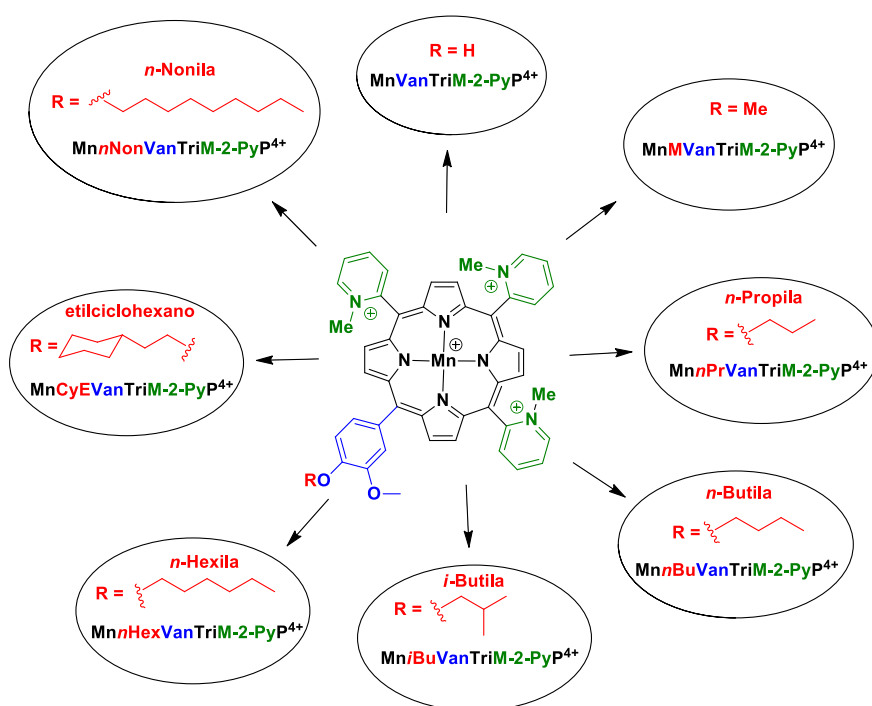


Figura 2.10 - Moléculas-alvo baseadas em uma nova classe de MnPs contendo os grupos 2-piridinacarboxaldeído e RO-vanilina. Substituintes alquilas (R) dos grupos *O*-alquilvanilinas são apresentados em destaque nos círculos.

2.2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar as porfirinas *meso*-substituídas neutras do tipo A_3B ($A = 2\text{-piridil}$ e $B = R\text{-vanilina}$; $R = H, Me, nPr, iBu, nBu, nHex, nNon, CyE$), $H_2RVanTriM-2-PyP$;
- Sintetizar derivados metilados catiônicos do tipo $[A_3B]^{3+}$ ($A = 2\text{-metilpiridínio}$ e $B = R\text{-vanilina}$), $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ ($R = Me, nPr, iBu, nBu, nHex, nNon, CyE$);
- Desenvolver a metodologia para obtenção dos complexos de Mn(III) derivados das porfirinas catiônicas $[A_3B]^{3+}$.
- Determinar e correlacionar alguns parâmetros importantes para os estudos de mímicos de SOD à base de porfirinas, tais como: potencial de redução

Mn^(III)/Mn^(II) dos complexos, atividade SOD (log k_{cat}) das Mn-porfirinas e lipofilia dos compostos (ligantes e complexos).

- e) Comparar os resultados obtidos com aqueles dos complexos do tipo [MnA₄]⁵⁺ MnTalquil-2-PyP⁵⁺.

2.3. Parte experimental

2.3.1 Reagentes, solventes e adsorventes

Os seguintes reagentes, solventes e adsorventes de grau analítico ou melhor, foram usados como recebidos (sem purificação adicional) e estão apresentados na **Tabela 2.1**.

Tabela 2.1 – Reagentes, solventes e adsorventes utilizados nos estudos descritos neste capítulo.

Reagente e solvente	Marca
Alumina neutra (Al ₂ O ₃) para CCD sem indicador de fluorescência	Merck
Sílica-gel (SiO ₂) para CCD sem indicador de fluorescência	
Sílica-gel de grau cromatográfico (60 Å, 70-230 mesh)	Sigma-Aldrich
Alumina neutra	
Alumina básica	
2-piridinacarboxaldeído 99% (2-PyCHO)	
Pirrol 98%	
Veratraldeído 98%	
Cloreto de tosilato 98% (TsCl)	
Acetato de manganês(II) tetraidratado ≥98% (Mn(OAc) ₂ ·4H ₂ O)	
Cloreto de <i>N</i> -triocilmetilamônio (Aliquat 336)	
Hexafluorofosfato de amônio ≥95% (NH ₄ PF ₆)	
<i>n</i> -Propanol 99% (<i>n</i> -PrOH)	
2-Ciclohexiletanol 99% (2-CyEtOH)	
Fosfato de sódio dibásico >99%	
Citocromo <i>c</i> de coração bovino ≥95% (cit. <i>c</i>)	
Xantina ≥99% (X)	
Xantina-oxidase (XO)	
Acetona >99%	Tedia
Clorofórmio >99% (CHCl ₃)	
Diclorometano >99% (CH ₂ Cl ₂)	
Éter etílico >99% (Et ₂ O)	
Metanol >99% (MeOH)	
<i>N,N</i> -dimetilformamida >99% (DMF)	
<i>n</i> -Butanol 98% (<i>n</i> -BuOH)	Jansen Chimica

<i>i</i> -Butanol 98% (<i>i</i> -BuOH)	Jansen Chimica
<i>n</i> -Hexanol 98% (<i>n</i> -HexOH)	
<i>n</i> -Nonanol 98% (<i>n</i> -NonOH)	
Bicarbonato de sódio 99%	Vetec
Carbonato de potássio 99%	
Cloreto de sódio 99%	
Hidróxido de sódio 99%	
Nitrato de potássio 99%	Dinâmica
<i>i</i> -Propanol 98% (<i>i</i> -PrOH)	

2.3.1.1. Tosilatos de alquila e *O*-alquilvanilina

Os tosilatos de metila (**MeOTs**), etila (**EtOTs**) e *n*-propila (**nPrOTs**) foram sintetizados conforme adaptação da literatura (GUAN *et al.*, 2010). Para o **MeOTs**, a reação se deu com a adição de 60 mL de metanol a um balão de fundo redondo contendo 100 mL de CH₂Cl₂ em banho de gelo. Após isso, adicionou-se 9,5 mL de solução aquosa concentrada de NaOH (~10 mol L⁻¹). Aguardou-se 10 min para reestabelecimento da temperatura baixa e adicionou-se lentamente 18 g (0,095 mols) de cloreto de toсила. Após 3 h de reação, o **MeOTs** foi purificado por extração líquido-líquido com HCl 2 mol L⁻¹ (2 × 10 mL) para neutralizar o sistema básico. As extrações prosseguiram com água destilada (3 × 10 mL), NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ (3 × 10 mL) e solução saturada de NaCl (2 × 10 mL). A fase orgânica final foi recolhida, tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente eliminado em evaporador rotatório (GUAN *et al.*, 2010). Os tosilatos de etila (**EtOTs**) e *n*-propila (**nPrOTs**) foram sintetizados de maneira análoga, exceto que foram utilizados 45 mL de etanol e 40 de *n*-propanol e ambas as reações duraram 6h. Após isolamento, os rendimentos obtidos foram em torno de 80-90 %. Os tosilatos de *n*-butila (**nBuOTs**) *iso*-butila (**iBuOTs**) e *n*-hexila (**nHexOTs**), *n*-nonila (**nNonOTs**), e etilcicloexano (**CyEOTs**) foram sintetizados conforme descrito na literatura (DOLPHIN *et al.*, 1973), com rendimentos em torno de 80%.

A vanilina foi submetida à *O*-alquilação através da reação com o tosilato de alquila apropriado (**ROTs**; **R** = **nPr**, **nBu**, **iBu**, **nHex**, **nNon**, **CyE**), conforme adaptação da literatura (BARTH; WERMUTH, 1976). Dissolveu-se a vanilina (4 g; 0,026 mols) em 50 mL de DMF a 120 °C. Após 10 min para reestabelecimento do equilíbrio térmico, foi adicionado K₂CO₃ (7,25 g; 0,052 mols), aguardando-se mais 10 min para a adição do respectivo **ROTs** (0,020 mols), que atuou como reagente limitante. Após cerca de 1 h de reação em DMF a 120 °C, análises por CCD-SiO₂ em hexano/acetato de etila (ver

proporções na **Tabela 2.2**) apontaram o desaparecimento da mancha do ROTs e a formação do produto *O*-alquilvanilina. Após o término da alquilação e resfriamento do sistema, foram adicionados 50 mL de éter etílico e iniciada a purificação *via* extração líquido-líquido com solução aquosa de NaOH 1 mol L⁻¹ (3 × 10 mL) para eliminar a vanilina que não reagiu. As extrações prosseguiram com HCl 1 mol L⁻¹ (2 × 10 mL), água destilada (2 × 10 mL), NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ (2 × 10 mL) e por último água destilada (até pH neutro). A fase orgânica final foi recolhida, tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente eliminado em evaporador rotatório. O produto bruto resultante da correspondente *O*-alquilvanilina estava com o aspecto amarelado, devido à contaminação com um óleo amarelo. A corresponde *O*-alquilvanilina bruta foi submetida a uma coluna cromatográfica em SiO₂ (8 cm de altura × 3 cm de diâmetro) utilizando, como eluente, misturas de hexano e acetato de etila nas proporções informadas na **Tabela 2.2**, que foram as mesmas utilizadas nas análises por CCD-SiO₂. As *O*-alquilvanilinas foram recolhidas na coluna, seguidas de um óleo amarelo não-identificado. As frações contendo as *O*-alquilvanilinas tiveram o solvente removido em evaporador rotatório e resultaram em líquidos incolores (para ***O*-alquil = *n*Pr, *n*Bu e *i*Bu**) ou sólidos brancos (para ***O*-alquil = *n*Hex, *n*Non e CyE**) e os rendimentos foram na faixa de 65–80%.

Tabela 2.2 – Eluentes utilizados nas análises por CCD-SiO₂ e purificação por coluna cromatográfica dos *O*-alquilvanilina.

<i>O</i>-alquilvanilina	Eluente
<i>O</i> - <i>n</i> -propilvanilina	Hexano:AcOEt 4:1 (v/v)
<i>O</i> - <i>n</i> -butilvanilina	
<i>O</i> - <i>i</i> -butilvanilina	
<i>O</i> - <i>n</i> -hexilvanilina	Hexano:AcOEt 9:1 (v/v)
<i>O</i> -cicloexiletoxivanilina	
<i>O</i> - <i>n</i> -nonilvanilina	Hexano:AcOEt 20:1 (v/v)

2.3.2. Análises e Equipamentos

2.3.2.1 Cromatografia de camada delgada (CCD)

As análises por CCD foram realizadas em placas preparadas em lâminas de microscópio recobertas com sílica gel ou alumina neutra grau CCD (STAHL, 1969;

TOUCHSTONE, 1978) ou placas cromatográficas comerciais de sílica-gel suportadas em alumínio (Sigma-Aldrich), com ou sem indicador de fluorescência.

2.3.2.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis

Os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-visível foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1800) com resolução de 0,5 nm, utilizando-se cubetas de quartzo ou vidro com 1 cm de caminho óptico. Foram utilizados solventes como acetona ou clorofórmio para porfirinas neutras e água ou tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8) para porfirinas catiônicas.

2.3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das porfirinas bases livres foram registrados em equipamento da marca Varian Mercury operando a 200 MHz ou 400 MHz ou em equipamento da marca Bruker BioSpin GmbH operando a 400 MHz. Tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão interno em todos os espectros. Os espectros foram registrados no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises da UFPB (LCMA-UFPB) ou no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (DQ-UFGM).

2.3.2.4 Voltametria Cíclica

As medidas dos potenciais das MnPs foram feitas por voltametria cíclica. Os potenciais foram calculados através da média dos picos anódicos e catódicos das MnPs e convertidos de $E_{1/2}$ versus Ag/AgCl para $E_{1/2}$ versus NHE (em inglês, *Normal Hydrogen Electrode*). As correntes correspondentes foram medidas em μ A (microampère) e a porfirina MnTM-2-PyP⁵⁺ utilizada como padrão externo. A conversão dos potenciais do eletrodo de referência Ag/AgCl para o eletrodo normal de hidrogênio (NHE) foi de 242 mV. O meio utilizado foi tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH = 7,8), 0,1 mol L⁻¹ de NaCl e a concentração de MnP foi 5×10^{-4} mol L⁻¹. As medidas foram feitas no Laboratório de Estudos em Química Ambiental (LEQA-UFPB).

2.3.3 Obtenção das porfirinas neutras do tipo A₃B (A = 2-piridil e B = vanilina ou O-alquilvanilina)

Em geral, as porfirinas do tipo A₃B (onde A = 2-piridil e B = vanilina ou O-alquilvanilina) foram sintetizadas a partir da condensação de pirrol e os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e R-vanilina, utilizando a relação estequiométrica de 3:1 entre os

aldeídos (**Fig. 2.11**), com base no que foi reportado anteriormente (SARMENTO-NETO, 2016).

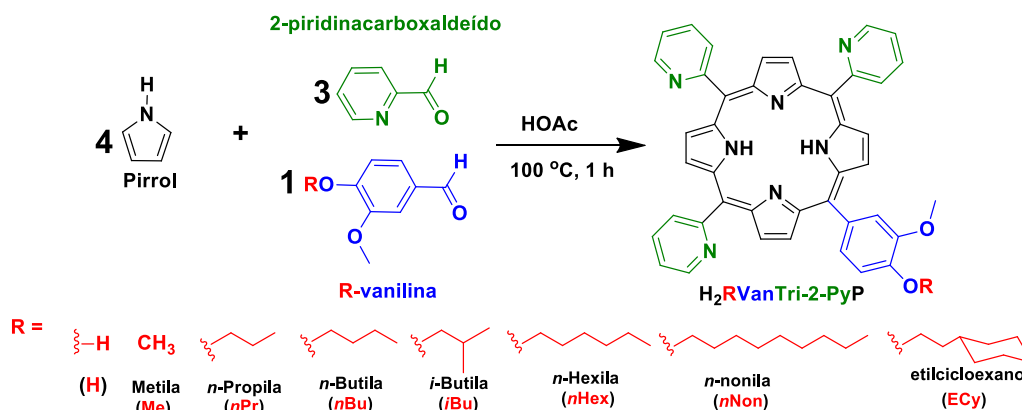


Figura 2.11 - Esquema de síntese da porfirina $H_2RVanTri-2-PyP$ a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e a respectiva **R**-vanilina.

Um balão de fundo redondo contendo 40 mL de ácido acético foi aquecido em um banho de óleo até que a temperatura do ácido se estabilizasse a 100 °C. Então, o respectivo aldeído R-vanilina (2,5 mmol) foi quantitativamente transferido para o balão com o auxílio de ácido acético, perfazendo um volume total de solvente na reação de 50 mL. Aguardou-se 5 minutos para reestabelecimento do equilíbrio térmico do sistema a 100 °C e, então, foram adicionados 713 μL (7,5 mmol) de 2-piridinacarboxaldeído e, na sequência, 700 μL (10 mmol) de pirrol, lentamente. O progresso da reação foi monitorado por CCD-SiO₂ e espectroscopia UV-vis, cujas condições particulares de análise estão especificadas nos parágrafos de cada porfirina do tipo A₃B (a seguir). Após 1 hora de reação a 100 °C, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente e diluído com 100 mL de água. Procedeu-se, então, com ajuste da acidez do meio com aproximadamente 80 mL de solução aquosa de NaOH (1 mol L⁻¹) até pH 3,2, quando se observou a formação de um precipitado escuro, que foi denominado “porfirina bruta”. O sistema foi deixado em repouso por 2 horas e o precipitado foi, então, recolhido por filtração à vácuo, lavado com água (3 $\times$ 100 mL), solução de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ (3 $\times$ 25 mL) e, por último, água novamente (3 $\times$ 100 mL). A porfirina bruta foi seca em estufa a 60 °C durante 12 horas. O procedimento descrito acima até esta etapa de obtenção da “porfirina bruta” seca é idêntico para todas as sínteses de porfirinas bases-livres A₃B neutras deste capítulo; a purificação subsequente da porfirina bruta foi ajustada para cada R-vanilina e é detalhada a seguir.

5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina; H₂VanTri-2-PyP: A “porfirina bruta” da síntese da H₂VanTri-2-PyP foi submetida à extração sólido-líquido com alíquotas de CHCl₃ (8 × 10 mL), sendo o sistema filtrado após cada extração. Os sobrenadantes foram, então, combinados e evaporados. O sólido resultante foi dissolvido em CHCl₃ (20 mL) e a esta solução foram adicionados, nesta ordem, 20 mL de acetato de etila e 15 mL de hexano, resultando em uma mistura ternária CHCl₃:AcOEt:Hex (4:4:3, v/v/v) e levando à formação de um precipitado preto, o qual foi filtrado, lavado com a mesma mistura ternária e, finalmente, o mesmo foi descartado. O sobrenadante violeta e as soluções ternárias de lavagem foram recolhidas, combinadas e os solventes removidos em evaporador rotatório. O sólido roxo resultante foi purificado em duas etapas por cromatografia em coluna de sílica-gel, sendo a eluição monitorada por CCD-SiO₂ (eluentes indicados a seguir) e espectroscopia UV-vis. Na primeira coluna de SiO₂ (23 cm de altura × 3 cm de diâmetro), utilizou-se como eluente isocrático CHCl₃:MeOH 10:1 (v/v), sendo o processo interrompido após a eluição das porfirinas; as impurezas escuras (“polipirróis”) foram deixadas na sílica e descartadas. As frações contendo a mistura de porfirinas foram agrupadas e submetidas a uma segunda coluna de SiO₂ (8 cm de altura × 3 cm de diâmetro), utilizando a mistura CHCl₃:MeCN 1:1 (v/v) como eluente. A porfirina H₂VanTri-2-PyP foi o segundo produto porfirínico a eluir nesta segunda coluna cromatográfica. As características cromatográficas e espectroscópicas foram idênticas às aquelas reportadas anteriormente (SARMENTO-NETO, 2016). Massa isolada: 40-43 mg, (rendimento: 3%).

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 1:1 v/v): R_f = 0,58.

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1 v/v): R_f = 0,10.

UV-vis (acetona): λ_{max}/nm: **415 (Soret)**, 517, 545, 586, 644.

RMN de ¹H (500 MHz; d⁶-DMSO; TMS): δ9,54 (s, 1H, OH), 9,10 (d, 3H, J_{H3H4} = 4,1 Hz H³-piridil), 9,01 (s, 2H, Hβ-pirrol), 8,84 (s, 6H, Hβ-pirrol), 8,36 (d, 3H, J_{H6H5} = 7,4 Hz H⁶-piridil), 8,28 (t, 3H, J_{H5H6} = 7,2 Hz H⁵-piridil), 7,88 (m, 3H, H⁴-piridil), 7,82 (s, H²-fenil), 7,63 (d, 1H, J_{H6H5} = 8,0 Hz, H⁶-fenil), 7,24 (d, 1H, J_{H5H6} = 8,0 Hz, H⁵-fenil) 3,93 (s, 3H, m-OCH₃), -2,94 (s, 2H, N-H).

5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina; H₂MV_{an}Tri-2-PyP: A “porfirina bruta” da síntese da H₂MV_{an}TriM-2-PyP foi dissolvida em CHCl₃ (20 mL) e submetida à precipitação seletiva de impurezas com adição de AcOEt (20 mL) e *n*-hexano (15 mL), resultando em uma mistura ternária CHCl₃:AcOEt:hexano na proporção 4:4:3 (v/v/v). O

sistema foi, então, filtrado e o sobrenadante foi recolhido e evaporado. A $H_2\text{M}\text{V}\text{anTri-2-PyP}$ foi purificada e isolada por meio de duas etapas cromatográficas. Na primeira coluna de SiO_2 (17 cm de altura $\times$ 3 cm de diâmetro), utilizou-se como eluente $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (20:1; v/v). As frações contendo porfirinas contaminadas com uma impureza marrom não-porfirínico foram agrupadas, divididas em duas porções equivalentes e submetidas a duas colunas idênticas de SiO_2 (6 cm de altura $\times$ 3 cm de diâmetro) em paralelo, utilizando $\text{CHCl}_3\text{:acetona}$ 4:1 (v/v) como eluente; a $H_2\text{M}\text{V}\text{anTri-2-PyP}$ foi o segundo produto porfirínico a eluir nestas colunas. As características cromatográficas e espectroscópicas foram idênticas às aquelas reportadas anteriormente (SARMENTO-NETO, 2016). Massa isolada: 48-54 mg (rendimento: 3%).

CCD- SiO_2 ($\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$, 1:1 v/v): $R_f = 0,62$.

CCD- SiO_2 ($\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$, 9:1 v/v): $R_f = 0,12$.

UV-vis (acetona): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

RMN de ^1H (200 MHz; d^6 -DMSO; TMS): δ 9,09 (m, 3H, H^3 -piridil), 8,97 (d, 2H, $H\beta$ -pirrólico), 8,83 (6H, $H\beta$ -pirról), 8,43-8,22 (6H, $H^{6,5}$ -piridil), 7,91 (m, 3H, H^4 -piridil), 7,88 (s, 1H, H^2 -fenil), 7,73 (d, 1H, H^6 -fenil), 7,39 (d, 1H, H^5 -fenil), 4,04 (s, 3H, $p\text{-OCH}_3$), 3,87 (s, 3H, $m\text{-OCH}_3$), -2,99 (s, 2H, N-H).

5-(3-metoxi-4-*n*-propoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina; $H_2\text{nPrV}\text{anTri-2-PyP}$: A “porfirina bruta” da síntese da $H_2\text{nPrV}\text{anTri-2-PyP}$ foi dissolvida em CHCl_3 (20 mL) e submetida à precipitação seletiva de impurezas, de forma análoga à $H_2\text{M}\text{V}\text{anTri-2-PyP}$. A $H_2\text{nPrV}\text{anTri-2-PyP}$ foi isolada após duas etapas cromatográficas em sílica-gel. Na primeira coluna de SiO_2 (17 cm de altura $\times$ 3 cm de diâmetro), utilizou-se como eluente $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (20:1, v/v). As frações contendo as porfirinas contaminadas com uma impureza marrom não-porfirínico foram agrupadas, divididas em três porções equivalentes e submetidas a três colunas de SiO_2 idênticas (6 cm de altura $\times$ 3 cm de diâmetro) em paralelo, utilizando $\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$ (6:1, v/v) como eluente; a $H_2\text{nPrV}\text{anTri-2-PyP}$ foi o segundo produto porfirínico a eluir nestas colunas. Massa isolada: 40 mg (rendimento: 3%).

CCD- SiO_2 ($\text{CH}_3\text{Cl}_3\text{:MeCN}$, 6:1 v/v): $R_f = 0,40$

CCD- SiO_2 ($\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$, 9:1 v/v): $R_f = 0,26$.

UV-vis (acetona): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

RMN de ^1H (400 MHz; d^6 -DMSO): δ 9,12 (d, 3H, H^3 -Py), 9,00 (d, 2H, $H\beta$ -pirrólico), 8,90-8,81 (6H, $H\beta$ -pirrólico), 8,37 (d, 3H, H^6 -piridil, $J_{H6H5} = 7,6$ Hz), 8,31 (t, 3H, H^5 -

piridil, $J_{H^5H^6} = 7,6$ Hz), 7,91 (t, 3H, H^4 -piridil), 7,86 (s, 1H, H^2 -fenil), 7,69 (d, 1H, $J_{H^6H^5} = 8,1$ Hz, H^6 -fenil), 7,37 (d, 1H, $J_{H^5H^6} = 8,1$ Hz, H^5 -fenil), 4,22 (t, 2H, p -OCH₂, p -OnPr), 3,92 (s, 3H, m -OCH₃), 1,96 (m, 2H, p -OCH₂-CH₂, p -OnPr) 1,16 (t, 3H, p -OCH₂-CH₂-CH₃, p -OnPr), -2,92 (s, 2H, N-H).

5-(3-metoxi-4-*n*-butoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina; H₂**nBuVanTri-2-PyP**: A purificação da H₂**nBuVanTri-2-PyP** ocorreu de maneira análoga àquela descrita para a H₂**nPrVanTri-2-PyP**.

Massa isolada da H₂**nBuVanTri-2-PyP**: 40 mg (rendimento: 3%).

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 6:1 v/v): R_f = 0,46

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1 v/v): R_f = 0,32.

UV-vis (acetona): $\lambda_{\max}/\text{nm}$: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

RMN de ¹H (200 MHz; CDCl₃; TMS): δ 9,13 (3 H, H^3 -Py), 8,98 (d, 2H, $H\beta$ -pirrólico), 8,85 (s, 4H, $H\beta$ -pirrólico), 8,82 (d, 2H, $H\beta$ -pirrólico), 8,25-8,20 (3H, H^6 -piridil), 8,12-8,06 (3H, H^5 -piridil), 7,77-7,73 (3H, H^4 -piridil), 7,77-7,68 (3H, $H^{2,5,6}$ -fenil), 4,32 (t, 2H, p -OCH₂), 3,97 (s, 3H, m -OCH₃), 2,04 (q, 2H, p -OCH₂-CH₂, p -OnBu), 1,67 (st, 2H, p -OCH₂-CH₂-CH₂, p -OnBu), 1,11 (t, 3H OCH₂-CH₂-CH₂-CH₃, p -OnBu).

5-(3-metoxi-4-*i*-butoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina; H₂**iBuVanTri-2-PyP**: A purificação da H₂**iBuVanTri-2-PyP** ocorreu de maneira análoga àquela descrita para a H₂**nPrVanTri-2-PyP**.

Massa isolada da H₂**iBuVanTri-2-PyP**: 45 mg (rendimento: 3 %).

CCD-SiO₂ (CHCl₂:MeCN, 6:1 v/v): R_f = 0,46

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1 v/v): R_f = 0,32.

UV-vis (acetona): $\lambda_{\max}/\text{nm}$: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

RMN de ¹H (200 MHz; CDCl₃; TMS): δ 9,14 (t, 3 H, H^3 -Py), 8,96 (d, 2H, $H\beta$ -pirrólico), 8,85 (s, 4H, $H\beta$ -pirrólico), 8,82 (d, 2H, $H\beta$ -pirrólico), 8,25-8,21 (3H, H^6 -piridil), 8,11-8,07 (3H, H^5 -piridil), 7,78-7,73 (3H, H^4 -piridil), 7,72-7,68 (3H, $H^{2,5,6}$ -fenil), 4,08 (d, 2H, p -OCH₂), 3,97 (s, 3H, m -OCH₃), 2,39 (m, 1H, p -OCH₂-CH, p -OiBu), 1,21 (d, 6H, p -OCH₂-CH-(CH₃)₂, p -OiBu).

5-(3-metoxi-4-*n*-hexiloxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina; H₂**nHexVanTri-2-PyP**: A “porfirina bruta” da H₂**nHexVanTri-2-PyP** foi submetida à extração sólido-líquido com 75 mL (5 × 15 mL) da mistura AcOEt:acetona na proporção 2:1 (v/v). O sistema foi filtrado, o sobrenadante foi recolhido e o solvente foi evaporado. A H₂**nHexVanTri-2-**

PyP foi purificada e isolada por meio de duas etapas cromatográficas. Na primeira coluna de SiO₂ (20 cm de altura × 3 cm de diâmetro), utilizou-se como eluente CHCl₃:MeOH (25:1, v/v). As frações contendo as porfirinas contaminadas com uma impureza marrom não-porfirínico foram agrupadas, divididas em três porções equivalentes e submetidas a três colunas idênticas de SiO₂ (6 cm de altura × 3 cm de diâmetro) em paralelo, utilizando CHCl₃:acetona (9:1, v/v) como eluente; a H₂**nHexVanTri**-2-PyP foi o segundo produto porfirínico a eluir nestas colunas.

Massa isolada da H₂**nHexVanTri**-2-PyP: 30 mg (rendimento: 2%).

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1 v/v): R_f = 0,55.

UV-vis (acetona): λ_{max}/nm: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

RMN de ¹H (400 MHz; d⁶-DMSO): δ 9,08 (d, 3 H, H³-Py), 8,96 (d, 2H, Hβ-pirrólico), 8,87-8,78 (m, 6H, Hβ-pirrólico), 8,34 (d, 3H, H⁶-piridil, J_{H6H5} = 7,6 Hz), 8,27 (t, 3H, H⁵-piridil, J_{H5H6} = 7,6 Hz), 7,87 (t, 3H, H⁴-piridil), 7,82 (s, 1H, H²-fenil), 7,72 (d, 1H, H⁶-fenil, J_{H6H5} = 8,1 Hz), 7,35 (d, 1H, H⁵-fenil, J_{H5H6} = 8,1 Hz), 4,22 (t, 2H, p-OCH₂), 3,87 (s, 3H, m-OCH₃), 1,88 (m, 2H, p-OCH₂-CH₂, p-OnHex), 1,60-1,32 (6H, p-OCH₂-CH₂-(CH₂)₃, p-OnHex), 0,94 (t, 3H, OCH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃, p-OnHex), -2,97 (s, 2H, N-H).

5-(3-metoxi-4-n-noniloxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂**nNonVanTri**-2-PyP): A “porfirina bruta” da H₂**nNonVanTri**-2-PyP foi submetida à extração sólido-líquido com AcOEt (5 × 15 mL). O sistema foi filtrado, o sobrenadante foi recolhido e o solvente foi evaporado. A H₂**nNonVanTri**-2-PyP foi purificada e isolada por meio de duas etapas cromatográficas. Na primeira coluna de SiO₂ (20 cm de altura × 3 cm de diâmetro), utilizou-se como eluente CHCl₃:MeOH (30:1, v/v). As frações contendo as porfirinas contaminadas com uma impureza marrom não-porfirínica foram agrupadas, divididas em três porções equivalentes e submetidas a três colunas de SiO₂ idênticas (8 cm de altura × 3 cm de diâmetro) em paralelo, utilizando CHCl₃:acetona (9:1, v/v) como eluente; a H₂**nNonVanTri**-2-PyP foi o segundo produto porfirínico a eluir nestas colunas. Massa isolada correspondente à H₂**nNonVanTri**-2-PyP: 20 mg (rendimento: 1%).

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1 v/v): R_f = 0,81.

UV-vis (acetona): λ_{max}/nm: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

RMN de ¹H (200 MHz; d⁶-DMSO; TMS): δ 9,10 (d, 3 H, H³-Py), 8,97 (d, 2H, Hβ-pirrólico), 8,88-8,78 (6H, Hβ-pirrólico), 8,40-8,21 (6H, H^{6,5}-piridil), 7,92 (3H, H⁴-piridil), 7,85 (s, 1H, H²-fenil), 7,65 (d, 1H, H⁶-fenil), 7,32 (d, 1H, H⁵-fenil), 4,20 (t, 2H, p-OCH₂), 3,90 (s, 3H, m-OCH₃), 1,87 (m, 2H, p-OCH₂-CH₂, p-OnNon), 1,60-1,12 (14H,

p -OCH₂-CH₂-(CH₂)₆, p -OnNon), 0,89 (t, 3H, p -OCH₂-CH₂-(CH₂)₆-CH₃, p -OnNon), – 2,95 (s, 2H, N-H).

5-(3-metoxi-4-cicloexiletoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂CyEVanTri-2-PyP): A H₂CyEVanTri-2-PyP foi purificada de maneira análoga àquela descrita para a H₂nHexVanTri-2-PyP.

Massa correspondente à H₂CyEVanTri-2-PyP: 50 mg (rendimento: 3 %).

UV-vis (acetona): λ_{max} /nm: **415 (Soret)**, 511, 545, 588, 644.

CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1 v/v): R_f = 0,67.

2.3.4 Obtenção das porfirinas catiônicas

De um modo geral, as porfirinas catiônicas H₂RVanTriM-2-PyP³⁺ foram obtidas através da alquilação dos grupos 2-piridila com MeOTs (**Fig. 2.12**).

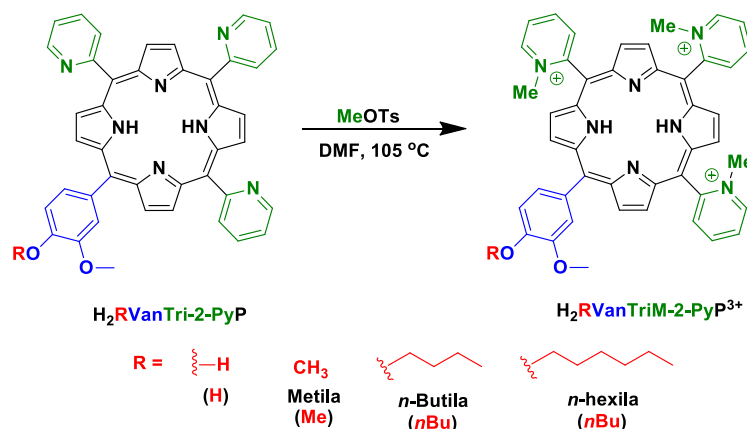


Figura 2.12 – Esquema de *N*-metilação das porfirinas neutras H₂RVanTri-2-PyP com tosilato de metila e obtenção das porfirinas catiônicas H₂RVanTriM-2-PyP³⁺ (R= H, Me, nBut, nHex).

A um balão de fundo redondo foram adicionados 30,0 mg (em torno de 0,03 mmol para cada porfirina) da correspondente porfirina neutra H₂VanTri-2-PyP ou H₂RVanTri-2-PyP (R= **Me**, **nBu**) e 3,0 mL de DMF. O sistema foi aquecido em um banho de óleo a 105 °C e, após 5 minutos, foi adicionado um excesso de MeOTs (~4,5 mmol), de modo que relação molar tosilato:porfirina fosse de 150:1. O progresso de cada reação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis utilizando H₂O como solvente. Após 1 hora de reação a 105°C, a mistura de reação foi resfriada e ao sistema se adicionou Et₂O (5 mL), levando à precipitação de um material de aspecto pastoso que se aderiu às paredes do balão; o solvente foi eliminado e o material viscoso foi lavado mais duas vezes com porções de 5 mL de Et₂O. Após

eliminação do solvente, o material resultante foi dissolvido em H₂O e a porfirina foi precipitada na forma de sal de PF₆⁻ com adição de uma solução aquosa de NH₄PF₆ (3 mol L⁻¹). O sólido foi separado por filtração em funil de placa sinterizada, lavado com a mistura de Et₂O:iPrOH (9:1 v/v) e secado em estufa a 50 °C. A porfirina foi resfriada e imediatamente dissolvida em acetona. A solução resultante foi filtrada em funil de placa sinterizada e a correspondente porfirina tricatiônica H₂**RVanTriM-2-PyP**³⁺ foi imediatamente precipitada na forma de sal de Cl⁻ com adição gota a gota de Aliquat 336 (cloreto de *N*-trioctilmetilamônio). O sólido resultante foi lavado com acetona, secado em estufa a 50 °C por 2 horas. O procedimento de metátese foi repetido, com o objetivo de garantir a pureza de cada porfirina catiônica. Após a conclusão das etapas de metátese, o produto correspondente de cada porfirina foi transferido para um dessecador.

Cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina;
(H₂**VanTriM-2-PyP**Cl₃): Massa isolada: 29 mg (rendimento: 90 %).

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,47.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat): NaOH (aq, 1 mol L⁻¹):MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,65.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε/L mol⁻¹ cm⁻¹): 264 (4,28), **417 (Soret; 5,29)**, 517 (4,21), 583 (3,85), 636 (3,22).

RMN de ¹H (500 MHz; d⁶-DMSO; TMS): δ 9,87 (s, 1H, OH), 9,73 (d largo, 3H, H³-Piridil), 9,27-9,10 (m, 6H, Hβ-pirrol), 9,10-9,01 (m, 5H, H⁶-piridil + Hβ-pirrol) 9,01-8,82 (m, 3H, H⁵-piridil) 8,74 (t, 3H, H⁴-piridil), 7,90-7,20 (m, H^{2,5,6}-fenil), 4,01-4,24 (m, 9H, Me-piridil), 3,93 (s, 3H, *m*-OCH₃), -2,83 (s, 2H, N-H).

Cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina
(H₂**MVanTriM-2-PyP**Cl₃): Massa isolada: 32 mg (rendimento: 95 %).

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,47.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):NaOH (aq, 1 mol L⁻¹):MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,58.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε/L mol⁻¹ cm⁻¹): H₂O: 264 (4,28), **417 (Soret; 5,23)**, 517 (4,17), 583 (3,83), 635 (3,29).

RMN de ¹H (500 MHz; d⁶-DMSO; TMS): δ 9,73 (d largo, 3H, H³-Piridil), 9,25-9,10 (m, 6H, Hβ-pirrol), 9,10-9,01 (5H, H⁶-piridil + Hβ-pirrol) 9,01-8,82 (m, 3H, H⁵-piridil) 8,74 (t, 3H, H⁴-piridil), 7,90-7,65 (m, H^{2,5,6}-fenil), 4,24-4,01 (m, 9H, Me-piridil), 3,93 (s, 3H, *m*-OCH₃), -2,85 (s, 2H, N-H).

Cloreto de 5-(3-metoxi-4-*n*-butoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina (**H₂nBuVanTriM-2-PyP**Cl₃): Massa isolada: 30 mg (rendimento: 85 %)

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,56.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (intensidade relativa): H₂O: **417 (1)**, 517 (0,08), 583 (0,038), 635 (0,009).

RMN de ¹H (500 MHz; *d*⁶-DMSO; TMS): δ 9,70 (d largo, 3H, *H*³-Piridil), 9,28-9,12 (m, 6H, *H*β-pirrol), 9,12-8,97 (5H, *H*⁶-piridil + *H*β-pirrol) 8,97-8,81 (m, 3H, *H*⁵-piridil) 8,74 (t, 3H, *H*⁴-piridil), 7,55-6,99 (m, *H*^{2,5,6}-fenil), 4,28 (t, 2H, *p*-OCH₂), 4,24-4,01 (m, 9H, Me-piridil), 3,91 (s, 3H, *m*-OCH₃), 1,89 (q, 2H, *p*-OCH₂CH₂, *p*-OnBu), 1,59 (2H, *p*-OCH₂CH₂CH₂, *p*-OnBu), 1,11 (t, 3H OCH₂CH₂CH₂CH₃, *p*-OnBu), -2,85 (s, 2H, N-*H*).

Cloreto de 5-(3-metoxi-4-*n*-hexoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina (**H₂nHexVanTriM-2-PyP**Cl₃): Massa isolada: 13 mg (rendimento: 80%).

A **H₂nHexVanTriM-2-PyP**Cl₃ foi sintetizada e purificada de modo análogo às outras porfirinas catiônicas do tipo [A₃B]³⁺, exceto que foram utilizados 16 mg (0,018 mmol) de **H₂nHexVanTri-2-PyP** e 400 μL (2,7 mmol) de **MeOTs**.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,65.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (intensidade relativa): H₂O: **417 (1)**, 517 (0,09), 583 (0,040), 636 (0,010).

2.3.5 Obtenção das porfirinas de Mn(III)

2.3.5.1 *Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomangans(III) (MnVanTriM-2-PyP*Cl₄)

A **MnVanTriM-2-PyP**Cl₄ foi sintetizada utilizando um procedimento adaptado dos complexos de Mn(III) das *N*-alquilpiridilporfirinas do tipo [MnA₄]⁵⁺ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998). Dissolveram-se 10 mg de **H₂VanTriM-2-PyP**Cl₃ (0,015 mmol) em 1 mL de solução aquosa de NaOH (pH 12,5) e adicionaram-se 46,7 mg de MnCl₂·4H₂O (0,236 mmol), sob agitação, em meio aeróbio (ar atmosférico) à temperatura ambiente (**Fig. 2.13**).

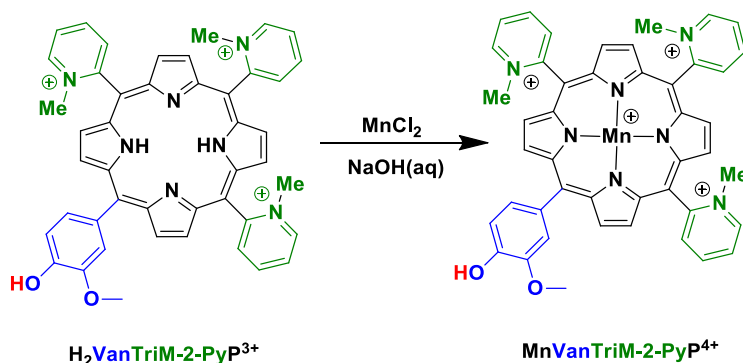


Figura 2.13 - Esquema de síntese da Mn-porfirina catiônica MnVanTriM-2-PyPCL₄.

O progresso da reação de metalação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 15 min à temperatura ambiente, o sistema foi aquecido, sob agitação, à ~70 °C por 45 min para que a reação se completasse. O sistema foi resfriado até a temperatura ambiente e filtrado à gravidade (filtração simples) em placa sinterizada. A MnP foi, então, precipitada do sobrenadante na forma de sal de PF₆⁻ com adição gota a gota de uma solução aquosa de NH₄PF₆ (2 mol L⁻¹). O sólido foi seprado por filtração, lavado com uma mistura de Et₂O:iPrOH (9:1 v/v) e secado em estufa a 60 °C. O sólido resultante foi, então, dissolvido em acetona e a Mn-porfirina foi precipitada na forma de Cl⁻ com adição gota a gota de Aliquat 336. O sólido resultante foi lavado com acetona, secado em estufa a 50 °C por 4 horas e transferido para um dessecador. Massa isolada da MnVanTriM-2-PyPCL₄: 30 mg (rendimento: 93 %).

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,13.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε/L mol⁻¹ cm⁻¹): 369 (4,58), **459 (Soret; 4,91)**, 559 (4,00), 773 (3,16).

2.3.5.2 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomangânês(III) (MnMVanTriM-2-PyPCL₄)

A obtenção da MnMVanTriM-2-PyPCL₄ foi realizada através de duas rotas distintas, denominadas Rota 1 (A ou B) e Rota 2.

Rota 1A: Nesta Rota, a MnMVanTriM-2-PyPCL₄ foi obtida por meio da metalação da respectiva base-livre catiônica H₂MVnTriM-2-PyPCL₃, em metodologia análoga àquela descrita para a MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (Seção 2.3.5.1), exceto que a base-livre catiônica H₂MVnTriM-2-PyP³⁺ foi utilizada ao invés da H₂MVnTriM-2-PyP³⁺ (**Fig. 2.14**).

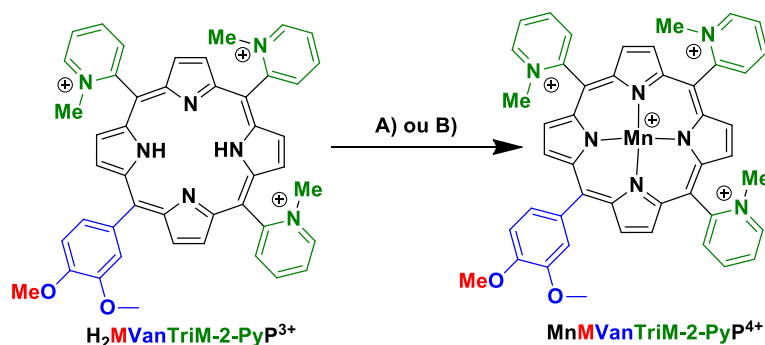


Figura 2.14 - Síntese da Mn-porfirina catiônica MnMVanTriM-2-PyPCL₄ pela Rota 1. Rota 1A: metalação com MnCl₂ em NaOH(aq) pH 12,5. Rota 1B: metalação com Mn(OAc)₂ em refluxo de EtOH.

Rota 1B: A MnMVanTriM-2-PyPCL₄ foi obtida por meio da metalação da respectiva base-livre catiônica H₂MVanTriM-2-PyPCL₃ em refluxo de etanol, em uma adaptação do método do clorofórmio/metanol (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994) (**Fig. 2.14**). Dissolveu-se 30,0 mg (0,036 mmol) da H₂MVanTriM-2-PyPCL₃ em 2 mL de etanol e adicionaram-se 180 mg (0,72 mmol) de Mn(AcO)₂·4H₂O. O sistema foi levado a refluxo sob agitação magnética e o progresso da reação de metalação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 12 horas de refluxo, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente, o etanol foi removido em evaporador rotatório e o sólido resultante foi seco *overnight* em estufa a 50 °C. Este material foi dissolvido em água e a MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ foi isolada e purificada por meio de metáteses com NH₄PF₆ em água e Cl⁻ (Aliquat 336) em acetona de maneira análoga àquela descrita para a purificação das bases-livres catiônicas. Massa de MnMVanTriM-2-PyPCL₄ isolada: 30,1 mg (rendimento: 91 %).

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,13.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε/L mol⁻¹ cm⁻¹): 369 (4,40), **459 (4,79)**, 559 (3,82), 772 (3,15).

Rota 2: A MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ foi obtida em duas etapas *via* metalação da H₂VanTri-2-PyP com acetato de manganês(II) tetraidratado, seguida de *N*-metilação dos grupos 2-piridila da MnMVanTri-2-PyP⁺ com MeOTs (**Fig. 2.15**).

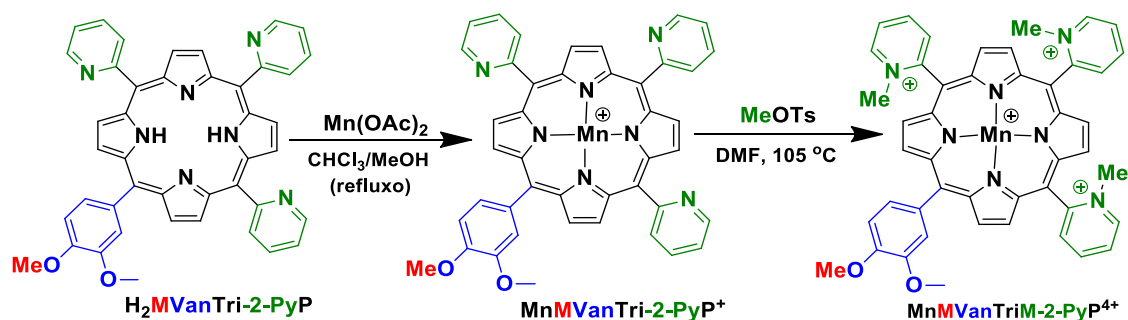


Figura 2.15 - Esquema de síntese da Mn-porfirina tetracatiônica MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ pela Rota 2.

Em uma primeira etapa, a MnMVanTri-2-PyP⁺ foi preparada pelo método do clorofórmio/metanol (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). A uma solução de 30 mg (0,044 mmol) de H₂MVanTri-2-PyP em 2 mL de clorofórmio sob refluxo e agitação magnética, adicionaram-se 2 mL de uma solução metanólica de 115,7 mg (0,44 mmol) de Mn(OAc)₂·4H₂O. A reação foi monitorada por espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível e CCD-Al₂O₃ (CHCl₃:MeOH, 9:1 v/v). Após 12 h de refluxo, o solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o sólido resultante foi purificado por cromatografia em coluna de alumina neutra (atividade Brockman I, 6 cm de altura × 2,0 cm de diâmetro) usando CHCl₃:MeCN (1:1, v/v) como eluente. A Mn-porfirina foi coletada como uma fração castanho-escuro após eluição de um subproduto de cor verde. A fração de interesse foi levada a um evaporador rotatório, o solvente eliminado e o sólido resultante foi seco em estufa a 65 °C por 2 horas. O sólido resultante foi dissolvido em 80 mL de água quente (~90 °C). Após ajuste do pH da solução aquosa para 7,0 com ~4 µL de uma solução aquosa de NaOH (1 mol L⁻¹), foram adicionados lentamente 80 mL de uma solução aquosa de NaCl (2 mol L⁻¹), sendo observada a formação de um precipitado. A suspensão foi deixada em repouso ao abrigo da luz por 12 h para finalizar a precipitação da MnP na forma cloreto. A suspensão foi filtrada, o sólido foi redissolvido em 40 mL de água quente (~90 °C) e a solução foi tratada novamente com 40 mL de NaCl (2 mol L⁻¹). O sólido resultante da reprecipitação foi lavado com água e seco em estufa a 60 °C *overnight*. Posteriormente, o sólido foi solubilizado em uma mistura de CH₂Cl₂:MeOH (9:1 v/v). A solução foi filtrada em Celite e o filtrado foi levado à secar em evaporador rotatório. O sólido resultante foi seco em estufa a 60 °C por 24 h, obtendo-se 28 mg da MnMVanTri-2-PyP⁺Cl (rendimento: 90 %).

Numa segunda etapa, a MnMVanTri-2-PyP⁺Cl foi alquilada com MeOTs de maneira análoga à base livres catiônica (Seção 2.3.4), exceto que foram utilizados 10 mg

(0,013 mmol) de Mn**MV**anTri-2-PyPcl dissolvidos em 1 mL de DMF aquecida à 100°C e adicionados 296 µL de MeOTs (1,96 mmol). A purificação da Mn**MV**anTriM-2-PyP⁴⁺ foi idêntica àquela descrita para as bases-livres catiônicas, *via* metátese OTs⁻/PF₆⁻/Cl⁻. O produto apresentou as mesmas características cromatográficas e espectroscópicas da Mn**MV**anTriM-2-PyP⁴⁺ isolada pela Rota 1 (1A ou 1B).

2.3.5.3 Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-*n*-propoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomangans(III) (Mnn**Pr**VanTriM-2-PyPcl₄)

A Mnn**Pr**VanTriM-2-PyP⁴⁺ foi obtida de pela rota 2 (**Fig. 2.16**), de maneira análoga à obtenção da Mn**MV**anTriM-2-PyP³⁺ (**Fig. 2.15**).

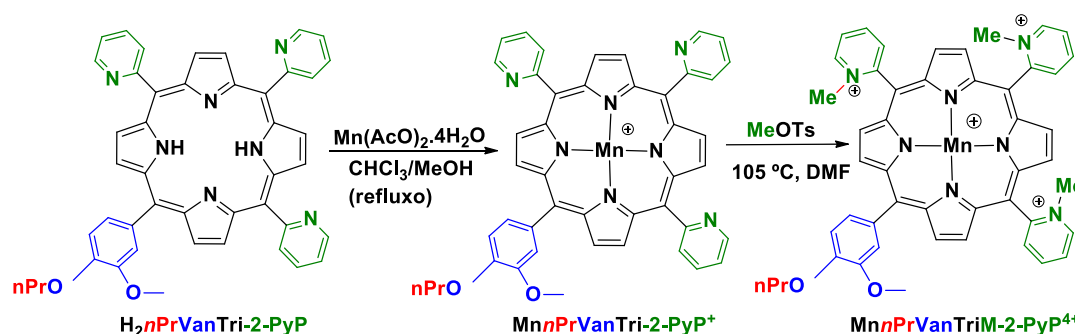


Figura 2.16 - Esquema de síntese da Mn-porfirina tetracatiônica Mnn**Pr**VanTriM-2-PyP⁴⁺ pela Rota 2.

Numa primeira etapa, 30 mg (0,043 mmol) de **H₂nPrVanTri-2-PyP** foram complexados com 115 mg (0,43 mmol) de **Mn(AcO)₂·4H₂O** para obtenção do intermediário **MnnPrVanTri-2-PyPcl**. Massa de **MnnPrVanTri-2-PyPcl** isolada: 30 mg (rendimento: 94 %).

CCD-Al₂O₃ (CHCl₃:MeCN, 4:1, v/v): R_f = 0,21

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (intensidade relativa): 376 (0,53), 397 (0,50), **465 (1,00)**, 559 (0,12)

Numa segunda etapa, 25 mg (0,033 mmol) de **MnnPrVanTri-2-PyP⁺** foram *N*-metilados 755 µL (5 mmol) de **Mn(AcO)₂·4H₂O** para obtenção do produto de interesse **MnnPrVanTriM-2-PyPcl₄**. Massa de **MnnPrVanTriM-2-PyPcl₄** isolada: 23 mg (rendimento: 87%).

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,42

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (intensidade relativa): 367 (0,45), 416, **459 (1,00)**, 559 (0,16)

2.3.5.4 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hexiloxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (*MnnHexVanTriM-2-PyP*Cl₄)

A obtenção da *MnnHexVanTriM-2-PyP*Cl₄ foi realizada através de duas rotas distintas denominadas Rota 1A e Rota 2.

Rota 1A: A *MnnHexVanTriM-2-PyP*Cl₄ foi obtida por meio da metalação da *H₂nHexVanTriM-2-PyP*Cl₃, de maneira análoga àquela descrita para a *MnVanTriM-2-PyP*⁴⁺ (Seção 2.3.5.1) e *MnMVanTriM-2-PyP*⁴⁺ (Seção 2.3.5.2), exceto que a base-livre catiônica *H₂nHexVanTriM-2-PyP*³⁺ foi utilizada (**Fig. 2.17**).

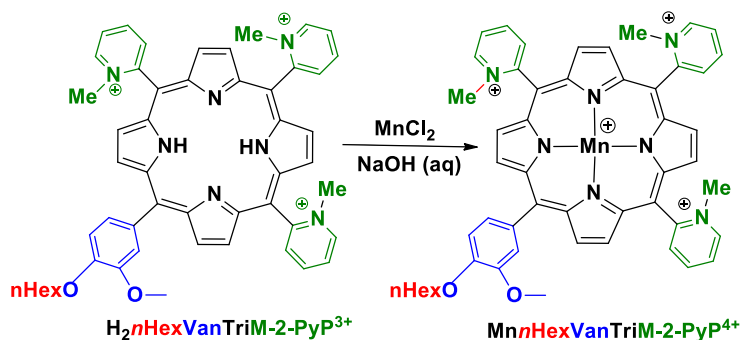


Figura 2.17 - Esquema geral de síntese da Mn-porfirina catiônica *MnnHexVanTriM-2-PyP*Cl₄ pela Rota 1A.

Na Rota 1A, a metalação de 8 mg (0,009 mmol) de *H₂nHexVanTriM-2-PyP*Cl₃ foi investigada utilizando-se 25 mg de cloreto de manganês(II) (**Fig. 2.17**). A purificação também foi realizada *via* metátese.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): $R_f = 0,58$.

UV-vis (H₂O): λ_{max} /nm (intensidade relativa): 369 (0,43), **459 (1)**, 559 (0,10), 773 (0,01).

Rota 2: A segunda rota consistiu na metalação da porfirina neutra *H₂nHexVanTri-2-PyP* com acetato $\text{Mn}(\text{AcO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, obtenção do intermediário *MnnHexVanTri-2-PyP*Cl e alquilação com MeOTs para obtenção da *MnnHexVanTriM-2-PyP*⁴⁺ (**Fig. 2.18**).

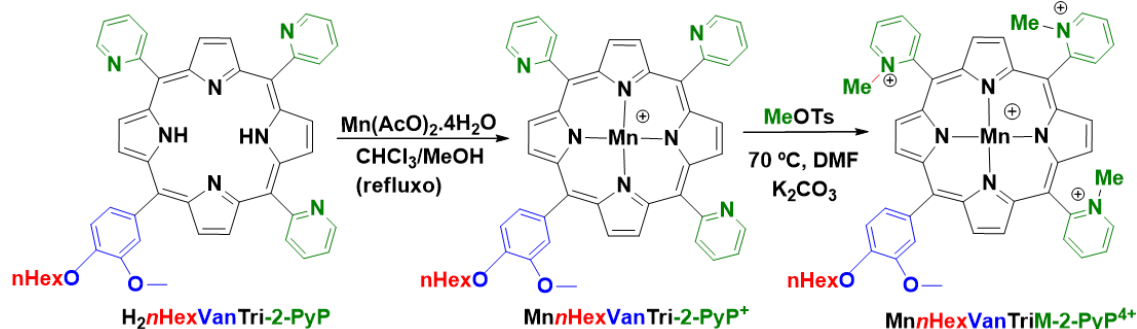


Figura 2.18 - Esquema de síntese da Mn-porfirina tetracatiônica **MnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺** pela Rota 2.

A **MnHexVanTri-2-PyP** foi obtida pelo método do clorofórmio/metanol (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). A síntese da **MnHexVanTri-2-PyP** ocorreu de maneira análoga à **MnMVanTriM-2-PyP⁺** (Rota 2; seção 2.3.5.2), exceto que foram utilizados 22 mg (0,030 mmol) de **H₂nHexVanTri-2-PyP** e 145 mg de **Mn(OAc)₂·4H₂O** (0,30 mmol). A reação foi monitorada por UV-vis em água e **CCD-Al₂O₃** (**CHCl₃:MeCN**, 4:1 v/v). Após 5 h de refluxo, a reação foi finalizada e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o sólido resultante foi purificado por cromatografia em coluna de alumina neutra (atividade Brockman I, 2,0 cm de diâmetro x 10 cm de altura) usando **CHCl₃:MeCN** (4:1, v/v) como eluente. A **MnP** foi coletada como uma fração castanho-escuro após eluição de resquícios da base-livre precursora **H₂nHexVanTri-2-PyP**. A fração de interesse foi levada a um evaporador rotatório, o solvente eliminado e sólido resultante foi seco em estufa a 65 °C por 2 horas. O sólido resultante foi dissolvido em 40 mL de água quente (~90 °C), a mistura foi filtrada em funil de placa sinterizada para eliminar compostos formados através da hidrólise do sal de manganês sua hidrólise. Após esperar o filtrado chegar à temperatura ambiente, o pH da solução aquosa foi ajustado de 5,8 para 7,0 com ~8 µL de uma solução de **NaOH(aq)** (1 mol L⁻¹). Após isso foram adicionados lentamente 25 mL de uma solução de **NaCl(aq)** (4 mol L⁻¹), sendo observada a formação de um precipitado. A suspensão foi deixada em repouso ao abrigo da luz por 12 h para finalizar a precipitação da Mn-porfirina na forma cloreto. O processo de dissolução em água e tratamento com **NaCl** foi repetido. O sólido resultante da reprecipitação foi seco em estufa a 60 °C por 3 h. Posteriormente, o sólido foi solubilizado em uma mistura de **CH₂Cl₂:MeOH** (10:1 v/v). A solução foi filtrada em Celite e o filtrado foi levado à secar em evaporador rotatório. O sólido resultante foi seco em estufa a 60 °C por 24 h, obtendo-se 19 mg da **MnHexVanTri-2-PyP** (rendimento: 80 %).

CCD-Al₂O₃ (**CHCl₃:MeCN**, 1:1 v/v): **R_f** = 0,35.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,88.

UV-vis (H₂O): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\log \epsilon/\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$): 376, 398, **465 (Soret)**, 559, 773.

A seguir, a **MnnHexVanTri-2-PyPCL** foi alquilada com MeOTs de maneira análoga às outras porfirinas catiônicas deste trabalho (Rota 2, **Seções 2.3.4 e 2.3.5**), exceto que foram utilizados 19 mg (0,0237 mmol) de **MnnHexVanTri-2-PyPCL** dissolvidos em 1,9 mL de DMF e adição de 536,5 μL de MeOTs (3,55 mmol). O produto apresentou as mesmas características cromatográficas e espectroscópicas da **MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺** isolada pela Rota 1.

2.3.6 Estudos iniciais da acidez das porfirinas catiônicas do tipo [A₃B]³⁺

As soluções estoques de H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e a H₂**MVanTriM-2-PyP³⁺** foram preparadas em água na concentração de aprox. 1 mmol L⁻¹ e diluídas para concentrações da ordem de 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para as soluções de trabalho. Inicialmente foram registrados espectros em H₂O e em soluções de HCl nas concentrações de 0,1 e 1,0 mol L⁻¹ (ver espectros da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ no **APÊNDICE B**).

Foram feitos testes mais detalhados com a H₂**MVanTriM-2-PyP³⁺**. A partir da solução estoque (~1 mmol L⁻¹), foram retiradas alíquotas de 15 μL da solução estoque, diluídas em balões volumétricos contendo 5 mL o HCl na faixa de 0,1–1 mol L⁻¹, abrangendo o intervalo de 0,1 mol L⁻¹. A concentração final da H₂**MVanTriM-2-PyP³⁺** foi em torno de 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Foram registrados espectros UV-vis de cada solução de HCl preparada. A partir dos espectros registrados, uma estimativa rudimentar do valor de pK_{a3} da H₂**MVanTriM-2-PyP³⁺** foi realizada a partir dos dados espectrofotométricos em 417 nm, utilizando-se o método gráfico de Benesi-Hildebrand (**APÊNDICE B**) (BENESI; HILDEBRAND, 1949; RAMETTE, 1967).

2.3.7 Determinação da atividade SOD das MnPs usando o método do citocromo c

As soluções estoques das MnPs utilizadas nesse ensaio foram preparadas em tampão fosfato (0,05 mol L⁻¹, pH 7,82) na concentração de aprox. 1 mmol L⁻¹ e diluídas para concentrações da ordem de 5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para as soluções de trabalho. As concentrações analíticas de todas as soluções de MnPs foram determinadas por espectrofotometria com base nos coeficientes de absorvidade molar da banda *Soret*.

As determinações das atividades SOD da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ ($\epsilon_{459,0 \text{ nm}} = 81.233 \text{ cm}^{-1} \text{ L mol}^{-1}$) e Mn**MVanTriM-2-PyP⁴⁺** ($\epsilon_{459,0 \text{ nm}} = 61.660 \text{ cm}^{-1} \text{ L mol}^{-1}$) foram feitas utilizando-se o método espectrofotométrico do citocromo c (MCCORD; FRIDOVICH,

1969; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999). A MnTE-2-PyP⁵⁺ ($\epsilon_{454,0\text{ nm}} = 138.038\text{ cm}^{-1}\text{ L mol}^{-1}$) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999) foi utilizada como padrão. Brevemente, a uma cubeta de plástico com capacidade total de 4 mL e 1 cm de caminho óptico, foram adicionadas, nesta ordem: um volume de solução de tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ pH 7,82, 150 µL de uma solução aquosa de xantina (1 mmol L⁻¹), 27 µL de uma solução de Fe^{III}-cit c (1,12 mmol L⁻¹) em tampão fosfato e, finalmente, um volume das soluções de trabalho da Mn-porfirina de interesse (estoque em tampão fosfato), homogeneizando-se o sistema cuidadosamente. Após isso, adicionou-se a solução de da xantina oxidase (30 µL, 5 U/mL em tampão fosfato), homogeneizou-se novamente o sistema e realizou-se a leitura espectrofotométrica da variação de absorvância no comprimento de onda de 550 nm durante 100 segundos. Os volumes de xantina (X), citocromo c e xantina oxidase (XO) foram mantidos fixos, sendo variado a cada análise o volume da solução de MnP (a depender da concentração desejada no ensaio) e o volume de solução de tampão fosfato (para um volume total na cubeta de 3000 uL). As concentrações de MnP na cubeta variaram na faixa entre 10⁻⁷ e 10⁻⁸ mol L⁻¹ para a MnTE-2-PyP⁵⁺ e entre 10⁻⁶ e 10⁻⁷ mol L⁻¹ para a MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e a MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺. Todas as medidas foram repetidas para verificar a reprodutibilidade dos resultados. A geração de superóxido promovida pelo sistema xantina/xantina oxidase foi medida indiretamente através da formação do urato no comprimento de onda 295 nm (APÊNDICE C).

2.4 Resultados e Discussão

A proposta desse estudo envolveu o desenvolvimento de uma nova classe de mímicos de SOD baseados em porfirinas do tipo A₃B (onde, A = 2-piridila e B = O-alquilvanilina), como candidatos a agentes terapêuticos redox ativos.

2.4.1. Obtenção das porfirinas neutras do tipo A₃B (A = 2-piridil, B = vanilina ou O-alquilvanilina)

2.4.1.1 Síntese e purificação inicial das porfirinas do tipo A₃B: Obtenção da “porfirina bruta”

De modo geral, a vanilina (ou o éter correspondente) foi condensada com pirrol e 2-piridinacarboxaldeído em ácido acético a 100 °C durante 1h, utilizando uma adaptação da metodologia típica para síntese de *meso*-tetraarilporfirinas (ADLER *et al.*, 1964). O isolamento das porfirinas de interesse foi realizado por uma combinação de técnicas de precipitação de N-piridilporfirinas em meio aquoso proposto por HAMBRIGHT *et al.*

(1985), seguido por etapas de extração sólido-líquido, precipitação seletiva de impurezas e cromatografia. É relevante destacar que cada porfirina exigiu ajustes específicos das condições de purificação. A caracterização dos compostos isolados foi realizada por técnicas habituais: CCD-SiO₂, espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis e RMN de ¹H.

A reação de condensação de pirrol com a mistura dos dois aldeídos (2-piridinacarboxaldeído e vanilina ou *O*-alquilvanilina pode resultar em uma mistura de até seis *meso*-tetraarilporfirinas (**Fig. 2.19**) do tipo A₄, A₃B, *cis*-A₂B₂, *trans*-A₂B₂, AB₃ e B₄, onde A e B representam, respectivamente, os grupos 2-piridil e vanilina/*O*-alquilvanilina (alquil = **Me** ***n*Pr**, ***n*Bu**, ***i*Bu**, ***n*Hex**, ***n*Non**, **CyE**). Ao se utilizar a relação molar 1:1 entre os aldeídos, a possibilidade de haver a mistura de seis porfirinas aumenta. Assim, o controle da proporção molar entre os aldeídos é necessário, para se tentar maximizar a correspondente porfirina A₃B de interesse (**Fig. 2.19**).

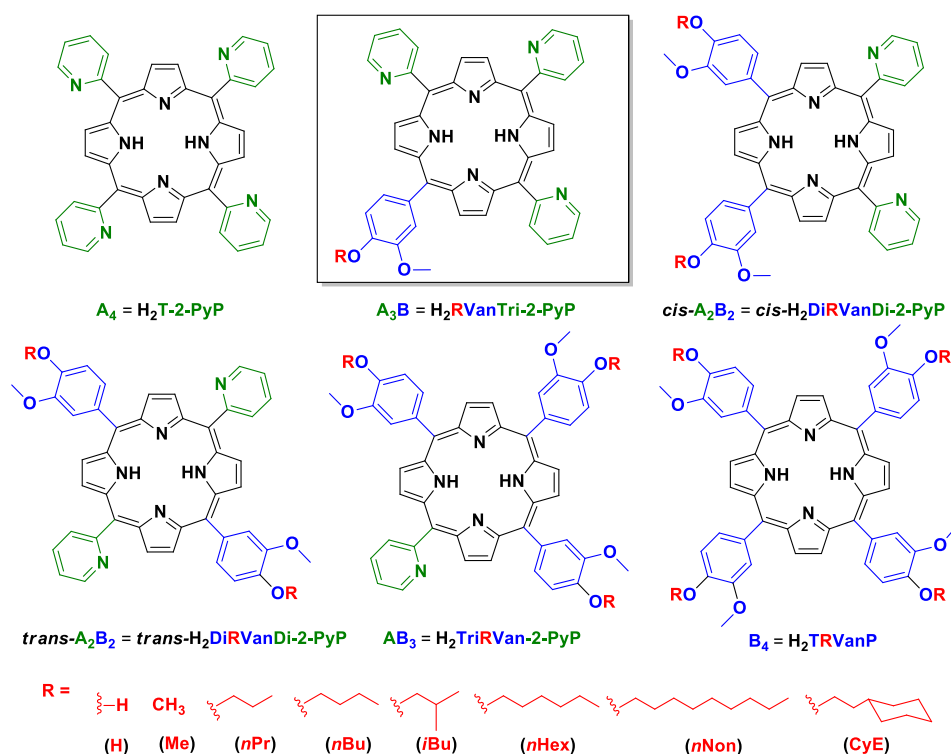


Figura 2.19 - Produtos possíveis de serem obtidos a partir da condensação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e *R*-vanilina. Em destaque, a porfirina A₃B de interesse com fórmula geral H₂RVanTri-2-PyP.

A escolha da proporção molar entre os aldeídos mais adequada foi investigada em microescala (cerca de 3 mL de mistura reacional) para a H₂VanTri-2-PyP. Os resultados mais favoráveis obtidos foram aplicados em escala preparativa (cerca de 50 mL de

mistura reacional) (SARMENTO-NETO, 2016). As reações em microescala foram feitas utilizando uma mistura dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina nas proporções 9:1, 6:1 e na proporção estequiométrica 3:1. As análises por CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 7:3 v/v) mostraram que o uso da proporção de 2-piridinacarboxaldeído:vanilina de 3:1 e 6:1 resultou em três manchas fluorescentes (confirmadas por lâmpada UV de comprimento de onda longo ~365nm) características de porfirinas bases-livres, sendo uma delas a H₂T-2-PyP (A₄; **R_f = 0,2**) (comprovado pela coeluição com o padrão), seguida do produto majoritário correspondendo à porfirina desejada A₃B H₂VanTri-2-PyP (**R_f = 0,4**) e uma terceira mancha de menor intensidade que era, muito provavelmente, um representante **A₂B₂ (R_f = 0,5)**. Já as reações na proporção de 2-piridinacarboxaldeído:vanilina 9:1 levaram à formação de duas manchas fluorescentes correspondentes ao produto majoritário H₂T-2-PyP (confirmado por coeluição com o padrão) e à porfirina de interesse H₂VanTri-2-PyP. Por formar apenas duas porfirinas, o que facilitaria a purificação, a proporção de aldeídos 9:1 foi aplicada para escala preparativa, porém a massa isolada de H₂VanTri-2-PyP foi de apenas 8 mg. Assim, observou-se que a massa limitada de H₂VanTri-2-PyP isolada por batelada de reação proporção 9:1 não compensava a vantagem de uma menor mistura de produtos porfirínicos para purificar. Adicionalmente, verificou-se que foi possível encontrar misturas de eluentes cromatográficos capazes de separar razoavelmente a mistura de porfirinas A₄, A₃B e A₂B₂ obtida com as proporções de aldeídos 6:1 e 3:1. Assim, a reação foi escalonada usando a proporção de aldeídos 3:1 e a massa isolada de H₂VanTri-2-PyP foi de 40 mg.

A coluna cromatográfica para isolamento da H₂VanTri-2-PyP utilizando a mistura eluente CHCl₃:MeCN na proporção (7:3, v/v), definida nos testes em microescala, durou 12 horas na escala preparativa. Essa proporção de solventes foi, então, ajustada para CHCl₃:MeCN (1:1, v/v) após um estudo de modelagem de misturas feito pelo grupo, sendo o tempo de duração da coluna reduzido significativamente para a faixa de 2-3 h (BUENO-JANICE *et al.*, 2015).

Uma vez estabelecida que se utilizaria a proporção de 2-piridinacarboxaldeído:vanilina (ou *O*-alquilvanilina) de 3:1, partiu-se para a obtenção em escala preparativa de todas as porfirinas do tipo A₃B, H₂VanTri-2-PyP e H₂**R**VanTri-2-PyP (**R = Me, nPr, nBu, iBu, nHex, nNon, CyE**). O curso das reações ocorreu de maneira análoga e análises por CCD-SiO₂ de cada mistura reacional sempre indicaram a presença de três manchas fluorescentes sob luz UV de comprimento de onda longo ~ 365

nm. Todas as reações formaram a H_2T -2-PyP (**A₄**; **Fig. 2.19**) (confirmada por coeluição com o padrão; menor R_f entre as porfirinas), seguida de uma mancha de R_f intermediário, atribuída à porfirina de interesse $H_2RVanTri$ -2-PyP (**A_{3B}**; **Fig. 2.19**) e possivelmente uma porfirina A_2B_2 (*cis*- e/ou *trans*-**A_{2B}**; **Fig. 2.17**), com o maior valor de R_f .

Análises diretas de alíquotas do meio de reação por UV-vis em $CHCl_3$ (com 2 gotas de trietilamina para neutralizar o AcOH proveniente do solvente da reação) indicaram a formação de porfirinas, com espectro caracterizado por uma banda *Soret* (418 nm) e bandas Q na região de 500-650 nm com pouca definição devido, provavelmente à mistura de porfirinas e presença de demais impurezas do sistema. A elevada formação de “polipirróis” (observados por CCD) resulta em alteração da linha de base do espectro. Como espectro representativo, apresenta-se a mistura reacional da síntese da $H_2VanTri$ -2-PyP (**Fig. 2.20**).

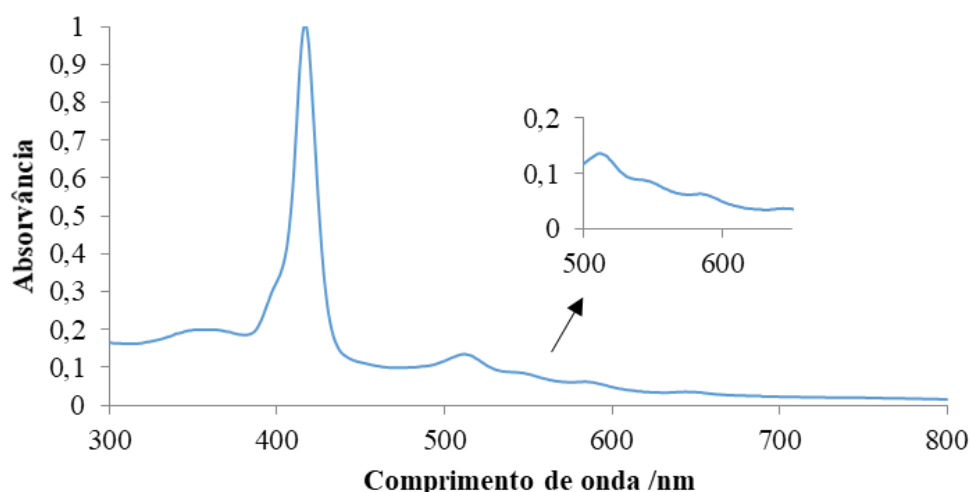


Figura 2.20 – Espectro UV-vis de alíquota do meio de reação da síntese da $H_2VanTri$ -2-PyP. Espectro registrado em $CHCl_3$ contendo 2 gotas de trietilamina para neutralizar o AcOH proveniente do solvente da reação.

Após completada cada reação e resfriamento do sistema à temperatura ambiente, iniciaram-se os procedimentos de purificação. Ao contrário do que ocorre com as *meso*-tetrafenilporfirinas (TPPs), que precipitam diretamente do meio reacional em ácido propiônico (ADLER *et al.*, 1964), as *N*-piridilporfirinas são passíveis de protonação nos grupos piridilas e permanecem solúveis em meio ácido (**Fig. 2.21**). Este comportamento dificulta o isolamento dessa classe de porfirinas e requer uma separação *via* precipitação diferente daquela descrita para as *meso*-tetrafenilporfirinas. Vale destacar que, ao contrário das TPPs, este comportamento de solubilidade das 2-*N*-piridilporfirinas é, naturalmente, semelhante em ácido acético, propiônio e até mesmo butírico (MAIA,

2015); optou-se, portanto, em se trabalhar neste estudo com ácido acético devido ao menor custo e maior facilidade de aquisição. A purificação inicial de cada mistura reacional foi efetuada através de um procedimento adaptado daquele empregado para 4-*N*-piridilporfirinas do tipo A₄ (HAMBRIGHT *et al.*, 1985). Inicialmente, o meio de reação em ácido acético foi diluído com água destilada, resultando numa solução com pH em torno de 2. Após isso, procedeu-se o ajuste da acidez do meio com solução NaOH até se atingir pH 3,2, no qual se observou a formação de um precipitado escuro, denominado de “porfírina bruta”.

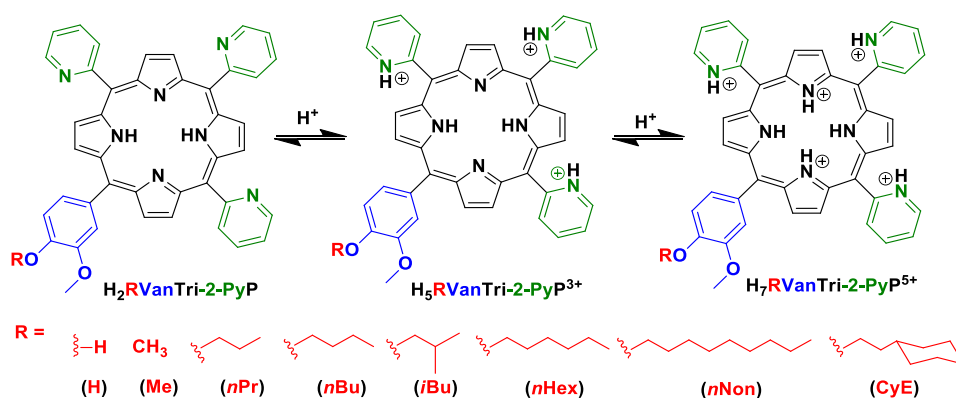


Figura 2.21 - Comportamento ácido-base das $H_2RVanTri-2-PyP$, também pode ser aplicável a outras porfirinas bases-livres neste trabalho.

De maneira geral, a “porfírina bruta” consiste na mistura de porfirinas (A₄, A₃B e provavelmente A₂B₂; **Fig. 2.19**) e uma mistura de vários compostos de aspecto preto denominados “polipirróis”, que são os produtos majoritários das reações e parte são, como as *N*-piridilporfirinas, insolúveis em pH 3,2. A filtração e lavagem da “porfírina bruta” com solução de NaHCO₃ e água contribuiu para eliminação de resquícios de AcOH (solvente/catalisador), o qual poderia atrapalhar as etapas posteriores de purificação.

O material coletado como “porfírina bruta” em cada síntese das porfirinas A₃B deste capítulo exigiu procedimentos de purificação adaptados para as características de cada $H_2RVanTri-2-PyP$. De um modo geral, entretanto, estes procedimentos podem ser agrupados em duas grandes etapas denominadas aqui como “eliminação seletiva de impurezas” e “etapas cromatográficas”. Os processos de purificação das “porfirinas brutas” de cada $H_2RVanTri-2-PyP$ estão resumidamente apresentados na **Fig. 2.22** e serão descritos em maior detalhe nas seções a seguir.

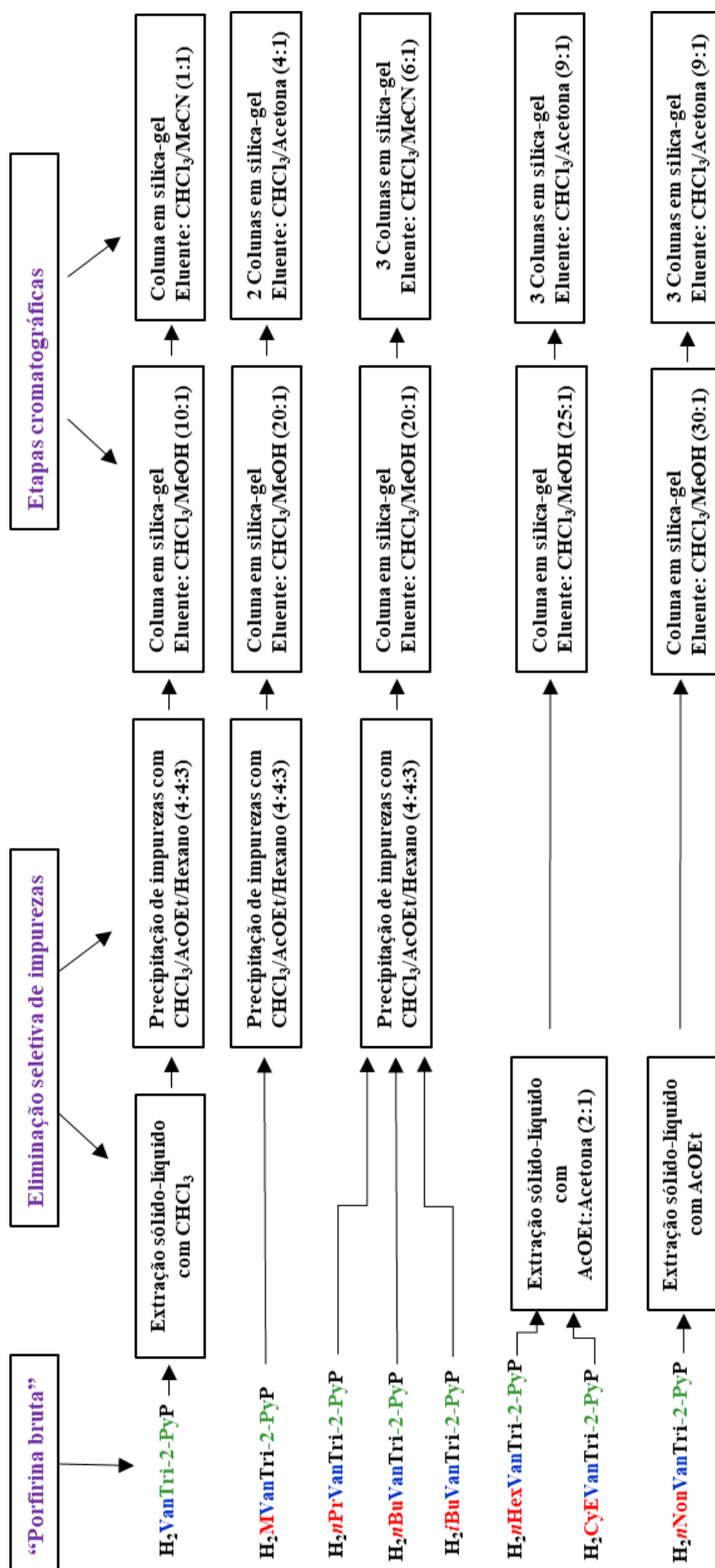


Figura 2.22 – Esquema geral da purificação das porfirinas do tipo A₃B deste trabalho.

2.4.1.2 Eliminação seletiva de parte das impurezas das amostras de “porfirina bruta”.

O tratamento pré-cromatográfico aplicado às amostras de “porfirina bruta” (~750 mg) variou conforme a natureza do grupo B (vanilina; *O*-alquilvanilina) e envolveu procedimentos de extração sólido-líquido ($H_2RVanTri-2-PyP$, $R = nHex, CyE, nNon$), precipitação seletiva de parte das impurezas ($H_2RVanTri-2-PyP$, $R = Me, nPr, nBu, iBu$), ou uma combinação sequencial de ambos os procedimentos ($H_2VanTri-2-PyP$) (**Fig. 2.21**). As semelhanças e particularidades de cada sistema serão apresentadas a seguir.

Para a $H_2VanTri-2-PyP$, a purificação inicial da “porfirina bruta” (~750 mg), ocorreu através da extração-sólido líquido com $CHCl_3$ (**Fig. 2.22**). Esta extração foi bastante eficiente em solubilizar as porfirinas e eliminar uma massa insolúvel de polipirrol, correspondente a cerca de 50% da massa de “porfirina bruta” (~375 mg). Para a $H_2nHexVanTri-2-PyP$ e a $H_2CyEVanTri-2-PyP$ a extração sólido-líquido foi realizada com uma mistura de $AcOEt$:acetona (2:1 v/v), sobrando resíduo sólido de 20% da massa original de porfirina. No caso da $H_2nNonVanTri-2-PyP$, a extração sólido-líquido ocorreu com $AcOEt$ (**Fig. 2.22**), pois a “porfirina bruta” desta síntese mostrou-se completamente solúvel em clorofórmio e $AcOEt$:acetona (2:1 v/v). Os extratos ricos em porfirina foram conduzidos para purificação por precipitação seletiva de impurezas ($H_2VanTri-2-PyP$) ou etapas cromatográficas ($H_2RVanTri-2-PyP$, $R = nHex, CyE, nNon$).

Mesmo após tentativas com vários solventes e misturas, a etapa de extração sólido-líquido se mostrou inviável para purificação inicial das amostras de “porfirina bruta” da $H_2RVanTri-2-PyP$ ($R = Me, nPr, nBu, iBu$). Por exemplo, a adição de $CHCl_3$ levou à dissolução completa da “porfirina bruta”, enquanto testes com $AcOEt$ e $AcOEt$:acetona (2:1 v/v) apontaram uma extração apenas parcial da porfirina do sólido. Para estes materiais, a purificação inicial foi efetuada por meio de solubilização em $CHCl_3$ seguida de precipitação seletiva de parte das impurezas *via* ajuste da polaridade do solvente para a mistura ternária $CHCl_3$: $AcOEt$:*n*-hexano (4:4:3, v/v/v) (**Fig. 2.22**). Neste procedimento é importante destacar que os solventes $CHCl_3$, $AcOEt$ e *n*-hexano devem ser adicionados nesta ordem; a adição de *n*-hexano é acompanhada pela formação de um precipitado escuro de impurezas, enriquecendo o sobrenadante em porfirinas. Esta etapa de precipitação seletiva se mostrou aplicável também ao extrato de $H_2VanTri-2-PyP$ resultante da extração sólido-líquido. Não se conseguiu, no entanto, estabelecer misturas binárias ou ternárias aplicáveis para precipitação seletiva dos extratos das

porfirinas compostos com cadeias mais longas, H₂**RVanTri-2-PyP** (**R** = **nHex**, **CyE**, **nNon**).

A etapa com a mistura ternária CHCl₃:AcOEt:*n*-Hexano (4:4:3, v/v/v) eliminou ~40% de impurezas em termos de massa na purificação da H₂VanTri-2-PyP e ~20% na purificação da H₂**MVanTri-2-PyP**. Tal procedimento facilitou a purificação nas etapas subsequentes para essas duas porfirinas. Para as purificações das misturas das H₂**nPrVanTri-2-PyP**, H₂**nBuVanTri-2-PyP** e H₂**iBuVanTri-2-PyP**, a eliminação de impurezas foi menor do que 10% da massa inicial da “porfirina bruta” (~75 mg).

É importante ressaltar que o rendimento típico de síntese de *N*-piridilporfirinas raramente ultrapassa 10%. Assim, polipirróis e demais impurezas são de fato os produtos (contaminantes) majoritários. Esta etapa de purificação parcial da mistura de porfirinas mostrou-se efetiva, ao levar a um material contendo menos polipirrol, o que facilita consideravelmente as purificações finais por cromatografia em coluna. O tratamento pré-coluna do material da síntese da H₂VanTri-2-PyP foi o que mais eliminou impurezas (cerca de 70% da massa da “porfirina bruta”). Os materiais da síntese das demais porfirinas H₂**RVanTri-2-PyP** (**R** = **Me**, **nPr**, **nBu**, **iBu**, **nHex**, **nNon**, **CyE**) resultou na eliminação de cerca de 10 a 20% de impurezas da “porfirina bruta” de partida.

2.4.1.3 Cromatografia em coluna de sílica-gel.

Os materiais resultantes das etapas anteriores são uma mistura de porfirinas e impurezas persistentes. Os componentes dos materiais são, de maneira geral, em ordem crescente de R_f: (i) polipirrol (**R_f** ~ **0**), (ii) a porfirina do tipo A₄ H₂T-2-PyP (A = 2-piridila), (iii) a porfirina de interesse do tipo A₃B H₂VanTri-2-PyP e H₂**RVanTri-2-PyP** (**R** = **Me**, **nPr**, **nBu**, **iBu**, **nHex**, **nNon**, **CyE**), (iv) “impurezas marrons” (não identificadas) e (v) porfirina A₂B₂. Destaca-se que as “impurezas marrons” são compostos não-porfirínicos de difícil separação das porfirinas de interesse, pois não são uma mancha de R_f bem definido e sim uma espécie de “esfregaço” escuro em análises de CCD-SiO₂. As porfirinas do tipo A₃B foram submetidas à purificação final e isolamento, através de duas etapas cromatográficas em coluna, conforme descrito a seguir.

I. Eliminação de polipirrol e obtenção de fração rica em porfirinas com uso de misturas CHCl₃:MeOH como eluente

Na primeira etapa cromatográfica em coluna de SiO₂ utilizaram-se, como eluentes, misturas de CHCl₃:MeOH, nas quais a proporção de CHCl₃ foi aumentada com o aumento do caráter lipofílico de cada sistema (**Tabela 2.3**). O processo de eluição e

separação das porfirinas foi acompanhado por luz ultravioleta de comprimento de onda longo (~365 nm). Apenas as frações de fluorescência vermelha continham porfirinas, o que foi corroborado por análises por CCD-SiO₂ e UV-vis.

Tabela 2.3 – Condições experimentais da primeira coluna em CHCl₃:MeOH e composição relativa qualitativa da fração agrupada rica em porfirinas, em particular a porfirina A₃B de interesse.

Porfirina de interesse (A ₃ B)	CHCl ₃ :MeOH (v/v)	Tempo de Eluição ^a	Composição relativa da fração agrupada rica em porfirinas (ordem crescente de R _f)				
			polipirrol	A ₄	A ₃ B	“impurezas marrons”	A ₂ B ₂
H ₂ VanTri-2-PyP	10:1	40min	+	+++	+++	–	++
H ₂ MVanTri-2-PyP	20:1	2 horas	+	–	+++	+	+
H ₂ nPrVanTri-2-PyP	20:1	3 horas	++	–	+++	++	–
H ₂ nBuVanTri-2-PyP							
H ₂ iBuVanTri-2-PyP							
H ₂ nHexVanTri-2-PyP	25:1	4 horas	++	–	+++	+++	–
H ₂ CyEVanTri-2-PyP							
H ₂ nNonVanTri-2-PyP	30:1	6 horas	++	–	+++	+++	–

^a Coluna cromatográfica à pressão ambiente (eluição por força gravitacional).

A coluna do material da H₂VanTri-2-PyP (A₃B) eliminou em quase a totalidade o polipirrol e as frações de interesse continham praticamente apenas porfirinas (**Tabela 2.3**). A fração agrupada contendo essa porfirina de interesse gerou o material com menor teor de polipirrol e impureza marrom da classe de porfirinas A₃B deste trabalho.

A coluna do material da H₂MVanTri-2-PyP (A₃B) eliminou a H₂T-2-PyP (A₄) nesta etapa. Contudo, as frações contendo a porfirina de interesse também continham a impureza marrom e a provável porfirina A₂B₂, que têm valores de R_f muito próximos ao da H₂MVanTri-2-PyP no eluente CHCl₃:MeOH (20:1, v/v) (**Tabela 2.3**).

Para as porfirinas H₂nPrVanTri-2-PyP (A₃B), H₂nBuVanTri-2-PyP (A₃B) e H₂iBuVanTri-2-PyP (A₃B), o eluente CHCl₃:MeOH (20:1, v/v) foi capaz de separar cada porfirina A₃B de outros produtos porfirínicos, porém parte considerável de “impurezas marrons” e polipirrol permaneceu misturada (**Tabela 2.3**). A repetição da coluna em CHCl₃:MeOH (25:1, v/v) deixou o sistema um pouco mais puro, mas essas condições

cromatográficas elevaram o gasto de CHCl_3 (400 mL por coluna) e aumentaram o tempo de coluna.

Para as porfirinas $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ e $\text{H}_2\text{CyEVanTri-2-PyP}$, o eluente foi ajustado para $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (25:1, v/v). A escolha auxiliou na eliminação das outras porfirinas da mistura e de parte do polipirrol, que ficou retido na coluna. Foram recolhidas frações contendo a respectiva porfirina de interesse A_3B , outro produto porfirínico (provavelmente o produto A_2B_2) e as “impurezas marrons” estavam presentes num tom intenso (**Tabela 2.3**).

Para a $\text{H}_2\text{nNonVanTri-2-PyP}$, o tempo de coluna foi elevado (6h), devido ao R_f relativamente baixo (**0,4**) no eluente $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (30:1, v/v). A coluna eliminou os demais produtos porfirínicos da síntese, contudo houve a persistência das “impurezas marrons” (**Tabela 2.3**).

II. Isolamento das porfirinas A_3B com misturas $\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$ ou $\text{CHCl}_3\text{:acetona}$ como eluentes

Nesta etapa cromatográfica, usaram-se, como eluente, misturas de $\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$ ou $\text{CHCl}_3\text{:acetona}$ para isolamento das porfirinas $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ e $\text{H}_2\text{RVanTri-2-PyP}$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{nPr}, \text{nBu}, \text{iBu}, \text{nHex}, \text{nNon}, \text{CyE}$). A determinação de cada eluente foi realizada através de testes por CCD-SiO_2 . Considerando a extensão de grupos *O*-alquilvanilina avaliados neste estudo, é natural se esperar, portanto, ajustes nas condições e métodos de purificação que reflitam a ampla variação de polaridade dos compostos de interesse.

De modo geral, a porfirina do tipo A_3B $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ e $\text{H}_2\text{RVanTri-2-PyP}$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{nPr}, \text{nBu}, \text{iBu}, \text{nHex}, \text{nNon}, \text{CyE}$) foi isolada a partir da fração agrupada rica em porfirinas recolhidas da coluna anterior em $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (**Tabela 2.3**). À exceção da síntese da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$, as amostras das demais sínteses de $\text{H}_2\text{RVanTri-2-PyP}$ ($\text{R} = \text{Me}, \text{nPr}, \text{nBu}, \text{iBu}, \text{nHex}, \text{nNon}, \text{CyE}$) apresentavam um subproduto não-porfirínico de aspecto amarronzado escuro, com R_f próximo à porfirina A_3B correspondente. Tentativas de fazer uma coluna única para isolamento das respectivas porfirinas do tipo A_3B de interesse não obtiveram êxito. Devido a isso, optou-se por manter as dimensões das colunas menores, fracionar as amostras em massas iguais e eluir duas ou três colunas independentes, a depender do grau de impurezas presentes nas amostras (**Tabela 2.4**).

A coluna cromatográfica para isolamento da porfirina de interesse $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**Tabela 2.4**) foi caracterizada pela eluição inicial da possível porfirina A_2B_2 ($R_f =$

0,70) e a H₂VanTri-2-PyP ($R_f = 0,55$) foi o segundo produto porfirínico. Após a H₂VanTri-2-PyP ser recolhida da coluna, o eluente CHCl₃/MeCN (1:1, v/v) foi trocado para CHCl₃/MeOH (2:1, v/v), com o objetivo de recolher a H₂T-2-PyP (A₄) da coluna mais rapidamente. O rendimento isolado da H₂VanTri-2-PyP foi 3% (48-54 mg por batelada).

Tabela 2.4 – Proporção do eluente da segunda etapa cromatográfica de purificação das porfirinas e a composição qualitativa das frações recolhidas.

Porfirina de interesse (A ₃ B)	Eluente (v/v)	Tempo de eluição ^a	Fracionamento da amostra original ^b
H ₂ VanTri-2-PyP	CHCl ₃ :MeCN (1:1)	2-3h	Não
H ₂ MVVanTri-2-PyP	CHCl ₃ :acetona (4:1)	2-3h	½ por coluna
H ₂ nPrVanTri-2-PyP			
H ₂ nBuVanTri-2-PyP	CHCl ₃ :MeCN (6:1)	4h	⅓ por coluna
H ₂ iBuVanTri-2-PyP			
H ₂ nHexVanTri-2-PyP			
H ₂ CyEVanTri-2-PyP	CHCl ₃ :acetona (9:1)	4h	⅓ por coluna
H ₂ nNonVanTri-2-PyP			

^a Coluna cromatográfica à pressão ambiente (eluição por força gravitacional). ^b Quando a amostra original foi fracionada em 2 ou 3 partes iguais, as colunas para cada fracionamento foram idênticas e eluídas em paralelo.

O isolamento da H₂MVVanTri-2-PyP necessitou que o eluente CHCl₃/MeCN (1:1, v/v) fosse trocado para CHCl₃/acetona (4:1, v/v) (**Tabela 2.4**). Após eluição da possível porfirina A₂B₂ ($R_f = 0,67$) e da impureza marrom, foi eluída a H₂MVVanTri-2-PyP ($R_f = 0,52$). O rendimento isolado da H₂MVVanTri-2-PyP (A₃B) foi 3% (46-50 mg por batelada).

As amostras das porfirinas H₂nPrVanTri-2-PyP, H₂nBuVanTri-2-PyP e H₂iBuVanTri-2-PyP apresentaram comportamento semelhante entre si e foram isoladas com o mesmo eluente (**Tabela 2.4**). O polipirrol e “impurezas marrons” foram eliminados durante o processo. O rendimento isolado de cada porfirina foi 3% (40-45 mg para cada porfirina).

Para as amostras das porfirinas H₂nHexVanTri-2-PyP e H₂CyEVanTri-2-PyP, a possível porfirina A₂B₂ foi o primeiro componente porfirínico eluir. Após isso, a eluição da possível a H₂RVanTri-2-PyP (R = nHex ou CyE) foi o segundo produto porfirínico a

eluir. O rendimento isolado da $H_2nHexVanTri-2-PyP$ (A_3B) foi 2% (30 mg). O rendimento isolado da $H_2CyEVanTri-2-PyP$ (A_3B) foi 3% (50 mg).

A amostra contendo a porfirina de interesse $H_2nNonVanTri-2-PyP$, polipirrol e uma impureza marrom foi fracionada em três colunas em $CHCl_3$:Acetona (9:1, v/v). A massa agrupada de $H_2nNonVanTri-2-PyP$ aparentemente pura foi 20 mg (rendimento 1%). Uma parte das frações contendo $H_2nNonVanTri-2-PyP$ continham impurezas e demandaram uma coluna adicional no mesmo eluente.

De maneira geral, as porfirinas $H_2VanTri-2-PyP$ ($R = H$) e $H_2MVanTri-2-PyP$ ($R = Me$) possuem purificação com etapas mais rápidas e com menos gasto de solvente, o isolamento foi reproduzível, sendo verificado em várias bateladas de síntese realizadas. As demais porfirinas $H_2RVanTri-2-PyP$ ($R = nPr, iBu, nBu, nHex, CyE$) possuem purificação mais demorada, mas o isolamento foi reproduzível nas poucas bateladas de síntese realizadas.

2.4.1.4 Caracterizações das porfirinas neutras do tipo A_3B

Os espectros UV-Vis das porfirinas neutras $H_2RVanTri-2-PyP$ ($R = H, Me, nPr, nBu, iBu, nHex, nNon, CyE$) foram registrados em acetona (para comparação com dados de sistemas correlatos da literatura) e apresentaram características espectroscópicas típicas de porfirinas bases-livres (FUHRHOP; MAUZERALL, 1969; WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). Os espectros são caracterizados por uma *Soret* em 415 nm e quatro bandas Q (511, 545, 588, 644) na região do visível, como ilustrado com a $H_2VanTri-2-PyP$, em comparação à porfirina A_4 $H_2T-2-PyP$ (Fig. 2.23).

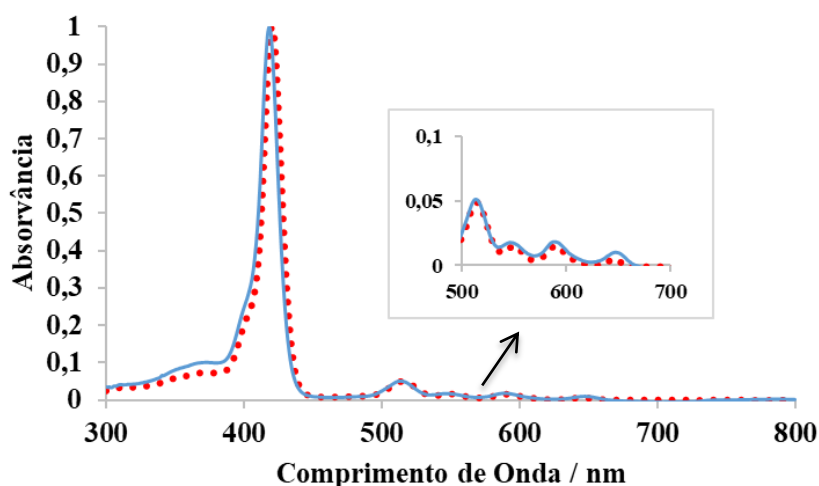
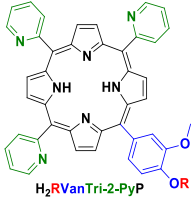


Figura 2.23 – Espectros de absorção no UV-vis registrados em acetona da $H_2T-2-PyP$ (linha azul) e $H_2VanTri-2PyP$ (pontilhado vermelho). A ampliação corresponde à região das bandas Q.

Os dados de UV-vis são consistentes com aqueles reportados anteriormente para a porfirimina do tipo A₃B correlata H₂PhTri-2-PyP (**Fig. 2.6**) (SARI *et al.*, 1990). Os espectros das demais porfirinas estão presentes no **APÊNDICE A**.

Os espectros de RMN de ¹H das porfirinas do tipo A₃B foram registrados em *d*⁶-DMSO ou CDCl₃ e apresentaram muitas semelhanças entre si (**Tabela 2.5**). Observou-se diferenças pequenas nos deslocamentos dos hidrogênios β-pirrólicos, grupos 2-piridila, vanilina/*O*-alquilvanilina e *NH*-pirrólicos. Os espectros diferiram consideravelmente, como esperado, nas regiões associadas aos substituintes *p*-OR da vanilina (H ou alcanos).

Tabela 2.5 - Dados dos espectros de RMN de ¹H com os respectivos deslocamentos químicos δ (ppm) das porfirinas do tipo A₃B de representação geral H₂RVanTri-2-PyP.

Porfirimina / Solvente	β-pirrols	2-Py	Ph(Van)	NH-pirrol	<i>m</i> -MeO e <i>p</i> -RO (Van)
 H ₂ RVanTri-2-PyP					
H ₂ VanTri-2-PyP [*] (R = H) <i>d</i> ⁶ -DMSO (500 MHz)	9,01 (d, 2H, β1) 8,84 (m, 6H, β2-β4)	9,10 (d, 3H, b/b') 8,36 (d, 3H, c/c') 8,28 (t, 3H, d/d') 7,88 (t, 3H, e/e')	7,82 (s, 1H, f) 7,63 (d, 1H, h) 7,24 (d, 1H, g)	-2,94 (s, a)	3,93 (s, 3H, z) 9,54 (s, 1H, OH)
H ₂ MVanTri-2-PyP [*] (R = Me) <i>d</i> ⁶ -DMSO (500 MHz)	8,97 (d, 2H, β1) 8,83 (m, 6H, β2-β4)	9,09 (d, 3H, b/b') 8,43-8,22 (6H, c/c'-d/d') 7,91 (t, 3H, e/e')	7,88 (m, 1H, f) 7,73 (d, 1H, h) 7,39 (d, 1H, g)	-2,98 (s, a)	3,87 (s, 3H, z) 4,04 (s, 3H, i)
H ₂ nPrVanTri-2-PyP (R = nPr) <i>d</i> ⁶ -DMSO (400 MHz)	9,00 (d, 2H, β1) 8,90-8,81 (m, 6H, β2-β4)	9,12 (d, 3H, b/b') 8,37 (d, 3H, c/c') 8,31 (t, 3H, d/d') 7,91 (t, 3H, e/e')	7,86 (s, 1H, f) 7,69 (d, 1H, h) 7,37 (d, 1H, g)	-2,92 (s, a)	3,92 (s, 3H, z) 4,22 (t, 2H, i) 1,96 (st, 2H, j) 1,16 (t, 3H, k)
H ₂ nBuVanTri-2-PyP (R = nBu) CDCl ₃ (200 MHz)	8,96 (d, 2H, β1) 8,85 (s, 4H, β3-β4) 8,82 (d, 2H, β2)	9,13 (d, 3H, b/b') 8,25-8,20 (d, 3H, c/c') 8,11-8,07 (t, 3H, d/d') 7,77-7,73 (t, 3H, e/e')	7,72-7,68 (3H, f-h)	**	3,97 (s, 3H, z) 4,32 (t, 2H, i) 2,04 (q, 2H, j) 1,67 (st, 2H, k) 1,11 (t, 3H, l)
H ₂ iBuVanTri-2-PyP (R = iBu) CDCl ₃ (200 MHz)	8,96 (d, 2H, β1) 8,85 (s, 4H, β3-β4) 8,82 (d, 2H, β2)	9,13 (d, 3H, b/b') 8,25-8,21 (d, 3H, c/c') 8,11-8,07 (t, 3H, d/d') 7,78-7,73 (t, 3H, e/e')	7,72-7,68 (3H, f-h)	**	3,97 (s, 3H, z) 4,08 (d, 2H, i) 2,39 (m, 1H, j) 1,21 (d, 6H, k/k')
H ₂ nHexVanTri-2-PyP (R = nHex) <i>d</i> ⁶ -DMSO (400 MHz)	8,96 (d, 2H, β1) 8,87-8,78 (m, 6H, β2-β4)	9,08 (d, 3H, b/b') 8,34 (d, 3H, c/c') 8,27 (t, 3H, d/d') 7,87 (t, 3H, e/e')	7,82 (s, 1H, f) 7,68 (d, 1H, h) 7,35 (d, 1H, g)	-2,97 (s, a)	3,87 (s, 3H, z) 4,22 (t, 2H, i) 1,88 (m, 2H, j) 1,60-1,32 (6H) 0,94 (t, 3H, n)
H ₂ nNonVanTri-2-PyP (R = nNon) <i>d</i> ⁶ -DMSO (200 MHz)	8,97 (d, 2H, β1) 8,88-8,78 (m, 6H, β2-β4)	9,10 (d, 3H, b/b') 8,40-8,21 (6H, c/c'-d/d') 7,92 (3H, e/e')	7,85 (s, 1H, f) 7,67 (d, 1H, h) 7,32 (d, 1H, g)	-2,95 (s, a)	3,90 (s, 3H, z) 4,20 (t, 2H, i) 1,87 (t, 2H, j) 1,60-1,12 (14H) 0,89 (t, 3H, q)

*SARMENTO-NETO, 2016, **Não foi realizada a aquisição do espectro na região abaixo de δ0,00 durante a análise.

A seguir será discutida a atribuição do espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{nPrVanTri-2-PyP}$ (Figs. 2.24 e 2.25), como uma representante da classe. Os espectros de RMN de ^1H das demais porfirinas estão apresentados no **APÊNDICE A**.

Hidrogênios β -pirrólicos: Os hidrogênios β -pirrólicos das porfirinas do tipo $\text{A}_4 \text{H}_2\text{T-2-PyP}$ ($\text{A} = 2\text{-piridila}$) (KAMP; SMITH, 1996; REBOUÇAS *et al.*, 2002) e do tipo $\text{B}_4 \text{H}_2\text{TVanP}$ ($\text{B} = \text{vanilina}$) (NUTALAPATI, 2011), aparecem como um singlete. Devido à menor simetria da $\text{H}_2\text{nPrVanTri-2-PyP}$, espera-se um conjunto de 4 dubletos para os hidrogênios β -pirrólicos. O dubleto em 9,00 ppm é correspondente aos dois hidrogênios $\beta 1$ (Fig. 2.24), mais próximos do grupo vanilina, que se assemelha à região dos sinais dos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina $\text{B}_4 \text{H}_2\text{TVanP}$ (8,90 ppm; $d^6\text{-DMSO}$) (NUTALAPATI, 2011), que contém quatro *meso*-substituintes vanilina. Um dubleto em 8,85 ppm correspondente aos hidrogênios $\beta 2$ aparecer sobreposto aos sinais dos hidrogênios $\beta 3$ e $\beta 4$ (8,87 ppm), que são mais próximos dos anéis 2-piridila, (Fig. 2.24). A região em que os hidrogênios $\beta 3$ e $\beta 4$ aparecem se assemelha à região dos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina $\text{A}_4 \text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (8,85 ppm; CDCl_3) (SARI *et al.*, 1990; KAMP; SMITH, 1996).

Hidrogênios arilas do grupos 2-piridila: Os sinais dos hidrogênios dos anéis 2-piridila aparecem na região de 7,60 – 9,50 ppm. Devido à menor simetria da $\text{H}_2\text{nPrVanTri-2-PyP}$, existem dois grupos de sinais 2-piridil distintos: aqueles *cis* ao grupo vanilina e aquele *trans* à vanilina. Os sinais desses dois grupos apareceram, no entanto, sobrepostos nas mesmas regiões do espectro. Os hidrogênios **b/b'** (posição 6 do piridila) correspondem a um dubleto em 9,10 ppm e são os mais desblindados em cada grupo piridila, por estarem ligados ao carbono vizinho ao nitrogênio, que influencia no efeito de desblindagem de forma mais pronunciada (SARI *et al.*, 1990). Os hidrogênios **c/c'** (posição 3 do piridila) dão origem aos sinais em 8,37 ppm e acoplam ($J = 7,6 \text{ Hz}$) com os hidrogênios **d/d'** (posição 4 do piridila), que aparecem em 8,31 ppm. Os hidrogênios **e/e'** (posição 5 do piridila) são os mais blindados (7,91 ppm), por estarem na posição mais rica em densidade eletrônica no anel piridínico (REBOUÇAS *et al.*, 2002) (Fig. 2.24).

Hidrogênios arilas do grupo Vanilina/O-alkilvanilina: Os sinais dos hidrogênios do grupo *O*-*n*-propilvanilina aparecem na região de 7,30 – 7,80 ppm. A presença de um singlete em 7,86 ppm é atribuído ao hidrogênio **f** (posição 2 do grupo fenila), e por dois dubletos em 7,37 e 7,69 ppm ($J = 7,70 \text{ Hz}$) que podem ser atribuídos aos hidrogênios **g** (posição 5) e **h** (posição 6 do fenila), respectivamente, que acoplam entre si. O sinal **g** é

mais blindado que o **h** (Fig. 2.24). Esses sinais se assemelham bastante aos sinais da porfirimina do tipo B₄ correspondente, H₂TVanP (NUTALAPATI, 2011).

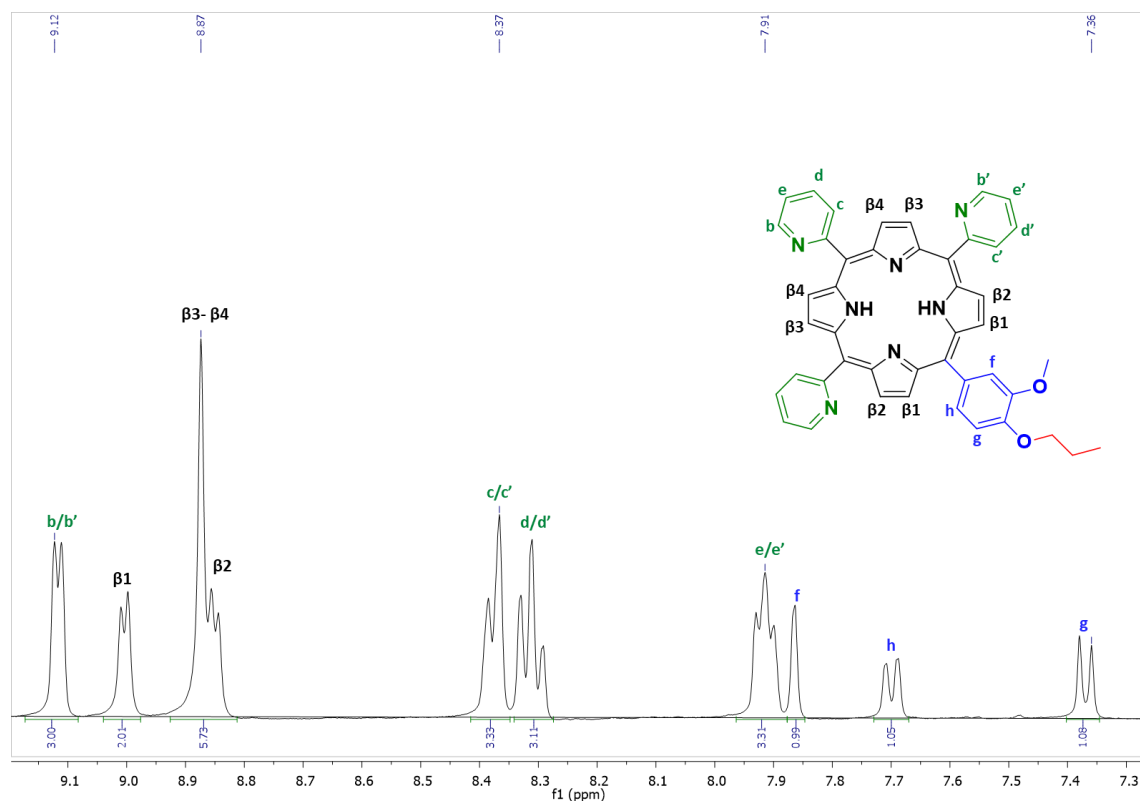


Figura 2.24 – Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz) da H₂nPrVanTri-2-PyP em *d*⁶-DMSO na região de 7,3-9,5 ppm, correspondente aos hidrogênios aromáticos.

Hidrogênios *N*-pirrólicos (H internos): A H₂nPrVanTri-2-PyP possui um singlete de deslocamento químico em –2,92 ppm, correspondente aos hidrogênios NH-pirrólicos **a** (Fig. 2.25), que são consideravelmente blindados devido à corrente π do anel porfirínico (LITTLE *et al.*, 1975; SARI *et al.*, 1990). As atribuições dos hidrogênios trocáveis NH podem ser confirmadas pelo desaparecimento dos respectivos sinais com a adição de D₂O ao sistema, como realizado no trabalho de mestrado para a H₂VanTri-2-PyP e H₂MVanTri-2-PyP (SARMENTO-NETO, 2016).

Hidrogênios alcóxilas: A H₂nPrVanTri-2-PyP possui um singlete em 3,97 ppm correspondente aos hidrogênios **z** do grupo *m*-OCH₃, em região semelhante à H₂TVanP em *d*⁶-DMSO (3,89 ppm) (NUTALAPATI, 2011). O valor de integral deste sinal é significativamente afetado pela linha de base resultante da sequência de aquisição associada à supressão do sinal intenso da H₂O residual do *d*⁶-DMSO em torno de 3,33 ppm (GOTTILIEB; KOTLYAR; NUDELMAN, 1997; FULMER *et al.*, 2010). Um tripleto centrado em 4,22 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios **i** do grupo *p*-OCH₂ e são desblindados pela proximidade do heteroátomo O (Fig. 2.25). Um tripleto mais blindado

centrado em 1,16 ppm é atribuído aos hidrogênios **k** do grupo CH_3 terminal da cadeia *n*-propila. Um sexteto em 1,96 ppm é atribuído aos hidrogênios **j** do grupo CH_2 da cadeia *n*-propila, que acoplam com os hidrogênios **i** e **k**.

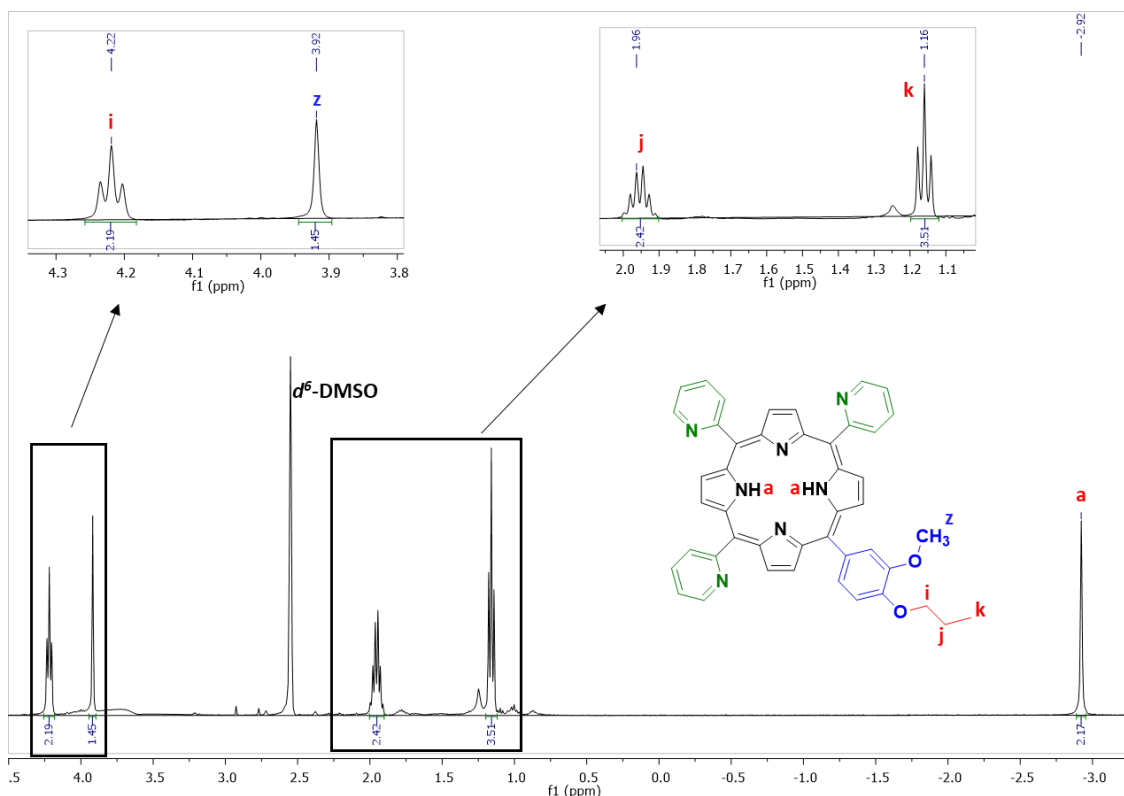


Figura 2.25 – Espectro RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $\text{H}_2n\text{PrVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS, registrado com supressão do sinal de água residual.

As porfirinas do tipo A_3B $\text{H}_2\text{RVanTri-2-PyP}$ ($\text{R} = \text{H}, \text{Me}, n\text{Pr}, n\text{Bu}, i\text{Bu}, n\text{Hex}, n\text{Non}, \text{CyE}$) foram analisadas por CCD- SiO_2 , buscando-se encontrar um eluente que diferenciase o R_f de cada porfirina. Após alguns testes, o eluente $\text{CHCl}_3/\text{MeCN}$ (9:1, v/v) foi o que mostrou melhor relação e demonstrou a tendência de variação de lipofilia das porfirinas A_3B neste trabalho. A substituição de um dos grupos 2-piridila da porfirina do tipo A_4 $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ pelo grupo *meso*-vanilina (ou *O*-alquilvanilina) resulta em porfirinas A_3B mais lipofílicas. À medida que o grupo alquilvanilina vai ficando maior, o valor de R_f também aumenta (**Tabela 2.6**). Com isso, temos uma tendência de correlação entre lipofilia e R_f cromatográfico.

A partir dos dados da **Tabela 2.6**, foi possível observar que o valor de R_f das porfirinas do tipo A_3B $\text{H}_2\text{RVanTri-2-PyP}$ segue uma tendência linear com número de carbonos ($n\text{C}$) das cadeias não ramificadas ($\text{R} = \text{Me}, n\text{Pr}, n\text{Hex}, n\text{Non}$). Além disso,

verificou-se que esta tendência também contempla aproximadamente os compostos contendo grupos ramificados (**iBu**) ou cíclicos (**CyE**) (**Fig. 2.26**).

Tabela 2.6 – Dados comparativos de fator de retenção em CCD-SiO₂ com o eluente CHCl₃:MeCN (9:1, v/v) das porfirinas de relevância para este trabalho.

Porfirina	R _f	R-vanilina
H ₂ T-2-PyP	0,03	–
H ₂ VanTriM-2-PyP	0,10	H
H ₂ M VanTriM-2-PyP	0,12	Me
H ₂ nPr VanTri-2-PyP	0,26	nPr
H ₂ nBu VanTri-2-PyP	0,32	nBu
H ₂ iBu VanTri-2-PyP	0,32	iBu
H ₂ nHex VanTri-2-PyP	0,55	nHex
H ₂ CyE VanTri-2-PyP	0,67	CyE
H ₂ nNon VanTri-2-PyP	0,81	nNon

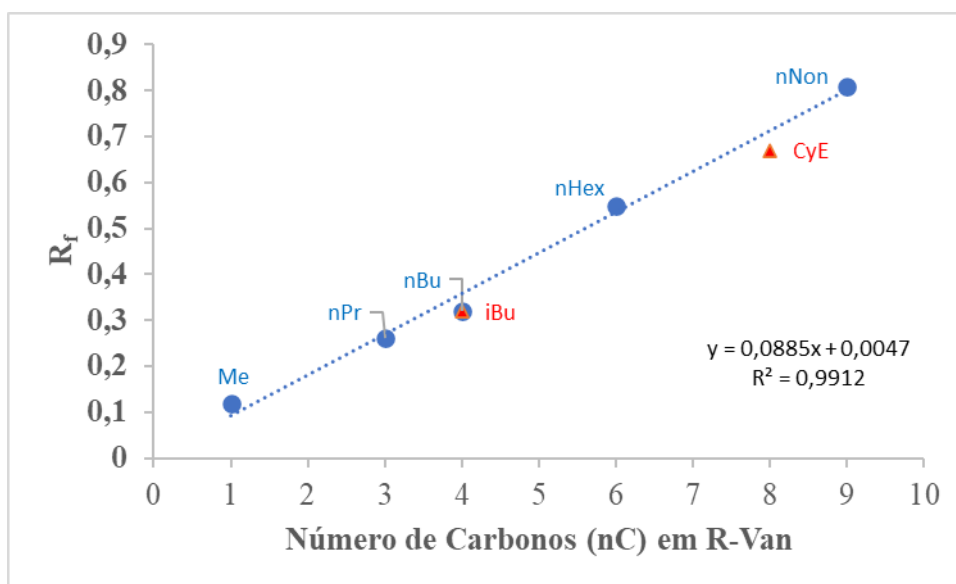


Figura 2.26 – Gráfico da correlação entre Fator de retenção cromatográfico (R_f) em CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 9:1, v/v) e número de carbonos (nC) ligados ao grupo **R**-vanilina das porfirinas do tipo A₃B H₂**R**VanTri-2-PyP. Os pontos correspondentes às cadeias não-ramificadas (R = **Me**, **nPr**, **nHex**, **nNon**) estão em azul, enquanto os compostos com cadeias ramificadas (**iBu**) ou cíclicas (**CyE**) estão indicadas com triângulos em vermelho.

2.4.2 Porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$ 2.4.2.1 Síntese das porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$

A *N*-metilação dos grupos piridilas das porfirinas de representação geral $H_2VanTri-2-PyP$ ou $H_2RVanTri-2-PyP$ ($R = Me, nBu, nHex$) foi realizada com MeOTs (na proporção molar porfirina:MeOTs 1:150) em DMF por 1h (**Fig. 2.27**), com base na adaptação das condições experimentais de metilação das *N*-piridilporfirinas descritas na literatura (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 1998; 1999; 2002). As reações envolvendo a $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**Fig. 2.27**) foram descritas no trabalho de mestrado (SARMENTO-NETO, 2016), cujos produtos foram isolados como os hidratos $H_2VanTriM-2-PyP^{3+} \cdot 6H_2O$ e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+} \cdot 3H_2O$, sendo o grau de hidratação determinado por análises termogravimétricas (TG/DTG) (**APÊNDICE B**), e caracterizadas também por espectroscopia UV-vis, RMN de 1H e CCD-SiO₂ (SARMENTO-NETO, 2016). A preparação dessas porfirinas foi revisitada neste trabalho de doutorado e o estudo foi ampliado para incluir os derivados inéditos $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2nHexVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**Fig. 2.27**). A $H_2nHexVanTriM-2-PyP^{3+}$ foi preparada em associação com o plano de trabalho da bolsista de iniciação científica de Anne Caroline Pinheiro de Freitas, durante a vigência PIBIC/CNPq/UFPB 2016-2017.

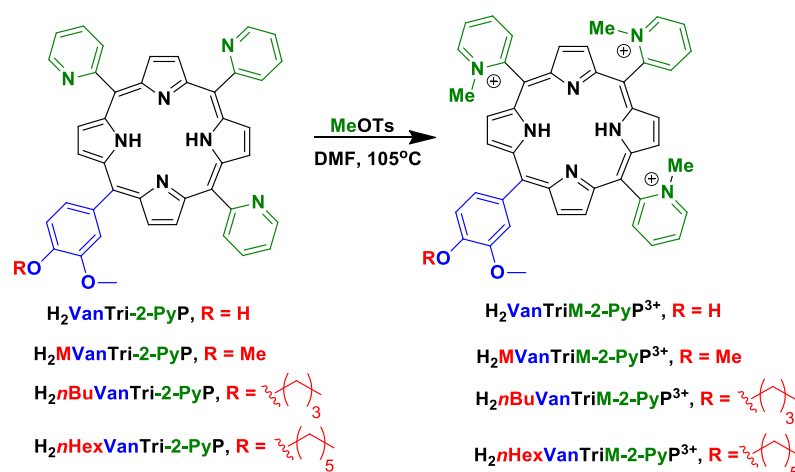


Figura 2.27 – Esquema geral de obtenção das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$ via *N*-alquilação com tosilato de metila (**MeOTs**).

A metilação seletiva dos grupos 2-piridila (*N*-metilação) da $H_2VanTri-2-PyP$ ocorreu em DMF a 105 °C na ausência de base, preservando o grupo OH da vanilina e levando à obtenção da porfirina do tipo $[A_3B]^{3+}$ $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**Fig. 2.27**) (SARMENTO-NETO, 2016). A preservação do grupo *p*-OH da vanilina na $H_2VanTriM-$

2-PyP³⁺ foi investigada. O sinal do hidrogênio do grupo *p*-OH da vanilina (9,87 ppm) foi observado por RMN de ¹H. Utilizou-se da espectroscopia UV-vis em meio básico, com o objetivo acompanhar a desprotonação do grupo fenol, alterar o espectro da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ de maneira significativa e diferenciá-la da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ e demais porfirinas do tipo [A₃B]³⁺. Algo muito semelhante foi realizado por CCD-SiO₂ (ver adiante), onde se utilizou a H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ a nível comparativo.

As *N*- e *O*-metilações simultâneas da H₂VanTri-2-PyP com MeOTs ocorreram na presença de K₂CO₃ em DMF a 70 °C. A presença de K₂CO₃ desprotonou o grupo *p*-OH da vanilina e possibilitando a *O*-metilação do grupo vanilina concomitantemente com a *N*-alquilação dos grupos 2-piridila, obtendo-se a H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (Fig. 2.28) (SARMENTO-NETO, 2016).

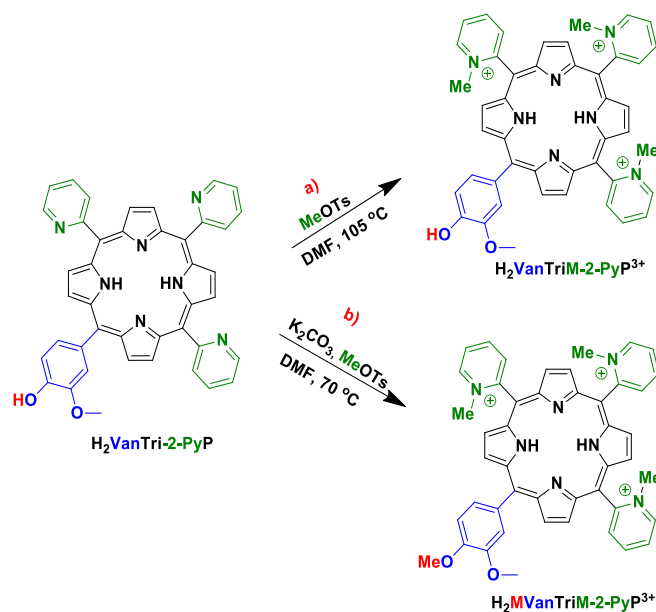


Figura 2.28 – Esquema de derivatização da H₂VanTri-2-PyP para obtenção das porfirinas catiônicas (a) H₂VanTriM-2-PyP³⁺ via *N*-metilação seletiva e (b) H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ via *N*- e *O*-metilações simultâneas em meio básico.

Este produto se mostrou indistinguível da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ isolada a partir da *N*-metilação da H₂MVanTri-2-PyP preparada pela rota geral (Fig. 2.27). A redução de temperatura da reação de 105 °C para 70 °C aumentou o tempo de reação de 1 para 17 horas, mas foi necessária para evitar a formação de uma impureza de cor marrom de difícil eliminação nas etapas de purificação. A formação de produtos indesejados na presença de K₂CO₃ em DMF à temperatura elevada pode estar associada à decomposição da DMF, a reações paralelas nos grupos arilas ou à destruição da porfirina (KADISH *et al.*, 1990;

WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998; 2005; REBOUÇAS; CARVALHO; IDEMORI, 2002).

A alquilação dos grupos 2-piridilas das 2-*N*-piridilporfirinas gera derivados que apresentam o fenômeno de atropoisomerismo (isomeria axial), uma vez que o impedimento estérico entre o grupo “*orto*” alquila e os hidrogênios β -pirrólicos limita a livre rotação do grupo 2-*N*-alquilpiridínio; este grupo arila adota, então, uma geometria aproximadamente perpendicular ao plano do anel porfirínico (IAMAMOTO *et al.*, 1994; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007). Assim, todas as porfirinas catiônicas preparadas neste trabalho foram isoladas como uma mistura dos atropoisômeros $\alpha\alpha\alpha$, $\alpha\beta\alpha$ e $\alpha\alpha\beta$, que diferem na posição relativa dos substituintes metilas dos grupos 2-*N*-metilpiridínio frente ao plano do anel porfirínico (**Fig. 2.29**), e cuja distribuição estatística esperada $\alpha\alpha\alpha:\alpha\beta\alpha:\alpha\alpha\beta$ é de 1:1:2.

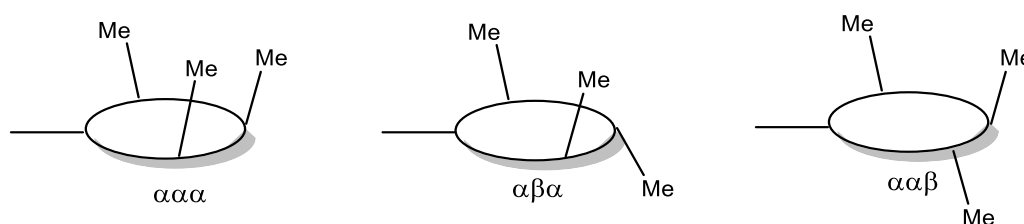


Figura 2.29 – Representação esquemática da mistura de atropoisômeros das porfirinas catiônicas $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ e seus análogos *O*-alquilados. As metilas dos 3 grupos 2-*N*-metilpiridínio (representado por “Me”) não possuem livre rotação e posicionam-se acima (α) ou abaixo (β) do plano do anel porfirínico. O grupo vanilina/*O*-alquilvanilina, por não conter substituinte *orto*, possui livre rotação e está representado apenas por um traço.

Enquanto a separação por cromatografia em coluna dos atropoisômeros de 2-*N*-alquilpiridilporfirinas de cadeia longa são factíveis usando misturas de solventes orgânicos como eluente (IAMAMOTO *et al.*, 1994), a separação de 2-*N*-alquilpiridilporfirinas de cadeia curta, como metila, é reportada com o uso de solventes aquosos de alta salinidade em condições de HPLC preparativo (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002). Não se investiu qualquer esforço neste trabalho na tentativa de separação dos atropoisômeros das porfirinas $[A_3B]^{3+}$ deste trabalho. As 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas $[A_4]^{4+}$ da literatura são também isoladas e utilizadas como misturas de atropoisômeros (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002; 2010; 2011), mesmo as amostras aprovadas para testes clínicos em humanos (GAD *et al.*, 2013; 2016; 2019).

A purificação de todas as porfirinas catiônicas $[A_3B]^{3+}$ seguiu um procedimento idêntico. Inicialmente, eliminou-se o solvente DMF e o excesso de MeOTs por meio da adição de éter etílico (Et_2O), que levou à separação das porfirinas catiônicas como um material viscoso hidrofílico e, conseqüentemente, insolúvel em Et_2O . A DMF e o MeOTs são miscíveis em éter, sendo diluídos e eliminados do sistema. A purificação final das porfirinas foi realizada *via* processo de metátese $OTs^-/PF_6^-/Cl^-$ típico para isolamento de *N*-alquilpiridilporfirinas (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998). A etapa de metátese OTs^-/PF_6^- foi realizada em água resultou na precipitação das porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$ na forma de sal de hexafluorofosfato. A lavagem dos sólidos $[A_3B](PF_6)_3$ com uma mistura de $Et_2O:iPrOH$ foi adaptada da literatura (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998), sendo a proporção de $Et_2O:iPrOH$ ajustada de 1:1 (v/v) para 9:1 (v/v), devido ao álcool isopropílico em maior concentração levar à dissolução das porfirinas. A metátese PF_6^-/Cl^- foi efetuada em acetona usando o agente de troca iônica Aliquat 336 (cloreto de *N*-trioctilmetilamônio). Os processos de metátese foram repetidos para eliminar possíveis impurezas. O rendimento isolado das porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$ na forma de sal de cloreto foi em torno de 90–95 %.

2.4.2.2 Caracterizações das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$

Os espectros UV-vis das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$ são bastante semelhantes entre si, o que é consistente com a expectativa de que a natureza do grupo alquila no grupo *p*-OR vanilina, muito distante do macrociclo porfirínico, deva exercer pouca influência nas transições do grupo cromóforo porfirínico. Também se assemelham ao espectro da porfirina $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ ($A = 2$ -metilpiridínio, $B =$ fenil). Os espectros da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ ($R = Me, nBu$ e $nHex$) são caracterizados por uma banda *Soret* (417 nm) e três bandas Q nos mesmos comprimentos de onda e com intensidades relativas bastante semelhantes (Tabela 2.7).

A nível de comparação ilustrativa, estão apresentados os espectros da $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2nHexVanTriM-2-PyP^{3+}$ (Fig. 2.30). Embora haja também uma certa semelhança entre os espectros das porfirinas $[A_3B]^{3+}$, $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ ($R = Me, nBu$ e $nHex$), e aqueles das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas do tipo $[A_4]^{4+}$ ($H_2Talquil-2-PyP^{4+}$), especialmente na região da banda *Soret*, observa-se uma redução do número de bandas Q nos compostos do tipo $[A_3B]^{3+}$, com o desaparecimento ou baixa intensidade da banda em ~544 nm regularmente observada nas porfirinas do tipo $[A_4]^{4+}$.

Tabela 2.7 – Fatores de retenção cromatográficos (R_f) em CCD-SiO₂ e dados espectroscópicos registrados em H₂O das porfirinas catiônicas do tipo [A₃B]³⁺ e [A₄]⁴⁺ de relevância para este trabalho.

Porfirinas	R_f	$\lambda_{\max}$ /nm (log ϵ /L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺	0,47 ^a 0,60 ^b	417 (5,29) , 517 (4,21), 583 (3,85), 636 (3,22)
H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	0,47 ^a 0,46 ^b	417 (5,23) , 517 (4,17), 583 (3,83), 635 (3,29)
H ₂ nBuVanTriM-2-PyP ³⁺	0,56 ^a	417 (1,000) , 517 (0,080), 583 (0,038), 636 (0,009) ^c
H ₂ nHexVanTriM-2-PyP ³⁺	0,65 ^a	417 (1,000) , 517 (0,090), 583 (0,040), 636 (0,010) ^c
H ₂ PhTriM-2-PyP ³⁺ ^d	—	418 (5,40) , 517 (4,00), 580 (3,60), 640 (3,30)
H ₂ TM-2-PyP ⁴⁺ ^e	0,13 ^a	413 (5,32) , 510 (4,13), 544 (3,49), 581 (3,72), 635 (3,13)
H ₂ TnBu-2-PyP ⁴⁺ ^e	0,46 ^a	415 (5,37) , 511 (4,24), 544 (3,60), 583 (3,84), 636 (3,39)
H ₂ TnHex-2-PyP ⁴⁺ ^e	0,63 ^a	416 (5,34) , 511 (4,24), 543 (3,62), 585 (3,84), 638 (3,43)

^a Eluente KNO₃(aq, sat):H₂O:MeCN (1:1:8, v/v/v). ^b Eluente KNO₃(aq, sat):NaOH (1 mol L⁻¹):MeCN (1:1:2 v/v/v). ^c Os coeficientes de absorção molar (ϵ) da H₂nBuVanTriM-2-PyP³⁺ e H₂nHexVanTriM-2-PyP³⁺ não foram determinados, sendo reportadas as intensidades relativas à intensidade da banda *Soret*. ^d Dados de UV-vis (SARI *et al.*, 1990). ^e Dados de CCD-SiO₂ e UV-vis (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002).

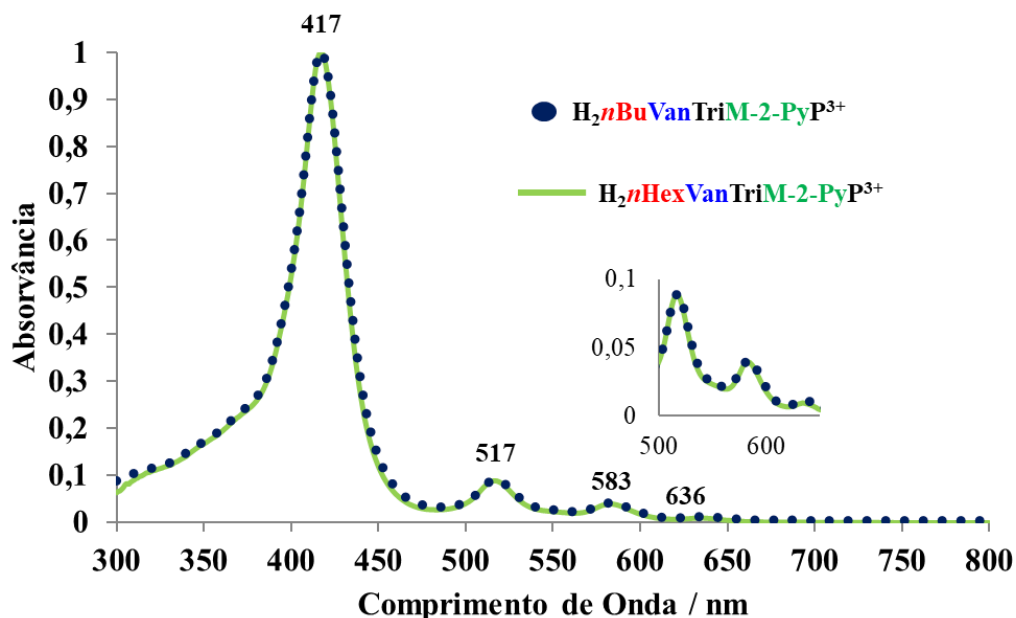


Figura 2.30 – Espectros UV-vis normalizados da $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2nHexVanTriM-2-PyP^{3+}$ registrados em H_2O . A expansão compreende à região das bandas Q.

Devido às porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$ deste trabalho diferirem apenas no grupo vanilina/O-alkilvanilina em H_2O , o espectro da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ se apresenta indistinguível das demais porfirinas dessa classe. Para fazer a diferenciação da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ foi necessário o ajuste do pH para valores mais básicos. A porfirina que foi utilizada para comparar com ela foi a $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$. Em meio básico, um composto apresentando um OH fenólico (**Van-OH**) como a $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ é ionizado a um fenolato (**Van-O⁻**) que pode se estabilizar como uma espécie que se assemelha a uma quinona (**Van=O**) conjugada ao anel porfirínico, alterando as bandas do espectro UV-vis. Assim, as análises foram realizadas em tampão fosfato pH 7,8 (0,05 mol L⁻¹) e tampão borato pH 9,3 (0,1 mol L⁻¹). Enquanto os espectros registrados em tampão fosfato pH 7,8 (0,05 mol L⁻¹) foram idênticos àqueles registrados em água (**APÊNDICE B**), os espectros em tampão borato 9,3 (0,1 mol L⁻¹) revelaram uma mudança bastante significativa no espectro da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**Fig. 2.31a**), consistente com a contribuição de uma espécie tipo quinona associado ao grupo vanilina e a **Van-O⁻**. Os espectros da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ em tampão borato pH 9,3 (0,1 mol L⁻¹) e pH 7,8 (**Fig. 2.31b**) não apresentaram alteração significativa entre si, o que é consistente com a ausência do **Van-OH** nesta porfirina.

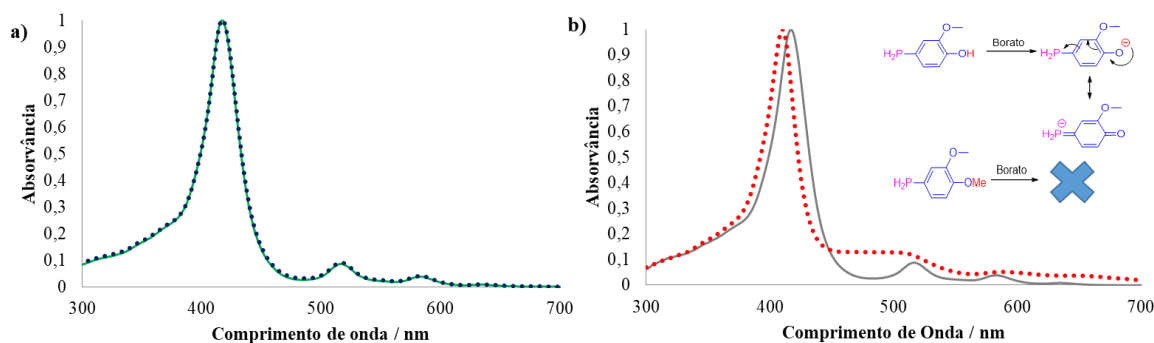
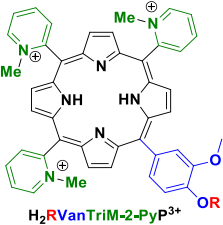


Figura 2.31 – Espectros UV-vis normalizados registrados em **a)** tampão fosfato pH 7,8 da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (pontilhado preto) e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (linha verde), **b)** tampão borato pH 9,3 da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (pontilhado vermelho) e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (linha cinza).

Devido à mistura de atropoisômeros, os espectros de RMN de ^1H registrados em d^6 -DMSO das porfirinas $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$, $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e $\text{H}_2n\text{BuVanTriM-2-PyP}^{3+}$ são complexos, apresentando sinais sobrepostos em algumas regiões e dificultando bastante as atribuições inequívocas (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007). Não foram registrados espectros de RMN de ^1H para o composto $\text{H}_2n\text{HexVanTriM-2-PyP}^{3+}$. Os espectros estão agrupados na tabela abaixo (**Tabela 2.8**).

Tabela 2.8 - Dados dos espectros de RMN de ^1H com os respectivos deslocamentos químicos δ (ppm) das porfirinas do tipo $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$ de representação geral $\text{H}_2\text{RVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

Porfirina / Solvente	β -pirrrols	2-Py	Ph(Van)	NH-pirrol	m -MeO e p -RO (Van)
 $\text{H}_2\text{RVanTriM-2-PyP}^{3+}$					
$\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (R = H) d^6 -DMSO (500 MHz)	9,27-9,10 (8H, β^*)	9,73 (3H, b/b')	7,90-7,20 (3H)	-2,83 (s, a^*)	3,93 (s, 3H, z) 9,87 (s, 1H, OH)
$\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (R = Me) d^6 -DMSO (200 MHz)	9,27-9,10 (8H, β^*)	9,73 (3H, b/b')	7,95-7,35 (3H)	-2,85 (s, a^*)	3,91 (s, 3H, z) 4,07 (s, 3H, i^*)
$\text{H}_2n\text{BuVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (R = n-Bu) d^6 -DMSO (200 MHz)	9,28-9,12 (8H, β^*)	9,69 (3H, b/b')	7,55-6,99 (3H)	-2,85 (s, a^*)	3,91 (s, 3H) 4,27 (t, 2H, i^*) 1,91 (2H, j^*) 1,61 (2H, k^*) 1,06 (t, 3H, l^*)

A seguir é descrita a atribuição do espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{nBuVanTriM-2-PyP}^{3+}$, como forma representativa das porfirinas do tipo $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$. Os espectros das demais porfirinas estão no **APÊNDICE B**.

Hidrogênios β -pirrólicos: Utilizando-se as porfirinas neutras A_3B como referência (Tabela 2.5), a metilação dos grupos 2-piridilas nas porfirinas catiônicas $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$ foi acompanhada por uma desblindagem dos sinais dos hidrogênios β -pirrólicos (Tabela 2.8), mais próximos dos grupos 2-piridila. O deslocamento dos sinais associados aos hidrogênios $\beta 2$, $\beta 3$ e $\beta 4$ resultou em sobreposição parcial com os hidrogênios $\beta 1$. Essa sobreposição, associada à presença de uma mistura de atropoisômeros, originou um conjunto complexo de sinais rotulados genericamente como β^* (Fig. 2.32).

Hidrogênios aromáticos dos grupos *meso*-arila: Os sinais dos hidrogênios aromáticos *meso*-arilas (grupos 2-*N*-metilpiridínio e *O*-*n*-butilvanilina) aparecem entre 6,99 e 9,75 ppm. As atribuições da maioria dos sinais dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-*N*-metilpiridínio não foram possíveis em virtude da mistura de atropoisômeros resultantes da metilação. O único sinal que pode ser atribuído com segurança é o sinal dos hidrogênios da posição **b/b'**, que se deslocou da região de 9,10 ppm (porfirinas neutras) para 9,73 ppm por sofrerem forte influência do grupo eletrorretirador (nitrogênio quaternário) (Fig. 2.32).

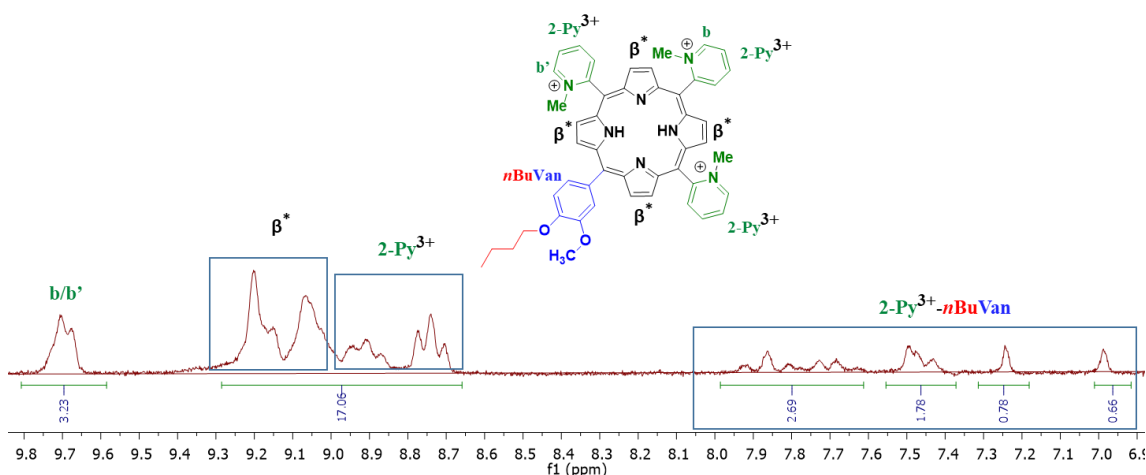


Figura 2.32 - Espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{nBuVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (200 MHz; d^6 -DMSO) na região dos sinais aromáticos. β^* = β -pirrólicos das porfirinas; 2-Py^{3+} = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas; **b/b'** = posições 6 do 2-Py/2-Py $^{3+}$ das porfirinas; **nBuVan** = sinais arila do grupo *O*-*n*-butilvanilina.

Os sinais dos hidrogênios aromáticos do grupo *O*-*n*-butilvanilina (**nBuVan**), que estão presentes na região entre 6,99 ppm e 7,55 ppm (**Fig. 2.32**), não puderam ser atribuídos de forma individual, mas aparecerem em uma região semelhante aos sinais do grupo fenila da $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ (SARI *et al.*, 1990).

Hidrogênios *N*-pirrólicos (NH): Os hidrogênios NH-pirrólicos (**a***) das porfirinas catiônicas se deslocaram da região de -2,9 ppm característica das porfirinas neutras (**Tabela 2.5**) para -2,8 ppm (**Tabela 2.8**), como resultado da alquilação dos grupos 2-piridila. Para a $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$, ele aparece como em singlete em -2,85 ppm (**Fig. 2.33**).

Hidrogênios alifáticos dos grupos alcóxilas e 2-*N*-metilpiridínio: Os hidrogênios alifáticos dos grupos alcóxilas do grupo **nBuVan** estão presentes na região entre 1,0 ppm e 4,5 ppm (**Fig. 2.33**). O singlete em 3,91 ppm correspondente ao grupo *m*-OCH₃ (**z**; **Fig. 2.33**) da $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$.

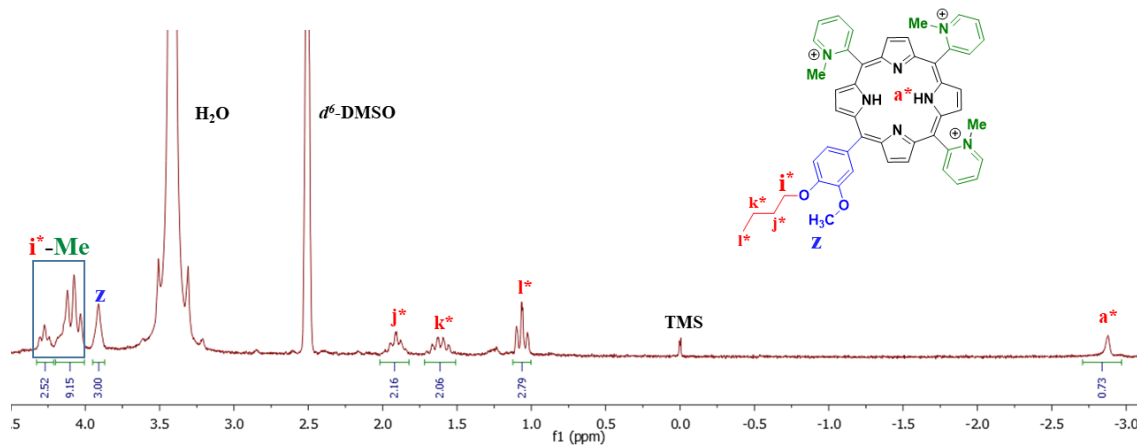


Figura 2.33 – Espectro de RMN de ¹H (200 MHz; d⁶-DMSO) das regiões correspondentes aos grupos alcóxila e hidrogênios internos (NH-pirrólicos; **a***) da $H_2nBuVanTriM-2-PyP^{3+}$. O grupo **Me** (em verde) correspondente aos metilas ligados ao grupo 2-metilpiridínio na mistura de atropoisômeros presentes nas porfirinas catiônicas. Os sinais **i***, **j***, **k***, **I*** correspondem aos hidrogênios do alceno *n*-butila.

O sinal atribuído aos hidrogênios do grupo *p*-OCH₂ **i*** se sobrepuseram com os sinais dos hidrogênios **Me** dos grupos 2-*N*-metilpiridínio na região de 3,95 e 4,25 ppm (**Fig. 2.33**); os hidrogênios metilas dos grupos 2-*N*-metilpiridínio aparecem como um conjunto de sinais devido à mistura de atropoisômeros (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007). O tripleto em 1,06 ppm foi atribuído aos hidrogênios **I*** do grupo CH₃, que são os mais blindados da cadeia *n*-butila. O sinal em 1,91 ppm, que seria, em tese um quinteto, foi

atribuído aos hidrogênios j^* e o sinal em 1,61 ppm, em tese um sexteto, foi atribuído aos hidrogênios k^* . Ambos os sinais dos hidrogênios j^* e k^* estão com a resolução baixa (Fig. 2.33), provavelmente devido também à mistura de atropoisômeros.

As análises por CCD-SiO₂ das porfirinas catiônicas do tipo [A₃B]³⁺ foram feitas utilizando o eluente KNO₃(sat):H₂O:MeCN (1:1:8, v/v/v) (Tabela 2.7). Todas as porfirinas do tipo [A₃B]³⁺ apresentaram valores de R_f maiores que a porfirina do tipo [A₄]⁴⁺ de referência H₂TM-2-PyP⁴⁺ (R_f 0,13), indicando que a diminuição da carga total de +4 para +3 com a substituição de um grupo 2-*N*-piridila por um grupo vanilina ou *O*-alquilvanilina neste trabalho contribui efetivamente para o aumento da lipofilia da porfirina [A₃B]³⁺, em comparação ao composto análogo H₂TM-2-PyP⁴⁺. A H₂nBuVanTriM-2-PyP³⁺ (R_f 0,56) e H₂nHexVanTriM-2-PyP³⁺ (R_f 0,65), mesmo apresentando apenas uma cadeia *n*-butila e *n*-hexila, apresentam valores de R_f comparáveis às porfirinas tetra-*n*-butilada H₂TnBu-2-PyP⁴⁺ (R_f 0,46) e tetra-*n*-hexilada H₂TnHex-2-PyP⁴⁺ (R_f 0,63).

Ambas H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ apresentam o mesmo valor de R_f em KNO₃(sat):H₂O:MeCN (1:1:8, v/v/v). O fato de ambas as porfirinas serem moléculas tricatiônicas grandes que diferem apenas em parte do grupo vanilina (*p*-OH vs. *p*-OCH₃) dificultou a diferenciação destes compostos por CCD-SiO₂ utilizando KNO₃(sat):H₂O:MeCN na proporção 1:1:8 (v/v/v). A alcalinização do eluente com uma solução de NaOH 1 mol L⁻¹ explorou a ionização do grupo *p*-OH fenólico da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ (Fig. 2.34) e possibilitou diferenciá-la da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ por CCD-SiO₂ utilizando a mistura KNO₃(aq, sat):NaOH(aq, 1 mol L⁻¹):MeCN (1:1:2, v/v/v) como eluente (Tabela 2.7).

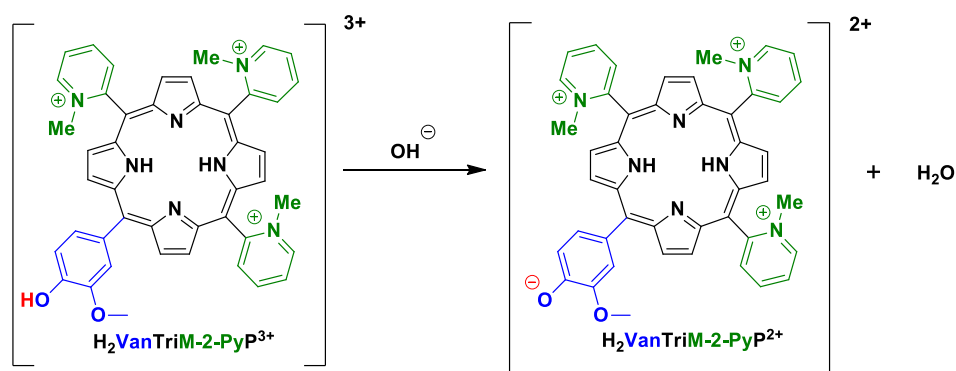


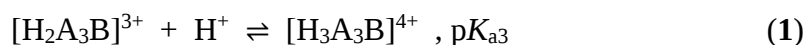
Figura 2.34 – Desprotonação da hidroxila fenólica ácida da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ através da ação da base OH⁻.

O valor de R_f da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ utilizando um eluente básico é consideravelmente maior que aquele da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**Tabela 2.7**). A explicação pode estar associada ao fato de o grupo $p-OH$ da vanilina na $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ ser ionizado ao fenolato correspondente, diminuindo a carga global da porfirina de +3 para +2 (**Fig. 2.34**), enquanto a carga global da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$, que não possui grupo ácido, permanece inalterada neste eluente. O efeito do aumento do R_f cromatográfico com a redução da carga global de porfirinas catiônicas é bem estabelecido na literatura (REBOUÇAS *et al.*, 2008d; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011).

2.4.2.3 Estudos iniciais da acidez das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$

Foram realizados estudos espectrofotométricos iniciais com a $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e a $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$, os quais forneceram um indicativo de que os nitrogênios pirrólicos de ambas as porfirinas protonam na faixa de pH entre 0 e 1. Os espectros foram registrados no intervalo de pH 0–1, mantendo-se fixa a concentração de H_2P e variando-se a concentração de HCl na faixa de 0,1 a 1,0 mol L⁻¹, com incrementos de 0,1 mol L⁻¹. Os testes com a $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ são detalhados nesta seção, enquanto os espectros da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e dados adicionais da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ estão apresentados no **APÊNDICE B**.

Embora não tenham sido registrados espectros em HCl em concentrações abaixo de 0,1 mol L⁻¹, a $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ parece começar a protonar nos nitrogênios pirrólicos internos em pH superior a 1. Essa hipótese foi lançada comparando-se o espectro registrado em HCl 0,1 mol L⁻¹, com o espectro em H₂O, que apresentou diferença de perfil bastante significativa. Pode-se notar o alargamento e diminuição da absorvância da banda *Soret*, que é acentuada à medida que a $[H^+]$ aumenta. A banda Q de maior energia diminui de intensidade e as demais bandas Q aumentam de intensidade, em especial das bandas próximas ao vermelho entre 600 e 650 nm, características de porfirinas (mono ou di)protonadas. Um conjunto de pontos isobésticos bem definidos em 338, 428, 508 e 532 nm é observado até HCl 0,2 mol L⁻¹ (**Fig. 2.35**). A partir de 0,3 mol L⁻¹ de HCl, esse conjunto de pontos isobésticos começa a perder definição, em especial na região das bandas Q (**Fig. 2.36**), mas o comportamento é evidentemente alterado após 0,7 mol L⁻¹ de HCl (**Fig. 2.37**). Isto sugere que se trata de um sistema onde coexistem pelo menos 3 cromóforos, o que pode estar associado aos equilíbrios de protonação descritos pelas equações (1) e (2).



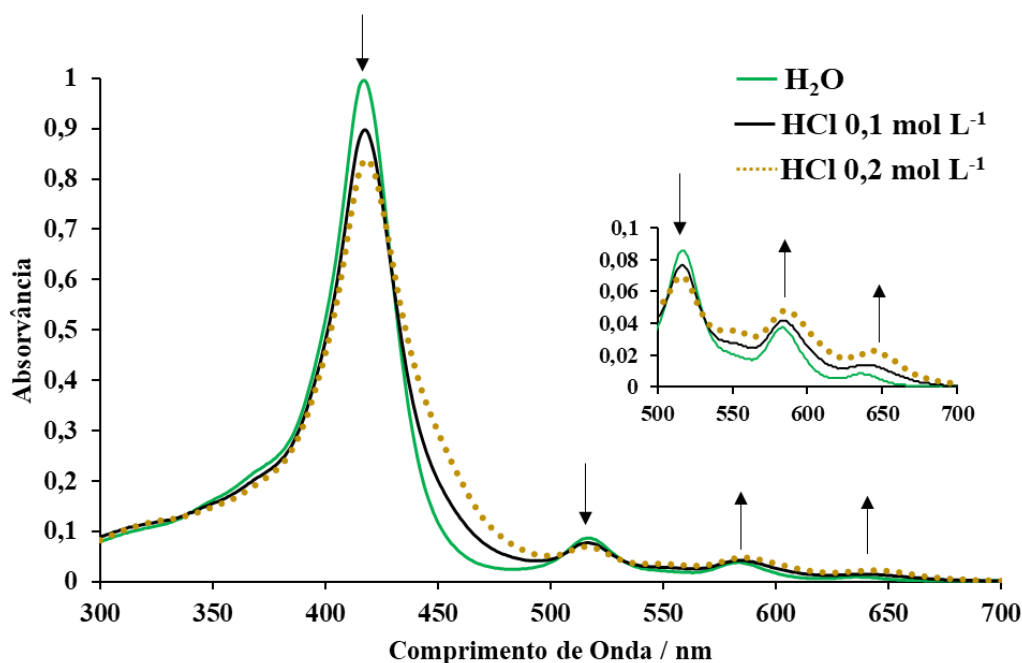
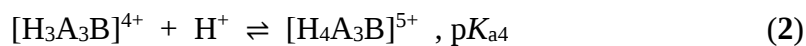


Figura 2.35 - Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$ registrados em H_2O (linha verde), HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e HCl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (linha preta). A expansão correspondente à região das bandas Q.

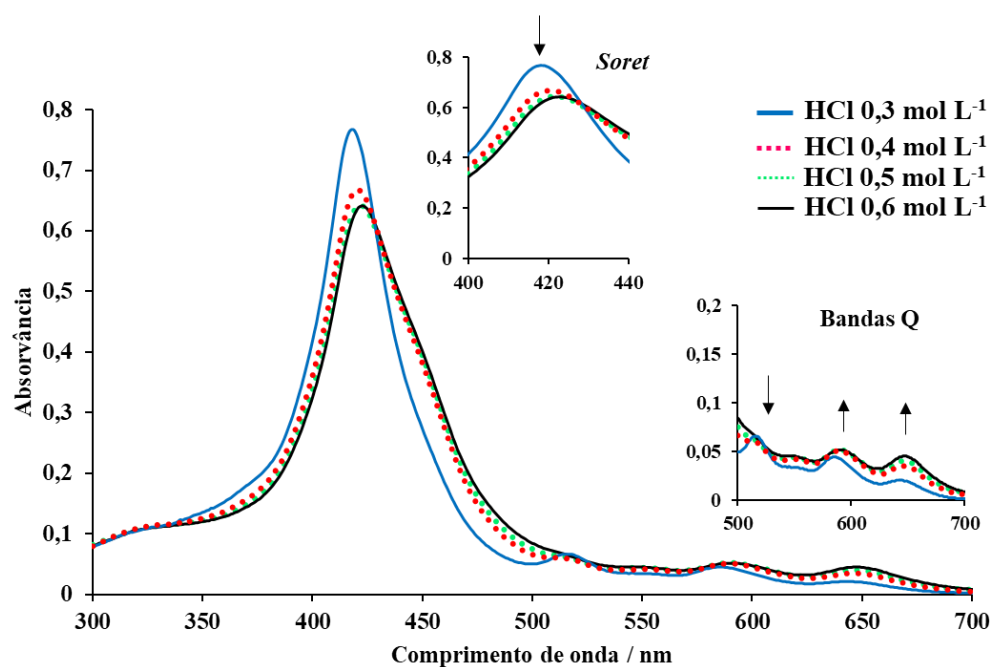


Figura 2.36 - Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$ registrados em HCl $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ (linha azul), HCl $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ (pontilhado vermelho), e HCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (linha vermelha) e HCl $0,6 \text{ mol L}^{-1}$ (linha vermelha). A expansão da esquerda corresponde à região da banda Soret e a expansão à direita à região das bandas Q.

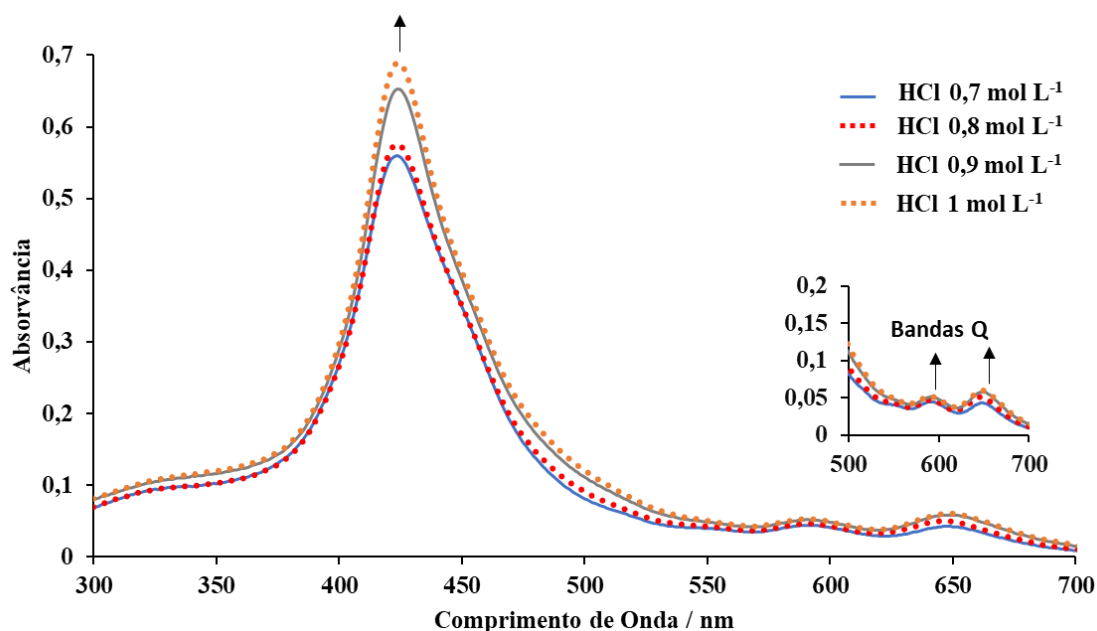


Figura 2.37 - Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$ registrados em HCl $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ (linha azul), HCl $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ (pontilhado vermelho), HCl $0,9 \text{ mol L}^{-1}$ (linha cinza) e HCl 1 mol L^{-1} (pontilhado laranja). A expansão correspondente à região das bandas Q.

Uma estimativa rudimentar do valor de $\text{pK}_{\text{a}3}$ igual a aproximadamente 0,9 para a $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ foi calculada considerando-se os dados espectrofotométricos em 417 nm na faixa de concentração de HCl de 0 a $0,6 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o método gráfico de Benesi-Hildebrand (**APÊNDICE B**) (BENESI; HILDEBRAND, 1949; RAMETTE, 1967). Destaca-se que este valor é de fato muito aproximado, uma vez que: i) pressupõe o isolamento parcial do equilíbrio (1) frente ao equilíbrio (2), visto que o método de Benesi-Hildebrand apresenta desvios consideráveis quando há mais de duas espécies cromóforas contribuindo para o equilíbrio; ii) foram registrados poucos espectros na região de interesse para o isolamento do equilíbrio (1); iii) a força iônica do meio não foi mantida constante ao longo da titulação; iv) nas situações onde há sobreposição de equilíbrios, o uso de métodos computacionais para determinação simultânea das constantes de equilíbrio é indicado, por exemplo, com o programa SQUAD (LEGGETT *et al.*, 1983). Apesar de todas essas limitações, estes estudos iniciais representaram um ponto de partida para avaliação da acidez da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$.

Dados da literatura para a $\text{H}_2\text{PhTriM-2-PyP}^{3+}$ (**Fig. 2.6**), um sistema $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$ (onde A = 2-metilpiridínio, B= fenil), bastante semelhante estruturalmente com a $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$, reportam um valor de $\text{pK}_{\text{a}3}$ para esta porfirina $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$ ($\text{H}_2\text{PhTriM-2-PyP}^{3+}$) da ordem de 0,53 (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), sendo

consideravelmente maior do que aquele para a porfirina $[A_4]^{4+}$ $H_2TM-2-PyP^{4+}$, cujo pK_{a3} é $-0,9$ (HAMBRIGHT, 1977). O valor negativo do pK_{a3} para a porfirina $[A_4]^{4+}$ $H_2TM-2-PyP^{4+}$ indica que esta permanece na forma de base-livre H_2P^{4+} (não protonada) mesmo em pH 0, sendo a porfirina mais ácida reportada na literatura até o momento. Percebe-se, assim, o impacto na densidade eletrônica dos nitrogênios pirrólicos do anel porfirínico causado pela substituição de um grupo eletorretirador 2-*N*-metilpiridínio por um grupo fenila. No caso da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$, o valor estimado de pK_{a3} (0,9) sugere que esta tenha propriedade ácido-base remanescente da porfirina $[A_3B]^{3+}$ equivalente $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ (0,53); o pK_{a3} ligeiramente maior da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (mais básica) em relação à $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ é consistente com o caráter mais eletrodoador do grupo *O*-metilvanilina em relação ao grupo fenila. Considerando que os isômeros 3- e 4-*N*-metilpiridilporfirinas do tipo $[A_4]^{4+}$, $H_2TM-3-PyP^{4+}$ e $H_2TM-4-PyP^{4+}$, são consideravelmente menos ácidos, com valores de pK_{a3} iguais a 1,8 e 1,4 (HAMBRIGHT, 1977), respectivamente, pode-se propor que as porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$ preparadas neste trabalho, representadas pela $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$, devam ter valores de pK_a próximos da $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ na série de acidez: $H_2TM-2-PyP^{4+} > H_2PhTriM-2-PyP^{3+} > H_2MVanTriM-2-PyP^{3+} > H_2TM-4-PyP^{4+} > H_2TM-3-PyP^{4+}$.

2.4.3 Obtenção dos Complexos de Mn(III) do tipo $[MnA_3B]^{4+}$

A obtenção das MnPs do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ deste trabalho foi investigada por duas rotas, denominadas de **Rota 1** e **Rota 2**. Ambas as rotas já foram discutidas no Capítulo 1 (**Seção 1.2.3** e **Fig. 1.9**) para as 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas.

A **Rota 1** consistiu na metalação das porfirinas *catiônicas* $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$, $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2nHexVanTriM-2-PyP^{3+}$ com cloreto de manganês(II) (**Rota 1A**) ou acetato de manganês(II) (**Rota 1B**), com o intuito de obter as MnPs do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ $MnVanTriM-2-PyP^{4+}$, $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$ e $MnnHexVanTriM-2-PyP^{4+}$ (**Figs. 2.38 e 2.39**).

A **Rota 2** consistiu na metalação das porfirinas *neutras* $H_2MVanTri-2-PyP$, $H_2nPrVanTri-2-PyP$ e $H_2nHexVanTri-2-PyP$ com acetato de manganês(II) (**Fig. 2.39**) e subsequente metilação do grupos 2-piridilas do complexos de Mn(III), $MnMVanTri-2-PyP^+$, $MnnPrVanTri-2-PyP^+$ e $MnnHexVanTri-2-PyP^+$, com MeOTs, obtendo-se as MnPs do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$, $MnnPrVanTriM-2-PyP^{4+}$ e $MnnHexVanTriM-2-PyP^{4+}$.

A purificação das MnPs do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ ocorreu *via* metátese $\text{OTs}^-/\text{PF}_6^-/\text{Cl}^-$, de maneira bastante semelhante aos procedimentos descritos para as correspondentes bases-livres catiônicas.

2.4.3.1 Rota 1

A metalação da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ foi feita com cloreto de manganês(II) (**Fig. 2.38**) em meio aquoso ($\text{pH} \sim 12$) aeróbio, usando um método adaptado da literatura para *N*-alquilpiridilporfirinas (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998). As Mn(III) 2-*N*-piridinínioporfirinas da literatura tais como a MnTM-2-PyP^{5+} e MnTE-2-PyP^{5+} são obtidas rapidamente (10-15 min) pela **Rota 1A** à temperatura ambiente (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998; 1999). Já a metalação quantitativa da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ exigiu aquecimento da solução a 70 °C por 45 min. Análises por CCD- SiO_2 utilizando $\text{KNO}_3(\text{sat}):\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ (1:1:8, v/v/v) como eluente indicaram o desaparecimento da mancha fluorescente correspondente à base-livre ao passo do surgimento de uma nova mancha não-fluorescente associada à Mn(III)-porfirina. As condições mais brandas de metalação das 2-*N*-alquilpiridilporfirinas $[\text{A}_4]^{4+}$ podem ser justificáveis devido à elevada acidez das bases-livres precursoras, como a $\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$, que possui $\text{pK}_{\text{a}3} = -0,9$ (HAMBRIGHT, 1977) e $\text{pK}_{\text{a}2} \approx 10,97$ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998), implicando em considerável desprotonação dos hidrogênios pirrólicos em pH 12 e favorecendo a metalação.

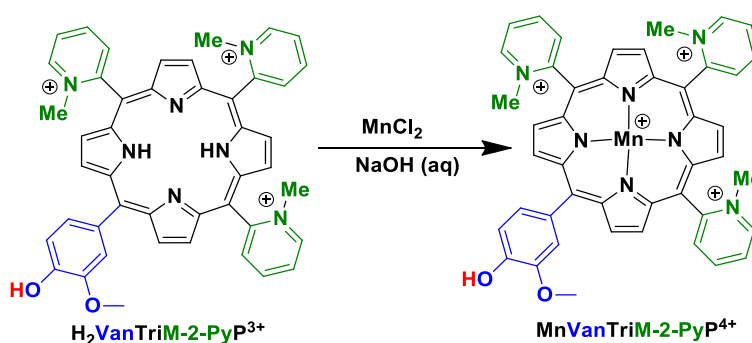


Figura 2.38 – Esquema geral de síntese da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ pela Rota 1A, através da metalação da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ com MnCl_2 em meio aquoso básico aeróbio.

A metalação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e da $\text{H}_2\text{nHexVanTriM-2-PyP}^{3+}$ utilizando a mesma metodologia descrita acima para a $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ resultou nas Mn-porfirinas $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnnHexVanTriM-2-PyP}^{4+}$ contendo traços de base-livre. Mesmo com as etapas de purificação *via* metátese, não foi possível eliminar os resquícios de base-livre. Destaca-se que estes resquícios de base-livre estão presentes

em quantidades tão pequenas que não são detectáveis por espectroscopia UV-vis, sendo observadas apenas por CCD-SiO₂, como manchas de difícil visualização devido à baixa intensidade. Uma estimativa visual muito conservadora desta contaminação a partir das análises por CCD-SiO₂ seria da ordem de < 1%. A atribuição da impureza a resíduo de porfirina base-livre (reagente) foi confirmada inequivocamente por CCD-SiO₂ por coeluição com uma base-livre de partida e pela fluorescência característica da mancha quando observada sob lâmpada de comprimento de onda longo ~365 nm. Mesmo tentando fazer ajustes na temperatura para usar sistema aquoso em refluxo e/ou aumentando de excesso do sal de manganês(II), a metalação seguiu não sendo quantitativa em até 24h de tentativa de metalação.

Uma variação da Rota 1A, inspirada num dos métodos tradicionais de metalação de porfirinas neutras, conhecido como “método do clorofórmio/metanol” (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994), resultou na Rota 1B, sendo mudado o solvente da reação de metalação para refluxo em etanol (EtOH) e acetato de Mn(II) como fonte do metal (**Fig. 2.39**). No método do clorofórmio/metanol usa-se sal metálico na forma de acetato, ao invés de cloreto, uma vez que o acetato auxilia na captura dos prótons liberados pelo ligante porfirina durante a metalação, especialmente em porfirinas menos ácidas (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994).

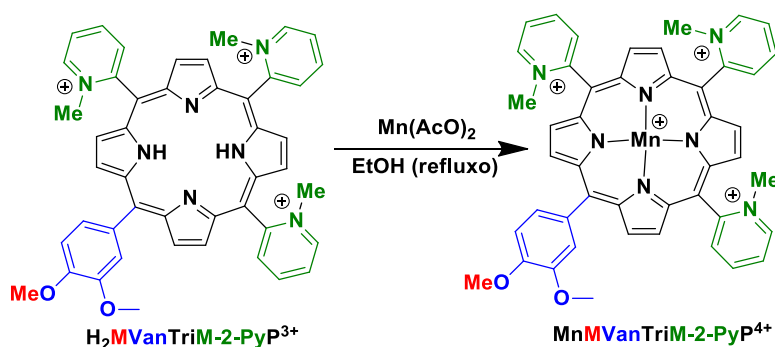


Figura 2.39 - Esquema geral de síntese da $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ pela rota 1B, através da metalação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ com $\text{Mn}(\text{AcO})_2$.

A troca de sistema aquoso (Rota 1A) por etanol (Rota 1B) tornou a metalação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ quantitativa após 12 horas de refluxo. O tempo elevado de reação se deve provavelmente à ausência de base para auxiliar a desprotonação dos nitrogênios pirrólicos da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e é remanescente dos tempos de metalação característicos de porfirinas como a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (REBOUÇAS; CARVALHO; IDEMORI, 2002).

Todas as MnPs tetracatiônicas foram purificadas por filtração simples para eliminação dos produtos de hidrólise do sal de Mn(II), seguida de precipitações *via* metátese, conforme descrito para as porfirinas bases-livres catiônicas. Em qualquer das Rotas 1A ou 1B, a inserção de Mn no anel porfirínico é favorecida pela atmosfera aeróbia. Inicialmente o Mn(II) é inserido no estado de oxidação +2, resultando na Mn(II)-porfirina e depois é rapidamente oxidado *in situ* a Mn(III), resultando em uma metalação irreversível (BOUCHER, 1972). A obtenção dos complexos Mn(III) pôde ser facilmente monitorada por espectroscopia UV-vis, como exemplo a obtenção da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ (**Fig. 2.40**), devido a um deslocamento batocrômico característico considerável na banda *Soret* (~42 nm; de 417 nm na base-livre para 459 nm na MnP) e uma redução no número de bandas Q, associada ao aumento de simetria local do macrociclo porfirínico de D_{2h} (base-livre) para D_{4h} (metalo porfirina).

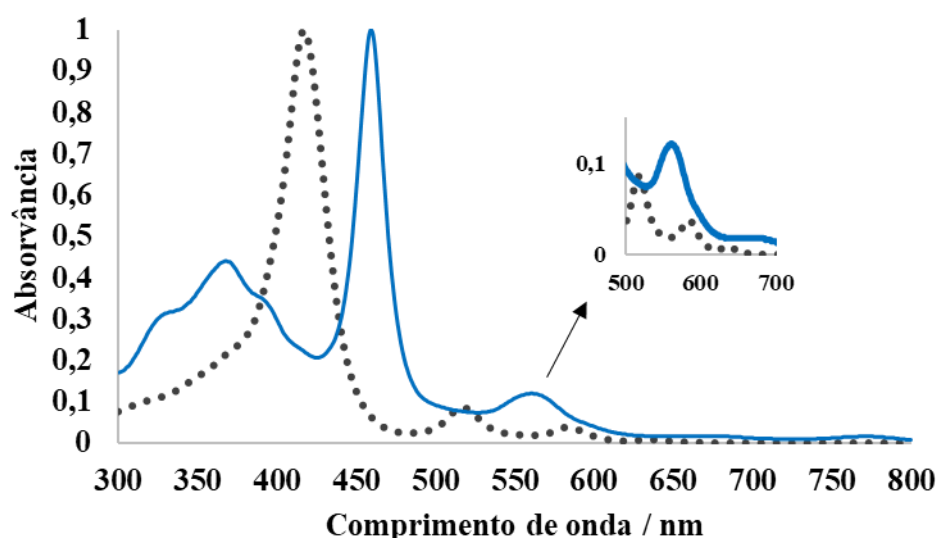


Figura 2.40 – Espectro UV-Vis representativo da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (pontilhado preto) e $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$ (linha verde) registrados em H_2O .

2.4.3.2 Rota 2

A metalação das porfirinas neutras $H_2MVanTri-2-PyP$, $H_2nPrVanTri-2-PyP$ e $H_2nHexVanTri-2-PyP$ foram feitas com acetato de manganês(II) sob refluxo de $CHCl_3/MeOH$ (1:1, v/v), adaptado da literatura (**Fig. 2.41**) (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). Como comentado na seção anterior, a inserção do Mn altera drasticamente o espectro UV-vis das porfirinas e modifica os valores de R_f . A $MnMVanTri-2-PyP^+$ foi purificada por coluna em alumina neutra utilizando $CHCl_3:MeCN$ (1:1, v/v) como eluente, com o objetivo de eliminar o acetato de manganês(II) e ácido acético (coproduto)

do sistema. Após a eluição de resquícios da base-livre correspondente, a MnMVanTri-2-PyP^+ foi recolhida. A MnMVanTri-2-PyP^+ foi isolada na forma sal de cloreto por precipitação com NaCl. Para eliminação de possíveis traços de NaCl do sistema, o sólido foi dissolvido em $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (10:1, v/v) e filtrado em Celite. A purificação da $\text{MnnPrVanTri-2-PyP}^+$ e da $\text{MnnHexVanTri-2-PyP}^+$ ocorreu de maneira análoga à MnMVanTri-2-PyP^+ , exceto que na coluna em alumina neutra utilizou-se $\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$ (4:1, v/v) como eluente.

A $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$, $\text{MnnPrVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnnHexVanTriM-2-PyP}^{4+}$ foram obtidas através da metilação dos grupos 2-piridila da MnMVanTri-2-PyP^+ , $\text{MnnPrVanTri-2-PyP}^+$ e $\text{MnnHexVanTri-2-PyP}^+$ em DMF (**Fig. 2.41**).

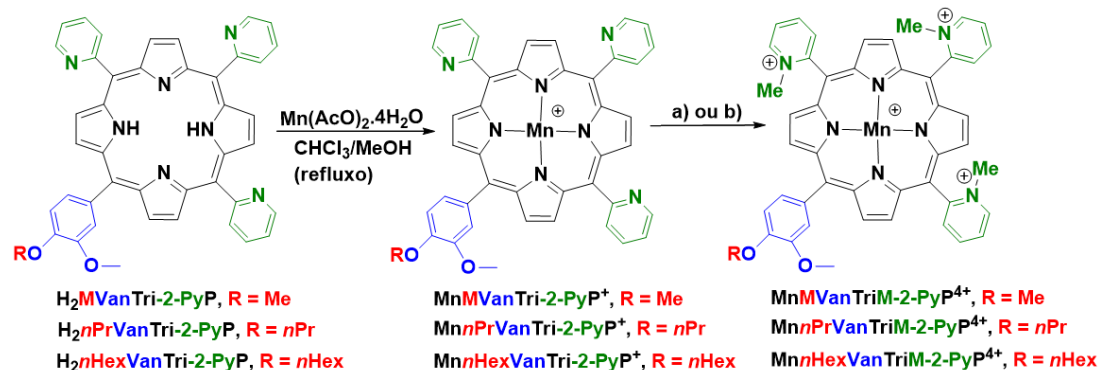


Figura 2.41 - Esquema de síntese das MnPs do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ pela Rota 2. a) DMF a 105 °C para a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnnPrVanTriM-2-PyP}^{4+}$ ou b) DMF a 70°C, K_2CO_3 para a $\text{MnnHexVanTriM-2-PyP}^{4+}$.

A $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ foi obtida *via* metilação dos grupos 2-piridila com MeOTs (relação molar tosionato:MnP de 100:1) em DMF a 105 °C (**Fig. 2.40-a**) durante 40 min. Ela apresentou as mesmas características espectroscópicas e de CCD-SiO₂ do produto isolado utilizando a Rota 1.

As tentativas de se obter a $\text{MnnPrVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnnHexVanTriM-2-PyP}^{4+}$ nas mesmas condições usadas para a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ foram infrutíferas: durante o curso da *N*-alquilação, foi observada a desmetalção parcial das porfirinas, aparecendo resquícios da $\text{H}_2\text{nPrVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e $\text{H}_2\text{nHexVanTriM-2-PyP}^{4+}$, de acordo com análises por CCD-SiO₂ utilizando $\text{KNO}_3(\text{sat})\text{:H}_2\text{O}\text{:MeCN}$ (1:1:8, v/v/v) como eluente. Especula-se que a presença água no meio reacional (provavelmente oriunda da síntese do MeOTs) possa levar à decomposição térmica da DMF (em CO + HNMe_2), o que pode gerar um sistema redutor na presença de água em DMF, já foi documentado em sistemas à base de Ru-porfirinas (REBOUÇAS *et al.*, 2008c), e que poderia reduzir as

Mn(III)-porfirinas ao correspondente complexo de Mn(II). Aliado a isso, a hidrólise do MeOTs sob condições de aquecimento em DMF, poderia formar o ácido *p*-toluenosulfônico e gerar um meio de caráter ácido capaz de desmetalar Mn(II)-porfirinas.

Buscando-se contornar esse problema de desmetalção, optou-se pela adição de K_2CO_3 ao sistema, bem como a redução da temperatura para 70°C (**Fig. 2.40b**), o que poderia retardar a decomposição da DMF e hidrólise do MeOTs. Após 20 horas, a obtenção da **MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺** foi completada sem haver perda de manganês detectável por UV-vis ou CCD-SiO₂. A relação molar utilizada de MeOTs:MnP foi de 150:1. Devido a limitações de tempo, não se reinvestigou a metilação da **MnnPrVanTri-2-PyP⁺** utilizando este novo sistema à base de MeOTs/ K_2CO_3 /DMF a 70 °C.

Análises por espectroscopia UV-vis das MnPs do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ **MnVanTriM-2-PyP⁴⁺** e **MnRVanTriM-2-PyP⁴⁺** (**R= Me, nPr, nHex**) mostraram tendência de propriedades espectroscópicas bastante semelhantes, corroborando o que foi observado nas porfirinas precursoras. Os valores observados demonstraram que a substituição de um grupo eletrorretirador 2-*N*-metilpiridínio da MnP de referência **MnTM-2-PyP⁵⁺** por um grupo eletrodoador, como a vanilina ou *O*-alquilvanilina, resultou em deslocamento da banda *Soret* para o vermelho (**Tabela 2.9**). As demais bandas das $[MnA_3B]^{4+}$ apresentaram comportamento semelhante. Foi possível observar uma banda adicional em 416 nm no espectro da **MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺**, que se aproxima bastante do valor da banda *Soret* em 417 nm da base-livre catiônica, sugerindo que este complexo contém resíduo de porfirina base-livre. Todos os dados estão compilados na **Tabela 2.9**.

Tabela 2.9 – Dados de UV-vis espectroscópicos registrados em H₂O das MnPs catiônicas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ e $[MA_4]^{5+}$ de relevância para este trabalho.

Mn-porfirinas	λ_{max} / nm ($\log \epsilon / L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ ^a	369 (4,58), 459 (4,91) , 559 (4,00), 773 (3,16)
MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ ^a	369 (4,40), 459 (4,79) , 559 (3,82), 772 (3,15)
MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺ ^{b,*}	367 (0,45), 416*, 459 (1,00) , 559 (0,16)
MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺ ^b	369 (0,45), 459 (1,00) , 559 (0,12), 773 (0,015)
MnTM-2-PyP⁵⁺ ^{a,c}	364 (4,64), 411(4,27), 453 (5,11) , 499 (3,66), 556 (4,03), 782 (3,15)

^aValor de ϵ em $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ^b Os coeficientes de absorção molar (ϵ) da **MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺** e **MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺** não foram determinados, sendo reportadas as intensidades relativas à intensidade da banda *Soret*) ^{*}A amostra da **MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺** possui resquício de base-livre e a banda em 416 nm pode ser correspondente a esta impureza. ^c (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002)

2.4.3.3 Potenciais de redução Mn(III)/Mn(II) da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺

Os valores dos potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) correspondentes às reações de oxirredução centrados no metal da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ foram obtidos através de voltametria cíclica (**Tabela 2.10**). Os potenciais de redução Mn^{III}/Mn^{II} ($E_{1/2}$) para a MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (109 mV vs NHE) e para a MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ (115 mV vs NHE) foram inferiores em 111 mV e 105 mV, respectivamente, quando comparados ao potencial da MnTM-2-PyP⁵⁺ (220 mV vs. NHE) (**Tabela 2.11**) (voltamogramas no **APÊNDICE C**). Além disso, os potenciais da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ são próximos àqueles da MnP do tipo [MnA₃B]⁴⁺ MnPhTriM-2-PyP⁴⁺ (108 mV vs. NHE) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), devido à diminuição do caráter eletrorretirador no sistema [MnA₃B]⁴⁺. Os potenciais de redução da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ estão localizados entre os da MnTM-2-PyP⁵⁺ (220 mV vs. NHE) e do seu isômero 3-*N*-metilpiridínio, MnTM-3-PyP⁵⁺ (+52 mV vs. NHE) (KOS *et al.*, 2009b).

Tabela 2.10 – Potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) das MnPs de interesse medidos em tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8).

Porfirinas	E_{pc} (mV)	E_{pa} (mV)	$E_{1/2}$ (mV) vs Ag/AgCl	$E_{1/2}$ (mV) vs NHE
MnVanTriM-2-PyP ⁴⁺	-96	-169	-133	109
MnMVanTriM-2-PyP ⁴⁺	-94	-160	-127	115
MnTM-2-PyP ⁵⁺	8	-53	-22	220

Destaca-se que a adição de um grupo **CH₃** na posição *p*-OH da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ para resultar no grupo *p*-OMe da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ foi acompanhada por um aumento modesto (6 mV) do potencial de redução. Este fato corrobora a diminuição do caráter eletrodoador do grupo *O*-metilvanilina da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ em relação ao grupo vanilina da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺.

2.4.3.4 Atividade SOD da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺

Os valores das atividades SOD da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺, representados por log k_{cat} , foram determinados pelo método do citocromo *c* (MCCORD; FRIDOVICH, 1969). A MnTE-2-PyP⁵⁺ (**Fig. 2.2**) foi utilizada como padrão. O teste do urato foi realizado para verificar se o sistema X/XO estava gerando O₂^{•-} de

maneira adequada. Ele consistiu na determinação da taxa de conversão de xantina em urato, acompanhado em 220 nm. Uma vez verificada que a formação de urato estava ocorrendo na velocidade adequada, foram feitos testes de adição das MnPs ao meio, para verificar que as $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ não inibem a XO e consequentemente produção de $\text{O}_2^{\bullet-}$. Esse teste também foi acompanhado pela conversão de xantina em urato (220 nm). Ambas as Mn-porfirinas $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ não interferiram na produção de $\text{O}_2^{\bullet-}$. A adição de EDTA ao sistema não alterou de maneira significativa a ação de todas as MnPs utilizadas no teste.

Os valores de $\log k_{\text{cat}}$ da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$, bem como os valores de potencial de redução centrado no íon metálico $\text{Mn}^{\text{III}}/\text{Mn}^{\text{II}}$ ($E_{1/2}$, mV vs NHE) e valores de R_f estão compilados na **Tabela 2.11**. Os dados deste trabalho foram comparados com aqueles de algumas *N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III) da literatura.

Tabela 2.11 - Valores de $E_{1/2}$ ($\text{Mn}^{\text{III}}/\text{Mn}^{\text{II}}$), atividade SOD e R_f para diferentes complexos de Mn(III) derivados das *N*-aquilpiridilporfirinas.

Mn-porfirina	$\log k_{\text{cat}}$	$E_{1/2}^c$ (mV vs NHE)
$\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$	6,24	+ 115 mV^c
$\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$	6,27	+ 109 mV^c
MnTM-3-PyP^{5+}	6,61 ^a	+ 52 mV ^a
MnTE-3-PyP^{5+}	6,65 ^a	+ 54 mV ^a
MnTM-2-PyP^{5+}	7,79 ^b	+ 220 mV ^b
MnTE-2-PyP^{5+}	7,76 ^b	+ 228 mV ^b

^aKOS *et al.*, 2009a ^bBATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002, ^cDados obtidos em 0,05 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH = 7,8), 0,1 mol L⁻¹ de NaCl, 5 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ de Mn-porfirina

Os valores de $\log k_{\text{cat}}$ indicam que a $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ ($\log k_{\text{cat}}$ 6,24) e a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ ($\log k_{\text{cat}}$ 6,27) possuem atividade SOD intrínseca inferior às 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III) ($\log k_{\text{cat}}$ 7,48–7,79) (**Tabela 2.11**). Isso já era esperado e ocorreu devido à diminuição da carga global do composto (efeito eletrostático) e do caráter eletrorretirador no sistema $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ (REBOUÇAS *et al.*, 2008d), em virtude da troca de um grupo 2-*N*-alquilpiridínio catiônico por um grupo neutro vanilina ou *O*-metilvanilina. Outro fator de importância para a menor atividade SOD é a diminuição do $E_{1/2}$, mV vs NHE, que torna a $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ mais distantes do potencial ideal apresentado pela enzima SOD (~300 mV).

A $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ possuem atividades SOD próximas das 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III) ($\log k_{\text{cat}} \sim 6,6$) (**Tabela 2.11**); os valores ligeiramente menores para os complexos tetracatiônicos do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$ (frente às Mn-porfirinas pentacatiônicas do tipo $[\text{MnA}_4]^{5+}$ derivadas das 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas) são provavelmente resultados da menor facilitação eletrostática associada à menor carga global dos compostos (REBOUÇAS *et al.*, 2008b). As 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III) possuem valores de $E_{1/2}$ na faixa de 50–55 mV vs NHE, o que também contribuiu para tornar os valores de $\log k_{\text{cat}}$ próximos.

2.4.3.5 Estimativa da lipofilia das MnPs do tipo $[\text{MnA}_3\text{B}]^{4+}$

A medida do R_f é um parâmetro de lipofilia importante nos sistemas das *N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III). Foi observada uma relação linear entre o valor de R_f e o coeficiente de partição octanol/água ($\log P_{\text{ow}}$). Sendo assim, a medida do R_f é um recurso muito importante, quando não se pode determinar o $\log P_{\text{ow}}$ diretamente. A determinação direta da lipofilia desses sistemas consiste na determinação do coeficiente de partição *n*-butanol/água ($\log P_{\text{bw}}$), que pode ser convertido a $\log P_{\text{ow}}$ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002; KOS *et al.*, 2009a; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011).

As tentativas de se determinar o valor de $\log P_{\text{ow}}$ da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e da $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ a partir da medida de $\log P_{\text{bw}}$ não foram efetivas, pois estas MnPs não são lipofílicas o suficiente para particionarem no *n*-butanol em uma concentração minimamente detectável por UV-vis. A partir da determinação dos valores de R_f cromatográficos, os valores de $\log P_{\text{ow}}$ da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e da $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ foram estimados utilizando uma equação determinada para as 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas da literatura ($\log P_{\text{ow}} = 12,18 \times R_f - 7,43$) (KOS *et al.*, 2009a) (**Tabela 2.12**). Os valores estimados de $\log P_{\text{ow}} = -5,8$ para a $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ indicaram que essas MnPs possuem lipofilia maior do que a $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$ (proposta inicial de desenho: **seção 2.1.2; modelo A-T**), e cerca de 2 ordens de magnitude maior do que a porfirina de referência MnTM-2-PyP^{5+} (**Tabela 2.12**). Além disso, os resultados para a $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ e a $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ indicam que essas MnPs possuem lipofilia intermediária entre a MnTnPr-2-PyP^{5+} e a MnTnBu-2-PyP^{5+} , que são 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas tetraalquiladas do tipo $[\text{MnA}_4]^{5+}$ com os grupos *n*-propila e *n*-butila, respectivamente.

Os dados de CCD-SiO₂ da $\text{MnnPrVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (R_f 0,42) e da $\text{MnnHexVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (R_f 0,58) sugeriram que elas possuem lipofilia

consideravelmente maiores que as MnPs do tipo $[\text{MnA}_4]^{5+}$ tetra-*n*-propilada **MnTnPr-2-PyP⁵⁺** (R_f 0,11) e tetra-*n*-hexilada **MnTnHex-2-PyP⁵⁺** (R_f 0,38). A **MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺** possui valor de R_f comparável com a **MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺** (**Fig. 2.2**) (R_f 0,42), que é uma representante da classe das 2-*N*-piridínioporfirina de Mn(III) com estudos clínicos em fase II (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2021). A **MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺** parece ser consideravelmente mais lipofílica do que as MnPs agentes terapêuticos redox-ativos que estão na fase clínica **MnTE-2-PyP⁵⁺** e **MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺** (**Tabela 2.12**).

Tabela 2.12 – Dados comparativos dos valores de R_f de CCD-SiO₂ em KNO_{3(sat)}/H₂O/MeCN (1:1:8, v/v/v) das MnPs deste trabalho com a literatura.

Mn-porfirinas	R_f	$\log P_{ow}$
MnVanTriM-2-PyP ⁴⁺	0,13	-5,8^d
MnMVanTriM-2-PyP ⁴⁺	0,13	-5,8^d
MnnPrVanTriM-2-PyP ⁴⁺	0,42	-2,3^d
MnnHexVanTriM-2-PyP ⁴⁺	0,58	-0,4^d
MnPyTriM-2-PyP ⁴⁺	0,06 ^a	-6,7 ^d
MnTnPr-2-PyP ⁵⁺	0,11 ^b	-6,1 ^b
MnTnBu-2-PyP ⁵⁺	0,19 ^b	-5,1 ^b
MnTnHex-2-PyP ⁵⁺	0,38 ^b	-2,8 ^b
MnTnBuOE-2-PyP ⁵⁺	0,42 ^c	-4,1 ^c
MnTE-3-PyP ⁵⁺	0,10 ^b	-5,9 ^b

^a Estimado a partir do valor comparativo de CCD-SiO₂ usando a MnTM-2-PyP⁵⁺ como referência (0,03 x 2,1) (REBOUÇAS *et al.*, 2008d), ^b (KOS *et al.*, 2009a), ^c (RAJIĆ *et al.*, 2012), ^d Calculado a partir da relação $\log P_{ow} = 12,18 \times R_f - 7,43$ (KOS *et al.*, 2009a)

Com base nos valores de R_f (**Tabela 2.12**) e comparação com os sistemas à base de Mn-porfirinas do tipo $[\text{MnA}_4]^{4+}$ correlatas (KOS *et al.*, 2009a), especula-se que seja possível medir o $\log P_{bw}$ da **MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺** e **MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺** para conversão ao $\log P_{ow}$; devido a limitações de tempo, esta hipótese não foi testada.

Os protótipos MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e a MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ com atividade SOD determinada possuem valores de R_f próximos a MnTE-3-PyP⁵⁺ (R_f 0,10), uma representante das Mn(III) 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas. Cada representante das Mn(III) 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas é mais lipofílico do que o correspondente isômero das Mn(III) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, o que fez com que a eficiência *in vivo* de ambos os sistemas fosse equiparável (KOS *et al.*, 2009b). Como a MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e a MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ possuem valores de R_f altos em relação aos sistemas tetrametilado (MnTM-2-PyP⁵⁺; MnTM-3-PyP⁵⁺) e tetraetilado (MnTE-2-PyP⁵⁺; MnTE-

3-PyP⁵⁺) (**Tabela 2.12**) das *N*-alquilpiridínioporfirinas, espera-se que a característica mais lipofílica resulte em MnPs de boa biodisponibilidade em modelos *in vivo*.

2.5 Conclusões

Os trabalhos realizados desenvolveram a síntese de uma nova classe de porfirinas do tipo A₃B H₂VanTri-2-PyP ou H₂**RVan**Tri-2-PyP (R= **Me**, **nPr**, **iBu**, **nBu**, **nHex**, **nNon**, **CyE**). A purificação destas porfirinas foi possível através da combinação de técnicas como extração sólido-líquido, precipitação seletiva de impurezas e cromatografia em coluna. As porfirinas foram caracterizadas por CCD-SiO₂, UV-vis e RMN de ¹H.

A *N*-alquilação da H₂VanTri-2-PyP ou da H₂**RVan**Tri-2-PyP (R = **Me**, **nBu**, **nHex**) com **MeOTs** gerou os derivados catiônicos H₂**RVan**TriM-2-PyP³⁺. A metodologia de síntese e purificação das H₂**RVan**TriM-2-PyP³⁺ foi semelhante às *N*-alquilpiridínioporfirinas de referência. Elas foram caracterizadas por CCD-SiO₂, UV-vis e RMN de ¹H.

A obtenção da Mn**Van**TriM-2-PyP⁴⁺ envolveu a complexação com MnCl₂ em meio aquoso, sob aquecimento. A Mn**MVan**TriM-2-PyP⁴⁺ foi obtida quantitativamente por duas rotas (**1** e **2**). A **rota 1** envolveu a alquilação da H₂**MVan**Tri-2-PyP com **MeOTs**, obtenção do intermediário H₂**MVan**TriM-2-PyP³⁺ e metalação com Mn(AcO)₂ em meio etanólico. A **rota 2** envolveu metalação da H₂**MVan**Tri-2-PyP, obtenção do intermediário Mn**MVan**Tri-2-PyPcl e alquilação do intermediário com **MeOTs** em DMF a 105 °C. A Mn**nHexVan**TriM-2-PyP⁴⁺ obtida pela **rota 2**, exceto que a alquilação com **MeOTs** em DMF a 70 °C na presença de K₂CO₃. Todas as rotas podem exploradas para a obtenção da nova classe de MnPs do tipo [MnA₃B]⁴⁺.

Os dados obtidos das [MnA₃B]⁴⁺ sugerem que essa nova classe pode possuir candidatos a novos agentes terapêuticos redox-ativos. Os protótipos iniciais MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e a Mn**MVan**TriM-2-PyP⁴⁺ exibiram atividade SOD inferior em uma ordem de grandeza das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III). No entanto, a lipofilia das duas [MnA₃B]⁴⁺ é consideravelmente maior do que as porfirinas Mn**TM**-2-PyP⁵⁺ e Mn**TE**-2-PyP⁵⁺. A menor atividade SOD, assim como ocorreu com as 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III), pode ser compensada *in vivo* pela lipofilia e possível melhor biodisponibilidade. Dados cromatográficos preliminares de representantes [MnA₃B]⁴⁺ mais lipofílicos sugerem que a Mn**nPrVan**TriM-2-PyP⁴⁺ possui lipofilia comparável com a Mn**TnHex**-2-PyP⁵⁺ e Mn**TnBuOE**-2-PyP⁵⁺. A Mn**nHexVan**TriM-2-PyP⁴⁺ é mais lipofílica do que as mesmas MnPs.

3 Zn(II)-porfirinas catiônicas do tipo $[ZnA_4]^{4+}$ e $[ZnA_3B]^{3+}$ (A = 2-N-alkilpirídínio; B = O-metilvanilina) como candidatas a fotossensibilizadores para inativação fotodinâmica de Leishmanias¹

3.1 Introdução²

3.1.1 Inativação fotodinâmica antimicrobiana (aPDI, do inglês “antimicrobial photodynamic inactivation”)

A multirresistência microbiana às terapias farmacológicas tradicionais se configura hoje como um problema global crescente do século XXI, pois o ritmo de desenvolvimento de novos fármacos diminuiu consideravelmente (ALANIS, 2005). Em contraponto, o uso indiscriminado dos fármacos disponíveis aumentou em ritmo notavelmente desproporcional (BROWN; WRIGHT, 2016; KHAMENEH *et al.*, 2016). O uso indiscriminado da terapia antimicrobiana constitui um dos fatores responsáveis pelo surgimento de micro-organismos multirresistentes (WALSH; WENCEWICZ, 2014). A longa lista de cepas de micro-organismos resistentes a diversos fármacos incluem bactérias, como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dentre outras (WILLYARD, 2017); fungos, como *Candida auris* e *Lomentospora prolificans* (RODRIGUES *et al.*, 2016); e parasitas, como *Plasmodium falciparum* (THU *et al.*, 2017).

Os antimicrobianos convencionais se utilizam de alvos específicos, como enzimas, DNA, parede celular etc. A ação em apenas um alvo contribuiu para o desenvolvendo de mecanismos de defesa microbianos cada vez mais eficientes (BLAIR

¹ Parte dos dados apresentados neste Capítulo foram publicados:

- (i) T.H.S. Souza, C.G. Andrade, F.V. Cabral, J.F. Sarmento-Neto, J.S. Rebouças, B.S. Santos, M.S. Ribeiro, R.C.B.Q. Figueiredo, A. Fontes, Efficient photodynamic inactivation of Leishmania parasites mediated by lipophilic water-soluble Zn(II) porphyrin ZnTnHex-2-PyP⁴⁺, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, **2021**, 1865(7), 129897, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129897>.
- (ii) C. G. Andrade, R.C.B.Q. Figueiredo, K.R.C. Ribeiro, L.I.O. Souza, J.F. Sarmento-Neto, J.S. Rebouças, B.S. Santos, M.S. Ribeiro, L.B. Carvalho Jr., A. Fontes, Photodynamic effect of zinc porphyrin on the promastigote and amastigote forms of Leishmania braziliensis, *Photochemical & Photobiological Sciences*, **2018**, 17, 482-490, <https://doi.org/10.1039/C7PP00458C>.

² Parte da introdução deste Capítulo compõe um artigo de Revisão aceito (no prelo): T.H.S. Souza, J.F. Sarmento-Neto, S.O. Souza, B.L. Raposo, B.P. Silva, C.P.F. Borges, B.S. Santos, P.E. Cabral Filho, J.S. Rebouças, A. Fontes, Advances on Antimicrobial Photodynamic Inactivation Mediated by Zn(II) Porphyrins, *Journal of Photochemistry & Photobiology, C: Photochemistry Reviews*, **2021**, 49, 100454, <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2021.100454>.

et al. 2015). Uma das estratégias mais promissoras para se combater a resistência microbiana consiste em atingir simultaneamente vários alvos vitais dos micro-organismos (BROOKS, 2014). Essa estratégia pode minimizar o desenvolvimento de mutações gênicas de resistência dos micro-organismos que anulam o efeito do fármaco (BROWN; WRIGHT, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2016).

A inativação fotodinâmica antimicrobiana (aPDI) de agentes patogênicos aparece como uma alternativa à resistência microbiana. Os princípios básicos e mecanismos da aPDI são muito semelhantes aos da terapia fotodinâmica (PDT) (HAMBLIN, 2016). O fundamento de ambas envolve o fotossensibilizador (FS), que é ativado por meio do uso de luz em um comprimento de onda apropriado. O FS ativado pode gerar espécies reativas que resultam em processos de destruição oxidativa do micro-organismo alvo em poucos minutos. As espécies reativas geradas pela reação do FS com o O₂ não têm alvos biomoleculares específicos, sendo pouco seletivas, o que reduz a probabilidade de a célula desenvolver mutações específicas para contornar a ação de destruição celular (HENDERSON; DOUGHERTY, 1992; AGOSTINIS *et al.*, 2011). O colapso celular pode ocorrer pela mistura dos diferentes tipos de morte celular: os danos na mitocôndria podem levar à apoptose, a perda de integridade da membrana plasmática pode induzir necrose e os danos nos lisossomos ou no retículo endoplasmático podem provocar autofagia (KWIATKOWSKI *et al.*, 2018).

Embora a PDT tenha sido inicialmente proposta para tratamento de câncer, as aplicações mais bem-sucedidas são não-oncológicas. Destacam-se algumas aplicações clínicas atuais, tais como: o tratamento para degeneração macular relacionada à idade (N. M. BRESSLER; S. B. BRESSLER, 2000), psoríase (BOEHNCKE; ELSHORST-SCHMIDT; KAUFMANN, 2000), artrite (TRAUNER; HASAN, 1996), esôfago de Barrett (BARR, 2000), aterosclerose (ROCKSON *et al.*, 2000) e reestenose (JENKINS *et al.*, 1999). As aplicações da aPDI são excelentes para tratamentos dermatológicos, incluindo processos infecciosos superficiais e de cicatrização (SPERANDIO *et al.*, 2010), e tratamentos odontológicos, como, por exemplo, placa dentária (SANTIN *et al.*, 2014) e *herpes labialis* (LA SELVA *et al.*, 2020). Os FSs que mais se destacam possuem como base um núcleo macrocíclico, como as porfirinas, clorinas, bacterioclorinas, ftalocianinas e texafirinas (DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003).

3.1.2 Processos fotodinâmicos mediados pelo fotossensibilizador

Os processos fotodinâmicos pelos quais o FS participa envolvem tanto transferência de elétrons quanto transferência de energia não-radiativa. Os processos se iniciam com absorção de um fóton e excitação do FS, podendo evoluir até reações envolvendo o dióxigênio (O_2). Esses fenômenos são descritos no diagrama de Jablonski (Fig. 3.1):

1. Durante o processo de excitação do FS no estado fundamental (S_0), ocorre a promoção de um elétron para um orbital de maior energia, resultando em um estado singlete excitado (S_1). A promoção do elétron também pode ocorrer diretamente do S_0 para um segundo (S_2), terceiro (S_3) ou outros estados singlete excitados.
2. O elétron, presente em um dos estados singletos excitados, pode sofrer uma conversão interna (processo não-radiativo), voltando ao estado fundamental; ou
3. Decair rapidamente e emitir um fóton, no processo radiativo conhecido como fluorescência; ou
4. Passar pelo processo de cruzamento intersistema, onde ocorre a mudança de spin, resultando no estado tripleto ($^TFS^*$), de maior tempo de vida (FOOTE, 1991; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; WAINWRIGHT, 2008).

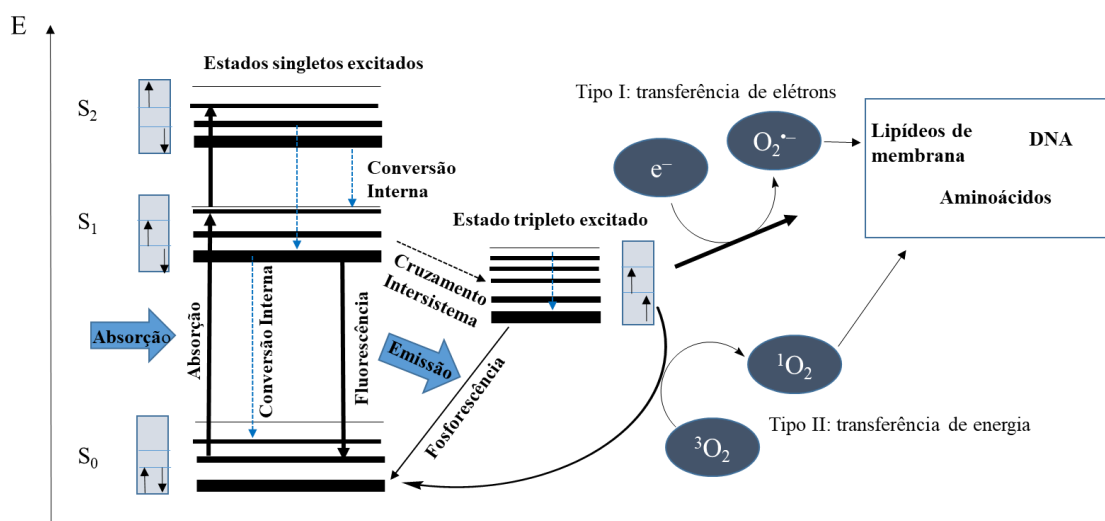


Figura 3.1 – Adaptação do diagrama de Jablonski para um FS, com os mecanismos fotodinâmicos que podem ser desencadeados (Adaptado de BAYONA *et al.*, 2016).

O $^TFS^*$ pode decair mais lentamente de maneira radiativa, em um processo conhecido como fosforescência, ou reagir com O_2 , cujo estado fundamental é tripleto (3O_2). A reação com O_2 pode ocorrer de duas principais maneiras: reações do Tipo I

(transferência de elétrons) ou do Tipo II (transferência de energia). Reações essas que podem ocorrer simultaneamente (FOOTE, 1991; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; WAINWRIGHT, 2008).

Nas reações do Tipo I, o FS é reduzido por algum agente redutor e transfere o elétron para o O_2 , gerando o ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), que é uma das ERO. Uma vez formado o $O_2^{\bullet-}$, essa espécie pode inativar enzimas diretamente, sofrer autodismutação ou ser desproporcionada pelas enzimas SOD (como um mecanismo de defesa dos micro-organismos) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 . Uma vez o H_2O_2 acumulado, por sua vez, pode oxidar biomoléculas relevantes para a célula, participar de processo de peroxidação, ou ser dismutado em H_2O e O_2 pela enzima catalase (outro mecanismo de defesa). Se o H_2O_2 for submetido à quebra homolítica *via* reação de Fenton, é gerado o radical hidroxila ($\bullet OH$), o qual reage rapidamente, em velocidades difusionais, com qualquer componente celular, como lipídeos de membrana e proteínas, sem que haja qualquer mecanismo de defesa (FOOTE, 1991; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; WAINWRIGHT, 2008).

A reações do Tipo II são caracterizadas pela transferência de energia do $^1FS^*$ no estado tripleto excitado diretamente para o 3O_2 , produzindo o oxigênio singleto (1O_2). Devido ao seu curto tempo de vida, o local de ação do 1O_2 é restrito ao local de acúmulo de FS dentro da célula, reagindo rapidamente com qualquer substrato diamagnético próximo da célula-alvo, como lipídeos de membrana, proteínas e DNA. Acredita-se que o 1O_2 seja a espécie predominante nos processos de PDT e aPDI (FOOTE, 1991; DAVIES, 2004).

As reações do Tipo I e do Tipo II podem ocorrer simultaneamente, e a distribuição entre esses processos depende, por exemplo, (i) do tipo de FS utilizado e (ii) das concentrações de substrato (biomoléculas) e oxigênio molecular (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004; HAMBLIN, 2016; KWIATKOWSKI *et al.*, 2018). O azul de metileno ou o azul de toluidina são predominantemente FSs do Tipo I (TARDIVO *et al.*, 2005), enquanto que porfirinas e derivados são mais do Tipo II (TAVARES *et al.*, 2011). Isso significa que ambos os mecanismos (Tipo I e Tipo II) podem ocorrer simultaneamente durante o processo fotodinâmico, mas geralmente um deles é o predominante (AGOSTINIS *et al.*, 2011). Apesar disso, existem FSs, como a perinaftenona, que são exclusivamente do Tipo II (NONELL; GONZALEZ; TRULL, 1993; CIEPLIK *et al.*, 2013).

3.1.3 Fotossensibilizadores à base de porfirinas

As porfirinas e seus derivados contendo metais são compostos tetrapirrólicos avaliados como fotossensibilizadores em vários estudos, a maioria relacionados à destruição de células de câncer (BROEKGGAARDEN *et al.*, 2015). As porfirinas possuem propriedades fotofísicas apropriadas para processos fotodinâmicos, tais como: longo $^1\text{FS}^*$ e alto rendimento quântico na geração de ROS (BENOV, L.; CRAIK; BATINIĆ-HABERLE, 2011). Alterações estruturais no macrociclo podem ser realizadas com o objetivo de modular o caráter lipofílico ou iônico da porfirina (ALVES *et al.*, 2015; ALENEZI *et al.*, 2017), trazer maior seletividade de captação pelo tecido alvo (PAVANI; IAMAMOTO; BAPTISTA, 2012; ALVES *et al.*, 2015) e facilitar a excreção do FS do organismo pós-tratamento fotodinâmico, minimizando os efeitos colaterais (FURUKAWA *et al.*, 2003; LUSTIG *et al.*, 2003; ALLISON *et al.*, 2004).

O primeiro FS à base de porfirina aprovado para uso clínico na década de 90 foi a Fotofrina (Fig. 3.2), um polímero semissintético derivado do composto de origem natural hematoporfirina (PANDEY 1990; DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003 *et al.*, 2003). A Fotofrina é utilizada em países como EUA, Japão, Canadá e Rússia para o tratamento PDT de brônquios (DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003), câncer de esôfago (YOSHIDA *et al.*, 1995), carcinoma de células escamosas da cabeça (STYLLI *et al.*, 2004) e pescoço (BIEL, 1998), tumores intratorácicos (DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003) e intraperitoneais (DELANEY *et al.*, 1993). Apesar disso, a Fotofrina apresenta algumas limitações, tais como alto peso molecular, alto caráter aniônico e baixa fotoestabilidade. Ela possui atividade contra as bactérias Gram positivas com *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Propionobacter acne*, dentre outras (MALIK *et al.*, 1990).

Porfirinas sintéticas derivadas de meso-tetrafenilporfirinas surgiram como uma segunda geração de FSs para suprir algumas das limitações da Fotofrina e análogos de primeira geração. As propriedades desses FS de segunda geração são geralmente otimizadas pela introdução de grupos aceptores de elétrons próximos ao macrociclo da porfirina, facilitando o cruzamento intersistema, aumentando o $^1\text{FS}^*$ (PAVANI *et al.*, 2009) e a produção de $^1\text{O}_2$ e EROS (KALYANASUNDARAM, 1984; REDDI *et al.*, 2002). Alguns desses compostos à base de porfirina incluem moléculas neutras (por exemplo, hidroxifenilporfirinas), aniônicas (por exemplo, derivados da hematoporfirina) e catiônicas (por exemplo, *N*-alquilpiridínioporfirinas e *N,N,N*-alquilanilínioporfirinas)

(BOYLE; DOLPHIN, 1996; MODY, 2000; PANDEY, 2000). Conjugados de porfirinas com carboidratos (MAKKY *et al.*, 2012) e peptídeos (SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2008) também vêm sendo estudados como parte de uma terceira geração de FSs. As porfirinas naturais e sintéticas têm sido usadas em doenças dermatológicas infecciosas, como ceratose actínica hipertrófica (SILVA *et al.*, 2010), candidíase, *acne vulgaris* e feridas superficiais (WAN; LIN, 2014).

A influência da carga, tamanho, forma, acessibilidade e orientação espacial do FS afetam as propriedades fotofísicas, bem como a absorção e distribuição celular. Em geral, a superfície das células é carregada negativamente, o que implicaria em uma maior captação celular de FSs catiônicos (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004). Embora ainda não totalmente compreendido, o mecanismo de interação do FS com barreiras celulares externas e captação parece ocorrer por meio de uma combinação de atração eletrostática e interações hidrofóbicas (BOYLE; DOLPHIN, 1996; ALVES *et al.*, 2015).

As porfirinas catiônicas, como a *meso*-tetraquis(*N*-metilpiridínio-4-il)porfirina ($H_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$) e a *meso*-tetraquis(*N,N,N*-trimetilanilínio-4-il)porfirina ($H_2\text{TriMAPP}^{4+}$) apresentaram um espectro de atuação mais amplo do que a porfirina aniônica *meso*-tetraquis(4-sulfonatofenil)porfirina ($H_2\text{TPPS}_4^{4-}$) (**Fig. 3.2**). Ambas as porfirinas tetracatiônicas $H_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$ e $H_2\text{TriMAPP}^{4+}$ inibiram o crescimento tanto de bactérias Gram-positivas quanto de Gram-negativas, enquanto que a porfirina aniônica $H_2\text{TPPS}_4^{4-}$ inibiu apenas as Gram-positivas (MERCHAT *et al.*, 1996a). A explicação para essa diferença de atividade pode estar na composição da parede celular de cada tipo de bactéria. As bactérias Gram-negativas apresentam uma membrana externa constituída por uma camada de lipopolissacarídeos (LPS), que resulta em uma superfície com característica fortemente aniônica, favorecendo da repulsão eletrostática dos fotossensibilizadores aniônicos (SILHAVY; KAHNE; WALKER, 2010; VOLLMER; SELIGMAN, 2010). Apesar disso, existem alternativas para se utilizar FSs aniônicos contra bactérias Gram-negativas, como, por exemplo administrar o FS aniônico juntamente com polimixina B (NITZAN *et al.*, 1992).

Aliado às cargas, o controle da lipofilia do FS melhora sua interação e a captação celular (PLAETZER *et al.*, 2009). Utilizando-se $H_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$ (**Fig. 3.2**) e seu isômero *meta* $H_2\text{TM-3-PyP}^{4+}$ (**Fig. 3.2**) como modelos, foi observado que a modulação da lipofilia através da troca de alguns grupos *N*-metilpiridínio (catiônicos) por grupos fenila (neutros), reduzindo a carga global da porfirina resultante, melhora a interação com

lipossomas e com membrana mitocondrial simulada e aumenta a eficiência fotodinâmica em eritrócitos. As porfirinas *cis*-dicatiônicas $H_2DiPhDiM-X-PyP^{2+}$ ($X = 3, 4$; **Fig. 3.2**) se destacaram pela combinação de interações hidrofílicas dos dois grupos *X-N*-metilpiridínio ($X = 3$ e 4) e hidrofóbicas pelos dois grupos fenila (ENGELMANN *et al.*, 2007). Apesar disso, o grau de lipofilia por si só não é garantia de alta captação celular. Em células de fibrossarcoma (células HT-1080), foi observado que a captação do FS aumenta com o tamanho da cadeia alquil em $H_2TR-4-PyP^{4+}$ ($R = CH_3, n-C_6H_{13}, n-C_{14}H_{29}$). Porém, o representante da porfirina com $R = n-C_{22}H_{45}$ apresentou queda em relação ao $R = n-C_{14}H_{29}$; a agregação em solução e o tamanho das cadeias alquílicas podem ser um fator importante para esses resultados (RICCHELI *et al.*, 2005).

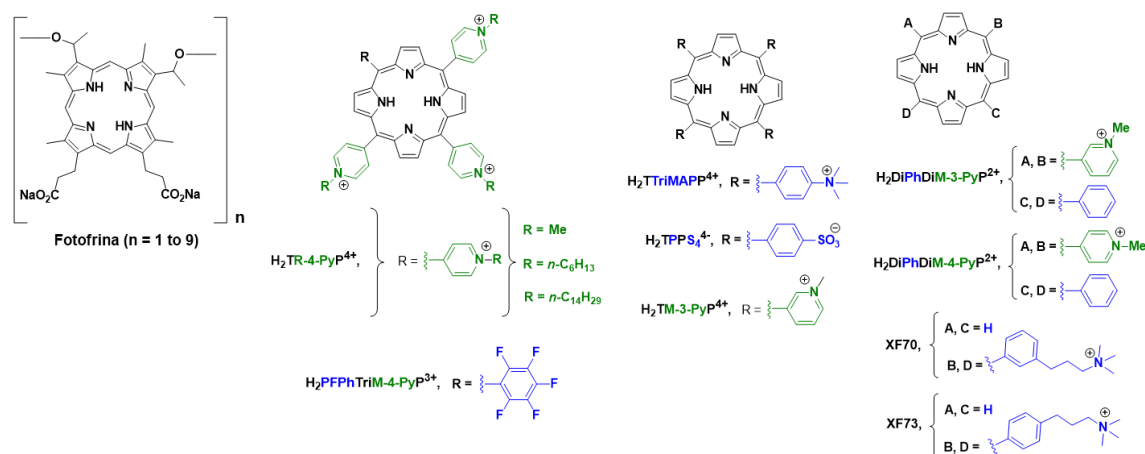


Figura 3.2 - Porfirinas que se destacaram como FSs em PDT e aPDI.

Para aPDI de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, a substituição dos grupos catiônicos 4-*N*-metilpiridínio da $H_2TM-4-PyP^{4+}$ por um ou dois grupos fenilas reduziu a carga total dos compostos resultantes para +3 ou +2. Os FSs do tipo *cis*- $[A_2B_2]^{2+}$ resultantes $H_2DiPhDiM-X-PyP^{2+}$ ($X = 3$ ou 4 ; **Fig. 3.2**) foram mais eficazes do que a $H_2TM-4-PyP^{4+}$ em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (MERCHAT *et al.*, 1996b). Substituição semelhante levou a uma porfirina tricatiônica do tipo $[A_3B]^{3+}$ contendo três grupos 4-*N*-metilpiridínio e um grupo *meso*-pentafluorofenil ($H_2PFPhTriM-4-PyP^{3+}$; Fig. 3.2) com melhor atividade que a $H_2TM-4-PyP^{4+}$ (ALVES *et al.*, 2015).

FSs baseados em *meso*-porfirinas do tipo *trans*- A_2B_2 se mostraram muito potentes contra *Staphylococcus aureus* sensível e *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA) e *E. coli*. O desenho dessas porfirinas consiste em duas cargas positivas provindas dos grupos *meta* ou *para* (3-*N,N,N*-trimetilamôniopropoxi)fenil, resultando no compostos XF70 e XF73, respectivamente (Fig. 3.2). As cadeias de *n*-propila dão flexibilidade

conformacional para as porções carregadas positivamente e facilitam as interações hidrofóbicas com os componentes da parede celular bacteriana (MAISCH *et al.*, 2009).

3.1.4 Fotossensibilizadores à base de Zn(II)-porfirinas

Porfirinas bases-livres de diversas classes têm sido tradicionalmente investigadas como fotossensibilizadores. Dentre as metaloporfirinas, as Zn(II)-porfirinas (ZnPs) têm recebido grande atenção mais recentemente (SOUZA *et al.*, 2021) ao apresentarem potencial de serem FSs ainda mais eficazes do que suas respectivas bases-livres. A inserção do Zn(II) na estrutura das porfirinas aumenta a estabilidade química, a interação com as membranas e outros componentes celulares (PAVANI; IAMAMOTO; BAPTISTA, 2012) e promove um longo estado tripleto ($^1\text{FS}^*$) (KALYANASUNDARAN, 1984), levando a um maior rendimento quântico de oxigênio singlete ($\Phi^1\text{O}_2$) (PAVANI *et al.*, 2009; MARYDASAN; NAIR; RAMAIAH, 2013).

Como mencionado na **Seção 3.1.2.**, os mecanismos de fotossensibilização do Tipo I e Tipo II (**Fig. 3.1**) podem ocorrer simultaneamente, e isso não é diferente para os FSs baseados em ZnPs. As contribuições relativas de cada processo dependem do tipo de FS utilizado, suas concentrações, distribuição/localização subcelular, as biomoléculas próximas, os níveis de O_2 dissolvido no meio, a constante dielétrica do tecido e o pH, dentre outros fatores (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004; HAMBLIN, 2016; KWIATKOWSKI *et al.*, 2018). A maneira mais direta de se avaliar a competição entre essas vias é medir o rendimento quântico de oxigênio singlete ($\Phi^1\text{O}_2$) e a produção de $\text{O}_2^{\bullet-}$ de maneira independente. Para uma revisão abrangente sobre o desenho de FSs baseados em porfirina e suas reações fotoinduzidas com O_2 , recomenda-se a seguinte referência (ARNAUT, 2011).

Em geral, existem poucos estudos dedicados a atribuir de maneira incontestável as contribuições relativas das vias de Tipo I ou Tipo II nos processos fotodinâmicos mediados pelas ZnPs. No entanto, os FSs baseados em ZnP são frequentemente classificados de acordo com a formação de $\Phi^1\text{O}_2$ e/ou experimentos de ressonância paramagnética de elétrons (RPE) pela metodologia de *spin trapping* do $\text{O}_2^{\bullet-}$. Por exemplo, Zoltan e colaboradores relataram que a ZnTPPS_4^{4-} (**Fig. 3.4**) e a $\text{ZnTEtOAc-4-PyP}^{4+}$ (**Fig. 3.4**) apresentaram valores de $\Phi^1\text{O}_2$ baixos (0,142 e 0,033 em água, respectivamente) e foram classificados como FSs do Tipo I, com maior eficiência para produzir ERO/ERN (ZOLTAN *et al.*, 2015). Por outro lado, Pavani e colaboradores relataram que a ZnTM-

4-PyP⁴⁺ é caracterizada como um FS do Tipo II, devido aos altos valores de $\Phi^1\text{O}_2$ (0,78 em MeOH) (PAVANI *et al.*, 2009).

Em geral, parecem não haver ainda características estruturais claramente definidas para fornecer uma classificação geral única de ZnP_s como FSs do Tipo I ou Tipo II. Entretanto, sabe-se que a capacidade de o FS induzir a produção de ERO/ERN está correlacionada com ¹FS* mais longos, nos quais se incluem porfirinas com metais diamagnéticos, tais como o Zn(II) (ESPITIA-ALMEIDA *et al.*, 2020). Kalyanasundaram (1984) relatou que os tempos de vida do estado tripleto para as *N*-metilpiridínioporfirinas estão na faixa de 1,16, 0,39 e 0,17 ms para os isômeros 2-, 3 e 4-*N*-metilpiridínioporfirinas, ZnTM-X-PyP⁴⁺, (X = 2, 3, ou 4), respectivamente. A incorporação do Zn(II) no anel porfirínico aumenta os tempos de vida do estado tripleto da ZnTM-2-PyP⁴⁺ para 1,4 ms e de ambas ZnTM-3-PyP⁴⁺ e ZnTM-4-PyP⁴⁺ para 2,0 ms. Quando as ZnP_s apresentam um alto $\Phi^1\text{O}_2$ em relação ao rendimento quântico de fluorescência (Φ_F), pode-se indicar que há um aumento na eficiência do cruzamento intersistemas (KALYANASUNDARAM, 1984). Muitas vezes, espera-se que na via do Tipo II os *gaps* de energia singleto-tripletto (ΔE_{S-T}) do FS devam ser maiores que 0,98 eV, que é a energia necessária para produzir o agente citotóxico (¹O₂) nas fotorreações do Tipo II (DE SIMONE *et al.*, 2017).

As vias do Tipo I com ZnP_s como FSs são fotoquimicamente complexas e muito trabalho ainda é necessário para desvendar totalmente as nuances das reações de transferência de elétrons correspondentes, em um contexto molecular. Em princípio, as reações do Tipo I que levam a radicais baseados em O₂ ou em biomoléculas podem envolver a oxidação ou a redução da ZnP para produzir radicais π -cátion (ZnP^{•+}) ou π -ânion (ZnP^{•-}), respectivamente. Consequentemente, a viabilidade de tais reações depende dos potenciais redox da ZnP em relação ao O₂ e às biomoléculas próximas. Os processos eletroquímicos de um elétron de ZnP_s solúveis em água de FSs de aPDI típicos, como ZnTM-4-PyP⁴⁺ e ZnTPPS₄⁴⁻, são centrados no anel porfirínico, produzindo radicais ZnP π -cátion ou π -ânion (KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982; SEBASTIAN *et al.*, 2020). Em relação a ZnP_s neutras, como a ZnTPP, as ZnP_s aniônicas são mais fáceis de oxidar, enquanto as ZnP_s catiônicas são mais difíceis de oxidar, o que é consistente com a carga iônica geral dos compostos (NEUMANN-SPALLART; KALYANASUNDARAM, 1981). Os potenciais redox dos pares ZnP^{•+}/ZnP e ZnP/ZnP^{•-} (a carga iônica total da representação ZnP foi omitida) para ZnTM-4-PyP⁴⁺ são +1,18 V e -0,85 V vs. eletrodo normal de hidrogênio (NHE), respectivamente; os potenciais

correspondentes para ZnTPPS_4^{4-} são +0,87 V e -1,16 V vs. NHE, respectivamente (NEUMANN-SPALLART; KALYANASUNDARAM, 1981; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982). Considerando as energias dos estados singlete e tripleto excitados da ZnTM-4-PyP^{4+} (1,98 eV e 1,63 eV, respectivamente) e ZnTPPS_4^{4-} (2,05 eV e 1,61 eV, respectivamente) junto com as propriedades redox do estado fundamental, Kalyanasundaram e Neumann-Spallart (1982) estimaram as propriedades redox de estado excitado dessas ZnP_s hidrossolúveis típicas. Assim, os potenciais de redução de um elétron de ZnTM-4-PyP^{4+} para os pares fotoredox $\text{ZnP}^{*+}/\text{ZnP}^*$ e $\text{ZnP}^*/\text{ZnP}^{*-}$ foram -0,45 V e +0,78 V, respectivamente, e os valores correspondentes para esses pares em ZnTPPS_4^{4-} foram -0,75 e +0,45 V, respectivamente (KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982). Os diagramas do tipo Latimer resumindo esses processos redox do estado fundamental e de estado excitado são apresentados na **Fig. 3.3**. Os valores de $\text{ZnP}^*/\text{ZnP}^{*-}$ para essas ZnP_s, particularmente as aniônicas, implicam que: (i) elas não têm força motriz o suficiente para abstrair um elétron da maioria dos alvos biológicos (cujos potenciais de pseudo-redução de um elétron normalmente variam de 0,5 a 2,1 V), e (ii) eles são, portanto, oxidantes fotoquímicos improváveis (BAPTISTA *et al.*, 2021).

É importante notar, no entanto, que com base no par de redução excitado $\text{ZnP}^*/\text{ZnP}^{*-}$ para ZnTM-4-PyP^{4+} , a possibilidade de essa ZnP catiônica atuar como oxidante fotoquímico de redutores biológicos eficientes, como ascorbato, ácidos graxos poliinsaturados e α -tocoferol, não podem ser totalmente excluídos neste ponto. O par redox do estado excitado $\text{ZnP}^{*+}/\text{ZnP}^*$ de ambas as ZnP_s catiônicas e aniônicas as torna sensibilizadores adequados para a fotorredução de O_2 para produzir $\text{O}_2^{\bullet-}$ e a correspondente ZnP π -cátion; o alto potencial de redução do estado fundamental da ZnP^{*+} (+0,87 a +1,18 V) implica que esta espécie pode abstrair um elétron da maioria dos alvos biológicos, levando a reações em cadeia de radicais de base orgânica juntamente com aquelas relacionadas ao $\text{O}_2^{\bullet-}$ e sua progênie. É particularmente importante notar a ausência de estudos que investiguem o destino das ZnP_s após a (foto)oxidação. Apesar da termodinâmica favorável para a fotoprodução de $\text{O}_2^{\bullet-}$ por oxidação do FS, Baptista e colaboradores (2021) apontaram que é improvável que isso seja responsável pela interação mais prevalente entre o FS e O_2 . O cruzamento intersistema do FS para o estado tripleto seguido pela transferência de energia para o O_2 para formar $^1\text{O}_2$ (via do Tipo II) é geralmente muito mais provável (BAPTISTA *et al.*, 2021); a este respeito, as Zn(II) 4-

N-alquilpiridilporfirinas foram geralmente cunhadas como fotossensibilizadores do Tipo II (PAVANI *et al.*, 2012).

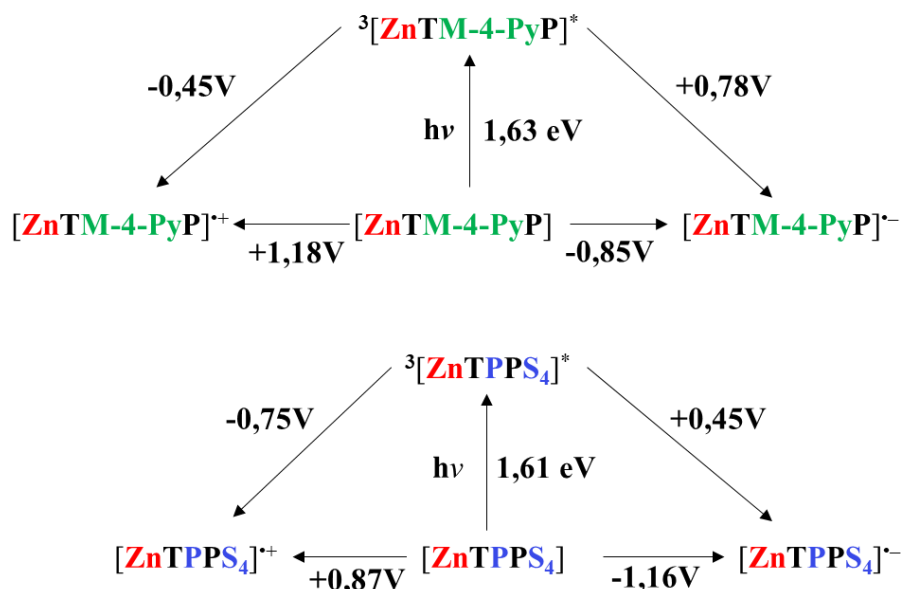


Figura 3.3 - Diagramas do tipo Latimer representando os processos redox de estado fundamental e de estado excitado de Zn(II)-porfirinas hidrossolúveis catiônicas (ZnTM-4-PyP⁴⁺) e aniônicas (ZnTPPS₄⁴⁻) frequentemente usadas como fotossensibilizadores em aPDI. As cargas catiônicas (4+) e aniônicas (4-) associadas aos substituintes do anel porfirina foram omitidas para maior clareza. Todos os valores de potencial são vs. NHE (eletrodo normal de hidrogênio). As energias do estado singleto são 1,98 eV e 2,05 eV para ZnTM-4-PyP⁴⁺ e ZnTPPS₄⁴⁻, respectivamente. Diagrama desenhado com base em dados relatados por Neumann-Spallart e Kalyanasundaram (NEUMANN-SPALLART; KALYANASUNDARAM, 1981; KALYANASUNDARAM; NEUMANN-SPALLART, 1982).

Embora tenha havido muitos estudos sobre as aplicações biológicas da ZnPs como FSs em PDT e aPDI, a literatura sobre as propriedades fotofísicas e mecanismos fotoquímicos das ZnPs ainda é limitada e está longe do volume de dados disponíveis sobre as porfirinas bases-livres. Uma caracterização mais completa da fotofísica e fotoquímica de ZnPs é necessária para projetar FSs melhorados para aPDI e lançar alguma luz sobre os aspectos mecanísticos das ações do FS baseado em ZnP em sistemas biológicos.

Também é importante notar que a eficiência biológica do FS depende não apenas da capacidade da ZnP em fotogerar ¹O₂ ou outros tipos de ROS, mas também da captação celular efetiva, distribuição subcelular e interação geral com os sistemas biológicos, que podem ser alcançados modulando o lipofilia e carga iônica da porfirina (SHARMAN;

ALLEN; van LIER, 2000; ZOLTAN *et al.*, 2015; KWIATKOWSKI *et al.*, 2018). Esses aspectos serão explorados mais detalhadamente nas próximas seções.

3.1.4.1 Zn(II) *N*-alquilpiridínioporfirinas em aPDI de bactérias e fungos

Os estudos envolvendo ZnPs catiônicas em aPDI começaram no início do século XXI. A classe de ZnPs catiônicas mais estudada envolve os derivados das *N*-alquilpiridínioporfirinas.

Benov e colaboradores (2002) realizaram um estudo comparativo da eficiência fotodinâmica dos isômeros 2, 3 e 4-*N*-metilpiridilporfirinas ($H_2\text{TM-X-PyP}^{4+}$, onde X = 2, 3 ou 4; **Fig. 3.4**), seus complexos de Zn(II) (ZnTM-X-PyP^{4+} , onde X = 2, 3 ou 4; **Fig. 3.4**) e o análogo 2-*N*-piridínio etilado ZnTE-2-PyP^{4+} (**Fig. 3.4**) na inativação da bactéria Gram negativa *E. coli* (BENOV *et al.*, 2002). Foi avaliada inicialmente a capacidade dessas porfirinas e ZnPs em foto-oxidar o NADH em ensaios *in vitro*, como um indicador indireto da capacidade dessas porfirinas em fotogerar ROS. FS clássicos, como a Fotofrina® (sem purificação prévia; denominada HpD) e azul de metileno, foram usados como controles positivos. A concentração usada nos ensaios foi de 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o crescimento de *E. coli* foi monitorado por turbidimetria a 700 nm. A luz visível utilizada foi a lâmpada single Solux 4700 Kelvin de 50 W (BENOV *et al.*, 2002).

Os resultados mostraram que o isômero *meso*-tetraquis(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina ($H_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$), seu respectivo complexo ZnTM-2-PyP^{4+} e o análogo etilado ZnTE-2-PyP^{4+} e o corante azul de metileno (que é monocatiônico) foram os compostos mais eficientes em oxidar o NADH, seguido pelas demais porfirinas, sendo a HpD menos ativa. O resultado foi o indicativo *in vitro* de melhor eficiência fotodinâmica dos isômeros 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas em gerar ROS (BENOV *et al.*, 2002).

Nos testes de PDI, a ordem de atividade foi $H_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$, ZnTR-2-PyP^{4+} (R = metil ou etil) < $H_2\text{TM-3-PyP}^{4+}$, ZnTM-3-PyP^{4+} = $H_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$, ZnTM-4-PyP^{4+} . Os isômeros 3- e 4-*N*-metilpiridínioporfirinas e seus complexos de Zn(II) erradicaram a *E. coli* em meio líquido em aproximadamente 3 min. Os isômeros 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas (alquil = metil ou etil) levaram cerca de 15 min. A HpD e o azul de metileno não foram capazes de erradicar a *E. coli* nos tempos testados, sendo a HpD novamente a menos ativa (BENOV *et al.*, 2002).

O mecanismo de morte bacteriana não foi elucidado naquele estudo. Em estudos anteriores envolvendo intercalação do DNA, foi demonstrado que o isômero 4-metilpiridilporfirina ($H_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$) e seu complexo de Mn(III) apresentavam alta

afinidade pelo DNA. Os isômeros 3-metilpiridil também apresentaram afinidade pelo DNA, porém em menor proporção (FIEL; MUNSON, 1980; BANVILLE *et al.*, 1983; FORD *et al.*, 1987; SENTAGNE *et al.*, 1992).

O impacto da lipofilia na eficiência em aPDI de *N*-alquilpiridilporfirinas foi avaliado através do aumento da cadeia alquílica lateral. Gyulkhandanyan *et al.* (2009) testaram porfirinas tetracatiônicas derivadas da 2-*N*-piridilporfirinas, com os grupos funcionais oxi-etila (HOE), alila (All) e *n*-butila (*n*Bu). As porfirinas envolvidas foram a *meso*-tetraquis(4-*N*-(2-oxietil)piridínio)porfirina ($H_2\text{THOE-4-PyP}^{4+}$), *meso*-tetraquis(4-*N*-alilapiridínio)porfirina ($H_2\text{TAll-4-PyP}^{4+}$), *meso*-tetraquis(*N*-*n*-butilpiridínio-4-il)porfirina ($H_2\text{TnBu-4-PyP}^{4+}$) e seus respectivos complexos de Zn(II) (**Fig. 3.4**). As bactérias-alvo foram as Gram positivas *S. aureus* e *Streptococcus epidermidis* e as Gram negativas *E. coli* e *Salmonella* sp. (GYULKHANDANYAN *et al.*, 2009). Os resultados demonstraram uma eficiência fotodinâmica maior das ZnP_s em relação às bases-livres. A ordem crescente de eficiência entre as ZnP_s foi $\text{ZnTnBu-4-PyP}^{4+} > \text{ZnAll-4-PyP}^{4+} > \text{ZnTHOE-4-PyP}^{4+}$ (GYULKHANDANYAN *et al.*, 2009).

Korchenova e colaboradores (2016) investigaram as porfirinas derivadas das 3- e 4-*N*-alquilpiridínioporfirinas na aPDI das bactérias *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA), MRSA, *E. coli* e *Staphylococcus simulans*. As porfirinas utilizadas foram a $H_2\text{THOE-4-PyP}^{4+}$, seu complexo de Zn(II) (ZnTHOE-4-PyP^{4+} ; **Fig. 3.4**) e os análogos *N*-*n*-butila (ZnTnBu-4-PyP^{4+} ; **Fig. 3.4**) e seu isômero ZnTnBu-3-PyP^{4+} (**Fig. 3.4**) foram sintetizados. Os ensaios de aPDI com concentrações de porfirina e ZnP variando entre 0,001 e 1%. A fonte de luz utilizada para irradiação foi um LED ($\lambda = 405 \pm 15$ nm, 47 mW cm⁻²), com tempo de incubação de 15 min e tempo de exposição de 5, 10, 15 e 30 min.

Como esperado, o crescimento das bactérias foi inibido em relação ao controle em todos os tempos de exposição, aumentando o grau de inibição de acordo com o aumento do tempo de exposição. O grau de redução das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foi dose-dependente. A supressão máxima das UFC para todas as porfirinas e ZnP_s foi observada na concentração de porfirina de 0,1% e tempo de exposição de 30 min. Os melhores resultados encontrados foram: MSSA (99,6%), MRSA (99,7%), *E. coli* (98,9%) e *S. simulans* (100%) de inativação bacteriana. A ZnTnBu-3-PyP^{4+} foi destaque na dose de 0,01%, seguida pela ZnTHOE-4-PyP^{4+} e apresentaram altas inibições (70-95%) no tempo de exposição de 15 min. Os autores atribuíram essa redução mais eficaz ao alto $\Phi^1\text{O}_2$ da ZnTnBu-3-PyP^{4+} ($\Phi^1\text{O}_2 = 97\%$) e ZnTHOE-4-PyP^{4+} ($\Phi^1\text{O}_2 = 85\%$), mas não

descartaram que a eficiência de ligação da célula ZnP pode desempenhar um papel importante. As porfirinas e ZnPs começaram a ser tóxicas no escuro na concentração de 1%. Nesse estudo, os autores relataram redução da viabilidade de cepas bacterianas com irradiação de fonte de luz (KORCHENOVA *et al.*, 2016).

Em um estudo sistemático, Thomas e colaboradores (2015) prepararam e testaram Zn(II) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas com a cadeia alquílica lateral progressivamente mais longa variando entre metil, etil, *n*-butil, *n*-hexil e *n*-octil, bem como a base-livre do isômero 2-*N*-metilpiridínioporfirina ($H_2TM-2-PyP^{4+}$) e a ZnP tetra-aniônica ZnTBAP $^{4-}$ (Fig. 3.4). O estudo realizado envolveu do efeito do aumento da lipofilia no acúmulo e toxicidade das ZnPs catiônicas na bactéria Gram negativa *E. coli* (THOMAS *et al.*, 2015). Todas as porfirinas catiônicas testadas reduziram a respiração celular e provocaram danos na membrana plasmática da *E. coli*, sendo a ZnTnHex-2-PyP $^{4+}$ a mais eficiente. O análogo com cadeia *n*-octil, ZnTnOct-2-PyP $^{4+}$, demonstrou ser tóxico no escuro (THOMAS *et al.*, 2015), o que limita sua aplicação como FS.

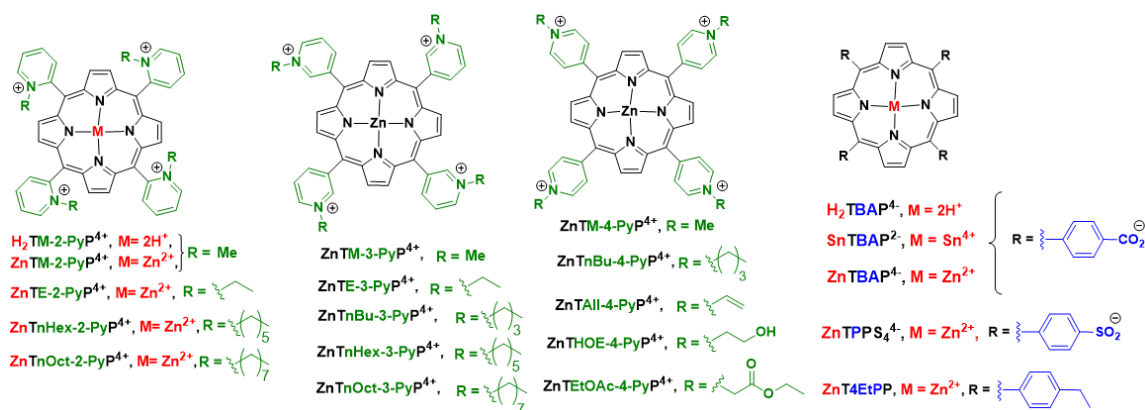


Figura 3.4 – Zn(II) *N*-alquilpiridínioporfirinas e derivados da *meso*-tetrafenilporfirina envolvidas nos estudos de aPDI em bactérias, fungos e *Leshmania*.

Awad e colaboradores (2016) estudaram quais componentes celulares da *E. coli* foram afetados pela aPDI mediada pela ZnTM-2-PyP $^{4+}$ (Fig. 3.4) e seu análogo mais lipofílico ZnTnHex-2-PyP $^{4+}$ (Fig. 3.4). A iluminação foi feita por 1 h com luz fluorescente branca (exposição radiante de 19.5 J cm $^{-2}$), em comparação aos controles sem ZnP na luz e com ZnP no escuro. Como resultados, foi observado que as ZnPs não causaram danos ao DNA bacteriano. Em contraponto, a atividade das enzimas citosólicas, como glicose-6-fosfato desidrogenase (G6FD), gliceraldeído-3-fosfatase desidrogenase (GAFD) e isocitrato desidrogenase (ICD), foi significativamente reduzida e as células bacterianas foram incapazes de se recuperar dos danos causados. Os processos de aPDI mediados por estas ZnPs também danificam a membrana plasmática. O grau de dano aos

componentes celulares seguiu a tendência $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+} > \text{ZnTM-2-PyP}^{4+}$. A $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ reduziu a viabilidade da *E. coli* em mais de 99% e afetou a atividade de todas as enzimas estudadas com mais intensidade (AWAD *et al.*, 2016). Resultados semelhantes foram obtidos na avaliação dos danos das ZnTR-2-PyP^{4+} (R = metila, *n*-butila, *n*-Hexila, *n*-octila) da aPDI de *S. cerevisiae* (MOGHNIE *et al.*, 2017).

Um estudo complementar ao de Awad *et al.* (2016) comparou as ZnP_s do isômero 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas ZnTR-3-PyP^{4+} (R = *n*-hexil, *n*-octil), que são cerca de 10 vezes mais lipofílicas que as ZnP_s correspondentes do isômero 2-*N*-alquilpiridínioporfirina, ZnTR-2-PyP^{4+} (R = *n*-hexil, *n*-octil). Os resultados da comparação demonstraram que os isômeros 3-*N*-alquilpiridínioporfirina se acumularam mais na *E. coli*. Mais uma vez, foi observada a toxicidade no escuro das porfirinas *N*-*n*-octiladas de ambos os isômeros (ALENEZI *et al.*, 2017).

Em culturas bacterianas, múltiplas exposições fotodinâmicas e regeneração de células sobreviventes ou crescimento contínuo sob condições fotodinâmicas subletais, usando $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$, não levaram ao desenvolvimento de resistência aos fotossensibilizadores (AL-MUTAIRI, 2018).

Viana e colaboradores (2015) compararam a eficiência fotodinâmica de três sistemas fotossensibilizadores: (i) ZnTE-2-PyP^{4+} (Fig. 3.4), (ii) pontos quânticos de telureto de cádmio (CdTe) conjugados com ácido mercaptosuccínico e (iii) a ZnP associada aos pontos quânticos, em aPDI de *Candida albicans*. Todos os materiais demonstraram ser bons produtores de EROs (VIANA *et al.*, 2015). A ZnTE-2-PyP^{4+} foi mais eficiente na diminuição da viabilidade celular da *C. albicans*. Os pontos quânticos de CdTe e seu respectivo conjugado com a ZnTE-2-PyP^{4+} apresentaram efeito limitado. A ZnTE-2-PyP^{4+} atravessou a parede celular e a membrana plasmática da *C. albicans* e se acumulou dentro do fungo, diferentemente dos pontos quânticos de CdTe. O conjugado ZnP-pontos quânticos teve sua ação como FS limitada à membrana da *C. albicans* (VIANA *et al.*, 2015).

3.1.4.2 Zn(II)-porfirinas na aPDI de *Leshmania*

O emprego dos FSs para a PDI de parasitas é bastante nova, quando comparada com bactérias e fungos. A alta toxicidade dos antiparasitários clássicos e os mecanismos de resistência adquiridos pelos parasitas são fatores que têm sido observados ao longo dos anos (SANTOS *et al.*, 2018). A literatura reporta o uso de em aPDI antiparasitária de alguns compostos catiônicos derivados de porfirinas (KASSAB *et al.*, 2002), Zn-

ftalocianinas (SEGALLA *et al.*, 2002) e porfirinas expandidas safirinas/heterosafirinas (HOOKER *et al.*, 2009).

Estudos envolvendo aPDI de protozoários do gênero *Leishmania* vêm sendo realizados. Esse interesse está no fato de a Leshmaniose ser considerada uma das doenças parasitárias mais comuns no mundo, sendo um problema mundial de saúde pública e com poucas alternativas terapêuticas. A leishmaniose cutânea (LC) é a forma mais comum da doença (OMS, 2021). A LC é caracterizada pela presença de lesões cutâneas que causam desconforto e dor ao portador, tanto física quanto psicológica. Os protozoários do gênero *Leishmania* estão presentes na forma promastigota, que é a forma infectante (extracelular), ou amastigota, que é a forma intracelular e de difícil acesso dos fármacos antiparasitários (IQBAL *et al.*, 2016). O ciclo de vida, epidemiologia aplicada e pesquisa clínica das principais espécies de *Leishmania* têm sido objeto de revisão na literatura (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; IQBAL *et al.*, 2016). Uma revisão sobre LC amplamente difundida na literatura foi publicada por Reithinger e colaboradores (REITHINGER *et al.*, 2007).

O uso de porfirinas tetracatiônicas já foi descrito para a espécie *Leshmania major* (BRISTOW *et al.*, 2006). Em um estudo mais recente, a Zn(II) *meso*-tetraquis(4-etilfenil)porfirina (Zn**T4EtPP**; **Fig. 3.4**), uma ZnP neutra, destacou-se na aPDI contra *L. panamensis* (ESPITIA-ALMEIDA *et al.*, 2020). O mesmo grupo fez um estudo comparativo entre a *meso*-tetraquis(4-benzoato)porfirina (H_2 **TBAP**⁴⁻), também conhecida como *meso*-tetraquis(4-carboxifenil)porfirina (H_2 **TCPP**⁴⁻), e seu complexo de Zn(II) e Sn(IV), Zn**TBAP**⁴⁻ (**Fig. 3.4**) e Sn**TBAP**²⁻, na aPDI das formas promastigotas da *L. panamensis* e *L. brasiliensis*. A ordem de fotoinibição foi Zn**TBAP**⁴⁻ > H_2 **TBAP**⁴⁻ > Sn**TBAP**²⁻ (ESPITIA-ALMEIDA *et al.*, 2021).

Dentre as 2-*N*-alquilpiridilporfirinas, Andrade e colaboradores (2018) avaliaram a ação da Zn**TE-2-PyP**⁴⁺ (**Fig. 3.4**) contra a infecção de *Leshmania brasiliensis* em macrófagos. Os dados do estudo demonstraram a eficácia da Zn**TE-2-PyP**⁴⁺ como FS contra a forma promastigota e redução da viabilidade da amastigota em 40% (ANDRADE *et al.*, 2018). Souza e colaboradores (2021) avaliaram a Zn**TnHex-2-PyP**⁴⁺ (**Fig. 3.4**) como FS na aPDI de *L. amazonensis* e *L. Brasiliensis*. A Zn**TnHex-2-PyP**⁴⁺ erradicou a forma promastigota e reduziu o número de formas amastigotas/macrófago em torno de 54% (na concentração de 0,62 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e em torno de 64% (na concentração de 1,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (SOUZA *et al.*, 2021).

3.1.4.3 Sistemas do tipo ZnA_3B e $[\text{ZnA}_3\text{B}]^{3+}$ em aPDI

Os estudos envolvendo ZnPes são geralmente realizados com porfirinas *meso*-substituídas do tipo ZnA_4 (neutras ou carregadas), onde todos os grupos *meso* são idênticos. Os sistemas de aPDI à base de porfirinas A_3B são ainda muito escassos, possivelmente devido à maior demanda experimental nos processos de síntese/purificação destes compostos. Entretanto, o uso de ZnPes do tipo ZnA_3B e $[\text{ZnA}_3\text{B}]^{3+}$ como FS para aPDI têm se mostrado promissor.

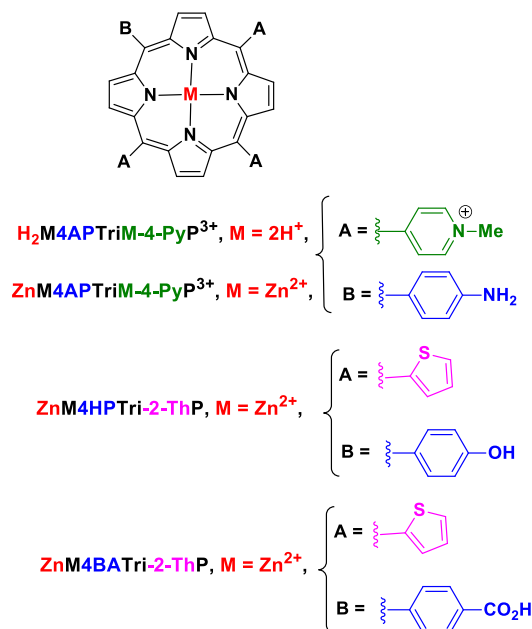


Figura 3.5 – Porphirinas e Zn-porphirinas do tipo A_3B envolvidas em estudos comparativos de aPDI.

Alvarado e colaboradores estudaram materiais à base das porfirinas do tipo A_3B 5-(4-aminofenil)-10,15,20-tris-(4-*N*-metilpiridínio-4-il)porfirina ($\text{H}_2\text{M4APTriM-4-PyP}^{3+}$) (Fig. 3.3) e seu respectivo complexo de Zn(II) ($\text{ZnM4APTriM-4-PyP}^{3+}$) (Fig. 3.5) como potenciais auto-desinfetantes de superfícies e vestimentas hospitalares. Ambas as porfirinas foram ligadas covalentemente pelos grupos amino à triazina da superfície modificada de celulose nanofibrilada (NFC) ou papel (Pap). Os materiais foram testados em cepas de bactérias causadoras de infecção hospitalar: as bactérias Gram-positivas MRSA e *E. faecium* à vancomicina (VRE) e as bactérias Gram-negativas *A. baumannii* multiresistente (MDRAB) e *Klebsiella pneumoniae* multiresistente produtora de carbapenemase (KPC multiresistente). Todos os materiais foram eficientes em concentrações de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ em NFC e Pap para todas as cepas bacterianas após irradiação de 30 min. Na concentração de $5 \mu\text{mol L}^{-1}$, ambos os materiais à base de NFC

e Pap erradicaram as bactérias MRSA, MDRAB e VRE; apenas os materiais contendo a ZnP apresentaram atividade contra a KPC multirresistente nas condições do experimento. Apenas em tempos maiores de incubação (60 min), os materiais contendo a H₂P (base-livre) passaram a apresentar efeito fotodinâmico contra KPC (ALVARADO *et al.*, 2018).

Shabangu e colaboradores desenvolveram conjugados de ZnPs com nanopartículas de prata (AgNPs) que foram capazes de erradicar *S. aureus* e MRSA. As ZnPs que mais se destacaram foram a ZnT-2-ThP (tipo A₄, A = 2-tienila) (Fig. 3.3) e as ZnPs do tipo A₃B ZnM4HPTri-2-ThP (A₃B, onde A = 2-tienila; B = 4-hidroxifenila) (Fig. 3.3) e ZnM4BATri-2-ThP (A₃B, onde A = 2-tienila; B = 4-carboxifenila) (SHABANGU *et al.*, 2020a; 2020b) (Fig. 3.5). Segundo os autores dos estudos, as porfirinas com os substituintes 2-tienila associados à AgNPs apresentam boas propriedades fotofísicas e aumentam a interação do conjugado com a membrana bacteriana (SHABANGU *et al.*, 2020b). Comparando-se o conjugado ZnT-2-ThP/AgNP com ZnM4HPTri-2-ThP/AgNP, a substituição de um dos grupos 2-tienila por 4-hidroxifenila melhorou o $\Phi^1\text{O}_2$ de 0,71 para 0,78 e a atividade bacteriana (SHABANGU *et al.*, 2020a).

3.1.5 Síntese de Zn(II)-porfirinas hidrossolúveis e estabilidade frente à solvólise

A obtenção de ZnPs ocorre através da metalação da H₂P com excesso de sal de Zn(II). O zinco(II) é um metal muito versátil para sistemas envolvendo porfirinas, podendo atuar, por exemplo, como grupo de proteção em reações de derivatização do macrociclo porfirínico, com posterior desproteção *via* solvólise ácida (TRAYLOR; TSUCHIYA, 1987; HOFFMANN *et al.*, 1990; 1992). A reação inversa da metalação, a desmetalção (ou solvólise), é comumente favorecida em presença de ácido forte, mas a velocidade e extensão da desmetalção depende também da natureza dos grupos substituintes porfirínicos e da presença de determinados ânions (BUCHLER, 1975; LAVALLE, 1985). Os fatores que influenciam a metalação e a desmetalção seguem uma tendência bastante semelhante. De maneira geral, são observadas que: (i) as constantes de formação e de solvólise e as respectivas velocidades são dependentes da natureza do solvente (HAMBRIGHT; CHOCK, 1974; BUCHLER, 1975), (ii) ânions que são fortemente coordenantes podem acelerar ambas as reações, sendo as porfirinas catiônicas mais susceptíveis do que aniônicas para este tipo de variação (NWAEME; HAMBRIGHT, 1984; LAVALLE, 1985), (iii) porfirinas mais básicas podem ser metaladas ou desmetaladas mais rapidamente (PASTERNAK; SUTIN; TUMER, 1976;

HAMBRIGHT, 1977) e (iv) a lei de velocidade para a solvólise é inversamente proporcional à estabilidade da metaloporfirina (BUCHLER, 1975; LAVALLE, 1985).

Dentre os métodos para obtenção de ZnPs, o método conhecido como “método de clorofórmio/metanol” é bastante utilizado, especialmente em porfirinas neutras (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). No caso das *N*-piridilporfirinas, este método foi utilizado para obtenção da *meso*-tetraquis(2-piridil)porfirinatozinco(II) (ZnT-2-PyP) em 1 hora de reação (REBOUÇAS; de CARVALHO; IDEMORI, 2002).

Algumas ZnPs hidrossolúveis que são destaques como FSs em PDT/aPDI foram metaladas em meio aquoso (PASTERNAK *et al.*, 1983) ou DMF. Thompson e Krishnamurthy (1979) e RAHIMI e colaboradores (2016) realizaram a metalação da $H_2T\text{TriMAPP}^{4+}$ com acetato de zinco(II) em refluxo de água (tempo de reação não informado) (THOMPSON; KRISHNAMURTHY, 1979; RAHIMI; FAYAAZ; RASSA, 2016). Zoltan e colaboradores metalaram a $H_2TPPS_4^{4-}$ com ZnO em refluxo de água deionizada por 24h (ZOLTAN *et al.*, 2015). Espitia-Almeida e colaboradores (2020) reportaram a metalação da H_2TBAP^{4-} utilizando $ZnCl_2$ em DMF a 100 °C durante 7 horas (ESPITIA-ALMEIDA *et al.*, 2021). As *meso*-2-, 3- e 4-*N*-alquilpiridínioporfirinas foram metaladas com Zn(II) em meio aquoso básico (pH ~ 12), em reações que duram desde 15-20 minutos (quando os grupos alquila eram pequenos), até horas (quando os grupos alquila eram longos) (BENOV *et al.*, 2002; EZZEDDINE *et al.*, 2013).

O comportamento ácido-base dos nitrogênios internos do macrociclo porfirínico é um parâmetro importante para se entender reatividade das porfirinas frente à metalação e estabilidade dos complexos formados. Este comportamento é influenciado pela natureza dos grupos substituintes nas posições *meso* e/ou *beta* do anel da porfirina (HAMBRIGHT; FLEISCHER, 1970; DATTA-GUPTA *et al.*, 1986). Abaixo, está apresentado o comportamento ácido-base geral do macrociclo, onde não estão explícitos os grupos substituintes *meso* e *beta* (Figura 3.6).

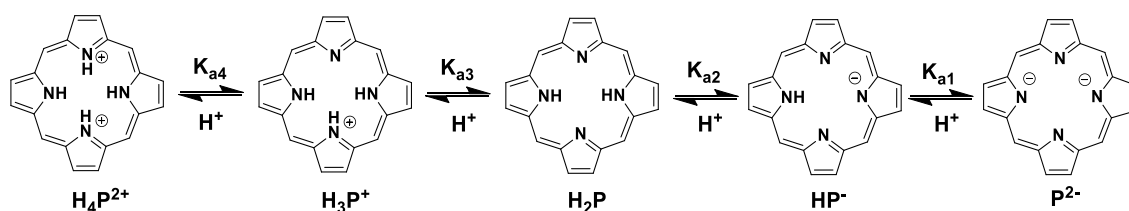


Figura 3.6 - Representação geral do comportamento ácido-base dos nitrogênios internos das porfirinas.

Partindo-se do entendimento do equilíbrio ácido-base das porfirinas hidrossolúveis, a diferença de basicidade influencia na reatividade frente à metalação, quando as condições reacionais são iguais. Em pH 7, a tendência correlativa observada por Hambright (1977) foi que as porfirinas mais básicas metalavam com Zn(II) mais rapidamente. Alguns dados das constantes de formação (K_f) das ZnPs e constantes de dissociação ácida das respectivas H_2P estão compilados na **Tabela 3.1**. O valor negativo do pK_{a3} ($-0,9$) para a $H_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$ indica que esta permanece na forma de base-livre H_2P^{4+} (não protonada) mesmo em soluções aquosa de pH 0. Os isômeros 3- e 4-*N*-metilpiridilporfirinas, $H_2\text{TM-3-PyP}^{4+}$ e $H_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$, são consideravelmente menos ácidos, com valores de pK_{a3} iguais a 1,8 e 1,4 (HAMBRIGHT, 1977). A $H_2\text{TPPS}_4^{4-}$ possui K_f normalizada bem acima das 2 e 4 *N*-metilpirídinio, bem como é mais básica em algumas ordens de grandeza.

Tabela 3.1 - Constantes de formação (K_f) para reações de metalação de ZnPs hidrossolúveis em pH 7 e constantes de dissociação ácida das bases-livres correspondentes (Adaptado de HAMBRIGHT, 2007).

Zn-porfirina	K_f normalizada ^a	$pK_{a3} (H_3P^+/H_2P)$
ZnTM-2-PyP ⁴⁺	1	-0,9
ZnTM-4-PyP ⁴⁺	76	1,4
ZnTM-3-PyP ⁴⁺	—	1,8
ZnTTriMAPP ⁴⁺	—	4,1
ZnTPPS ₄ ⁴⁻	980	4,9
ZnTBAP ⁴⁻	—	5,5

^aValores normalizados com base no valor da K_f da ZnTM-2-PyP⁴⁺ reportado por Hambright (1977)

A estabilidade de uma metaloporfirina frente à dissociação metal-ligante é comumente definida como o grau de resistência à remoção do átomo metálico central em um determinado meio (BUCHLER, 1975). As investigações sobre a estabilidade de metaloporfirinas são datadas desde metade do século passado (BARNES; DOROUGH, 1950; CAUGHEY; CORWIN, 1955). A avaliação da transmetalção da *meso*-tetrafenilporfirina ($H_2\text{TPP}$) sugeriu a ordem de estabilidade dos íons em: metais divalentes pequenos (geralmente do bloco d) > metais divalentes grandes > metais dos

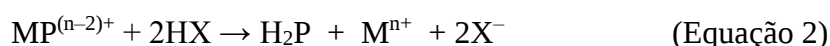
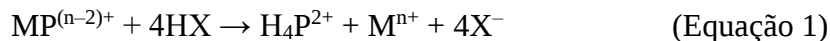
grupos 1 e 2 da tabela periódica (BARNES; DOROUGH, 1950). A tendência de estabilidade vai desde porfirinas de VO^{2+} estáveis em H_2SO_4 concentrado, a derivados que desmetalam em meio aquoso (FALK, 1964). Um estudo comparativo realizado com metaloporfirinas derivadas da $\text{H}_2\text{TtriMAPP}^{4+}$ (**Fig. 3.2**) apontou que a ordem decrescente de estabilidade dos complexos em HCl foi $\text{Ni}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ (VALIOTTI; VALEYEMO; HAMBRIGHT, 1981). Observou-se uma tendência de reatividade semelhante entre a metalação da $\text{H}_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$ e solvólise dos respectivos complexos com diferentes metais da primeira série de transição. A ordem de reatividade frente metalação e solvólise foi $\text{Ni}^{2+} < \text{Mn}^{2+} < \text{Co}^{2+} < \text{Zn}^{2+} < \text{Cu}^{2+}$ (HAMBRIGHT; CHOCK, 1974).

Comparando-se diferentes porfirinas do mesmo metal, o grau de estabilidade dos compostos é influenciado por aspectos intrínsecos, tais como, substituintes do anel porfirínico, cargas periféricas, basicidade de porfirina e impedimento estérico (INAMO *et al.*, 1997; HAMBRIGHT, 2000); e fatores extrínsecos, como natureza do solvente, pH e força iônica (HAMBRIGHT; CHOCK, 1974; NWAEME; HAMBRIGHT, 1984; HAMBRIGHT, 2000).

Muitas das ZnP_s catiônicas e aniônicas tiveram estabilidade avaliada em sistemas mais simples, como soluções aquosas de HCl, HNO_3 , H_2SO_4 etc. Shah e Hambright (1970) observaram o aumento da constante de velocidade de solvólise da ZnTM-4-PyP^{4+} na seguinte ordem $\text{HI} < \text{H}_2\text{SO}_4 < \text{HNO}_3 < \text{HBr} < \text{HCl}$. As constantes de solvólise foram determinadas a partir do desenvolvimento matemático da lei de velocidade. A equação da lei de velocidade pode mudar, de acordo com qual ácido será utilizado na reação (SHAH; HAMBRIGHT, 1970). Um estudo de solvólise em sistema HCl/metanol ($[\text{HCl}] = 7,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) envolvendo complexos de uma série de zinco(II) deuteroporfirinas 2,4-*beta*-dissubstituídas demonstrou que as porfirinas mais básicas perderam o Zn(II) mais rapidamente; os valores de k (em s^{-1}) e pK_{a3} foram, respectivamente: 1,59 e 5,85 para a mesoporfirinatozinco(II); 0,57 e 5,5 para deuteroporfirinatozinco(II); 0,130 e 4,8 para protoporfirinatozinco(II) e $1,30 \times 10^{-3}$ e 3,0 para dibromodeuteroporfirinatozinco(II) (HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971). A cinética de solvólise para esses sistemas é geralmente de primeira ordem em metaloporfirina, segunda ordem em $[\text{H}^+]$, com lei de velocidade $= k_s [\text{MP}] [\text{H}^+]^2$ (SHAH; HAMBRIGHT, 1970; HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971; LAVALEE, 1985).

De maneira geral, o mecanismo comumente proposto para solvólise considera, como etapa inicial, que prótons H^+ são atacados por nitrogênios pirrólicos opostos entre

si da ZnP. O processo faz com que o núcleo da porfirina, acomodando simultaneamente Zn(II) e dois prótons, fique deformado e formalmente neutro. Esta nova conformação direciona o Zn(II), agora biscoordenado, para uma posição fora do núcleo porfirínico e o expõe mais diretamente ao solvente e meio de reação (SHAH; HAMBRIGHT, 1970; HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971). A protonação dos átomos de nitrogênio ocorre mais rapidamente em porfirinas mais básicas. Após isso, dois ânions monodentados (quando haletos, HSO_4^- ou ClO_4^-) ou um NO_3^- bidentado ocupam a esfera de coordenação do metal, antes ocupada pelos átomos de nitrogênio protonados, formando o estado de transição $[\text{X}_2\text{M}^{\cdots}\text{PH}_2]$ de característica “tetraédrica” (SHAH; HAMBRIGHT, 1970). A constante de solvólise e, conseqüentemente a taxa da reação, têm tendência a aumentar de acordo com a afinidade do respectivo ânion com o M^{n+} ; por exemplo, Zn^{2+} , Mn^{2+} e Mg^{2+} de porfirinas catiônicas possuem afinidade por haletos nesta ordem $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$. Para as porfirinas mais básicas, o intermediário $[\text{X}_2\text{M}^{\cdots}\text{PH}_2]$ decompõe-se em H_2P^{2+} e é rapidamente protonado para a espécie dicátion H_4P^{2+} (Fig. 3.6 e Equação 1). O M^{n+} não é reincorporado nessa condição (FLEISCHER *et al.*, 1964; WEAVER; HAMBRIGHT, 1969). Porphirinas cujo pK_{a3} são bem abaixo do pH do meio permanecem como a espécie H_2P (Fig. 3.6 e Equação 2). As equações globais estão descritas abaixo:



Como esperado, considerando o efeito cinético salino, a força iônica exerce um papel importante na alteração na velocidade da solvólise das ZnP_s carregadas. Um estudo comparativo feito com as ZnP_s catiônicas ZnTriMAPP⁴⁺ e ZnTM-4-PyP⁴⁺ e a porfirina aniônica ZnTPPS₄⁴⁻ indicou que as velocidades de metalação das porfirinas positivas e negativas se aproximam com o aumento da força iônica. Comparando as duas porfirinas tetracatiônicas, a solvólise da ZnTriMAPP⁴⁺ (que é mais básica) é 200 vezes mais rápida do que a ZnTM-4-PyP⁴⁺ em qualquer força iônica (NWAEME; HAMBRIGHT, 1984).

Hambright e colaboradores (1976) fizeram um estudo comparativo entre os complexos de Zn(II) dos isômeros das *N*-piridilporfirinas, ZnT-X-PyP (X = 2, 3 ou 4), e das *N*-metilpiridínioporfirinas, ZnTM-X-PyP⁴⁺ (X = 2, 3 ou 4). O comportamento da solvólise dessas ZnP_s foi comparado em soluções ácidas de HCl e HNO₃ (1,0 mol L⁻¹) a 25 °C. A ordem decrescente de solvólise seguiu a tendência de basicidade da respectiva porfirina, ZnT-3-PyP > ZnTM-3-PyP⁴⁺ > ZnT-4-PyP > ZnTM-4-PyP⁴⁺ > ZnT-2-PyP > ZnTM-2-PyP⁴⁺, expressa pelos valores de pK_{a3} para as bases-livres correspondentes

(**Tabela 3.1**) (HAMBRIGHT; GORE; BURTON, 1976). A ZnP mais reativa foi a ZnT-3-PyP, seguida de seu derivado ZnTM-3-PyP⁴⁺, que foram ligeiramente mais reativas do que a ZnT-4-PyP e seu derivado metilado ZnTM-4-PyP⁴⁺, todas com tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) na ordem de segundos (**Tabela 3.2**). A ZnT-2-PyP apresentou $t_{1/2}$ para solvólise em HCl 1 mol L⁻¹ de 22 min, enquanto seu derivado metilado ZnTM-2-PyP⁴⁺, que é menos básica, apresentou $t_{1/2}$ de mais de 1 hora nas mesmas condições (**Tabela 3.2**). Para todas as ZnPs, a solvólise ácida foi mais lenta em HNO₃ que aquela em HCl, corroborando dados anteriores para a ZnTM-4-PyP⁴⁺ (SHAH; HAMBRIGHT, 1970), o que foi atribuído ao efeito coordenante do contra-íon Cl⁻, enquanto o NO₃⁻ é um ânion com capacidade de coordenação ao Zn(II) limitada.

Tabela 3.2 – Tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) para a solvólise ácida de ZnPs da classe das *N*-piridilporfirinas e derivados metilados. (Adaptado de HAMBRIGHT; GORE; BURTON, 1976)

Zn-porfirina	$t_{1/2}$ em HCl 1 mol L ⁻¹	$t_{1/2}$ em HNO ₃ 1 mol L ⁻¹
ZnT-3-PyP	13 s	57 s
ZnTM-3-PyP ⁴⁺	17 s	89 s
ZnT-4-PyP	24 s	131 s
ZnTM-4-PyP ⁴⁺	28 s	165 s
ZnT-2-PyP	22 min	—
ZnTM-2-PyP ⁴⁺	1,4 h	19,1 h

Outro fator importante para a estabilidade das Zn(II) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas está no efeito estérico dos grupos *N*-alquila. Davila e colaboradores (1987) observaram que o representante *n*-hexilado ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foi estável em HNO₃ (1 mol L⁻¹) durante 1 semana de análise, não sendo reportadas medidas acima deste tempo (DAVILA *et al.*, 1987). Hambright e colaboradores (2003) também observaram um aumento significativo do tempo de meia-vida para solvólise de ZnPs em HCl (1 mol L⁻¹) de um pouco mais de 1h no caso da ZnTM-2-PyP⁴⁺ para 10h no caso da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (HAMBRIGHT *et al.*, 2003). O impedimento estérico causado por grupos periféricos hidrofóbicos parece dificultar o acesso do H⁺ ao centro metálico, resultando numa menor velocidade de solvólise.

3.2 Objetivos

3.2.1. Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivos gerais: 1) reportar de obtenção de duas representantes das **ZnTalquil-2-PyP⁴⁺** (**alquil** = **etil** ou **n-hexil**) por um método alternativo da literatura para as *N*-alquilpiridinioporfirinas; 2) avaliar a estabilidade da **ZnTE-2-PyP⁴⁺** e **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺** contra desmetalção por solvólise ácida e em fluidos digestivos simulados; e 3) descrever a obtenção da **ZnP** do tipo $[A_3B]^{3+}$ **ZnMVanTriM-2-PyP³⁺**, um novo candidato a FS em potencial à base de uma classe de Zn(II) porfirinas do tipo A_3B (onde A = 2-*N*-metilpiridínio, B = metil-vanilina).

3.2.2 Objetivos específicos

- Revisitar a síntese da **ZnTE-2-PyP⁴⁺**, estender o método alternativo para a **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺**, através da metalção da **H₂T-2-PyP** com Zn(II) e alquilação dos grupos 2-piridila.
- Estabelecer condições de armazenamento e manuseio da **ZnTE-2-PyP⁴⁺** e **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺** em solução para estudos biológicos.
- Reportar a obtenção da **ZnMVanTri-2-PyP³⁺**, realizar caracterizações e comparar com dados dos análogos 2-*N*-alquilpiridilporfirinas do tipo A_4 .
- Reportar recorte de estudos envolvendo a **ZnTE-2-PyP⁴⁺** e **ZnTnHex-2-PyP⁴⁺** como fotossensibilizadores para aPDI de parasitas do gênero *Leshmania*.

3.3 Metodologia

3.3.1 Reagentes, solventes e adsorventes

Os seguintes reagentes, solventes e adsorventes (**Tabela 3.3**), de grau analítico ou melhor, foram usados como recebidos, sem purificação adicional.

Tabela 3.3 – Reagentes, solventes e adsorventes utilizados neste capítulo.

Reagente e solvente	Marca
Alumina neutra para cromatografia em camada delgada (CCD) sem indicador de fluorescência	Merck
Sílica-gel para CCD sem indicador de fluorescência	
Sílica-gel de grau cromatográfico (60 Å, 70-230 mesh)	Sigma-Aldrich
Alumina neutra (Al ₂ O ₃)	

2-piridinacarboxaldeído 99% (2-PyCHO)	
Pirrol 98%	
Veratraldeído 98%	Sigma-Aldrich
Cloreto de tosilato 98% (TsCl)	
Acetato de zinco(II) diidratado $\geq 98\%$ ($\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	
Cloreto de <i>N</i> -trioctilmetilamônio (Aliquat 336)	
Hexafluorofosfato de amônio $\geq 95\%$ (NH_4PF_6)	
Acetona $>99\%$	
Clorofórmio $>99\%$ (CHCl_3)	
Diclorometano $<99\%$ (CH_2Cl_2)	
Éter etílico $>99\%$ (Et_2O)	Tedia
Metanol $>99\%$ (MeOH)	
<i>N,N</i> -dimetilformamida $>99\%$ (DMF)	
Bicarbonato de sódio 99% (NaHCO_3)	
Carbonato de potássio 99% (K_2CO_3)	Vetec
Cloreto de sódio 99% (NaCl)	
Hidróxido de sódio 99% (NaOH)	
Ácido fosfórico 85% (H_3PO_4)	Alphatec
Ácido nítrico 65% (HNO_3)	Química moderna
Nitrato de potássio 99% (KNO_3)	Dinâmica
<i>Iso</i> -Propanol 98% (<i>i</i> -PrOH)	

Os tosilatos de metila (**MeOTs**), etila (**EtOTs**) e de *n*-Hexila (**nHexOTs**) foram sintetizados conforme descrito no Capítulo 2, utilizando adaptações de rotas da literatura (GUAN *et al.*, 2010; DOLPHIN *et al.*, 1973).

A H₂T-2-PyP foi preparada através da condensação de 0,7 mL pirrol (10 mmol) e 0,95 mL de 2-piridinacarboxaldeído (10 mmol) em 100 mL ácido acético (solvente/catalisador) a 100 °C, utilizando uma adaptação do método de ADLER *et al.*

(1964). A purificação foi realizada por procedimento adaptado do descrito por Hambright e colaboradores (HAMBRIGHT *et al.* 1985).

3.3.2 Equipamentos

Os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-vis (300-800 nm) foram registrados em espectrofotômetro da marca Shimadzu (modelo UV-1800), com resolução 0,5 nm, utilizando-se cubetas de vidro e/ou quartzo com caminho óptico de 1 cm, em solventes como clorofórmio e água. Algumas medidas em solução aquosa foram realizadas também em cubetas de plástico.

3.3.3 Síntese das Zn(II) *N*-alquilpiridínioporfirinas do tipo [ZnA₄]⁴⁺

A obtenção das Zn(II)-porfirinas catiônicas do tipo [ZnA₄]⁴⁺ foi efetuada por duas rotas: (i) utilizando os procedimentos descritos na literatura (Rota Clássica) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002; BENOVA *et al.*, 2002; EZZEDDINE *et al.*, 2013); ou (ii) utilizando uma Rota alternativa (**Fig. 3.7**) desenvolvida no nosso Grupo (VIANA *et al.*, 2015), que foi revisitada neste trabalho e é descrita a seguir.

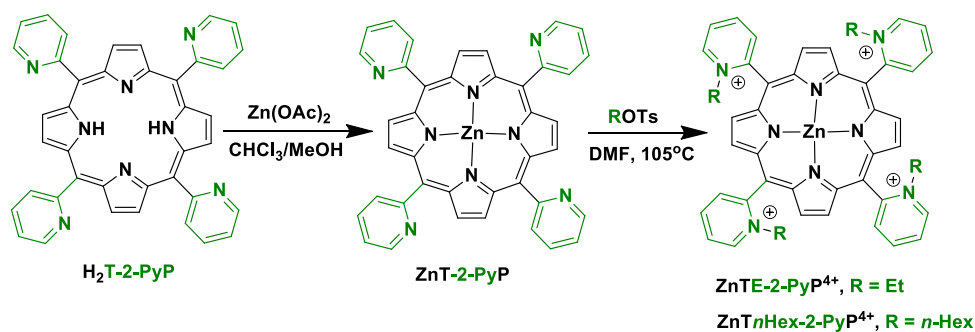


Figura 3.7 - Esquema geral de síntese das Zn-porfirinas ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ pela Rota Alternativa (VIANA *et al.*, 2015), revisitada neste trabalho.

3.3.3.1 Síntese da cloreto de meso-tetraquis(*N*-etilpiridínio-2-il)porfirinatozínco(II) (ZnTE-2-PyPCL₄)

Em uma primeira etapa, procedeu-se a metalação da H₂T-2-PyP com Zn(OAc)₂·2H₂O pelo método do clorofórmio/metanol, conforme descrito na literatura (REBOUÇAS; de CARVALHO; IDEMORI, 2002). A uma solução contendo 50 mg (0,081 mmol) de H₂T-2-PyP em 2,5 mL de CHCl₃ sob refluxo e agitação magnética adicionaram-se 2,5 mL de uma solução metanólica contendo 178 mg (0,81 mmol) de Zn(OAc)₂·2H₂O. A reação foi monitorada por espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível e CCD-Al₂O₃ (CHCl₃:MeOH, 9:1 v/v). Após 1 h de refluxo, o solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o sólido resultante foi purificado por

cromatografia em coluna contendo como fase estacionária uma mistura de alumina neutra e alumina básica na proporção 4:1 (m/m), com dimensões de 2,5 cm de diâmetro $\times$ 5,0 cm de altura. A fase móvel foi CHCl_3 :MeOH (9:1, v/v). A ZnT-2-PyP foi coletada como uma fração violeta. A fração de interesse foi levada a um evaporador rotatório, o solvente foi eliminado e o sólido resultante foi seco em estufa a 60 °C por 24 h, obtendo-se 51 mg da ZnT-2-PyP (rendimento: 93 %).

A seguir, a ZnT-2-PyP foi alquilada com tosilato de etila (EtOTs) utilizando um procedimento adaptado da rota de obtenção da base-livre $\text{H}_2\text{TE-2-PyP}^{4+}$ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002). Em um balão de fundo redondo acoplado a um condensador, a ZnT-2-PyP (30 mg; 0,048 mmol) foi dissolvida em 3 mL de DMF aquecida em um banho óleo a 105 °C. Após se esperar 10 min para estabelecimento do equilíbrio térmico, o agente alquilante EtOTs (860 μL ; 4,8 mmol) foi adicionado e o sistema foi protegido da incidência direta de luz ambiente com papel alumínio. O progresso da reação foi monitorado por CCD-SiO₂ ($\text{KNO}_3(\text{sat})$: H_2O :MeCN, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis. Após 24 horas, a mistura reacional foi resfriada e a DMF removida com a adição de Et₂O (3 $\times$ 5 mL). O material viscoso resultante foi colocado em estufa a 50 °C por 40 min, resfriado à temperatura ambiente e dissolvido em 2 mL de H₂O. A seguir, a ZnP foi precipitada na forma de sal de PF_6^- metátese $\text{OTs}^-/\text{PF}_6^-$ com a adição de 1 mL de uma solução aquosa de NH_4PF_6 (3 mol L⁻¹). O sólido foi separado por filtração em funil de placa sinterizada, lavado com 20 mL de Et₂O:isopropanol (1:1, v/v) e secado em estufa a 50 °C por 8 horas. Então, o material foi resfriado em dessecador e dissolvido em aprox. 4 mL de acetona. A solução resultante foi filtrada em funil de placa sinterizada, sendo o funil lavado com pequenas porções de acetona (o volume total do filtrado não deve exceder 8 mL). A ZnP no filtrado foi imediatamente precipitado na forma de sal de Cl^- com adição, sob agitação, de 1 mL de solução a 10% (v/v) de Aliquat 336 (cloreto de *N*-trioctilmetilamônio) em acetona. O sólido resultante foi filtrado em funil de placa sinterizada, lavado com 20 mL de acetona e secado em estufa a 50 °C por 2 horas. O material foi redissolvido em água e os procedimentos de metátese com NH_4PF_6 (em água) e Aliquat 336 (em acetona) foram repetidos mais uma vez. O produto isolado ZnTE-2-PyPCL₄ (massa = 39 mg; rendimento = 93%) apresentou características cromatográficas e espectrais idênticas àquelas descritas na literatura (BENOV *et al.*, 2002). O rendimento global, partindo da H₂T-2-PyP, foi 80%. Após isolamento, a ZnTE-2-PyPCL₄ foi armazenada na forma de solução aquosa (água destilada

em equilíbrio com ar atmosférico, pH 5,8) em frascos de plásticos fechados, à temperatura ambiente sob abrigo da luz.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,25.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm: 325, **425 (Soret)**, 557,5, 592

3.3.3.2 Síntese da cloreto de meso-tetraquis(*N*-*n*-**Hex**ilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnTn**Hex**-2-PyPCL₄)

A preparação da ZnTn**Hex**-2-PyPCL₄ foi realizada de modo idêntico àquele descrito para a ZnTE-2-PyPCL₄, exceto que (i) foram utilizados 2260 µL de tosilato de *n*-Hexila (**nHex**OTs; 9,6 mmol) ao invés de EtOTs; (ii) a reação de alquilação a 105°C durou 3 dias (ao invés de 1 dia); (iii) o sistema foi monitorado a cada 1 dia; e (iv) a mistura Et₂O:iso-propanol foi substituída por Et₂O para lavagem do material viscoso resultante do tratamento com Et₂O imediatamente após a alquilação. A ZnTn**Hex**-2-PyPCL₄ (massa = 51 mg; rendimento = 95%) apresentou características cromatográficas e espectrais idênticas àquelas descritas na literatura (EZZEDDINE *et al.*, 2013). O rendimento global, partindo da H₂T-2-PyP, foi 85%. Após isolamento, a ZnTn**Hex**-2-PyPCL₄ foi armazenada na forma de solução aquosa (água destilada em equilíbrio com ar atmosférico, pH 5,8) em frascos de plásticos fechados, à temperatura ambiente sob abrigo da luz.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,53.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm: 327, **427 (Soret)**, 557,5, 593,5

3.3.4 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnM**Van**TriM-2-PyPCL₃)

A ZnM**Van**TriM-2-PyPCL₃ foi sintetizada utilizando um procedimento adaptado da ZnTM-2-PyPCL₄ (BENOV *et al.*, 2002). A síntese consistiu na dissolução de 19 mg (0,023 mmol) de H₂M**Van**TriM-2-PyPCL₃ (descrita no Capítulo 2) em 1 mL de solução aquosa de NaOH (pH 12,5), ao que se adicionaram, à temperatura ambiente, 50 mg de Zn(AcO₂)·2H₂O (0,23 mmol) (**Fig. 3.8**).

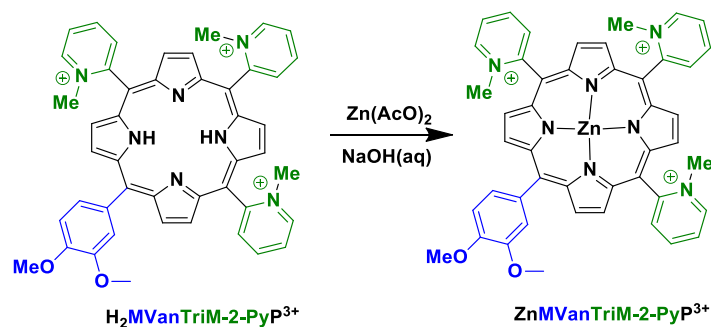


Figura 3.8 - Esquema geral de síntese da Zn-porfirina catiônica $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

O progresso da reação de metalação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. O sistema foi mantido sob agitação por 3 horas à temperatura ambiente. Após o consumo total da base-livre, o sistema foi filtrado em funil de placa sinterizada e a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ presente no filtrado foi precipitada na forma de sal de PF₆⁻ com adição gota a gota de uma solução aquosa de NH₄PF₆ (3 mol L⁻¹). O sólido foi separado por filtração, lavado com uma mistura de Et₂O:iso-PrOH (9:1 v/v) e secado em estufa a 50 °C por 4 horas. O sólido foi, então, resfriado e dissolvido em acetona, sendo a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ precipitada na forma de Cl⁻ com adição gota a gota de Aliquat 336. O sólido resultante foi lavado com acetona, secado em estufa a 60 °C por 4 horas e transferido para um dessecador. A massa isolada da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ foi 12 mg (rendimento: 91%).

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v): R_f = 0,30.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm: 322, **428 (Soret)**, 558, 590

3.3.5 Estabilidade da ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ frente à solvólise

A estabilidade da ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ frente à desmetalção em solução foi avaliada utilizando-se estudos de solvólise acelerada. O tempo de meia-vida de solvólise de ZnP^{4+} (t_{1/2}) foi determinado por UV-vis em condições ácidas severas e em fluidos digestivos simulados. As concentrações das soluções estoque de ZnP foram determinadas espectrofotometricamente usando valores de absorvidade molar publicados para a ZnTE-2-PyP^{4+} (ε_{425,5 nm} = 288.403 cm⁻¹ L mol⁻¹) (BENOV *et al.*, 2002) e para a $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ (ε_{427,0 nm} = 436.516 cm⁻¹ L mol⁻¹) (EZZEDDINE *et al.*, 2013). As soluções aquosas de ácido clorídrico (1 mol L⁻¹), ácido nítrico (1 mol L⁻¹) e ácido fosfórico (1 mol L⁻¹) foram padronizadas por titulação. O fluido gástrico simulado (em inglês *Simulated Gastric Fluid*, SGF; pH 2,6) e fluido intestinal simulado (em inglês *Simulated Intestinal Fluid*, SIF; pH 7,0) foram preparados como soluções eletrolíticas

não-enzimáticas, conforme descrito na literatura (MINEKUS *et al.*, 2014). A composição do SGF contém: KCl (6,9 mmol L⁻¹), KH₂PO₄ (0,9 mmol L⁻¹), NaHCO₃ (25 mmol L⁻¹), NaCl (47,2 mmol L⁻¹), MgCl₂·(H₂O)₆ (0,1 mmol L⁻¹), (NH₄)₂CO₃ (0,5 mmol L⁻¹) e CaCl₂·(H₂O)₂ (0,075 mmol L⁻¹), sendo o pH final ajustado para 2,6 com HCl (6 mol L⁻¹). O SIF contém: KCl (6,8 mmol L⁻¹), KH₂PO₄ (0,8 mmol L⁻¹), NaHCO₃ (85 mmol L⁻¹), NaCl (38,4 mmol L⁻¹), MgCl₂·(H₂O)₆ (0,33 mmol L⁻¹) e CaCl₂·(H₂O)₂ (0,3 mmol L⁻¹), sendo o pH final ajustado para 7,0 com HCl (6 mol L⁻¹).

O procedimento experimental consistiu na diluição de alíquotas de uma solução estoque aquosa da ZnP de interesse (geralmente 1 mmol L⁻¹) em 3 mL de cada ácido (HCl, HNO₃ ou H₃PO₄ a 1 mol L⁻¹) ou fluido (SGF ou SIF) em uma cubeta UV-vis para produzir uma solução de trabalho de ZnP na faixa de concentração de μmol L⁻¹. Após mistura rápida, a solvólise de ZnP foi imediatamente acompanhada espectrofotometricamente, ao longo do tempo. O tempo de meia-vida da reação foi determinado em condições de pseudo-primeira ordem (HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971; CONNORS, 1990).

3.3.6 Estudos exploratórios de aPDI de *Leshmania* usando ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ como fotossensibilizadores

As soluções estoque de ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foram preparadas em H₂O e as concentrações da ordem de 1 mmol L⁻¹ foram determinadas espectrofotometricamente utilizando os seguintes valores de absorvidade molar publicados para a ZnTE-2-PyP⁴⁺ ($\epsilon_{425,5\text{ nm}} = 288.403\text{ cm}^{-1}\text{ L mol}^{-1}$) (BENOV *et al.*, 2002) e para a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ ($\epsilon_{427,0\text{ nm}} = 436.516\text{ cm}^{-1}\text{ L mol}^{-1}$) (EZZEDDINE *et al.*, 2013).

Os ensaios de aPDI de *Leishmania* foram realizados no grupo da Profa. Dra. Adriana Fontes (UFPE), em parceria com as Profas. Dra. Beate S. Santos (UFPE), Dra. Regina C.B.Q. Figueiredo (IAM-Fiocruz/PE) e Dra. Martha S. Ribeiro (IPEN-CNEN/SP), sendo conduzidos pela Dra. Camila G. Andrade (UFPE) para a ZnTE-2-PyP⁴⁺ (ANDRADE *et al.*, 2018) e pelo doutorando Tiago H. S. Souza (UFPE) para a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (SOUZA *et al.*, 2021).

ZnTE-2-PyP⁴⁺: Alíquotas de 100 μL de suspensão de células promastigotas de *Leshmania braziliensis* (1 × 10⁷ células por mL) foram transferidas para uma placa de 96 poços. Para cada poço, foram adicionados 100 μL de tampão fosfato-salino (PBS) (controle) ou PBS contendo a ZnTE-2-PyP⁴⁺ (FS) para atingir a concentração final de 5 ou 10 μmmol L⁻¹.

Os grupos experimentais foram divididos em: (1) controle negativo; (2) luz - tratamento apenas com irradiação (controle positivo), (3) tratamento com 5 μmmol L⁻¹ de

ZnP no escuro; (4) ZnP $5 \mu\text{mmol L}^{-1}$ + luz – adição de ZnP, seguido por irradiação; (5) $10 \mu\text{mmol L}^{-1}$ ZnP - tratamento com $10 \mu\text{mmol L}^{-1}$ de ZnP no escuro; e (6) $10 \mu\text{mmol L}^{-1}$ de + luz – adição de ZnP, seguido por irradiação. Para todas as amostras contendo ZnP, as células foram incubadas com o FS por 10 min. Como fonte de luz a $455 \pm 20 \text{ nm}$ foi utilizado LED (fotopolimerizador LEC, MMOptics, Brasil) e irradiação de aprox. 300 mW cm^{-2} durante 5 ou 10 min (correspondente a doses leves de 90 ou 180 J cm^{-2} , respectivamente).

Para as formas amastigotas, os ensaios foram realizados em microplaca de 24 poços, e $500 \mu\text{L}$ de cada sistema de tratamento foram adicionados a cada poço contendo os macrófagos infectados com *L. braziliensis*. Os grupos de tratamento foram idênticos aos descritos para as promastigotas. Os poços da microplaca usados para o ensaio da forma amastigota tiveram uma maior área em relação às promastigotas; a fim de irradiar toda a área de cada poço, a ponta do guia de LED foi removida e a potência da luz foi aumentada para manter irradiância e uma dose leve semelhante à usada para tratar as formas promastigotas (aprox. 300 mW cm^{-2} , 90 J cm^{-2}). L. As formas amastigotas foram submetidas à irradiação por 5 min: i) apenas luz, ii) ZnTE-2-PyP⁴⁺ a $5 \mu\text{mmol L}^{-1}$ + luz e ZnTE-2-PyP⁴⁺ a $10 \mu\text{mmol L}^{-1}$ + luz, seguindo o mesmo protocolo descrito para as promastigotas. Depois, as células foram fixadas em fixador de Bouin e corado com solução de coloração Giemsa (Sigma-Aldrich) por 15 min. O número de amastigotas foi determinado analisando uma centena de células hospedeiras infectadas distribuídos em campos microscópicos escolhidos aleatoriamente.

O efeito citotóxico dos tratamentos em macrófagos J774.A1 (ATCC® TIB-67™), células Vero (ATCC® CCL-81™), e macrófagos peritoneais obtidos de camundongos BALB/C foi avaliado *via* ensaio colorimétrico por MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio], um tipo de teste de viabilidade celular. Os procedimentos de adição de ZnP e tratamento com luz foram idênticos aos reportados para as formas promastigotas.

ZnTnHex-2-PyP⁴⁺: Ensaios fotodinâmicos com formas promastigotas foram realizados em microplacas de 96 poços. Duas concentrações finais de ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ $0,62 \text{ (A)}$ e $1,25 \mu\text{mmol L}^{-1} \text{ (B)}$, foram usadas. Duas condições de irradiação também foram realizadas: Luz 1 = aprox. $38,2 \text{ mW cm}^{-2}$ por 1 min; e Luz 2 = aprox. $19,1 \text{ mW cm}^{-2}$ por 3 min.

Grupos avaliados: (1) Controle = sem nenhum tratamento (no escuro); (2) Luz 1 = tratamento apenas com irradiação em aprox. $2,3 \text{ J cm}^{-2}$; (3) Luz 2 = irradiação a aprox. $3,4 \text{ J cm}^{-2}$; (4) $1,25 \text{ } \mu\text{mmol L}^{-1}$ de ZnP no escuro; (5) PDT A1 = $0,62 \text{ } \mu\text{mmol L}^{-1}$ de ZnP + Luz 1; (6) PDT A2 = $0,62 \text{ } \mu\text{M}$ de ZnP + Luz 2; (7) PDT B1 = $1,25 \text{ } \mu\text{mmol L}^{-1}$ de ZnP + Luz 1; e (8) PDT B2 = $1,25 \text{ } \mu\text{mmol L}^{-1}$ de ZnP + Luz 2.

As concentrações, tempo de pré-incubação e tempo de irradiação usados foram inicialmente escolhidos com base no estudo realizado com a ZnTE-2-PyP⁴⁺. A mesma configuração de irradiação foi aplicada. Os sistemas foram irradiados de cima para baixo, sem a tampa de plástico. Um LEDbox (Biolambda) em $410 \pm 10 \text{ nm}$ foi usado como fonte de luz. Para todos os grupos tratados com a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺, as células foram pré-incubadas com o FS por 5 min na ausência de luz. Para todos os experimentos, a suspensão de promastigota (1×10^7 células por mL) foi transferida para o poço e incubada com $1 \times$ solução salina tamponada com fosfato (PBS, para grupos "controle" e "apenas luz") ou PBS contendo ZnP, na proporção de volume de 1: 1 (volume total de $200 \text{ } \mu\text{L}$, preparado na hora).

Ensaio de citotoxicidade com células de mamíferos foram realizados, utilizando em macrófagos derivados da medula óssea de camundongos BALB/c (6–8 semanas de idade) (BMDMs), seguindo o protocolo relatado na literatura (CABRAL *et al.*, 2019). Foram utilizadas as mesmas doses de ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ ($0,62$ ou $1,25 \text{ } \mu\text{mmol L}^{-1}$) e os controles foram os mesmos das formas promastigotas. O tratamento na exposição radiante mais alta ($3,4 \text{ J cm}^{-2}$) foi adotado. As placas foram irradiadas conforme descrito anteriormente para promastigotas e o mesmo tempo de pré-incubação foi aplicado. Após o tratamento, as células foram lavadas e incubadas em meio RPMI-1640 contendo 5 mg mL^{-1} de MTT, a 37° C e 5% de CO_2 por 4 h. Após a incubação, o sobrenadante foi descartado e os cristais formados foram solubilizados em dimetilsulfóxido. As absorvâncias foram medidas em um espectrofotômetro Spectramax M4 a 570 nm . Os testes foram realizados em triplicata em três experimentos independentes.

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Síntese da ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺

A Rota Clássica para a obtenção de 2-N-alkilpiridínioporfirinas de Zn(II), ZnTalquil-2-PyP⁴⁺ (alquil = etil ou n-Hexil) envolve: (i) alquilação da porfirina base-livre H₂T-2-PyP com o correspondente tosilato de alquila para isolamento, por sínteses independentes, das duas bases-livres catiônicas correspondentes, H₂TE-2-PyP⁴⁺ e

$\text{H}_2\text{TnHex-2-PyP}^{4+}$, e (ii) inserção de Zn(II) em cada porfirina tetracatiônica, por procedimentos independentes (**Fig. 3.9, Rota Clássica**). Ao todo, são executadas 4 etapas de síntese e purificação para obtenção das duas $\text{ZnTalquil-2-PyP}^{4+}$ (**alquil = etil ou *n*-Hexil**) a partir da $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (BENOV *et al.*, 2002; EZZEDDINE *et al.*, 2013). A Rota Alternativa consiste em: (i) metalação da porfirina base livre neutra $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$, formando o intermediário ZnT-2-PyP (REBOUÇAS; de CARVALHO; IDEMORI, 2002), e (ii) alquilação da ZnT-2-PyP com o correspondente tosionato de alquila (**alquil = etil ou *n*-Hexil**) por sínteses independentes (**Fig. 3.9, Rota Alternativa**). Com isso, a obtenção da ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ utilizando a Rota Alternativa pode ser realizada em 3 etapas de síntese e purificação. Destaca-se que a Rota Alternativa foi proposta anteriormente pelo nosso Grupo para a síntese da ZnTE-2-PyPCL_4 (VIANA *et al.*, 2015); a síntese desta ZnP foi revisitada no presente trabalho e o escopo da reação foi estendido para incluir a ZnTnHex-2-PyPCL_4 .

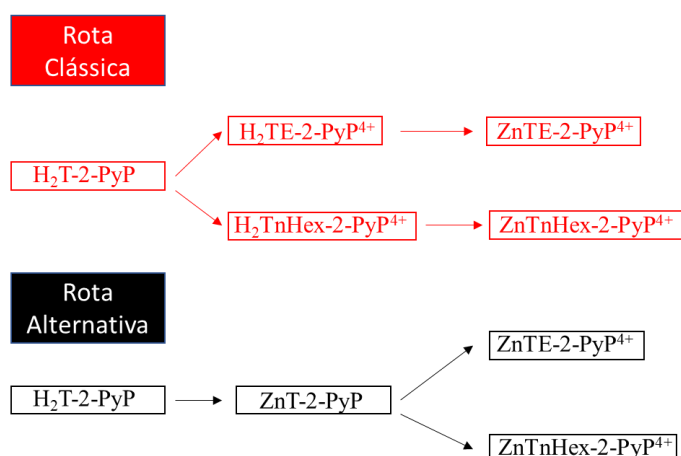


Figura 3.9 - Rotas para obtenção de 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Zn(II) : a clássica (em vermelho) e a alternativa, realizada neste trabalho (em preto).

Enquanto a preparação da ZnT-2-PyP , que corresponde à primeira etapa da Rota Alternativa, está bem estabelecida (REBOUÇAS; de CARVALHO; IDEMORI, 2002) e foi reproduzida aqui sem maiores novidades, as discussões deste trabalho se concentrarão nas reações de alquilação e no isolamento das ZnPs catiônicas resultantes.

A ZnTE-2-PyP^{4+} foi obtida através da alquilação da ZnT-2-PyP com **EtOTs** incorporando algumas modificações que otimizaram as condições descritas pelo nosso Grupo na literatura (VIANA *et al.*, 2015), sem comprometimento do tempo de reação de 24 h ou rendimento: (i) neste trabalho a razão molar ZnP/EtOTs foi reduzida de 1:150 para 1:100, e (ii) o volume de solvente foi reduzido pela metade. Para a alquilação da

ZnT-2-PyP com **nHex**OTs e obtenção da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺, o tempo de reação foi de 72 horas (3 dias) usando um sistema com concentração equivalente àquela da Zn**TE**-2-PyP⁴⁺, mas com uma razão molar ZnP/**nHex**OTs de 1:200. Os compostos isolados Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ (BENOV *et al.*, 2002) e Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ (EZZEDDINE *et al.*, 2013) apresentaram características cromatográficas e espectrais semelhantes àsquelas reportadas para estas amostras obtidas pela Rota Clássica. É importante frisar que ambas as alquilações foram concluídas em tempos similares aos reportados para as alquilações da base-livre H₂T-2-PyP (**Rota Clássica**; **Fig. 3.9**), que deu origem à H₂**TE**-2-PyP⁴⁺ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999) e à H₂**TnHex**-2-PyP⁴⁺ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002). O tempo de alquilação maior para a Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ em relação à Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ na Rota Alternativa também é observado na Rota Clássica e está associado ao impedimento estérico imposto pelas cadeias alquílicas mais longas (EZZEDDINE *et al.*, 2013).

Tentativas de reduzir o excesso de **nHex**OTs na síntese da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ da proporção molar ZnP/**nHex**OTs 1:200 para 1:100 pela Rota Alternativa foram insatisfatórias. Após cinco dias de reação, foi necessário dobrar a razão molar ZnP/**nHex**OTs (1:200) e a alquilação foi finalizada apenas após 9 dias. O produto da alquilação apresentou o valor da banda *Soret* em 425 nm, diferente dos 427 nm da literatura reportados para a Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ (EZZEDDINE *et al.*, 2013), o que pode sugerir desmetalização parcial. Análises por CCD-SiO₂ não foram conclusivas.

As reações de alquilação da ZnT-2-PyP na Rota Alternativa foram monitoradas por CCD-SiO₂ utilizando KNO₃(sat.)/H₂O/MeCN na proporção 1:1:8 (v/v/v) como eluente. Nestas análises, observou-se a formação e desaparecimento de múltiplas manchas com fatores de retenção (*R_f*) menores que aquele da ZnT-2-PyP de partida, que finalmente deram origem a apenas o produto de interesse, com *R_f* idêntico àquele reportado na literatura (ODEH *et al.*, 2014) para a Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ (***R_f* = 0,20**) ou para a Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ (***R_f* = 0,53**). A redução dos valores de *R_f* para as manchas observadas ao longo da alquilação é consistente com o aumento de polaridade que acompanha a formação das espécies catiônicas intermediárias mono-, di-, e trialquiladas, que progressivamente evoluem para o composto tetraalquilado (tetracatiônico) de interesse. Este comportamento é comparável com aquele observados nos sistemas de base-livre (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998) e Mn(III)-porfirinas (REBOUÇAS *et al.*, 2008d) análogos.

Ainda sobre as análises por CCD-SiO₂, destaca-se que todas as porfirinas e metaloporfirinas da classe das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas existem como uma mistura de atropoisômeros (isômeros rotacionais), o que pode influenciar o perfil das manchas na spalca CCD. Nos compostos com cadeias alquilas curtas, como na ZnTE-2-PyP⁴⁺, a diferença de polaridade entre os atropoisômeros não é suficiente para separação cromatográfica efetiva nas condições de análises por CCD-SiO₂, resultando em uma única mancha para esta ZnP. Já para compostos com cadeias mais longas (IAMAMOTO *et al.*, 1994; MIZUTANI *et al.*, 1998) é possível o aparecimento de mais de uma mancha para o produto na CCD, devido à diferença de polaridade entre os atropoisômeros. No caso da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺, a placa de CCD apresenta um conjunto de 2 manchas ligeiramente espaçadas (**R_f médio = 0,53**) consistente com a mistura de atropoisômeros no produto isolado.

Os procedimentos de purificação e isolamento da ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foram semelhantes entre si e envolveram, inicialmente, a eliminação do solvente DMF e o excesso de tosilato através de adição/extração com éter etílico (Et₂O). As duas ZnP⁴⁺ são hidrofílicas e, conseqüentemente, insolúveis em Et₂O, resultando num material viscoso que se adere às paredes do balão de reação. A DMF e os tosilaos utilizados em excesso são miscíveis em Et₂O, sendo diluídos e eliminados do sistema. O material viscoso bruto da reação de alquilação das porfirinas contém impurezas, como uma provável contaminação de ácido *p*-toluenosulfônico (TsOH) provindos a hidrólise do correspondente tosilato de alquila, que podem catalisar a desmetalacão das ZnP⁴⁺, se não devidamente controlado. A purificacão final dos compostos catiônicos da classe das *N*-alquilpiridilporfirinas é comumente realizada *via* procedimentos de metátese em duas etapas: (i) com NH₄PF₆ em água (metátese OTs⁻/PF₆⁻) e com Aliquat 336 (metátese PF₆⁻/Cl⁻), levando tipicamente ao isolamento de *N*-alquilpiridilporfirinas na forma de sal de cloreto (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998).

Após isolamento, a ZnTE-2-PyPCL₄ e a ZnTnHex-2-PyPCL₄ foram armazenadas em frascos de plásticos fechados na forma de solucão aquosa (água destilada em equilíbrio com ar atmosférico, pH 5,8) à temperatura ambiente sob abrigo da luz. Após ~1 ano não foi constatada, seja por CCD-SiO₂ ou UV-vis, nenhuma alteracão aparente nas amostras de ZnTE-2-PyP⁴⁺. Não foram avaliadas degradações nas amostras em tempos inferiores ou posteriores a esse. O mesmo foi observado após ~2 anos para a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺.

Os espectros UV-vis da ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foram característicos. A ZnTE-2-PyP⁴⁺ apresenta uma banda *Soret* (425 nm) e duas bandas α e β de menor intensidade na região de 500 a 600 nm. O espectro da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ é quase idêntico, com *Soret* em 427 nm e as duas bandas α e β (Fig. 3.10). Os dados de espectroscopia eletrônica das ZnP⁴⁺ sintetizadas são idênticos àqueles da literatura (BENOV *et al.*, 2002; EZZEDDINE *et al.*, 2013).

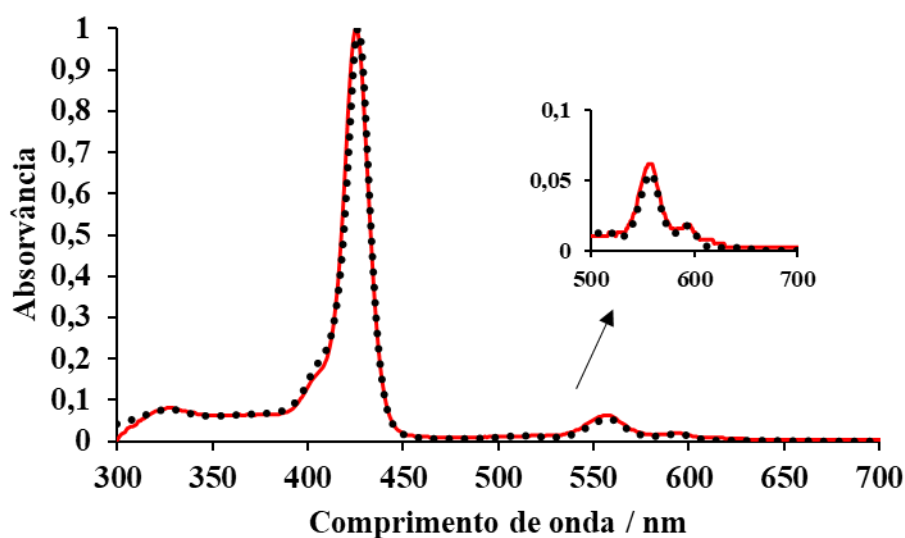


Figura 3.10 - Espectros UV-vis normalizados da ZnTE-2-PyP⁴⁺ (linha vermelha) e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (pontilhado preto) registrados em H₂O. A expansão corresponde à região das bandas de menor energia.

É comum no grupo de pesquisa deixar o sólido bruto das porfirinas catiônicas secando em estufa a 50 ou 60 °C por algumas horas ou, às vezes, *overnight* nesta temperatura. Em uma batelada da ZnTE-2-PyP⁴⁺, foi observada a desmetalção quando deixada para secar *overnight* a 50 °C. Este episódio foi verificado com o sólido bruto da síntese, no qual apenas o solvente havia sido removido e que não tinha sido submetido ainda à purificação por metátese (OTs⁻/PF₆⁻), trazendo evidências da reatividade do Zn(II) frente à presença de impurezas deste sistema. Desmetalção não foi observada com nenhum dos sólidos sujeitos a pelo menos uma etapa de purificação por metátese. Partindo-se dessas observações, a secagem das ZnPs em estufa antes da primeira etapa de metátese (OTs⁻/PF₆⁻) foi substituída por uma secagem rápida em evaporador rotatório a 35 °C. Essa metodologia manteve a integridade de ambas as ZnPs ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺.

Em todos os casos em que houve desmetalação parcial ou total, as porfirinas foram remetaladas com Zn(II) pelo método clássico e a purificação final *via* metátese foi realizada dentro da normalidade (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998).

É possível a obtenção da ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ *via* alquilação dos grupos 2-piridila da ZnT-2-PyP pela Rota Alternativa sem que ocorra a solvólise do Zn(II). No entanto, é necessário garantir a qualidade dos respectivos tosilatos e controlar a presença de água no meio, especialmente por se tratarem de reações que demoram cerca de 1 e 3 dias. A eliminação do solvente e a primeira metátese (OTs⁻/PF₆⁻) devem ser realizadas logo após terminada a síntese. Caso o contrário, impurezas como o TsOH, resultantes da hidrólise dos tosilatos de alquila, podem propiciar a desmetalação das ZnP⁴⁺.

A obtenção da ZnTnHex-2-PyPCL₄ e ZnTE-2-PyPCL₄ pela **rota alternativa** (Fig. 3.9) possibilita a redução do número de etapas de sínteses/purificações em 25%. Além disso, a síntese do intermediário ZnT-2-PyP, que pode resultar em custos financeiros um pouco menores nos processos de purificação. Esse fato ocorre devido à redução do uso de reagentes de alto custo, como Aliquat 336 e NH₄PF₆, que são os compostos nos processos de purificação das alquilações e metalações pela **rota clássica** (Fig. 3.9).

3.4.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnMVanTriM-2-PyPCL₃)

Nesta seção se descrevem as condições de síntese e obtenção de uma nova ZnP do tipo [ZnA₃B]⁴⁺ (onde A = 2-*N*-metilpiridínio, B = metilvanilina), a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺. Utilizando a ZnTM-2-PyP⁴⁺ como modelo estrutural para a classe das ZnP do tipo [ZnA₃B]⁴⁺, a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ é o protótipo *N*-metilado nos grupos 2-piridila (2-Py) e *O*-metilado no grupo vanilina (MVan). A escolha do desenho da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ se deu devido às propriedades fotoquímicas conhecidas das Zn(II) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, aliado ao aumento da lipofilia resultante da troca de um grupo catiônico 2-*N*-metilpiridínio por um grupo neutro metilvanilina (Fig. 3.11).

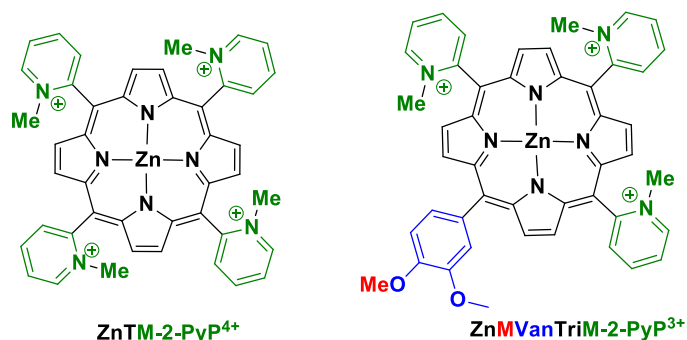


Figura 3.11 – Estrutura da ZnTM-2-PyP⁴⁺, ZnP do tipo [ZnA₄]⁴⁺ que foi modelo estrutural para a ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺, a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺.

A obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ através da reação do acetato de zinco(II) com a base-livre precursora H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ em meio aquoso básico (pH ~ 12), à temperatura ambiente, durou cerca de 3 horas. As Zn(II) 2-*N*-alquilpiridinínioporfirinas da literatura, tais como a ZnTM-2-PyP⁴⁺ e ZnTE-2-PyP⁴⁺ são obtidas rapidamente (10-15 min) à temperatura ambiente (BENOV *et al.*, 2002).

Durante o curso da reação, as análises por CCD-SiO₂ utilizando o eluente KNO₃(sat.)/H₂O/MeCN na proporção 1:1:8 (v/v/v) indicaram o desaparecimento da mancha fluorescente correspondente à base-livre H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (**R_f = 0,47**) e a formação de uma outra mancha fluorescente correspondente ao complexo ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (**R_f = 0,30**). Apesar de a metalação com zinco(II) ter sido quantitativa, a purificação e isolamento da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ envolveu duas etapas de metátese (OAc⁻/PF₆⁻ e PF₆⁻/Cl⁻), de maneira bastante semelhante ao que ocorre para as Zn(II) 2-*N*-piridinínioporfirinas, como ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺. Inicialmente, o produto da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi filtrado em funil de placa sinterizada para eliminar o excesso de óxidos e hidróxidos de Zn(II) do sistema. O sobrenadante aquoso recolhido necessitou de pré-concentração antes da adição de NH₄PF₆, pois um sistema mais diluído dificulta a precipitação da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ na forma de sal de PF₆⁻. Para a metátese PF₆⁻/Cl⁻ com Aliquat 336, a ZnP precisou de secagem prévia em estufa a 50 °C por 4 horas para que excesso de água ou umidade não dificultasse a precipitação da ZnP na forma de sal de cloreto. O rendimento do produto isolado ZnMVanTriM-2-PyP₃Cl₃ correspondeu a 90%.

Os espectros de UV-vis registrados em H₂O (**Fig. 3.12**) indicaram que a inserção do Zn(II) no anel da porfirina foi acompanhada por (i) um deslocamento da banda *Soret* para o vermelho (de 417 nm para 428 nm) e (ii) uma diminuição do número de bandas do visível (**Tabela 3.4**), devido ao aumento da simetria local de *D*_{2h} (base-livre) para *D*_{4h}

(metaloporfirina) (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). A $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ possui pequeno deslocamento para o vermelho da banda *Soret* (428 nm) em relação à porfirimina do tipo $[\text{A}]^{4+} \text{ZnTM-2-PyP}^{4+}$ (*Soret* = 425 nm). Esse deslocamento se dá pelo maior caráter eletrodoador da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, devido à presença do grupo *O*-metilvanilina substituindo um grupo eletrorretirador 2-*N*-metilpiridínio.

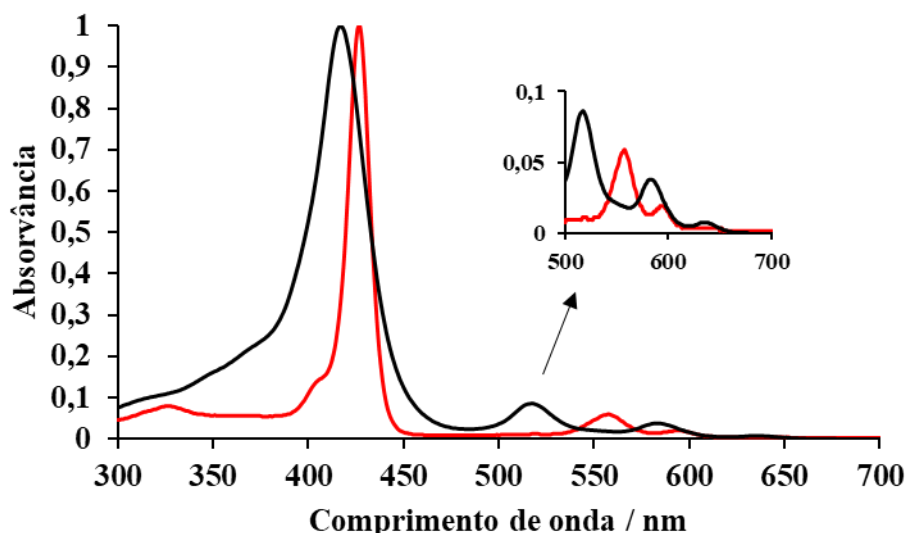


Figura 3.12 - Espectros UV-vis normalizados da porfirimina base-livre $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (pontilhado vermelho) e seu respectivo complexo $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (linha azul) registrados em H_2O . A expansão corresponde à região das bandas de menor energia.

Tabela 3.4 – Dados espectroscópicos (registrados em água) das porfirinas catiônicas e seus complexos de Zn(II) de relevância neste trabalho.

Porfirinas	$\log \epsilon$ da Soret	λ_{max} /nm (intensidade relativa)
$\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$	5,23 ^a	417 (1,00), 517 (0,087), 583 (0,040), 635 (0,011)
$\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$	— ^b	322 (0,10), 428 (1,00), 558 (0,070), 590 (0,015)

^aValor de ϵ em $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. ^bNão determinado.

A medida do fator de retenção cromatográfico (R_f), assim como ocorre com as *N*-alquilpiridínioporfirinas e seus complexos de Mn(III) (KOS *et al.*, 2009), fornece um parâmetro indicativo da lipofilia desses sistemas à base de ZnP catiônicas. Foi observado por Thomas e colaboradores (2015) uma relação linear entre o valor de R_f e o coeficiente de partição octanol/água ($\log P_{\text{ow}}$). Sendo assim, a medida do R_f é um recurso muito importante, quando não se pode determinar o $\log P_{\text{ow}}$ diretamente. Essa tendência também é observada quanto se faz a correlação entre R_f vs número de carbonos da cadeia alquílica

(nC) (THOMAS *et al.*, 2015). A **Tabela 3.5** apresenta os valores comparativos de R_f da Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺ com ZnPs correlatas da literatura (Zn**TM**-2-PyP⁴⁺, Zn**TE**-2-PyP⁴⁺, Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺).

Tabela 3.5 – Dados comparativos dos fatores de retenção cromatográficos (R_f) da ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺ Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺ deste trabalho com ZnPs [ZnA₄]⁴⁺ da literatura, usando sílica, como fase estacionária, e KNO₃(sat)/H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v), como fase móvel.

Zn-porfirinas	R_f
Zn MVanTriM -2-PyP ³⁺	0,30
Zn TM -2-PyP ⁴⁺	0,10 ^a
Zn TE -2-PyP ⁴⁺	0,20 ^a
Zn TnPr -2-PyP ⁴⁺	0,28 ^b
Zn TnBu -2-PyP ⁴⁺	0,38 ^a

^a(ODEH *et al.*, 2014), ^b Valor estimado com base na equação da reta da correlação entre R_f vs nC das ZnPs ($y = 0,0671x + 0,0794$) (THOMAS *et al.*, 2015).

A ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺ Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺ apresenta valor de R_f em KNO₃(sat)/H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v) bem maior do que a ZnP do tipo [ZnA₄]⁴⁺ de referência Zn**TM**-2-PyP⁴⁺, mostrando o grande impacto na lipofilia resultante da substituição de um grupo catiônico 2-*N*-metilpiridínio por um neutro grupo metilvanilina. O análogo tetra-*n*-butilado Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺ é mais lipofílico do que a Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺. É importante destacar que, nos sistemas do tipo [ZnA₄]⁴⁺ são necessários quatro grupos *N*-*n*-butila no complexo Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺ para alcançar um valor de R_f maior que aquele do sistema [ZnA₃B]³⁺ representado pela Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺, onde os substituintes *N*-piridilas são simples metilas. Considerando que os valores de R_f podem ser indicadores razoáveis da lipofilia nestes sistemas (KOS *et al.*, 2009; ODEH *et al.*, 2014), o uso de compostos menos volumosos, como a Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺, em sistemas biológicos poderia ser uma alternativa atraente para substituir complexos mais volumosos de lipofilia semelhante, como a Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺, e talvez reduzir algum impedimento estéricos dos processos de internalização celular das ZnPs, melhorando o acúmulo e biodistribuição. A ZnP tetra-*n*-propilada Zn**TnPr**-2-PyP⁴⁺ não foi sintetizada, porém a estimativa de R_f e foi observado parece estar bem próximo da Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺ (**Tabela 3.5**).

Devido a limitações de tempo, não foi possível fazer caracterizações adicionais, como RMN de ^1H , infravermelho, análise elementar, entre outros, para se confirmar a formulação da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

3.4.3 Estudos de estabilidade dos fotossensibilizadores ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ frente à solvólise

Em geral, as ZnP_s são estáveis no estado sólido, porém o conhecimento da estabilidade química em solução dos complexos de interesse farmacológico, sob várias condições. Isso é relevante para orientar os protocolos de armazenamento e manuseio, estratégias de formulação e vias de administração *in vivo* (ALCÂNTARA *et al.*, 2013). Estudos de estabilidade acelerada avaliam a degradação de drogas sob condições extremas, para aproximar seu comportamento às condições reais (BRASIL, 2019).

A inserção do Zn(II) nas porfirinas é explorada na química sintética como uma forma eficiente de aumentar a estabilidade química e térmica de derivados de porfirinas (HAMBRIGHT, 2000). Entretanto, uma reação bastante comum que pode comprometer a estabilidade das ZnP_s em meio aquoso é a desmetalização do Zn(II) por meio de hidrólise. A estabilidade dos fotossensibilizadores promissores para aPDI, ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$, frente à desmetalização em solução foi avaliada espectrofotometricamente usando estudos de solvólise acelerada sob condições ácidas (HCl , HNO_3 e H_3PO_4 a 1 mol L^{-1}) e em fluidos digestivos simulados (SGF e SIF). Os dados obtidos para as solvólises ácidas foram determinados em condições de pseudo-primeira ordem (HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971; CONNORS, 1990). Todos os dados estão compilados na tabela abaixo (**Tabela 3.6**).

A solvólise das ZnP_s catiônicas catalisada por ácido é amplamente afetada pela natureza do ânion (HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971; HAMBRIGHT, 2000). Assim, o HNO_3 , embora de pouco significado biológico, é um ácido amplamente acessível e relevante, do ponto de vista químico/mecanístico, por conter um ânion de capacidade de coordenação limitada. Em HNO_3 (1 mol L^{-1}), as meias-vidas da ZnTM-2-PyP^{4+} (HAMBRIGHT; GORE; BURTON, 1976) e ZnTE-2-PyP^{4+} , que diferem por apenas um grupo CH_2 nas cadeias alquilas laterais são aproximadamente 1 dia e 5 dias (**Tabela 3.6**), respectivamente. O profundo impacto da cadeia lateral alquila na estabilidade da ZnP foi confirmado com a $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$, que não mostrou nenhuma perda detectável de Zn(II) mesmo após uma semana em HNO_3 (1 mol L^{-1}) (DAVILA *et al.*, 1987).

Tabela 3.6 – Tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) para a solvólise de ZnPs em estudos de estabilidade acelerada à temperatura ambiente.

Solvente	Zn-porfirina	Meia-vida ($t_{1/2}$)	Referência
HCl (1 mol L ⁻¹)	Zn TM -2-PyP ⁴⁺	1,4 h	a
		1,9 h	b
	Zn TE -2-PyP ⁴⁺	1,3 h	b
		1,0 h	Este trabalho
	Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺	10,7 h	b
		9,5 h	Este trabalho
HNO ₃ (1 mol L ⁻¹)	Zn TM -2-PyP ⁴⁺	19,2 h	a
	Zn TE -2-PyP ⁴⁺	~5	Este trabalho
	Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺	dias estável	c
H ₃ PO ₄ (1 mol L ⁻¹)	Zn TE -2-PyP ⁴⁺	~ 9 dias	Este trabalho
H ₃ PO ₄ (1 mol L ⁻¹) + NaCl (1 mol L ⁻¹)	Zn TE -2-PyP ⁴⁺	<< 1 dia ^d	Este trabalho
Fluido gástrico simulado ^e	Zn TE -2-PyP ⁴⁺	estável	Este trabalho
	Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺	estável	Este trabalho
Fluido intestinal simulado ^e	Zn TE -2-PyP ⁴⁺	estável	Este trabalho
	Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺	estável	Este trabalho

^a HAMBRIGHT; GORE; BURTON, 1976, ^b HAMBRIGHT, BATINIĆ-HABERLE, SPASOJEVIĆ, 2003, ^c DAVILA *et al.*, 1987, ^d O espectro de UV-vis no tempo de reação de 24 h revelou características espectrais de porfirina base-livre (H₂TE-2-PyP⁴⁺), indicando que a desmetalização de ZnP já estava essencialmente completa em 1 dia, ^e MINEKUS *et al.*, 2014.

Com base na relevância dos ânions Cl⁻ e PO₄³⁻ em meios biológicos, foram realizados ensaios usando HCl (1 mol L⁻¹) ou H₃PO₄ (1 mol L⁻¹). Estudos de solvólise

com ácido fosfórico não parecem ter sido reportados na literatura ainda. Com HCl (1 mol L⁻¹), que é um ácido com um ânion coordenante, as meias-vidas da ZnTE-2-PyP⁴⁺ e da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ caíram consideravelmente para aprox. 1 e 10 h (Tabela 3.6), respectivamente, em concordância com dados da literatura (HAMBRIGHT; BATINIĆ-HABERLE; SPASOJEVIĆ, 2003). Por outro lado, a estabilidade da ZnP foi bastante alta em H₃PO₄ (1 mol L⁻¹); por exemplo, a meia-vida da ZnTE-2-PyP⁴⁺ foi de aproximadamente 9 dias (Tabela 3.6). Digno de nota, a adição de NaCl (1 mol L⁻¹) no sistema H₃PO₄ (1 mol L⁻¹) levou à uma desmetalização completa de ZnTE-2-PyP⁴⁺ em 24 h, o que está de acordo com os dados em HCl e revela o papel negativo que o cloreto tem na estabilidade desses sistemas de ZnP sob condições aceleradas de degradação em pH extremamente baixo. Os Cl⁻ são bons ânions de coordenação, ocupando as posições de coordenação liberadas pelos dois átomos de nitrogênio protonados da porfirina durante a solvólise, reduzindo ainda mais a separação de carga necessária para a dissociação do Zn(II) (HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971). Considerando que o mecanismo de hidrólise e cinética de ZnP estão bem estabelecidos (SHAH; HAMBRIGHT, 1970; HAMBRIGHT; SHEARS; SHAD, 1971; HAMBRIGHT, 2000), a desmetalização de ambas ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ em solução em curtos períodos de tempo deve ser desprezível em pH próximo da neutralidade.

Os fotossensibilizadores de PDT em geral têm sido usados tanto topicamente quanto sistemicamente, *via* injeção ou *via* oral. A aplicação de formulação tópica ou injeções locais em protocolos aPDI de Leishmaniose Cutânea (em oposição à terapia sistêmica) é altamente desejável e está em conformidade com o tratamento. Considerando isso, a avaliação da estabilidade de ZnPs foi estendida para condições que são relevantes para uma *via* de administração oral sistêmica. Dois fluidos digestivos simulados padronizados foram preparados com composição rica em eletrólitos (K⁺, Na⁺, Cl⁻, H₂PO₄⁻, HCO₃⁻, CO₃²⁻, Mg²⁺, NH₄⁺, Ca²⁺) e pH controlado (MINEKUS *et al.*, 2014). Em ambos, o fluido gástrico simulado (SGF, pH 2,6) e o fluido intestinal simulado (SIF, pH 7,0), nenhuma indicação de perda de Zn(II) foi observada para a ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺. Isso sugere que a administração oral de qualquer uma dessas ZnPs pode ser considerada onde a administração sistêmica é prescrita ou aceitável, como uma via de administração alternativa/complementar, por exemplo, para tratamentos de lesões profundas (ALLISON *et al.*, 2004).

No geral, os dados obtidos sugerem que a ZnTE-2-PyP⁴⁺ e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ são estáveis em solução, a depender do controle do pH e da concentração de alguns íons,

como o Cl^- . Sendo assim, por curtos períodos (horas a dias), a preparação de soluções estoque e diluições em água destilada não deve apresentar problemas quanto à hidrólise da ZnP. Por períodos mais longos (semanas a meses), sugere-se o uso de estoques em tampões de fosfato em pH próximo do neutro. O uso de tampão fosfato salino (em inglês *Phosphate-Buffered Saline*, PBS) para estocar as ZnPs não é recomendado, para prevenir a hidrólise catalisada por Cl^- , que pode se tornar relevante em períodos mais longos (escala de tempo de mês). Para armazenamento das ZnPs por períodos bem mais longos (de meses a anos), sugere-se manter a ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ no estado sólido.

3.4.4 Estudos exploratórios de aPDI de *Leshmania* usando ZnTE-2-PyP^{4+} e $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ como fotossensibilizadores

A ZnTE-2-PyP^{4+} e a $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ sintetizadas neste trabalho foram utilizadas em dois estudos de aPDI em *Leshmania* conduzidos pelo grupo da Prof. Dra. Adriana Fontes (UFPE), em parceria com as Profas. Dra. Beate S. Santos (UFPE), Dra. Regina C.B.Q. Figueiredo (IAM-Fiocruz/PE) e Dra. Martha S. Ribeiro (IPEN-CNEN/SP), e publicados em coautoria no decorrer desta Tese (ANDRADE *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2021). Nesta Seção será apresentado apenas um pequeno recorte dos dados de aPDI de *L. amazonensis* e *L. braziliensis* destes dois estudos, para demonstrar o impacto do desenho estrutural de Zn(II)-porfirinas mais lipofílicas como fotossensibilizadores para o desenvolvimento de uma possível terapia alternativa para leishmaniose. Os estudos de aPDI com a ZnTE-2-PyP^{4+} foram realizados pela Dra. Camila G. Andrade como parte de sua Tese de Doutorado (ANDRADE, 2018), enquanto os estudos com a $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ foram realizados por Tiago H. S. Souza como parte de sua Dissertação de Mestrado (SOUZA, 2020).

Os dados do estudo sobre a ação da ZnTE-2-PyP^{4+} contra a infecção de *Leshmania braziliensis* demonstraram que a ZnTE-2-PyP^{4+} ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$ + luz) (**Fig. 3.13**) tem eficácia em reduzir a viabilidade da forma promastigota extracelular do *L. braziliensis* em 90% em apenas 5 min de irradiação de lâmpada LED.

As análises por microscopia eletrônica de varredura indicaram lise da membrana plasmática da forma promastigota do parasita. A forma amastigota (intracelular) teve a viabilidade reduzida em 40%, o que evidencia a dificuldade maior de irradiação do LED e internalização da ZnP em relação à forma promastigota. As células de mamífero foram

pouco sensíveis ao efeito fotodinâmico da ZnTE-2-PyP⁴⁺, sendo um resultado favorável, pois é mais seletivo ao protozoário (ANDRADE *et al.*, 2018).

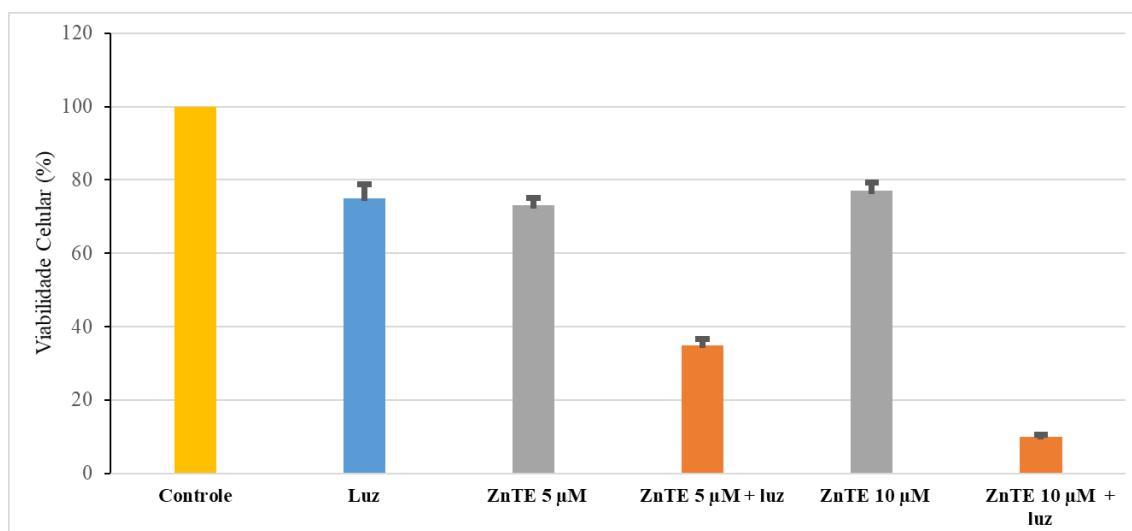


Figura 3.13 - Viabilidade das formas promastigotas de *L. brasiliensis* após tratamento com a ZnTE-2-PyP⁴⁺ (barras laranjas) e 5 min de irradiação de luz (90 J cm⁻²). Grupos estatisticamente significantes ($p < 0,05$) quando comparados ao controle (barra amarela), ao tratamento com luz (barra azul) e à ZnP no escuro na concentração correspondente (barras cinzas); ZnTE = ZnTE-2-PyP⁴⁺ (Adaptado de ANDRADE *et al.*, 2018).

O análogo mais anfifílico ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foi avaliado na aPDI de *L. amazonensis* e *L. Brasiliensis*. O efeito fotodinâmico da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (0,62 e 1,25 µmol L⁻¹ + luz) foi bastante significativo, sendo as formas promastigotas de ambas das *Leshmanias* eliminadas pelo tratamento. Os resultados para a *L. amazonensis* estão apresentados na **Figura 3.14**. Sabendo-se que a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ acumula mais na mitocôndria do que a ZnTE-2-PyP⁴⁺ (EZZEDINE *et al.*, 2013), a disfunção desta organela resulta em uma redução parcial, ou inibição completa, da produção de trifosfato de adenosina (ATP) (SOUZA *et al.*, 2021).

A ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ reduziu o número de formas amastigotas/macrófago em torno de 54% (0,62 µmol L⁻¹ de ZnP) e em torno de 64% (1,25 µmol L⁻¹ de ZnP) (SOUZA *et al.*, 2021). Tal como ocorreu nos estudos com a ZnTE-2-PyP⁴⁺, os macrófagos foram bem menos afetados pela ZnTnHex-2-PyP⁴⁺, sugerindo que a internalização do FS parece ocorrer preferencialmente no protozoários ou que os macrófagos possuem mecanismos mais eficientes de proteção celular frente às espécies reativas fotogeradas.

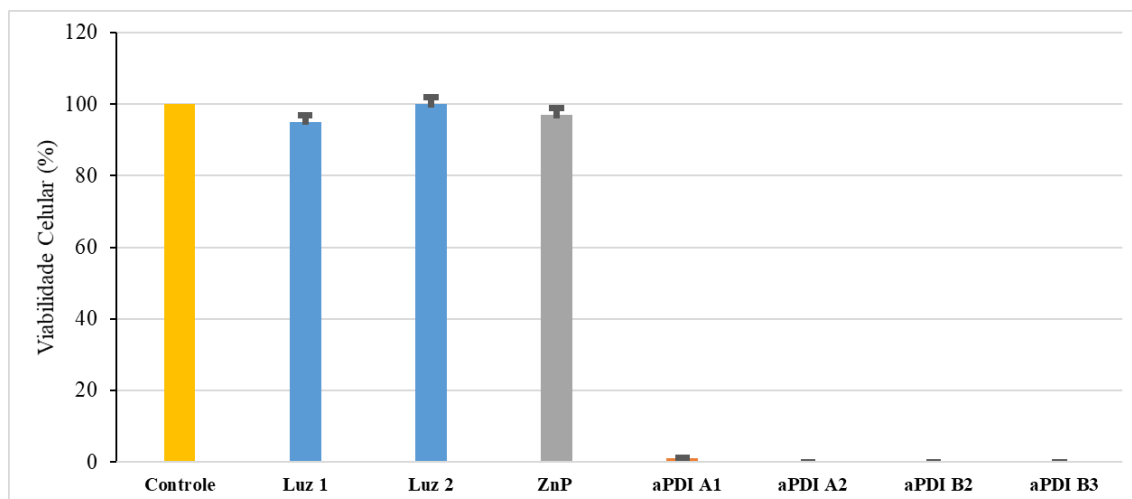


Figura 3.14 - Viabilidade das formas promastigotas de *L. amazonensis* após tratamento com a Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺. Controle - células não tratadas; Luz 1 – Irradiação de 38,2 mW cm⁻² por 1 min (2,3 J cm⁻²); Luz 2 – irradiação de 19,1 mW cm⁻² durante 3 min (3,4 J cm⁻²); ZnP – Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ a 1,25 mmol L⁻¹; PDT A1 - Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ a 0,62 mmol L⁻¹; Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ + Luz 1; PDT A2 - Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ a 0,62 mmol L⁻¹ + Luz 2; PDT B1 - Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ a 1,25 mmol L⁻¹ + Luz 1; PDT B2 - Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ a 1,25 mmol L⁻¹ + Luz 2. Dados apresentados como média ± erro padrão. Grupos estatisticamente significativos (p <0,0001) quando comparados ao controle. Quatro experimentos independentes foram realizados em duplicata (n = 8); Zn**TnHex** = Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ (Adaptado de SOUZA *et al.*, 2021).

A eficiência da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ em concentrações menores que aquelas observadas para a Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ é consistente com a maior lipofilia e provável acúmulo da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ nas leishmanias.

3.5 Conclusões

A obtenção das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Zn(II) (Zn**Talquil**-2-PyP⁴) via uma rota alternativa, partindo da metalação da H₂T-2-PyP, obtenção do intermediário ZnT-2-PyP e alquilação dos grupos piridila foi descrita nesse capítulo com a síntese da Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ e Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺, obtendo-se rendimentos isolados superiores a 90%. São necessários ajustes nas etapas de síntese e purificação, a fim de evitar desmetalção das porfirinas. A escolha da rota alternativa, em comparação à rota clássica, para obtenção dessas ZnP_s reduz o número de etapas de síntese e purificação.

Os estudos de solvólise acelerada em HCl (1 mol L⁻¹), HNO₃ (1 mol L⁻¹) e H₃PO₄ (1 mol L⁻¹) da Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ e Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ foram realizados e trouxeram

parâmetros importantes para armazenamento de amostras de *N*-alquilpiridínioporfirinas de Zn(II). A teste de estabilidade em fluidos digestivos sugere boa estabilidade do Zn(II) de ambas as ZnP_s nesses fluidos biológicos.

A obtenção de uma nova ZnP catiônica do tipo [A₃B]³⁺ que apresenta três grupos 2-metilpiridínio e um metil-vanilina (Zn**MVanTriM**-2-PyP³⁺) ocorreu através de um método adaptado da literatura, através da complexação com zinco(II) à temperatura ambiente. Análises de CCD-SiO₂ e UV-vis sugeriram que a metalação Zn(II) ocorreu de maneira quantitativa. Análises por CCD-SiO₂ demonstraram que a lipofilia das Znporfirinas de interesse pode estar perto da Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺, um fotossensibilizador de boa atividade *in vivo*.

Ambas as ZnP_s Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ e Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ demonstraram ser bons fotossensibilizadores em aPDI de *Leshmania*. A maior lipofilia da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ fez com que ela apresentasse atividade em concentrações menores do que a Zn**TE**-2-PyP⁴⁺.

4 Considerações Finais e Perspectivas

4.1 Conclusões gerais

Neste trabalho foi desenvolvida uma nova classe de porfirinas do tipo A_3B (A = 2-piridil, B = vanilina ou O -alquilvanilina), de representação geral $H_2VanTri-2-PyP$ ou $H_2RVanTri-2-PyP$ (R = **Me**, **nPr**, **iBu**, **nBu**, **nHex**, **nNon**, **CyE**). Utilizando a $H_2T-2-PyP$ (A_4) como modelo estrutural, chegou-se na $H_2VanTri-2-PyP$, que possui uma diferença estrutural significativa entre os grupos A e B , de modo que a diferenciação cromatográfica foi possível de ser realizada e encontrou-se um protótipo estrutural a ser explorado. A introdução de variadas cadeias alquílicas saturadas no aldeído vanilina trouxe uma diferença significativa entre a lipofilia das porfirinas resultantes $H_2RVanTri-2-PyP$. Todas as porfirinas compartilharam uma metodologia de síntese *via* condensação de pirrol e da mistura de dois aldeídos, 2-piridinacarboxaldeído e vanilina ou O -alquilvanilina. A purificação inicial gerou um precipitado denominado “porfirina bruta”.

As condições de purificação da “porfirina bruta” precisaram ser ajustadas conforme a natureza de cada sistema. Isso ocorreu devido ao fato de, como esperado, as porfirinas apresentarem lipofilias diferentes e, portanto, solubilidades e propriedades cromatográficas diferentes. Em contrapartida, não foi exatamente óbvio que as impurezas majoritárias da “porfirina bruta”, denominadas de polipirrol e “produtos marrons”, fossem se tornando cada vez mais difíceis de serem eliminadas com o aumento da cadeia lateral R , dificultando as purificações não-cromatográficas. A porfirina $H_2VanTri-2-PyP$ demandou menor esforço para purificação. Já entre os derivados da série $H_2RVanTri-2-PyP$, a ordem de dificuldade de eliminação de impurezas foi: R = **Me** < **nPr**, **iBu**, **nBu** < **nHex**, **CyE** < **nNon**. Em geral, as técnicas empregadas como métodos de purificação parcial envolveram extração sólido-líquido e/ou precipitação seletiva de impurezas. As colunas cromatográficas foram as últimas etapas realizadas para o isolamento das porfirinas de interesse $H_2VanTri-2-PyP$ ou $H_2RVanTri-2-PyP$ (R = **Me**, **nPr**, **iBu**, **nBu**, **nHex**, **nNon**, **CyE**) (detalhes experimentais no **Cap. 2**).

A metodologia de síntese e purificação das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$ de representação geral $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ (R = **Me**, **nBu**, **nHex**) foi semelhante à $H_2TM-2-PyP^{4+}$ de referência. Os dados de UV-vis das porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$ são idênticos entre si, o que é condizente com a diferença estrutural limitada às cadeias de hidrocarbonetos saturados localizadas em posições espacial e

eletronicamente distantes do centro porfirínico. Os dados de CCD-SiO₂ obtidos da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂RVanTriM-2-PyP³⁺ (**R** = **Me**, **nBu**, **nHex**) sugeriram que pode haver uma relação direta entre R_f e lipofilia para essa nova classe, tal qual ocorreu com as 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas [A₄]⁴⁺.

A obtenção da porfirina catiônica H₂VanTriM-2-PyP³⁺ na ausência de base, preservando-se o *p*-OH do grupo vanilina, confirmou a diferença de reatividade entre os grupos 2-piridila (A) e vanilina (B) nessas condições. Na presença de base, o grupo *p*-OH da vanilina é mais reativo do que o grupo 2-piridila, principalmente quando envolver introdução de grupos volumosos, devido ao impedimento estérico do macrociclo porfirínico em relação ao grupo 2-piridila. A possibilidade de fazer modificações de modo independente em cada grupo traz uma vantagem estrutural. Isso pode ser explorado para diversos fins, como conjugar (bio)moléculas complexas na vanilina, tais como: proteínas, enzimas, açúcares, ácidos nucleicos, etc.

As porfirinas do tipo [A₃B]³⁺ parecem ser menos reativas frente à metalação com manganês e zinco do que o modelo estrutural H₂TM-2-PyP⁴⁺, nas condições testadas neste trabalho. Isso ocorreu provavelmente pela maior basicidade das porfirinas dessa nova classe. Apesar disso, duas rotas para obtenção dos complexos de Mn(III) puderam ser exploradas:

- A Rota 1 envolveu: (i) obtenção da respectiva porfirina catiônica do tipo [A₃B]³⁺, e (ii) inserção de Mn(III) em: a) meio aquoso para a MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e b) meio etanólico para a MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺.
- A Rota 2 envolveu: (i) metalação da porfirina neutra, formando o intermediário de Mn(III) MnRVanTri-2-PyP⁺ (**R** = **Me**, **nPr**, **nHex**), e (ii) alquilação da MnP MeOTs em a) DMF a 105°C, no caso da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ ou b) DMF a 70°C na presença de K₂CO₃, no caso da MnnHexVanTriM-2-PyP⁴⁺, que evitou a desmetalção da mesma.
- A MnnPrVanTriM-2-PyP⁴⁺ desmetaloou quando se utilizou a rota 2a). A rota 2b) não foi testada, devido a limitações de tempo.

A variação de metodologia nas rotas de obtenção de cada MnP do tipo [MnA₃B]⁴⁺ se deu pela provável diferença de reatividade entre as porfirinas dessa classe. É provável que metodologias semelhantes possam ser úteis para se preparar outras representantes desta nova classe. As MnPs do tipo [MnA₃B]⁴⁺ apresentaram dados de UV-vis bastante semelhantes entre si, assim como ocorreu com as porfirinas precursoras. Os dados eletroquímicos e atividade SOD dos protótipos de MnPs dessa classe, a MnVanTriM-2-

PyP⁴⁺ e Mn**MVan**TriM-2-PyP⁴⁺ O potencial de redução Mn(III)/Mn(II) e a atividade SOD dos protótipos MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ ($E_{1/2}$ 109 mV vs NHE; log k_{cat} 6,24) e Mn**MVan**TriM-2-PyP⁴⁺ ($E_{1/2}$ 115 mV vs NHE; log k_{cat} 6,27) foram inferiores à MnP análoga do tipo [MnA₄]⁵⁺, Mn**TM**-2-PyP⁵⁺ ($E_{1/2}$ = 220 mV vs NHE; log k_{cat} = 7,79), sendo consistentes com o desenho estrutural resultante da substituição de um grupo eletrorretirador 2-*N*-metilpiridínio por um grupo eletrodoador vanilina ou metilvanilina e consequente redução da facilitação eletroestática, associada à redução da carga global dos complexos [MnA₃B]⁴⁺. Os dados de R_f cromatográficos obtidos (lipofilia) da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e Mn**RVan**TriM-2-PyP⁴⁺ (**R**= **Me**, **nPr**, **nHex**) sugerem que essa nova classe é promissora para ensaios *in vivo*. A menor atividade SOD, assim como ocorreu com as 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas de Mn(III), pode ser compensada pela lipofilia e possível melhor biodisponibilidade.

A obtenção da Zn**MVan**TriM-2-PyP³⁺ ocorreu através da complexação com zinco(II) à temperatura ambiente em meio aquoso. Análises por CCD-SiO₂ sugeriram que a lipofilia da Zn**MVan**TriM-2-PyP³⁺ (R_f = 0,30) pode estar perto da Zn**TnBu**-2-PyP⁴⁺ (R_f = 0,38), representante da classe das Zn(II) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas que é um fotossensibilizador de boa atividade *in vivo*.

A síntese da Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ por uma rota alternativa foi revisitada e o escopo da reação foi estendido para incluir a Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺. A rota alternativa possui uma vantagem em relação à rota clássica: apenas um intermediário, a ZnT-2-PyP, o que pode ser explorado para *N*-alquilação *via* reação com outros tosilatos de alquila.

Os estudos de estabilidade da Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ e da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ frente à solvólise em ácido nítrico, clorídrico e fosfórico contribuíram para estabelecer condições de armazenamento e manuseio desses compostos em solução para estudos biológicos. A ordem de estabilidade foi Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ > Zn**TE**-2-PyP⁴⁺, em todos os ácidos, refletindo o impacto do efeito estérico da cadeia *N*-alquila sobre a reação de desmetalção. A estabilidade das ZnPs foi sensível à natureza dos contra-íons do ácido, aumentando na ordem: fosfatos >> nitrato > cloreto. O preparo de soluções estoque com pH neutro em tampão fosfato na ausência de Cl⁻ contribui para a estabilidade das ZnPs. Ambas as ZnPs se mostraram estáveis frente à solvólise em fluidos digestivos simulados, sugerindo estabilidade em condições reais.

Ambas as ZnPs Zn**TE**-2-PyP⁴⁺ e Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ demonstraram ser bons fotossensibilizadores em aPDI dos parasitas do gênero *Leshmania*. Adicionalmente, as células de mamíferos testadas, incluindo macrófagos, foram bem menos afetadas do que

as Leshmanias. Isso é um adicional positivo para possível uso dessas ZnPs em tratamento clínico de Leshmaniose cutânea *via* aPDI futuramente. A maior lipofilia da Zn**TnHex**-2-PyP⁴⁺ fez com que ela apresentasse atividade em concentrações menores do que a Zn**TE**-2-PyP⁴⁺.

4.2 Perspectivas

As perspectivas para continuação dos trabalhos envolvendo porfirinas de Mn(III) como agentes terapêuticos redox ativos incluem:

- Caracterizar as porfirinas do tipo A₃B e seus derivados catiônicos [A₃B]³⁺, [MnA₃B]⁴⁺ por Análise Termogravimétrica, ESI-MS e Análise Elementar;
- Determinar e correlacionar do potencial de redução Mn^{III}/Mn^{II} das MnPs do tipo [MnA₃B]⁴⁺, atividade SOD (log k_{cat}) e lipofilia dos compostos (ligantes e complexos).
- Investigar a eficiência *in vivo* dessa nova classe de MnPs que possuem hidrocarbonetos lineares, ramificados ou cíclicos em suas estruturas para controle de lipofilia em modelos biológicos de estresse oxidativo, tais como linhagens selvagens e SOD-deficientes de *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*.
- Comparar os resultados obtidos com os da literatura dos complexos de Mn(III) do tipo [MnA₄]⁵⁺, Mn**Talquil**-2-PyP⁵⁺.
- Investigar uma nova rota de obtenção as porfirinas do tipo A₃B (A= 2-piridil, B= O-alquilvanilina) de representação H₂R**VanTri**-2-PyP (R= *n*Pr, *i*Bu, *n*Bu, *n*Hex, *n*Non, CyE) *via* O-alquilação do grupo vanilina da H₂**VanTri**-2-PyP (Fig. 4.1):

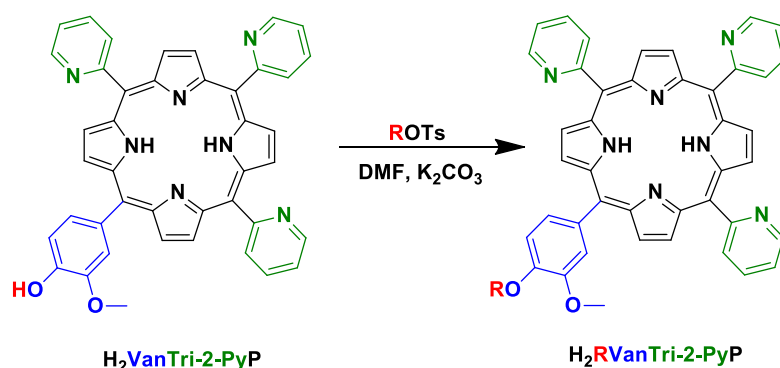


Figura 4.1 – Esquema da O-alquilação do grupo vanilina da H₂**VanTri**-2-PyP para obtenção dos derivados H₂R**VanTri**-2-PyP (R= *n*Pr, *i*Bu, *n*Bu, *n*Hex, *n*Non, CyE).

A continuação dos estudos da Zn(II) porfirina Zn**MV****anTriM**-2-PyP³⁺ do tipo [ZnA₃B]³⁺ inclui:

- Caracterização por RMN de ^1H , espectrometria de massas (ESI-MS), análise elementar (CHN) e Espectroscopia de Fluorescência.
- Avaliar a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ como fotossensibilizador para inibição fotodinâmica antimicrobiana de microrganismos como, por exemplo, representantes do gênero *Leishmania*.
- Realizar estudos de solvólise da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$. As condições testadas poderão envolver HCl (1 mol L^{-1}), HNO_3 (1 mol L^{-1}) e H_3PO_4 (1 mol L^{-1}). Adicionalmente, é de interesse a investigação da estabilidade (ao longo de semanas/meses/ano) de soluções desta ZnP do tipo $[\text{ZnA}_3\text{B}]^{3+}$ e dos sistemas correlatos, $\text{ZnTalquil-2-PyP}^{4+}$ do tipo $[\text{ZnA}_4]^{4+}$, preparadas em H_2O e tampão fosfato em pH próximo do neutro.
- Estender os estudos para outras $[\text{ZnA}_3\text{B}]^{3+}$ ($\text{A} = 2\text{-N-metilpiridínio}$, $\text{B} = O\text{-alquilvanilina}$) com grupos $O\text{-alquilvanilina}$ mais lipofílicos. Comparar com as $\text{Zn(II) 2-N-alquilpirínioporfirinas}$ da literatura.

5 Referências

- ABREU, I. A.; CABELLI, D. **Superoxide dismutases—a review of the metal-associated mechanistic variations**, *Biochim. Biophys. Acta*, 1804(2): 263-274, 2010.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; FINARELLI, M. G. J. **A mechanistic study of the synthesis of meso-tetraphenylporphin**. *Heterocyclic Chem.* 5: 669-678, 1968.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; GOLDMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSKOFF, L. **A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphin**, *J. Org. Chem.*, 32(2): 476, 1967.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; SHERGALIS, W. **Mechanistic investigations of porphyrin syntheses. I. Preliminary studies on ms-tetraphenylporphin**, *J. Am. Chem. Soc.*, 86: 3145, 1964.
- AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, K.; FOSTER, T.; GIROTTI, A.; GOLLNICK, S.; HAHN, S.; HAMBLIN, M.; JUZENIENE, A.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; MROZ, P.; NOWIS, D.; PIETTE, J.; WILSON, B.C.; GOŁĄB, J. **Photodynamic therapy of cancer: an update**, *CA: Cancer J. Clin.*, 61: 250-281, 2011.
- AHMADINEJAD, F.; GEIR MØLLER, S.; HASHEMZADEH-CHALESHTORI, M.; BIDKHORI, G.; JAMI, M. S. **Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress**, *Antioxidants*, 6(3): 51, 2017.
- ALANIS, A. J. **Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?**, *Arch. Med. Res.*, 36(6): 697-705, 2005.
- ALCÂNTARA, F. C.; RESCIA, V. C.; SANTOS, M. A.; VALDUGA, C. J. **Teste de degradação forçada para fármacos e medicamentos**, *Rev. Pesq. Inov. Farm.*, 5: 38-48, 2013.
- ALENEZI, K.; TOVMASYAN, A.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVI, L. **Optimizing Zn porphyrin-based photosensitizers for efficient antibacterial photodynamic therapy**, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 17: 154-159, 2017.
- ALLISON, R. R.; DOWNIE, G. H.; CUENCA, R.; HU, X. H.; CHILDS, C. J. SIBATA, C. H. **Photosensitizers in clinical PDT**, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 1(1): 27-42, 2004.
- ALMEIDA, J.; TOMÉ, J. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; CUNHA, A.; COSTA, L.; FAUSTINO, M. A. F.; ALMEIDA, A. **Photodynamic inactivation of multidrug-resistant bacteria in hospital wastewaters: influence of residual antibiotics**, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 13: 626-633, 2014.
- AL-MUTAIRI, R.; TOVMASYAN, A.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVI, L. **Sublethal photodynamic treatment does not lead to development of resistance**, *Front. Microbiol.*, 9: 1699, 2018.
- ALVARADO, D. R.; ARGYROPOULOS, D. S.; SCHOLLE, F.; PEDDINTI, B. S. T.; GHILADI, R. A. **A facile strategy for photoactive nanocellulose-based antimicrobial materials**, *Green Chem.*, 21: 3424-3435, 2019.

- ALVES, E.; ESTEVES, A. C.; CORREIA, A.; CUNHA, Â.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; ALMEIDA, A. **Protein profiles of *Escherichia coli* and *Staphylococcus warneri* are altered by photosensitization with cationic porphyrins**, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 14: 1169-1178, 2015.
- AMOS-TAUTUA, B.; SONGCA, S.; OLUWAFEMI, O. **Application of Porphyrins in Antibacterial Photodynamic Therapy**, *Molecules*, 24: 2456, 2019.
- ANDRADE, C. G.; FIGUEIREDO, R.; RIBEIRO, K.; SOUZA, L.; SARMENTO-NETO, J. F.; REBOUÇAS, J. S.; SANTOS, B. S.; RIBEIRO, M.; CARVALHO, L.; FONTES, A. **Photodynamic effect of zinc porphyrin on the promastigote and amastigote forms of *Leishmania braziliensis***, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 17: 482-490, 2018.
- ARNAUT, L. G. **Design of porphyrin-based photosensitizers for photodynamic therapy**. Em: Van ELDIK, R.; STOCHEL, G., (Eds.); *Advances in Inorganic Chemistry*, Academic Press, 63, 187-233, 2011
- ARONOFF, S.; CALVIN, M. **The porphyrin-like products of the reaction of pyrrole with benzaldehyde**, *J. Org. Chem.*, 8: 205-223, 1943.
- AWAD, M. M.; TOVMASYAN, A.; CRAIK, J. D.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVA, L. **Important cellular targets for antimicrobial photodynamic therapy**, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100: 7679-7688, 2016.
- BANVILLE, D. L.; MARZILLI, L. G.; WILSON, W. D. **Comparison of the effects of cationic porphyrins on DNA properties: influence of GC content of native and synthetic polymers**, *Biopolymers, Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 113: 148-154, 1983.
- BANVILLE, D. L.; MARZILLI, L. G.; WILSON, W. D. **Comparison of the effects of cationic porphyrins on DNA properties: influence of GC content of native and synthetic polymers**, *Biopolymers*, 25: 1837-1858, 1986.
- BAPTISTA, M. S.; CADET, J.; GREER, A.; THOMAS, A. H. **Photosensitization reactions of biomolecules: definition, targets and mechanisms**, *Photochem. Photobiol.*, 2021.
- BARBOSA, A. M.; SARMENTO-NETO, J. F.; MENEZES FILHO, J. E. R.; JESUS, I. C. G.; SOUZA, D. S.; VASCONCELOS, V. M. N.; GOMES, F. D. L.; LARA, A.; ARAÚJO, J. S. S.; MATTOS, S. S.; VASCONCELOS, C. M. L.; GUATIMOSIM, S.; CRUZ, J. S.; BATINIĆ-HABERLE, I.; ARAÚJO, D. A. M.; REBOUÇAS, J. S.; GOMES, E. R. **Redox-active drug, MnTE-2-PyP5⁺, prevents and treats cardiac arrhythmias preserving heart contractile function**, *Oxid. Med. Cell. Long.*, 2020: 4850697, 2020.
- BARNES, J. W.; DOROUGH, G. D. **Exchange and replacement reactions of α , β , γ , δ -tetraphenyl-metalloporphins**, *J. Am. Chem. Soc.*, 72: 4045-4050, 1950.
- BARNETT, G. H.; HUDSON, M. F.; SMITH, K. M. **Concerning meso-tetraphenylporphyrin purification**, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 14: 1401-1403, 1975.
- BARR, H. **Barrett's esophagus: treatment with 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy**, *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.*, 10: 421-437, 2000.

- BARROS, V. P.; ASSIS, M. D. **Iron porphyrins as biomimetical models for disperse azo dye oxidation**, *J. Braz. Chem. Soc.*, 24: 830-836, 2013.
- BARTH, J.; WERMUTH, C. G. **Synthèse commode d'alcoxy-phénylalanine apparentée à la DOPA**, 956-957, 1976.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; TOVMASYAN, A.; HUANG, Z.; DUAN, W.; DU, L.; SIAMAKPOUR-REIHANI, S.; CAO, Z.; SHENG, H.; SPASOJEVIĆ, I.; SECORD, A. A. **H₂O₂-driven anticancer activity of Mn porphyrins and the underlying molecular pathways**, *Oxid. Med. Cel. Longev.*, 2021: 6653790, 2021.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVIĆ, L.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. **The ortho effect makes manganese (III) meso-tetrakis-(N-methylpyridinium-2-yl)porphyrin a powerful and potentially useful superoxide dismutase mimic**, *J. Biol. Chem.*, 273: 24521-24528, 1998.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; LIOCHEV, S. I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. **A potent superoxide dismutase mimic: manganese β -octabromo-meso-tetrakis-(N-methylpyridinium-4-yl)porphyrin**, *Arch. Biochem. Biophys.*, 343: 225, 1997.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; NDENGELE, M. M.; CUZZOCREA, S.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; SALVEMINI, D. **Lipophilicity is a critical parameter that dominates the efficacy of metalloporphyrins in blocking the development of morphine antinociceptive tolerance through peroxynitrite-mediated pathways**, *Free Radic. Biol Med.*, 46, 212-219, 2009a.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; RAJIĆ, Z.; TOVMASYAN, A.; REBOUÇAS, J. S.; YE, X.; LEONG, K. W.; DEWHIRST, M. W.; VUJASKOVIC, Z.; BENOVIĆ, L.; SPASOJEVIĆ, I. **Diverse functions of cationic Mn(III) N-substituted pyridylporphyrins, recognized as SOD mimics**, *Free Radic. Biol. Med.*, 51: 1035-1053, 2011a.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS J. S.; SPASOJEVIĆ, I. **Superoxide Dismutase Mimics: Chemistry, Pharmacology and Therapeutic Potential**, *Antioxid. Redox Signal.*, 13: 877-918, 2010.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S.; BENOVIĆ, L.; SPASOJEVIĆ, I. **Chemistry, biology and medical effects of water soluble metalloporphyrins**. Em: KADISH, K.M.; SMITH, K. M.; GUILLARD, R., (Eds.); *Handbook of Porphyrin Science*. Singapore: World Scientific, 52, 291-393, 2011b.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I. **Preface**. Em: BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I. (Eds.); *Redox-Active Therapeutics*. Zug (Suiça): Springer International Publishing, iv-xiii, 2016.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; STEVENS, R. D.; BONDURANT, B.; OKADO-MATSUMOTO, A.; FRIDOVICH, I.; VUJASKOVIC, Z.; DEWHIRST, M. W. **New PEG-ylated Mn (III) porphyrins approaching catalytic activity of SOD enzyme**, *Dalton Trans.*, 4:617-624, 2006.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; STEVENS, R. D.; HAMBRIGHT, P.; FRIDOVICH, I. **Manganese (III) meso-tetrakis(ortho-N-alkylpyridyl)porphyrins. Synthesis, characterization, and catalysis of O₂⁻ dismutation**, *Dalton Trans.*, 13: 2689-2696, 2002.

- BATINIĆ-HABERLE, I.; TOME, M. E. **Thiol regulation by Mn porphyrins, commonly known as SOD mimics**, *Redox Biology*, 25: 101139, 2019.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; TOVMASYAN, A.; ROBERTS, E. R.; VUJASKOVIĆ, Z.; LEONG, K. W.; SPASOJEVIĆ, I. **SOD therapeutics: latest insights into their structure–activity relationships and impact on the cellular redox-based signaling pathways**, *Antioxid. Redox. Signal.*, 20: 2372-2415, 2014.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; TOVMASYAN, A.; SPASOJEVIĆ, I. **Mn porphyrin-based redox-active drugs – Differential effects as cancer therapeutics and protectors of normal tissue against oxidative injury**, *Antioxid. Redox. Signal*, 29(16): 1691-1724, 2018.
- BATINIĆ-HARBELE, I.; CUZZOCREA, S.; REBOUÇAS, J. S.; FERRER-SUETA, G.; MAZZON, E.; DIPAOLO, R.; RADI, R.; SPASOJEVIĆ, I.; BENOVA, L.; SALVEMINI, D. **Pure MnTBAP selectively scavenges peroxynitrite over superoxide: Comparison of pure and commercial MnTBAP samples to MnTE-2-PyP in two models of oxidative stress injury, an SOD-specific Escherichia coli model and carrageenan-induced pleurisy**, *Free Rad. Bio. Med.*, 46, 192-201, 2009b.
- BATINIĆ-HARBELE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; HAMBRIGHT, P.; BENOVA, L.; CRUMBLISS, A. L.; FRIDOVICH, I. **The relationship between redox potentials, proton dissociation constants of pyrrolic nitrogen and *in vivo* and *in vitro* superoxide dismutase activities of manganese(III) and iron(III) cationic and anionic porphyrins**, *Inorg. Chem.*, 38: 4011-4022, 1999.
- BAYONA, A. M. P.; MROZ, P.; THUNSHELLE, C.; HAMBLIN, M. R. **Design features for optimization of tetrapyrrole macrocycles as antimicrobial and anticancer photosensitizers**, *Chem. Biol. Drug Des.*, 89: 192-206, 2016.
- BENOVA, L. **Photodynamic therapy: current status and future directions**, *Med. Princ. Pract.*, 24: 14-28, 2015.
- BENOVA, L.; BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. **Isomeric N-alkylpyridylporphyrins and their Zn(II) complexes: inactive as SOD mimics but powerful photosensitizers**, *Arch. Biochem. Biophys.* 402: 159-165, 2002.
- BENOVA, L.; CRAIK, J. D.; BATINIĆ-HABERLE, I. **The potential of Zn(II) N-alkylpyridylporphyrins for anticancer therapy**, *Anti Cancer Agents Med. Chem.*, 11: 233-241, 2011.
- BIEL, M. A. **Photodynamic therapy and the treatment of head and neck neoplasia**, *Laryngoscope*, 108: 1259-1268, 1998.
- BIELSKI, B. H. **Fast kinetic studies of dioxygen-derived species and their metal complexes**, *Philos. Trans. R. Soc. B*, 311: 473-482, 1985.
- BLAIR, J. M.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU D. O.; PIDDOCK L. J. **Molecular mechanisms of antibiotic resistance**, *Nat. Rev. Microbiol.*, 13: 42-51, 2015.
- BODER, E. **Ataxia–telangiectasia: an overview**. Em: GATTI, R. A.; SWIFT, M. (Eds). *Ataxia-telangiectasia: Genetics, Neuropathology, and Immunology of a Degenerative Disease of Childhood*, New York: Alan R. Liss, 1-63, 1985.

- BOEHNCKE, W. H.; ELSHORST-SCHMIDT, T.; KAUFMANN, R. **Systemic photodynamic therapy is a safe and effective treatment for psoriasis**, *Arch. Dermatol.*, 136: 271-272, 2000.
- BOUCHER, L. I. **Manganese porphyrin complexes**, *Coord. Chem. Rev.*, 7(3), 289-239, 1972.
- BOYLE, R. W.; DOLPHIN, D. **Structure and biodistribution relationships of photodynamic sensitizers**, *Photochem. Photobiol.*, 64: 469-485, 1996.
- BRASIL, RESOLUÇÃO - RDC Nº 318, DE 6 DE NOVEMBRO DE 2019, **Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2019, p. 97. Disponível em: <http://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-318-de-6-de-novembro-de-2019-226513805>. Acesso em 23 de agosto de 2021.
- BRENES, M.; GARCÍA, A.; GARCÍA, P.; RIOS, J. J.; ANTONIO, G. **Phenolic compounds in Spanish olive oils**, *J. Agr. Food Chem.*, 47: 3535-3540, 1999.
- BRESSLER, N. M.; BRESSLER, S. B. **Photodynamic therapy with verteporfin (Visudyne): impact on ophthalmology and visual sciences**, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 41:624-628, 2000.
- BRISTOW, C. A.; HUDSON, R.; PAGET, T. A.; BOYLE, R. W. **Potential of cationic porphyrins for photodynamic treatment of cutaneous Leishmaniasis**, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 3:162-167, 2006.
- BROEKGAARDEN, M.; WEIJER, R.; GULIK, T. V. M.; HAMBLIN, M., HEGER, M. **Tumor cell survival pathways activated by photodynamic therapy: a molecular basis for pharmacological inhibition strategies**, *Cancer Metastasis Rev.*, 34: 643-690, 2015.
- BROOKS, B. D.; BROOKS, A. E. **Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance**, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 78: 14-27, 2014.
- BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. **Antibacterial drug discovery in the resistance era**, *Nature*, 529: 336-343, 2016.
- BUCHLER, J. **Static coordination chemistry of metalloporphyrins**. Em: SMITH, K. M. (Ed.); *Porphyrins and Metalloporphyrins*. New York: Elsevier, 157-232, 1975.
- BUENO-JANICE, J. C.; SARMENTO-NETO, J. F.; BARRETO, M. C.; FRAGOSO, W.; MARTÍNEZ, C. R.; REBOUÇAS, J. S. **Estabilidade de uma porfirina do tipo A₃B (A = 2-piridil; B = vanilina acetilada) de interesse para desenhos de mímicos de SOD**, 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindoia, SP: T0399, 2015.
- BURZA, S.; CROFT S. L.; BOELAERT, M. **Leishmaniasis**. *Lancet*, 392(10151): 951-970, 2018. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31204-2.
- BUXTON, G. V. **Radiation chemistry of liquid state**. Em: FARHATAZIZ, M. A. R. (Ed.), *Radiation Chemistry*, New York, VCH Publishers Inc, 321-350, 1987.
- CABRAL, F. V.; PELEGRINO, M. T.; SAUTER, I. P.; SEABRA, A.B.; CORTEZ, M.; RIBEIRO M. S. **Nitric oxide-loaded chitosan nanoparticles as an innovative antileishmanial platform**, *Nitric Oxide*, 93, 25-33, 2019.

- CALVIN, M.; BALL, R. H.; ARONOFF, S. **$\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -Tetraphenylchlorin**, *J. Am. Chem. Soc.*, 65: 2259, 1943.
- CALZAVARA-PINTON, P.; ROSSI, M. T.; SALA, R.; VENTURINI, M. **Photodynamic antifungal chemotherapy**, *Photochem. Photobiol.*, 88: 512-22, 2012.
- CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. **Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization**, *Photodiagnosis Photodynamic Ther.*, 1(4): 279-293, 2004.
- CAUGHEY, W. S.; CORWIN, A. H. **The stability of metalloetioporphyrins toward acids**, *J. Am. Chem. Soc.*, 77: 1509-1513, 1955.
- CHARARA, M.; TOVMASYAN, A.; BATINIĆ-HABERLE, I.; CRAIK, J.; BENOVA, L.; **Post-illumination cellular effects of photodynamic treatment**, *PLoS ONE*, 12 (12): e0188535, 2017.
- CHEN, Q.; ESPEY, M. G.; SUN, A. Y.; POOPUT, C.; KIRK, K. L.; KRISHNA, M. C.; KHOSH, D. B.; DRISKO, J.; LEVINE, M. **Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice**, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105(32): 11105-11109, 2008.
- CIEPLIK, F.; SPÄTH, A.; REGENSBURGER, J.; GOLLMER, A.; TABENSKI, L.; HILLER, K.; BÄUMLER, W.; MAISCH, T.; SCHMALZ, G. **Photodynamic biofilm-inactivation by SAPYR—an exclusive singlet oxygen photosensitizer**, *Free Radic. Biol. Med.*, 65: 477-487, 2013.
- CONNORS, K. A. **Chemical Kinetics: The Study of Reaction Rates in Solution**, VCH Publishers Inc, 34-39, 1990.
- COOK, L. P.; BREWER, G.; WONG-NG, W. **Structural aspects of porphyrins for functional materials applications**, *Crystals*, 7: 223-244, 2017.
- DĄBROWSKI, J. M.; PEREIRA, M. M.; ARNAUT, L. G.; MONTEIRO, C. J.; PEIXOTO, A. F.; KAROCKI, A.; URBANŃSKA, K.; STOCHEL, G. **Synthesis, photophysical studies and anticancer activity of a new halogenated water-soluble porphyrin**, *Photochem. Photobiol.*, 83: 897-903, 2007.
- DATTA-GUPTA, N.; MALAKAR, D.; JONES, V. O.; WRIGHT, T. **A simple method for the determination of pK_3 value of porphyrins**, *Chem. Lett.*, 15: 1659-1662, 1986.
- DAVIES, M. J. **Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen**, *Photochem. Photobiol. Sci.* 3: 17-25, 2004.
- DAVILA, J.; HARRIMAN, A.; RICHOUX, M.-C.; MILGROM, L. R. **Sterically-hindered zinc porphyrins for solar-energy conversion**, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 7: 525-527, 1987.
- DAVIS, D. G.; MONTALVO Jr., J. G. **Electrochemistry of the manganese(III)-(II) hematoporphyrin IX Couple**, *Analyt. Chem.*, 41: 1195-1202, 1969.
- DE SIMONE, B. C.; MAZZONE, G.; RUSSO, N.; SICILIA, E.; TOSCANO, M. **Metal atom effect on the photophysical properties of Mg(II), Zn(II), Cd(II), and Pd(II) tetraphenylporphyrin complexes proposed as possible drugs in photodynamic therapy**, *Molecules*, 22, 1093, 2017.

- DEFREITAS-SILVA, G.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; BENOVA, L.; IDEMORI, Y. M.; BATINIĆ-HABERLE, I. **SOD-like activity of Mn(II) beta-octabromo-meso-tetrakis(N-methylpyridinium-3-yl)porphyrin equals that of the enzyme itself**, *Arch. Biochem. Biophys.*, 407: 105-112, 2008.
- DELANEY, T.; SINDELAR, W.; TOCHNER, Z.; SMITH, P.; FRIAUF, W.; THOMAS, G.; DACHOWSKI, L.; COLE, J. W.; STEINBERG, S.; GLATSTEIN, E. **Phase I study of debulking surgery and photodynamic therapy for disseminated intraperitoneal tumors**, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 25(3): 445-457, 1993.
- DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN R. M. **Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation**, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49: 2329-2335, 2005.
- DESSOLIN, J.; SCHULER, M.; QUINART, A.; De GIORGI, F.; GHOSEZ, L.; ICHAS, F. **Selective targeting of synthetic antioxidants to mitochondria; towards a mitochondrial medicine for neurodegenerative diseases**, *Eur. J. Pharmacol.*, 447: 155-161, 2002.
- DISSEMOND, J.; GOOS, M.; WAGNER, S. N. **Die Bedeutung von oxidativem Stress in der Genese und Therapie chronischer Wunden [The role of oxidative stress in the pathogenesis and therapy of chronic wounds]**, *Der Hautarzt.*, 53(11): 718-723, 2002.
- DOGUTAN, D. K.; PTASZEK, M.; LINDSEY, J. S. **Rational or statistical routes from 1-acyldipyrromethanes to meso-substituted porphyrins. Distinct Patterns, multiple pyridyl substituents, and amphipathic architectures**, *J. Org. Chem.*, 73(16): 6187-6201, 2008.
- DOLMANS, D.; FUKUMURA, D.; JAIN, R. **Photodynamic therapy for cancer**, *Nat. Rev. Cancer*, 3: 380-387, 2003.
- DOLPHIN, D; MULJIANI, Z.; CHENG J.; MEYER, R. B. **Low temperature chiral nematic liquid crystals derived from β -methylbutylaniline**, *J. Chem. Phys.* 58: 413-419, 1973.
- ELBERLY, R. M.; CABELLI, D. E.; GRADEN, J. A.; VALENTINE, J. S. **Copper–zinc superoxide dismutase: Why not pH-dependent?**, *J Am. Chem. Soc.*, 118: 6556-6561, 1996.
- ELEMANS, J. A. A. W.; VAN HAMEREN, R.; NOLTE, R. J. M.; ROWAN, A. E. **Molecular materials by self-assembly of porphyrins, phthalocyanines, and perylenes**, *Adv. Mater.*, 18: 1251-1266, 2006.
- ENGELMANN, F. M.; LOSCO, P.; WINNISCHOFER, H.; ARAKI, K.; TOMA, H. E. **Synthesis, electrochemistry, spectroscopy and photophysical properties of a series of meso-phenylpyridylporphyrins with one to four pyridyl rings coordinated to [Ru(bipy)2Cl]⁺ groups**, *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 6: 33-42, 2002.
- ENGELMANN, F. M.; MAYER, I.; GABRIELLI, D. S.; TOMA, H. E.; KOWALTOWSKI, A. J.; ARAKI, K.; BAPTISTA, M. S. **Interaction of cationic meso-porphyrins with liposomes, mitochondria and erythrocytes**, *J. Bioenerg. Biomembr.*, 39: 175-185, 2007.
- ESPITIA-ALMEIDA, F.; DÍAZ-URIBE, C.; VALLEJO, W.; GÓMEZ-CAMARGO, D.; ROMERO BOHÓRQUEZ, A. R. **In vitro anti-Leishmanial effect of metallic meso-**

substituted porphyrin derivatives against *Leishmania braziliensis* and *Leishmania panamensis* promastigotes properties, *Molecules*, 25(8): 1887, 2020.

ESPITIA-ALMEIDA, F.; DÍAZ-URIBE, C.; VALLEJO, W.; PEÑA, O.; GÓMEZ-CAMARGO, D.; BOHÓRQUEZ, A. R. R.; ZARATE, X.; SCHOTT, E. **Photodynamic effect of 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-carboxyphenyl) porphyrin and (Zn²⁺ and Sn⁴⁺) derivatives against *Leishmania* spp in the promastigote stage: experimental and DFT study**, *Chem. Pap.*, 75: 4817-4829, 2021.

EZZEDDINE, R.; AL-BANAW, A.; TOVMASYAN, A.; CRAIK, J. D.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVI, L. **Effect of molecular characteristics on cellular uptake, subcellular localization, and phototoxicity of Zn(2) N-Alkylpyridylporphyrins**, *J. Biol. Chem.*, 288: 36579-36588, 2013.

FALCÃO, N. K. S. M. **Catálise biomimética à base de Mn(III) porfirinas: hidroxilação de alceno por sistemas suportados em sílica e estudos exploratórios da oxidação do contaminante emergente triclosan**. 146f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa (PB), 2016.

FALK, J. E. **Phorphyrins and Metalloporphyrins**, Amsterdam: Elsevier, 1964.

FAULKNER, K. M.; LIOCHEV, S. I.; FRIDOVICH, I. **Stable Mn(III) porphyrins mimic superoxide dismutase *in vitro* and substitute for it *in vivo***, *J. Biol. Chem.*, 269: 23471-23476, 1994.

FERRER-SUETA, G.; BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I.; RADI, R. **Catalytic scavenging of peroxynitrite by isomeric Mn(III) N-methylpyridylporphyrins in the presence of reductants**, *Chem. Res. Toxicol.*, 12: 442-449, 1999.

FERRER-SUETA, G.; VITTURI D.; BATINIĆ-HABERLE, I.; FRIDOVICH, I.; GOLDSTEIN, S.; CZAPSKI, G.; RADI, R. **Reactions of manganese porphyrins with peroxynitrite and carbonate radical anion**, *J. Biol. Chem.*, 278: 27432-27438, 2003.

FIEL, R. J.; MUNSON, B. R. **Binding of meso-tetra(4-N-methylpyridyl) porphine to DNA**, *Nucleic Acid Res.* 11, 2835-2842, 1980.

FLEISCHER, E. B.; CHOI, E.; HAMBRIGHT, P.; STONE, A. **Porphyrin studies: kinetics of metalloporphyrin formation**, *Inorg. Chem.*, 3: 1284-1287, 1964.

FOOTE, C. S. **Definition of type I and type II photosensitized oxidation**, *Photochem. Photobiol.*, 54: 659, 1991.

FORD, K.; FOX, K. R.; NEIDLE, S.; WARING, M. J. **DNA sequence preferences for an intercalating porphyrin compound revealed by footprinting**, *Nucleic Acids Res.*, 15, 2221-2234, 1987.

FRIDOVICH, I. **Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase**, *J. Biol. Chem.*, 245: 4053-4057, 1970.

FRIDOVICH, I. **Superoxide radical and superoxide dismutases**, *Annu Rev Biochem.*, 64: 97-112, 1995.

FUHRHOP, J. H.; MAUZERALL, D. **One-electron oxidation of metalloporphyrins**, *J. Am. Chem. Soc.*, 91(15): 4174-4181, 1969.

- FULMER, G. R.; ALEXANDER, J. M.; MILLER, N. H.; SHERDEN, H. E.; GOTTLIEB, A. N.; STOLTZ, B. M.; BERCAW, J. E.; GOLDBERG, K. I. **NMR chemical shifts of trace impurities: common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist**, *Organometallics*, 29(9): 2176-2179, 2010.
- FURUKAWA, K.; OKUNAKA, T.; TSUCHIDA, T.; KAWATE, N.; KONAKA, C.; KATO, H. **A Phase I clinical study of photodynamic therapy of early stage lung carcinoma using ME2906 and a diode laser system**, *Porphyrins*, 7: 199-206, 1998.
- GAD, S. C.; SULLIVAN, D. W.; CRAPO, J. D.; SPAINHOUR, C. B. **A nonclinical safety assessment of MnTE-2-PyP, a manganese porphyrin**, *Int. J. Toxicol.*, 32(4): 274-287, 2013.
- GAD, S. C.; SULLIVAN, D. W.; MUJER, C. V.; SPAINHOUR, C. B.; CRAPO, J. D. **Nonclinical safety and toxicokinetics of MnTE-2-PyP (BMX-010), a topical agent in phase 2 trials for psoriasis and atopic dermatitis**, *Int. J. Toxicol.*, 38(4): 291-302, 2019.
- GAD, S. C.; SULLIVAN, D. W.; SPASOJEVIĆ, I.; MUJER, C. V.; SPAINHOUR, C. B.; CRAPO, J. D. **Nonclinical safety and toxicokinetics of MnTnBuOE-2-PyP5+ (BMX-001)**, *Int. J. Toxicol.*, 35(4): 438-453, 2016.
- GAUTER-FLECKENSTEIN, B.; REBOUÇAS, J. S.; FLECKENSTEIN, K.; TOVMASYAN, A.; OWZAR, K.; JIANG, C.; BATINIĆ-HABERLE, I.; VUJASKOVIC, Z. **Robust rat pulmonary radioprotection by a lipophilic Mn N-alkylpyridylporphyrin, MnTnHex-2-PyP⁵⁺**, *Redox Biol.*, 2: 400-410, 2014.
- GOLDSTEIN, S.; FRIDOVICH, I.; CZAPSKI, G. **Kinetic properties of Cu,Zn-superoxide dismutase as a function of metal content—Order restored**, *Free Radic. Biol. Med.*, 41: 937-941, 2006.
- GONSALVES, A. M. A. R.; VAREJÃO, J. M. T. B.; PEREIRA, M. M. **Some new aspects related to the synthesis of meso-substituted porphyrins**, *J. Heterocycl. Chem.*, 28: 635-640, 1991.
- GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. **NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities**, *J. Org. Chem.*, 62(21): 7512-7515, 1997.
- GOTTWALD, L. K.; ULLMAN, E. F. **Biphenyl-type atropisomerism as a probe for conformational rigidity of $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -tetraarylporphines**, *Tetrahedron*, 10: 3071-3074, 1969.
- GROVES, J. T.; NEMO, T. E. **Aliphatic hydroxylation catalyzed by iron porphyrin complexes**, *J. Am. Chem. Soc.*, 105: 6243-6248, 1983.
- GUAN, Z.; CHAI, X.; YU, S.; HU, H.; JIANG, Y.; MENG, Q.; WU, Q. **Synthesis, molecular docking, and biological evaluation of novel triazole derivatives as antifungal agents**, *Chem. Biol. Drug. Des.*, 76: 496-504, 2010.
- GYULKHANDANYAN, G.; PARONYAN, M.; HOVSEPYAN, A.; GHAZARYAN, R.; TOVMASYAN, A.; GYULKHANDANYAN, A.; GYULKHANDANYAN, A.; AMELYAN, G. **Photodynamic inactivation of Gram (-) and Gram (+) microorganisms by cationic porphyrins and metalloporphyrins**, *Proc. SPIE 7380, Photodynamic Therapy: Back to the Future*, 73803I, 2009.

- HABER, A.; MAHAMMED, A.; FUHRMAN, B.; VOLKOVA, N.; COLEMAN, R.; HAYEK, T.; AVIRAM, M.; GROSS, Z. **Amphiphilic/bipolar metalloporphyrins that catalyze the decomposition of reactive oxygen and nitrogen species, rescue lipoproteins from oxidative damage, and attenuate atherosclerosis**, *Angew. Chem Int.*, 47(41): 7896-7900, 2008.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**, 3 ed.; Oxford University Press: Oxford, New York, 1999.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 4 ed.; Oxford: Clarendon Press, 2007.
- HAMBLIN, M. R. **Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes**, *Curr. Opin. Microbiol.*, 33: 67-73, 2016.
- HAMBLIN, M.; O'DONNELL, D.; MURTHY, N.; CONTAG, C.; HASAN, T. **Rapid control of wound infections by targeted photodynamic therapy monitored by *in vivo* bioluminescence imaging**, *Photochem. Photobiol.*, 75: 51-57, 2002.
- HAMBRIGHT, P. **Equilibrium constants for the metalation of zinc porphyrins**, *Inorg. Chem.*, 16: 11, 1977.
- HAMBRIGHT, P. **The chemistry of water-soluble porphyrins**. Em: KADISH, K.; SMITH, K. M.; GUILARD, R. (Eds.); *The Porphyrin Handbook*. San Diego: Academic Press, 3: 129-208, 2000.
- HAMBRIGHT, P.; ADEYEMO, A.; SHAMIM, A.; LEMELLE, S.; LAVALLEE, D. K.; MILLER, D.; WHITE, A. **[[4,4',4'',4'''-Porphyrin-5,10,15, 20-Tetrayltetrakis(1-Methylpyridiniumato)](2-)]- Indium(III) Pentaperchlorate**. Em: S. KIRSCHNER, S. (Ed.) *Inorganic Syntheses*. John Wiley & Sons, Inc., 23: 55-59, 1985.
- HAMBRIGHT, P.; BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I. **Meso tetrakis ortho-, meta-, and para-N-alkylpyridinioporphyrins: kinetics of copper(II) and zinc(II) incorporation and zinc porphyrin demetalation**, *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 7: 139-146, 2003.
- HAMBRIGHT, P.; CHOCK, P. B. **Metal-porphyrin interactions, III. A dissociative interchange mechanism for metal ion incorporation into porphyrin molecules**, *J. Am. Chem. Soc.*, 96: 3123-3131, 1974.
- HAMBRIGHT, P.; FLEISCHER, E. B. **The acid-base equilibria, kinetics of copper ion incorporation, and acid-catalyzed zinc ion displacement from the water-soluble porphyrin α , β , γ , δ -Tetra(4-N-methylpyridyl)porphine**, *Inorg. Chem.*, 9: 1757-1761, 1970.
- HAMBRIGHT, P.; GORE, T.; BURTON, M. **Synthesis and characterization of new isomeric water-soluble porphyrins. Tetra (2-N-methylpyridyl) porphine and tetra (3-N-methylpyridyl) porphine**, *J. Inorg. Chem.*, 15: 2314-2315, 1976.
- HAMBRIGHT, P.; SHEARS, B.; SHAD, B. **Acid-catalyzed solvolysis reactions of zinc porphyrins having various basicities and zinc N-methylporphyrins**, *J. Am. Chem. Soc.*, 93(3): 776-778, 1971.
- HENDERSON, B. W.; DOUGHERTY, T. J. **How does photodynamic therapy work?** *Photochem. Photobiol.*, 55: 145, 1992.

HOFFMANN, P.; LABAT, G.; ROBERT, A.; MEUNIER, B. **Highly Selective Bromination of Tetramesitylporphyrin: An Easy Access to Robust Metalloporphyrins, M-Br8TMP and M-Br8TMPS. Examples of application in catalytic oxygenation and oxidation reactions.** *Tetrahedron Lett.*, 31, 1991-1994, 1990.

HOFFMANN, P.; ROBERT, A.; MEUNIER, B. **Preparation and catalytic activities of the manganese and iron derivatives of Br8TMP and Cl12TMP, two robust porphyrin ligands obtained by halogenation of tetramesitylporphyrin.** *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1992, 129, 85-97.

HOOKE, J. D.; NGUYEN, V. H.; TAYLOR, V. M.; CEDEÑO, D. L.; LASH, T. D.; JONES, M. A.; ROBLEDO, S. M.; VÉLEZ, I. D. **New application for expanded porphyrins: Sapphyrin and heterosapphyrins as inhibitors of Leishmania parasites,** *Photochem. Photobiol.*, 88: 194-200, 2012.

IAMAMOTO, Y.; SERRA, O. A.; IDEMORI, Y. M. **Iron (III) porphyrins atropisomers as catalysts for cyclohexane hydroxylations. A biomimetic system.** *J. Inorg. Biochem.*, 54: 54-56, 1994.

INAMO, M.; TOMITA, A.; INAGAKI, Y.; ASANO, N.; SUENAGA, K.; TABATA, M. FUNAHASHI, S. **Equilibria, kinetics and mechanism of complexation of 5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrin and its N-methylated derivative with cadmium(II) and zinc(II) ions in aqueous solution at various temperatures and pressures. Effects of metal ion size and porphyrin ring deformation on metal ion incorporation,** *Inorg. Chim. Acta*, 256: 77-85, 1997.

IQBAL, H.; ISHFAQ, M.; WAHAB, A.; ABBAS, M.; AHMAD, I.; REHMAN, A.; ZĀKIR, M. **Therapeutic modalities to combat leishmaniasis, a review,** *Asian Pac. J. Trop. Dis.*, 6: 1-5, 2016.

JAHROMI, E. Z.; SABOURY, A. D. A. A.; KHALEGHIZADEH, S.; MANSOURI-TORSHIZI, H.; KOSTOVA, I. **Palladium complexes: new candidates for anti-cancer drugs,** *J. Iranian Chem. Soc.*, 13: 967-989, 2016.

JARAMILLO, M. C.; BRIEHL, M. M.; BATINIĆ-HABERLE, I.; TOME, M. E. **Manganese (III) meso-tetrakis Nethylpyridinium-2-yl porphyrin acts as a pro-oxidant to inhibit electron transport chain proteins, modulate bioenergetics, and enhance the response to chemotherapy in lymphoma cells.** *Free Radic. Biol. Med.* 83:89-100, 2015.

JARAMILLO, M. C.; BRIEHL, M. M.; CRAPO, J. D.; BATINIĆ-HABERLE, I.; TOME, M. E. **Manganese porphyrin, MnTE-2-PyP5+, Acts as a pro-oxidant to potentiate glucocorticoid-induced apoptosis in lymphoma cells.** *Free Radic. Biol. Med.* 52:1272-1284, 2012.

JENKINS, M. P.; BUONACCORSI, G. A.; RAPHAEL, M.; NYAMEKYE, I.; MCEWAN, J. R.; BOWN S. G.; BISHOP, C. C. **Clinical study of adjuvant photodynamic therapy to reduce restenosis following femoral angioplasty,** *Br. J. Surg.*, 86: 1258-1263, 1999.

JESUS, J. C. B. J. **2-N-alkilpiridilporfirinas de Mn(III) como modelos tiol (per)oxidases e agentes terapêuticos redox ativos em modelo animal de câncer de mama e modelo vegetal de estresse salino.** 160f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa (PB), 2020.

JOHNSTONE, R. A. W.; NUNES, M. L. P. G.; PEREIRA, M. M.; GONSALVES, A. M. D. R.; SERRA, A. C. **Improved Synthesis of 5,10,15,20-Tetrakisaryl- and Tetrakisalkylporphyrin**, *Heterocycles*, 43: 1423, 1996.

KACHADOURIAN, R.; BATINIĆ-HABERLE, I.; FRIDOVICH, I. **Syntheses and Superoxide Dismuting Activities of Partially (1-4) β -Chlorinated Derivatives of Manganese (III) meso-Tetrakis(N-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin**. *Inorg. Chem.*, 38: 391-396, 1999.

KADISH, K. M.; HAN, B. C.; FRANZEN, M. M.; ARAULLO-McADAMS, C. **Syntheses and Spectroscopic Characterization of (T(*p*-Me₂N)F₄PP)H₂ and (T(*p*-Me₂N)F₄PP)M Where T(*p*-Me₂N)F₄PP Is the Dianion of meso-Tetrakis(*o,o,m,m*-tetrafluoro-*p*-(dimethylamino)phenyl)-porphyrin and M = Co(II), Cu(II), or Ni(II). Structures of (T(*p*-Me₂N)F₄PP)Co and (meso-Tetrakis(pentafluorophenyl)porphinato)cobalt(II), (TF₅PP)Co**, *J. Am. Chem. Soc.* 112(23): 8364-8368, 1990.

KALYANASUNDARAM, K. **Photochemistry of water-soluble porphyrins: comparative study of isomeric tetrapyrrolyl- and tetrakis(N-methylpyridiniumyl)porphyrins**, *Inorg. Chem.*, 23: 2453-2459, 1984.

KALYANASUNDARAM, K.; NEUMANN-SPALLART, M. **Photophysical and redox properties of water-soluble porphyrins in aqueous media**, *J. Phys. Chem.*, 86: 5163-5169, 1982.

KAMP, N. W. J.; SMITH, J. R. L. **A comparative mechanistic study of the oxidation of phenols in aqueous solution by oxomanganese(IV) and oxoiron(IV) 5,10,15,20-tetrakis(2-N-methylpyridyl) porphyrin**, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 113(1-2): 131-145, 1996.

KASSAB, K.; AMOR, T.; JORI, G.; COPPELLOTTI, O. **Photosensitization of *Colpoda inflata* cysts by meso-substituted cationic compounds**, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 1: 560-564, 2002.

KHAMENEH, B.; DIAB, R.; GHAZVINI, K.; BAZZAZ, B. S. **Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them**, *Microb. Pathog.*, 95: 32-42, 2016.

KORCHENOVA, M. V.; TUCHINA, E. S.; SHVAYKO, V. Y.; GULKHANDANYAN, A. G.; ZAKOYAN, A. A.; KAZARYAN, R. K.; GULKHANDANYAN, G. V.; DZHAGAROV, B. M.; TUCHIN, V. V. **Photodynamic effect of radiation with the wavelength 405 nm on the cells of microorganisms sensitised by metalloporphyrin compounds**, *Quantum Electron.*, 46:521-527, 2016.

KOS, I.; BENOVA, L.; SPASOJEVIĆ, I.; REBOUÇAS, J. S.; BATINIĆ-HABERLE, I. **High lipophilicity of meta Mn(III) N-alkylpyridylporphyrin-based superoxide dismutase (SOD) mimics compensates for their lower antioxidant potency and makes them equally effective as ortho analogues in protecting SOD-deficient E. Coli**, *J. Med. Chem.*, 52: 7868-7872, 2009a.

KOS, I.; REBOUÇAS, J. S.; DEFREITAS-SILVA, G.; SALVEMINI, D.; VUJASKOVIĆ, Z.; DEWHIRST, M. W.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Lipophilicity of potent porphyrinbased antioxidants: Comparison of ortho and meta**

isomers of Mn(III) N-alkylpyridylporphyrins, *Free Radic. Biol. Med.*, 47: 72-78, 2009b.

KRUK, J.; ABOUL-ENEIN, H. Y. **Reactive oxygen and nitrogen species in carcinogenesis: implications of oxidative stress on the progression and development of several cancer types**, *Mini Rev. Med. Chem.*, 17: 904-919, 2017.

KWIATKOWSKI, S.; KNAP, B.; PRZYSTUPSKI, D.; SACZKO, J.; KĘDZIERSKA, E.; KNAP-CZOP, K.; KOTLIŃSKA, J.; MICHEL, O.; KOTOWSKI, K.; KULBACKA, J. **Photodynamic therapy-mechanisms, photosensitizers and combinations**. *Biomed. Pharmacother.*, 106: 1098-1107, 2018.

LA SELVA, A.; NEGREIROS, R. M.; BEZERRA, D. T.; ROSA, E. P.; PAVESI, V. C. S.; NAVARRO, R. S.; BELLO-SILVA, M. S.; RAMALHO, K. M.; ARANHA, A. C. C.; BRAZ-SILVA, P. H.; FERNANDES, K. P. S.; BUSSADORI, S. K.; HORLIANA, A. C. R. T. **Treatment of herpes labialis by photodynamic therapy: Study protocol clinical trial (SPIRIT compliant)**, *Medicine (Baltimore)*, 99(12): e19500, 2020.

LAHAYE, D.; MUTHUKUMARAN, K.; HUNG, C.-H.; GRYKO, D.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I.; LINDSEY, J. S. **Design and synthesis of manganese porphyrins with tailored lipophilicity: Investigation of redox properties and Superoxide Dismutase activity**, *Bioorg. Med. Chem.*, 15: 7066-7086, 2007.

LAVALLEE, D. K. **Kinetics and mechanisms of metalloporphyrin reactions**, *Coord. Chem. Rev.*, 61: 55-96, 1985.

LAVALLEE, D. K.; HUGGINS, E.; S. LEE, S. **Kinetics and mechanism of the hydrolysis of chlorophyll a in ternary solvent microemulsion media**, *Inorg. Chem.*, 21: 1552-1553, 1982.

LEGGETT, D. J.; KELLY, S. L. SHIVE, L. R. WU, Y. T. CHANG, D. KADISH, K. M. **A computational approach to the spectrophotometric determination of stability constants-II Application to metalloporphyrin-axial ligand interactions in non-aqueous solvents**, *Talanta*, 30: 579, 1983.

LEVANON, H.; NETA, P. **One-electron oxidation and demetallation of metalloporphyrins and chlorophyll a in dichloroethane solutions as studied by pulse radiolysis**, *Chem. Phys. Lett.*, 70: 100-103, 1980.

LINDSEY, J. S. **Synthesis of meso-Substituted Porphyrins**. Em: KADISH, K. M.; SMITH, K. M.; GUILARD, R. (Eds.); *The Porphyrin Handbook*, San Diego: Academic Press, 1: 45-118, 2000.

LINDSEY, J. S. **Synthetic routes to meso-patterned porphyrins**, *Acc Chem Res.*, 43(2): 300-311, 2010.

LINDSEY, J. S.; SCHREIMAN, I. C.; HSU, H.C.; KEARNEY, P. C.; MARGUERETTAZ, A. M. **Rothemund and Alder-Longo Reactions Revised: Synthesis of TetraphenylPorphyrins Under Equilibrium Conditions**, *J. Org. Chem.*, 52: 827-836, 1987.

LITTLE, R. G.; ANTON, J. A.; LOACH, P. A.; IBERS, J. A. **The synthesis of some substituted tetraarylporphyrins**, *J. Heterocycl. Chem.*, 12: 343-349, 1975.

- LUSTIG, R.; VOGL, T.; FROMM, D.; CUENCA, R.; HSI, R. A.; D'CRUZ, A.; KRAJINA, Z.; TURIC, M.; SINGHAL, A.; CHEN, J. C. **A multicenter Phase I safety study of intratumoral photoactivation of talaporfin sodium in patients with refractory solid tumors**, *Cancer*, 98: 1767-1771, 2003.
- MAIA, C. G. C. **Otimização da síntese da meso-tetraquis(2-piridil)porfirina e estudos de Mn e Fe-porfirinas como modelos biomiméticos da enzima catalase**. 123f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa (PB), 2015.
- MAISCH, T. **A New Strategy to Destroy Antibiotic Resistant Microorganisms: Antimicrobial Photodynamic Treatment**, *Mini-Rev. Med. Chem.*, 9: 974-983, 2009.
- MAKKY, A.; DAGHILDJIAN, K.; MICHEL, J.-P.; MAILLARD, P.; ROSILIO, V. **Assessment of the relevance of supported planar bilayers for modeling specific interactions between glycodendrimeric porphyrins and retinoblastoma cells**, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 1818: 2831-2838, 2012.
- MALIK, Z.; LADAN, H.; NITZAN, Y. **Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: Problems and possible solutions**, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 14: 262-266, 1992.
- MANIKADAN, P.; NAGINI, S. **Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review**, *Curr. Drug Targets.*, 19(1): 38-54, 2018.
- MANSUY, D., BATTIONI, P. **Biochemistry and binding: activation of small molecules**. Em: KADISH, K. M.; SMITH, K.M.; GUILARD, R. (Eds); *The porphyrin handbook*. New York: Academic Press, 4, 1-15, 2000.
- MANSUY, D.; BATTIONI, P. **Cytochrome P450 Model Systems**. SHELDON, R. A. (Ed.); *Metalloporphyrins in Catalytic Oxydations*. Nova York: Marcel Dekker, 99-132, 1994.
- MARCASSA, L. G.; CESTARI, G. A.; MARCASSA, J. C.; FERREIRA, J.; KURACHI, C.; BAGNATO, V. S. **Guia Prático de Terapia Fotodinâmica para o Tratamento de Tumores**. São Carlos: IFSC, 1a ed., 2002.
- MARTÍNEZ-CAYUELA, M. **Oxygen free radicals and human disease**, *Biochimie*, 77: 147-161, 1995.
- MARYDASAN, B.; NAIR, A. K.; RAMAIAH, D. **Optimization of triplet excited state and singlet oxygen quantum yields of picolylamine-porphyrin conjugates through zinc insertion**, *J. Phys. Chem. B.*, 11: 13515-13522, 2013.
- MCCORD, J. M; FRIDOVICH, I. **Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein)**, *J. Biol. Chem.*, 244(22): 6049-6055, 1969.
- MENEZES, P. F. C.; BAGNATO, V. S.; JOHNKE, R. M.; BONNERUP, C.; SIBATA, C. H.; ALLISON, R. R.; PERUSSI, J. R. **Photodynamic therapy for Photogem® and Photofrin® using different light wavelengths in 375 human melanoma cells**. *Laser Phys. Lett.*, 4: 546-551, 2007.
- MERCHAT, M.; BERTOLINI, G.; GIACOMINI, P.; VILLANUEVA, A.; JORI, G. **Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of gram-positive and gram-negative bacteria**, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 32: 153-157, 1996a.

- MERCHAT, M.; SPIKES, J. D.; BERTOLONI, G.; JORI, G. **Studies on the mechanism of bacteria photosensitization by meso-substituted cationic porphyrins.** *J. Photochem. Photobiol. B.*, 149-157, 1996b.
- METELITZA, D. I.; KARASYOVA, E. I. **Initiation and inhibition of free-radicals processes in biochemical peroxide systems,** *Appl. Biochem. Microbiol.*, 43: 481-505, 2007.
- MEUNIER, B. **Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage,** *Chem. Rev.*, 92: 1411-1456, 1992.
- MICHELSON, A. M.; MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. **Superoxide and superoxide dismutases.** New York: Academic Press, 568 p, 1977.
- MILGROM, L. R.; DEMPSEY, P. J. F.; YAHIOUGLU, G. **5,10,15,20-tetrakis(N-protected-imidazol-2-yl)porphyrins,** *Tetrahedron*, 52(29): 9877-9890, 1996.
- MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALLANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; MÉNARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S. J.; WEITSCHIESW.; BRODKORB, A. **A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus,** *Food Funct.*, 5(6): 1113-1124, 2014.
- MIZUTANI, T.; HORIGUCHI, T.; KOYAMA, H.; URATANI, I.; OGOSHI, H. **Molecular Recognition and Atropisomerization of [5,10,15,20-Tetrakis(1-pentyl-3-pyridinio)porphyrinato]zinc(II) in Water,** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 71: 413-418, 1998.
- MODY, T. D. **Pharmaceutical development and medical applications of porphyrin-type macrocycles,** *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 4: 362-367, 2000.
- MOGHNIE, S.; TOVMASYAN, A.; CRAIK, J.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVA, L. **Cationic amphiphilic Zn-porphyrin with high antifungal photodynamic potency,** *Photochem. Photobiol. Sci.*, 16: 1709-1716, 2017.
- MONDAL, D.; BERA, S. **Porphyrins and phthalocyanines: promising molecules for light-triggered antibacterial nanoparticles,** *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, 5: 033002, 2014.
- MONICA, L. L.; MONTI, D.; MANCINI, G.; MONTALLI, M.; PRODI, L.; ZACCHERONI, N.; D'ARCANGELO, G.; PAOLESSE, R. **Synthesis, complexation properties and spectroscopic studies of the cation-induced conformational changes of some new oligooxaethylene-spacered diporphyrin arrays,** *New J. Chem.*, 25: 597-605, 2001.
- MOURAVIEV, V.; VENKATRAMAN, T.; TOVMASYAN, A.; KIMURA, M.; TSIVIAN, M.; MOURAVIEVA, V.; POLASCIK, T.; WANG, H.; AMRHEIN, T.; BATINIĆ-HABERLE, I.; LASCOLA, C. **Mn porphyrins as novel molecular magnetic resonance imaging contrast agents,** *J. Endourol.*, 26(11): 1420-1424, 2012.
- NAKAGAKI, S.; FERREIRA, G. K. B.; MARCALB, A. L.; CIUFFI, K. J. **Metalloporphyrins immobilized on silica and modified silica as catalysts in heterogeneous processes,** *Curr. Org. Synth.*, 11: 67-88, 2014.

- NEUMANN-SPALLART, M.; KALYANASUNDARAM, K. **On the one and two-electron oxidations of water-soluble zinc porphyrins in aqueous media**, *Zeitschrift Für Naturforsch. B.* 36: 596-600, 1981.
- NITZAN, Y.; GUTTERMAN, M.; MALIK, Z.; EHRENBERG, B. **Inactivation of Gram-negative bacteria by photosensitized porphyrins**, *Photochem. Photobiol.*, 55: 89-96, 1992.
- NONELL, S.; GONZALEZ, M.; TRULL F. R. **1H-phenalen-1-one-2-sulfonic acid-an extremely efficient singlet molecular-oxygen sensitizer for aqueous-media**, *Afinidad*, 44: 445-450, 1993.
- NUTALAPATI, V. **Porphyrin based hybrid materials: photophysical, structural investigation and applications as optical materials and HCl gas sensors**. 197f, Tese (Doutorado em Química) – Pondicherry University, Puducherry (Índia), 2011.
- NWAEME, J.; HAMBRIGHT, P. **Magnitudes of ionic strength effects in porphyrin metalation and acid solvolysis reactions**, *J. Inorg. Chem.*, 23: 1990-1992, 1984.
- ODEH, A. M.; CRAIK, J. D.; EZZEDDINE, R.; TOVMASYAN, A.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVA, L. **Targeting Mitochondria by Zn(II)-N-Alkylpyridylporphyrins: The Impact of Compound Sub-Mitochondrial Partition on Cell Respiration and Overall Photodynamic Efficacy**, *PLoS One*, 9: e108238, 2014.
- OGILBY, P. R. **Singlet oxygen: There is indeed something new under the sun**, *Chem. Soc. Rev.*, 39: 3181-3209, 2010.
- OMS – Organização Mundial da Saúde. **Leishmaniasis**. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1, 2021. Acesso em 23 de agosto de 2021.
- PANDEY R. K.; SIEGEL M. M.; TSAO R.; MCREYNOLDS J. H.; DOUGHERTY T. J. **Fast atom bombardment mass spectral analyses of Photofrin II and its synthetic analogs**, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, 19: 405-414, 1990.
- PANDEY, R. K. **Recent advances in photodynamic therapy**, *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 4: 368-373, 2000.
- PASTERNAK, R. F.; GIBBS, E. J.; VILLAFRANCA, J. J. **Interactions of porphyrins with nucleic acids**. *Biochemistry*, 22(10): 2406-2414, 1983.
- PAVANI, C.; IAMAMOTO, Y.; BAPTISTA, M. S. **Mechanism and efficiency of cell death of type II photosensitizers: effect of zinc chelation**, *Photochem. Photobiol.*, 88: 774-781, 2012.
- PAVANI, C.; UCHOA, A.F.; OLIVEIRA, C. S.; IAMAMOTO, Y.; BAPTISTA M. S. **Effect of zinc insertion and hydrophobicity on the membrane interactions and PDT activity of porphyrin photosensitizers**. *Photochem, Photobiol, Sci.*, 8: 233-240, 2009.
- PEREIRA, M. M.; MONTEIRO, C. J. P.; PEIXOTO, A. F. **meso-Substituted Porphyrin Synthesis from Monopyrrole: An Overview**. Em: ATTANASI, O. A.; SPINELLI, D. (Eds); *Targets in Heterocyclic Systems Chemistry and Properties*, 258-278. Roma, Itália: Italian Society of Chemistry, 2008.
- PINTO, V. H. A. **Mn(III)-porfirinas como catalisadores biomiméticos: Estabilidade térmica e imobilização em vermiculita e sílica gel funcionalizada para hidroxilação**

de alcanos. 196f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa (PB), 2013a.

PINTO, V. H. A.; CARVALHODA-SILVA; D.; SANTOS, J. L. M. S.; WEINER, T.; FONSECA, M. G.; YOSHIDA, M. I.; IDEMORI, Y. M.; BATINIĆ-HARBELE, I.; REBOUÇAS, J. S. **Thermal stability of the prototypical Mnporphyrin-based superoxide dismutase mimic and potent oxidative-stress redox modulator Mn(III) meso-tetrakis(N-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin chloride, MnTE-2-PyP⁵⁺,** *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 73: 29-34, 2013b.

PINTO, V. H. A.; FALCÃO, N. K. S. M.; BUENO-JANICE, J. C.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S. **Cytochrome P450-like biomimetic oxidation catalysts based on Mn porphyrins as redox modulators.** BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I. (Eds.); *Redox-Active Therapeutics. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*. Springer, Cham., 213-243, 2016.

PLAETZER, K.; KRAMMER, B.; BERLANDA, J.; BERR, F.; KIESSLICH, T. **Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects,** *Lasers Med. Sci.*, 24: 259-268, 2009.

POLICAR, C. **Mimicking SOD, why and how: bio-inspired manganese complexes as SOD mimic.** Em: BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J.; SPASOJEVIĆ, I. (Eds.); *Redox-Active Therapeutics. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice*. Springer, Cham. 125-164, 2016.

POLLARD, J. M.; REBOUÇAS, J. S.; DURAZO, A.; KOS, I.; PANI, M.; GRALLA, E. B.; VALENTINE, J. S.; BATINIĆ-HABERLE, I.; GATTI, R. A. **Radioprotective effects of manganese-containing superoxide dismutase mimics on ataxia telangiectasia cells,** *Free Radic. Biol. Med.*, 47: 250-260, 2009.

RAHIMI, R.; FAYYAZ, F.; RASSA, M. **The study of cellulosic fabrics impregnated with porphyrin compounds for use as photo-bactericidal polymers,** *Mater. Sci. Eng. C*, 59: 661-668, 2016.

RAJIĆ, Z.; TOVMASYAN, A.; SPASOJEVIĆ, I.; SHENG, H.; LU, M.; LI, A.; GRALLA, E. B.; WARNER, D.; BENOVA, L.; BATINIĆ-HABERLE, I. **A new SOD mimic, Mn(III) ortho N-butoxyethylpyridylporphyrin, combines superb potency and lipophilicity with low toxicity,** *Free Radic. Biol. Med.*, 52(9): 1828-1834, 2012.

RAMETTE, R. W. **Equilibrium constants from spectrophotometric data: Principles, practice and programming,** *J. Chem. Educ.*, 44: 647, 1967.

REBOUÇAS, J. R.; CARVALHO, M. E. M. D.; IDEMORI, I. M. **Perhalogenated 2-pyridylporphyrin complexes: synthesis, self-coordinating aggregation properties, and catalytic studies,** *J. Porphyr. Phthalocyanines*, 6(1): 50-57, 2002.

REBOUÇAS, J. S.; DEFREITAS-SILVA, G.; SPASOJEVIĆ, I.; IDEMORI, Y. M.; BENOVA, L.; BATINIĆ-HABERLE, I. **The impact of electrostatics in redox modulation of oxidative stress by Mn porphyrins: Protection of SOD-deficient Escherichia coli via alternative mechanism where Mn porphyrin acts as a Mn-carrier,** *Free Rad. Biol. Med.*, 45: 201-210, 2008b.

REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Pure manganese (III) 5,**

10, 15, 20-tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin (MnTBAP) is not a superoxide dismutase mimic in aqueous systems: a case of structure–activity relationship as a watchdog mechanism in experimental therapeutics and biology, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 13: 289-302, 2008c.

REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Quality of potent Mn porphyrin-based SOD mimics and peroxynitrite scavengers for pre-clinical mechanistic/therapeutic purposes**, *J. Pharmac. Biomed. Anal.*, 48: 1046-1049, 2008d.

REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; TIAHJONO, D. H.; RICHAUD, A.; MENDEZ, F.; BENOVO, L.; BATINIĆ HABERLE, I. **Redox modulation of oxidative stress by Mn porphyrin-based therapeutics: The effect of charge distribution**, *Dalton Trans.*, 9: 1233-1242, 2008a.

REDDI, E.; CECCON, M.; VALDUGA, G.; JORI, G.; BOMMER, J. C.; ELISEI, F., *et al.* **Photophysical properties and antibacterial activity of meso-substituted cationic porphyrins**, *Photochem. Photobiol.*, 75: 462–470, 2002.

REGIEL-FUTYRA, A.; DĄBROWSKI, J. M.; MAZURYK, O.; ŚPIEWAK, K.; KYZIOŁ, A.; PUCELIK, B.; BRINDELL, M.; STOCHEL, G. **Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era**, *Coord. Chem. Rev.*, 351: 76-117, 2017.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J. C.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. **Cutaneous leishmaniasis**. *Lancet Infect Dis.*, 7(9): 581-96, 2007.

RIBEIRO, S. M.; QUEIROZ, J. H.; PELUZIO, M. C.; COSTA, N. M.; MATTA, S. L.; QUEIROZ, M. E. **A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico**, *Biosci. J.*, 21: 133-149, 2005.

RICCHELLI, F.; FRANCHI, L.; MIOTTO, G.; BORSETTO, L.; GOBBO, S.; NIKOLOV, P.; BOMMER, J. C.; REDDI, E. **Meso-substituted tetra-cationic porphyrins photosensitize the death of human fibrosarcoma cells via lysosomal targeting**, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 37: 306-319, 2005.

ROCKSON, S. G.; LORENZ, D. P.; CHEONG W. F.; WOODBURN, K. W. **Photoangioplasty: an emerging clinical cardiovascular role for photodynamic therapy**, *Circulation*, 102: 591-596, 2000.

RODRIGUES, M. E.; SILVA, S.; AZEREDO, HENRIQUES, M. **Novel strategies to fight *Candida* species infection**, *Crit. Rev. Microbiol.*, 42: 594-606, 2016.

ROTHEMUND, P. **A New Porphyrin Synthesis. The Synthesis of Porphin**, *J. Am. Chem. Soc.*, 58: 625-627, 1936.

ROUSSEAU, K.; DOLPHIN, D. **A purification of meso-tetraphenyl-porphyrin**, *Tetrahedron Lett.*, 15(48): 4251-4254, 1974.

SÁFAR, G. A. M.; IDEMORI, Y. M.; MARTINS, D. C. S. REBOUÇAS, J. S.; MAZZONI, M.; RIGHI, A. **Nanometrological porphyrins**, *Nanotechnology*, 23(27): 275504, 2012.

SANTIN, G. C.; OLIVEIRA, D. S.; GALO, R.; BORSATTO, M. C.; CORONA S. A. **Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: a systematic review of the literature**, *Sci. World J.*, 2014: 824538, 2014.

- SANTOS, I. B.; SILVA, D. K.; PAZ, F. A.; GARCIA, D. M.; CARMONA, A. K.; TEIXEIRA, D.; LONGO-MAUGÉRI, I.; KATZ, S.; BARBIÉRI, C. **Leishmanicidal and Immunomodulatory Activities of the Palladacycle Complex DPPE 1.1, a Potential Candidate for Treatment of Cutaneous Leishmaniasis**, *Front. Microbiol.*, 9: 1427, 2018.
- SARI, M. A.; BATTIONI, J. P.; DUPRE, D.; MANSUY, D.; LE PECQ, J. B. **Interaction of Cationic Porphyrins with DNA: Importance of the Number and Position of the Charges and Minimum Structural Requirements for Intercalation**, *Biochemistry*, 29: 4205-4215, 1990.
- SARMENTO-NETO, J. F. **Síntese de complexos de Mn(III) à base de porfirinas tricatiônicas do Tipo A3B (A = 2-N-metilpiridínio; B = 3-metoxi4-hidroxifenil ou 3,4-dimetoxifenil) como potenciais mimicos das enzimas superóxido dismutases (SOD)**. 108f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa (PB), 2016.
- SAWADA, Y.; YAMAZAKI, I. **One-electron transfer reactions in biochemical systems viii. Kinetic study of superoxide dismutase**, *Biochem. Biophys. Acta*, 327: 257-265, 1973.
- SCHWARZ, H. A. **Free radicals generated by radiolysis of aqueous solutions**, *J. Chem. Ed.*, 58: 101-105, 1981.
- SEBASTIAN, A.; REMELLO, S. N.; KUTTASSERY, F.; MATHEW, S.; OHSAKI, Y.; TACHIBANA, H.; INOUE, H. **Protolytic behavior of water-soluble zinc(II) porphyrin and the electrocatalytic two-electron water oxidation to form hydrogen peroxide**, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 400: 112619, 2020.
- SEGALLA, A.; BORSARELLI, C.; BRASLAVSKY, S.; SPIKES, J.; RONCUCCI, G.; DEI, D.; CHITI, G.; JORI, G.; REDDI, E. **Photophysical, photochemical and antibacterial photosensitizing properties of a novel octacationic Zn(II)-phthalocyanine**, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 1(9): 641-648, 2002.
- SENTAGNE, C.; MEUNIER, B.; PAILLOUS, N. **DNA cleavage photoinduced by new water-soluble zinc porphyrins linked to 9-methoxyellipticine**, *J. Photochem. Photobiol.*, 16: 47-59, 1992.
- SERRA, A. C.; PINEIRO, M.; GONSALVES, A. M. D. R.; ABRANTES, M.; LARANJO, M.; SANTOS, A. C.; BOTELHO, M. F. **Halogen atom effect on photophysical and photodynamic characteristics of derivatives of 5,10,15,20-tetrakis(3-hydroxyphenyl)porphyrin**, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 92(1): 59-65, 2008.
- SHABANGU, S. M.; BABU, B.; SOY, R. C.; MANAGA, M.; SEKHOSANA, K. E.; NYOKONG, T. **Photodynamic antimicrobial chemotherapy of asymmetric porphyrin-silver conjugates towards photoinactivation of Staphylococcus aureus**. *J. Coord. Chem.*, 73(4): 593-608, 2020b.
- SHABANGU, S. M.; BABU, B.; SOY, R. C.; OYIM, J.; AMUHAYA, E.; NYOKONG, T. **Susceptibility of Staphylococcus aureus to porphyrin-silver nanoparticle mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy**, *J. Lumin.*, 222:117158, 2020a.
- SHAH, B.; HAMBRIGHT, P. **Acid catalyzed solvolysis reactions of zinc porphyrins**, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 32: 3420-3422, 1970.

- SHARMAN, W. M.; ALLEN, C. M.; Van LIER, J. E. **Role of Activated Oxygen Species in Photodynamic Therapy**, *Methods Enzymol.* 319: 376-400, 2000.
- SIBRIAN-VAZQUEZ, M.; JENSEN, T. J.; VICENTE, M. G. H. **Synthesis, characterization, and metabolic stability of porphyrin-peptide conjugates bearing bifunctional signaling sequences**, *J. Med. Chem.*, 51: 2915-2923, 2008.
- SILHAVY, T. J.; KAHNE, D.; WALKER, S. **The bacterial cell envelope**. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2(5): a000414, 2010.
- SILVA, J. N.; GALMICHE, A.; TOMÉ, J. P. C.; BOULLIER, A.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, E. M. P.; CAPIOD, J.-C.; CAVALEIRO, J. A. S.; SANTUS, R.; MAZIÈRE, J.-C.; FILIPE, P.; MORLIÈRE, P. **Chain-dependent photocytotoxicity of tricationic porphyrin conjugates and related mechanisms of cell death in proliferating human skin keratinocytes**, *Biochem. Pharmacol.*, 80: 1373-1385, 2010.
- SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; SOARES, M. F. R.; PASSOS, R. C. S.; FARIA, A. R.; ROLIM NETO, P. J. **Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica**, *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 30: 1-8, 2009.
- SLATER, T. F. **Free radical mechanisms in tissue injury**, *J. Biochem.*, 222: 1-15, 1984.
- SMITH, K. M. **Porphyrins and Metalloporphyrins**. Em: SMITH, K.M. (Ed.). New York: Elsevier, 1975.
- SNELLGROVE, R.; PLANE, R. A. **Kinetics of the Acid Displacement of Magnesium Ion from Porphyrin**, *J. Am. Chem. Soc.*, 90: 3185-3194, 1968.
- SOUZA, T. H. S. **Avaliação in vitro do efeito fotodinâmico associado a zincoporfirina para o tratamento da leishmaniose cutânea**. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE), 2020.
- SOUZA, T. H. S.; ANDRADE, C. G.; CABRAL, F. V.; SARMENTO-NETO, J. F.; REBOUÇAS, J. S.; SANTOS, B. S.; RIBEIRO, M. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; FONTES, A. **Efficient photodynamic inactivation of Leishmania parasites mediated by lipophilic water-soluble Zn(II) porphyrin ZnTnHex-2-PyP4⁺**, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Sub.*, 1865(7): 129897, 2021.
- SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S.; IDEMORI, Y. M.; FRIDOVICH, I. **Electrostatic contribution in the catalysis of O₂⁻ dismutation by superoxide dismutase mimics. Mn^{III}TE-2-PyP5⁺ versus Mn^{III}Br8T-2-PyP⁺**, *J. Biol. Chem.*, 278(9): 6831-6837, 2003.
- SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I.; STEVENS, R. D.; HAMBRIGHT, P.; THORPE, A. N.; GRODKOWSKI, J.; NETA, P.; FRIDOVICH, I. **Manganese(III) biliverdin IX dimethyl ester: a powerful catalytic scavenger of superoxide employing the Mn(III)/Mn(IV) redox couple**, *Inorg. Chem.*, 40: 726-739, 2001.
- SPASOJEVIĆ, I.; CHEN, Y.; NOEL, T. J.; YU, Y.; COLE, M.P.; ZHANG, L.; ZHAO, Y.; CLAIR, D. K. S.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Mn porphyrin-based superoxide dismutase (SOD) mimic, Mn^{III}TE-2-PyP⁵⁺, targets mouse heart mitochondria**, *Free Rad. Biol. Med.*, 42: 1193-1200, 2007.

- SPASOJEVIĆ, I.; KOS, I.; BENOVIĆ, L. T.; RAJIC, Z.; FELLS, D.; DEDEUGD, C.; YE, X.; VUJASKOVIC, Z.; REBOUÇAS, J. S.; LEONG, K. W.; DEWHIRST, M. W.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Bioavailability of metalloporphyrin-based SOD mimics is greatly influenced by a single charge residing on a Mn site**, *Free Radic. Res.*, 45: 188-200, 2011.
- SPASOJEVIĆ, I.; MENZELEEVA, R.; WHITE, P. S.; FRIDOVICH, I. **Rotational Isomers of N-alkylpyridylporphyrins and their metal complexes. HPLC separation, ¹H NMR and X-ray structural characterization, electrochemistry and catalysis of O₂⁻ disproportionation**, *Inorg. Chem.*, 41: 5874-5881, 2002.
- SPERANDIO, F. F.; HUANG, Y. Y.; HAMBLIN, M. R. **Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria**, *Recent Pat. Anti-infect. Drug Discov.*, 8, 108-120, 2013.
- STAHL, E. (Ed.); *Thin-Layer Chromatography – A Laboratory Handbook*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1969.
- STERNBERG, E. D.; DOLPHIN, D.; BRÜCKNER, C. **Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy**, *Tetrahedron*, 54: 4151-4202, 1998.
- STYLLI, S. S.; HOWES, M.; MACGREGOR, L.; RAJENDRA, KAYE, A. H. **Photodynamic therapy of brain tumours: evaluation of porphyrin uptake versus clinical outcome**, *J. Clin. Neurosci.*, 11: 584-596, 2004.
- TAREEN, B.; SUMMERS, J. L.; JAMISON, J. M.; NEAL, D. R.; MCGUIRE, K.; GERSON, L.; DIOKNO, A. **A 12 week, open label, Phase I/IIa study using Apatone® for the treatment of prostate cancer patients who have failed standard therapy**, *Int. J. Med. Sci.*, 5(2): 62, 2008.
- TAVARES, A.; DIAS, S. R.; CARVALHO, C. M.; FAUSTINO, M. A.; TOMÉ, J. P.; NEVES, M. G.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; CUNHA, A.; GOMES, N. C. M.; ALVES, E.; ALMEIDA, A. **Mechanisms of photodynamic inactivation of a Gram-negative recombinant bioluminescent bacterium by cationic porphyrins**, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 10(10): 1659-1669, 2011.
- THOMAS, M.; CRAIK, J. D.; TOVMASYAN, A.; BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVIĆ, L. T. **Amphiphilic cationic Zn-porphyrins with high photodynamic antimicrobial activity**, *Future Microbiol.*, 10, 709-724, 2015.
- THU, A. M.; PHYO, A. P.; LANDIER, J.; PARKER, D. M.; NOSTEN, F. H. **Combating multidrug-resistant Plasmodium falciparum malaria**, *FEBS J.*, 284: 2569-2578, 2017.
- TIAN, J.; PEEHL, D. M.; KNOX, S. J. **Metalloporphyrin synergizes with ascorbic acid to inhibit cancer cell growth through fenton chemistry**, *Cancer biother. Radiopharm.*, 25(4): 439-448, 2010.
- TOME, J. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMES, A. C.; CAVALEIRO, J. A.; SONCIN, M.; MAGARAGGIA, M.; FERRO, S.; JORI, G. **Synthesis and antibacterial activity of new poly-S-lysine-porphyrin conjugates**, *J. Med. Chem.*, 47(26): 6649-6652, 2004.
- TOUCHSTONE, J. C.; DOBBINS, M. F. *Practice of Thin Layer Chromatography*. New York: John Wiley & Sons, 1978.

- TOVMASYAN, A.; BUENO-JANICE, J. C.; JARAMILLO, M. C.; SAMPAIO, R. S.; REBOUÇAS, J. S.; KYUI, N.; BENOVA, L.; DENG, B.; HUANG, T-T.; TOME, M. E.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Radiation-mediated tumor growth inhibition is significantly enhanced with redox-active compounds that cycle with ascorbate.** *Antioxid. Redox Signal.*, 29(13):1196-1214, 2018.
- TOVMASYAN, A.; REBOUÇAS, J. S.; BENOVA, L. **Simple biological systems for assessing the activity of superoxide dismutase mimics,** *Antioxid. Redox Signal.*, 20: 2416-2436, 2014.
- TOVMASYAN, A.; SAMPAIO, R. S.; BOSS, M.; BUENO-JANICE, J. C.; BADER, B.H.; THOMAS, M.; REBOUÇAS, J. S.; ORR, M. L.; CHANDLER, J. D.; GO, Y.; JONES, D. P.; VENKATRAMAN, T.; HABERLE, S.; KYUI, N.; LASCOLA, C.; DEWHIRST, M.; SPASOJEVIĆ, I.; BENOVA, L.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Anticancer therapeutic potential of Mn porphyrin/ascorbate system,** *Free Rad. Biol. Med.*, 89: 1231-1247, 2015.
- TRAUNER, K. B.; HASAN, T. **Photodynamic treatment of rheumatoid and inflammatory arthritis,** *Photochem. Photobiol.*, 64: 740-750, 1996.
- TRAYLOR, T. G. **Synthetic model compounds for hemoproteins,** *Acc. Chem. Res.* 14: 102-109, 1981.
- TRAYLOR, T. G.; TSUCHIYA, S. **Perhalogenated tetraphenylhemins: stable catalysts of high turnover catalytic hydroxylations,** *Inorg. Chem.*, 26, 1338-1339, 1987.
- VALIOTTI, A.; ADEYEMO, A.; HAMBRIGHT, P. **Iron(II) and magnesium(II) porphyrin acid solvolysis reactions,** *Inorg. Nucl. Chem. Lett.*, 17: 213-214, 1981.
- VANCE, C. K.; MILLER, A. F. **A simple proposal that can explain the inactivity of metal-substituted superoxide dismutases,** *J. Am. Chem. Soc.*, 120: 461-467, 1998.
- VERRAX, J.; BECK, R.; DEJEANS, N.; GLORIEUX, C.; SID, B.; C PEDROSA, R.; BENITES, J.; VASQUEZ, D.; VALDERRAMA, J. A; BUC CALDERON, P. **Redox-active quinones and ascorbate: an innovative cancer therapy that exploits the vulnerability of cancer cells to oxidative stress.** *Anticancer Agents Med. Chem.* (Formerly *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*), 11(2): 213-221, 2011.
- VIANA, O.; RIBEIRO, M.; RODAS, A.; REBOUÇAS, J.; FONTES, A.; SANTOS, B. **Comparative study on the efficiency of the photodynamic inactivation of candida albicans using CdTe Quantum Dots, Zn(II) porphyrin and their conjugates as photosensitizers,** *Molecules*, 20: 8893–8912, 2015.
- VOLLMER, W.; SELIGMAN S. J. **Architecture of peptidoglycan: more data and more models,** *Trends Microbiol.* 18: 59-66, 2010.
- WAINWRIGHT, M. **Photodynamic therapy: The development of new photosensitisers,** *Anticancer Agents Med. Chem.*, 8(3): 280-291, 2008.
- WALSH, C. T.; WENCEWICZ, T. A. **Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective,** *J. Antibiot.*, 67: 7-22, 2014.
- WAN, M. T.; LIN, J. Y. **Current evidence and applications of photodynamic therapy in dermatology,** *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 21: 145-163, 2014.

WEAVER J.; HAMBRIGHT, P. **Kinetics of the incorporation of Copper(II) into a water-soluble porphyrin**, *Inorg. Chem.*, 8: 167-168, 1969.

WELSH, J. L.; WAGNER, B. A.; Van'T ERVE, T. J.; ZEHR, P. S.; BERG, D. J.; HALFDANARSON, T. R.; CULLEN, J. J. YEE, N. S.; BODEKER, K. L.; DU, J. ROBERTS II, L. J.; DRISKO, J.; LEVINE M.; BUETTNER, G. R.; **Pharmacological ascorbate with gemcitabine for the control of metastatic and node-positive pancreatic cancer (PACMAN): results from a phase I clinical trial**, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 71(3): 765-775, 2013.

WIJESEKERA, T. P.; DOLPHIN, D. **Synthetic aspects of porphyrin and metalloporphyrin chemistry**. Em: SHELDON, R. A (Ed.); *Metalloporphyrin in catalytic oxidations*. New York: Marcel Dekker, 193-239. 1994,

WILLYARD, C. **The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats**, *Nature*, 15: 543, 2017.

YANG, J. H.; CHEN, Y. M.; REN, Y. L.; BAI, Y. B.; WU, Y.; JANG, Y. S.; SU, Z. M.; YANG, W. S.; WANG, Y. Q.; ZAO, B.; LI, T. J. **Identification of H-aggregate in a monolayer amphiphilic porphyrin-TiO₂ nanoparticle heterostructure assembly and its influence on the photoinduced charge transfer**, *J. Photochem. Photobiol.*, 134: 1-7, 2000.

YE, X.; FELS, D.; TOVMASYAN, A.; AIRD, K. M.; DEDEUGD, C.; ALLENSWORTH, J. L.; KOS, I.; PARK, W.; SPASOJEVIĆ, I.; DEVI, G. R.; DEWHIRST, M. W.; LEONG, K. W.; BATINIĆ-HABERLE, I.; **Cytotoxic effects of Mn(III) N-alkylpyridylporphyrins in the presence of cellular reductant, ascorbate**, *Free Radic. Res.*, 45: 1289-1306, 2011.

YOSHIDA, T.; SAEKI, T.; OHASHI, S.; OKUDAIRA, T.; LEE, M.; H. YOSHIDA, H.; MARUOKA, H.; ITO, H.; FUNASAKA, S.; KATO, H. **Clinical study of photodynamic therapy for laryngeal cancer**, *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*, 98: 795-804, 1995.

YU, B. P. **Cellular defenses against damage from reactive oxygen species**. *Physiol. Rev.*, 74: 139-161, 1994.

YUDOH, K.; SHISHIDO, K.; MURAYAMA, H.; YANO, M.; MATSUBAYASHI, K.; TAKADA, H.; NAKAMURA, H.; MASUKO, K.; KATO, T.; NISHIOKA, K. **Water-soluble C60 fullerene prevents degradation of articular cartilage in osteoarthritis via downregulation of chondrocyte catabolic activity and inhibition of cartilage degeneration during disease development**, *Arthritis Rheum.*, 56(10): 3307-3318, 2007.

ZHOU Y, LIANG X, DAI Z. **Porphyrin-loaded nanoparticles for cancer theranostics**, *Nanoscale*, 8(25): 12394-12405, 2016.

ZOLTAN, T.; VARGAS, F.; LÓPEZ, V.; CHÁVEZ, V.; RIVAS, C.; RAMÍREZ, Á. H. **Influence of charge and metal coordination of meso-substituted porphyrins on bacterial photoinactivation**, *Spectroc. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 135: 747-756, 2015.

6 Apêndices

Apêndice A – Caracterizações das porfirinas do tipo A_3B

A.1 Espectros eletrônicos UV-vis comparativos das porfirinas do tipo A_3B

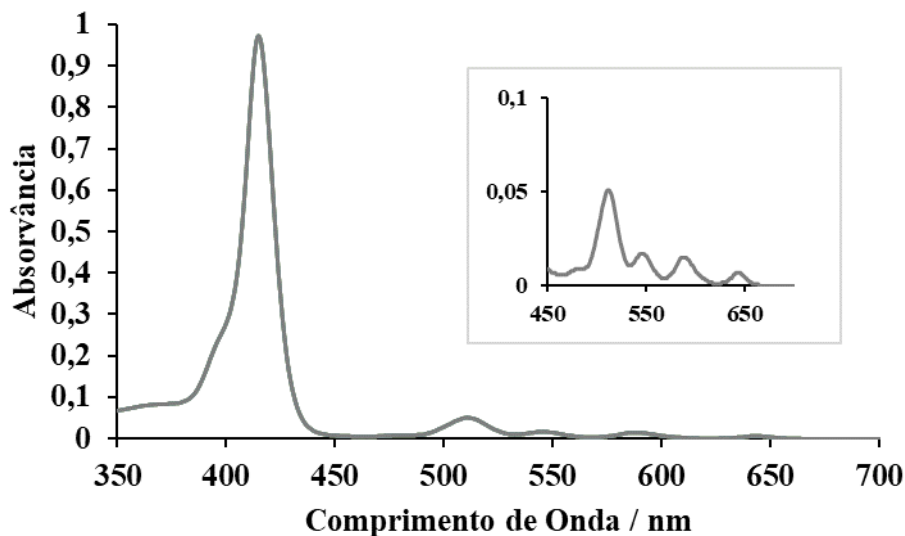


Figura A.1.1 – Espectro UV-vis da $H_2MVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende as bandas Q.

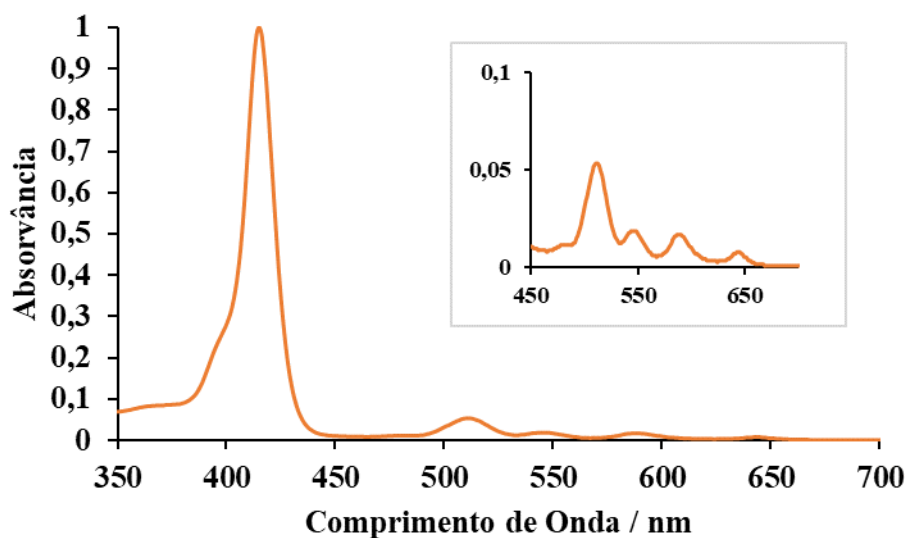


Figura A.1.2 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nPrVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q.

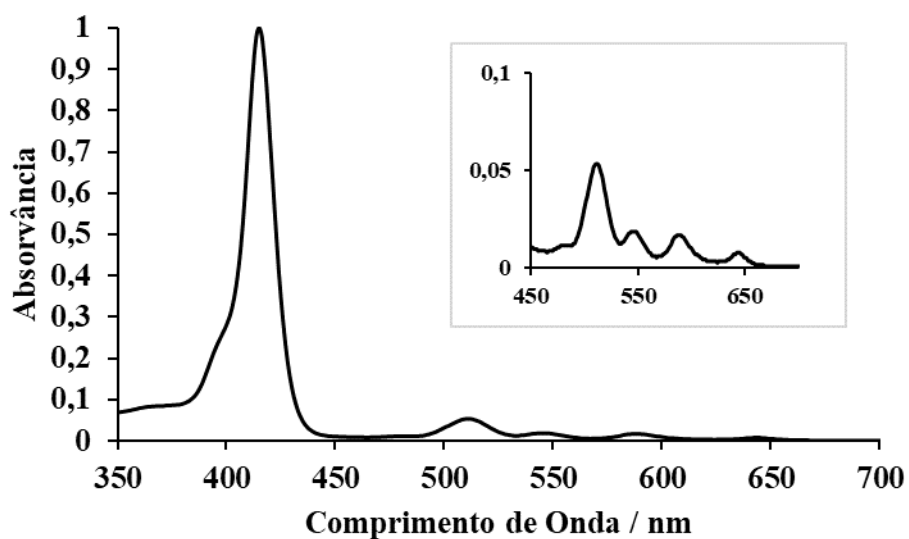


Figura A.1.3 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nBuVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q.

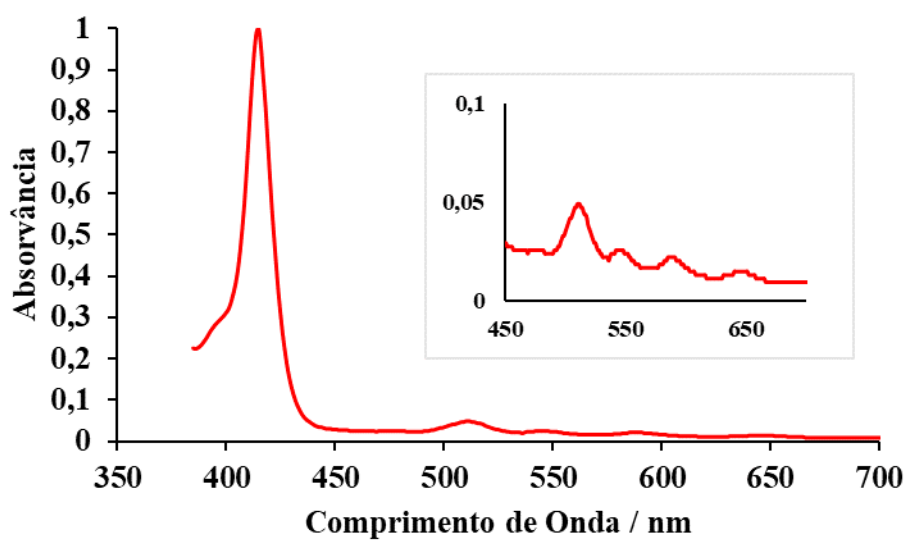


Figura A.1.4 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2iBuVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q. A expansão corresponde às bandas Q.

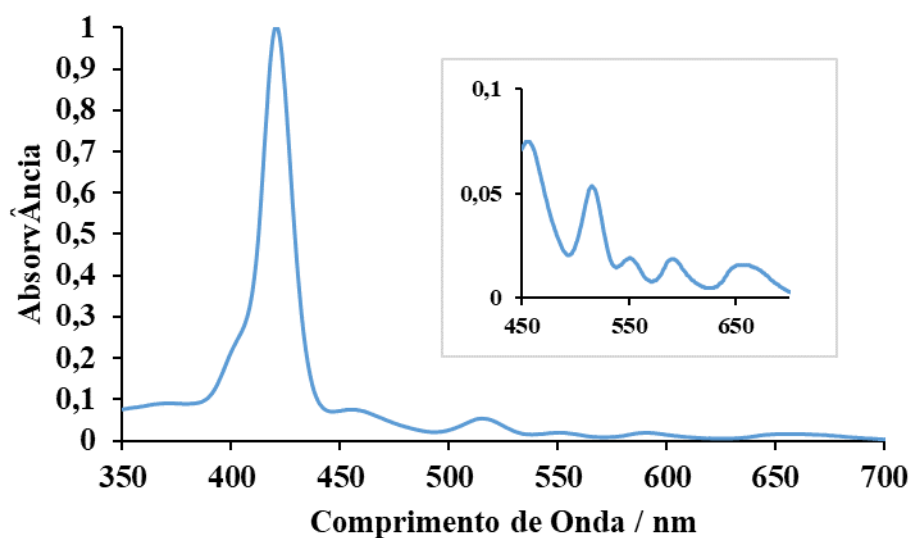


Figura A.1.5 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nHexVanTri-2PyP$ registrado em $CHCl_3$. A expansão compreende às bandas Q.

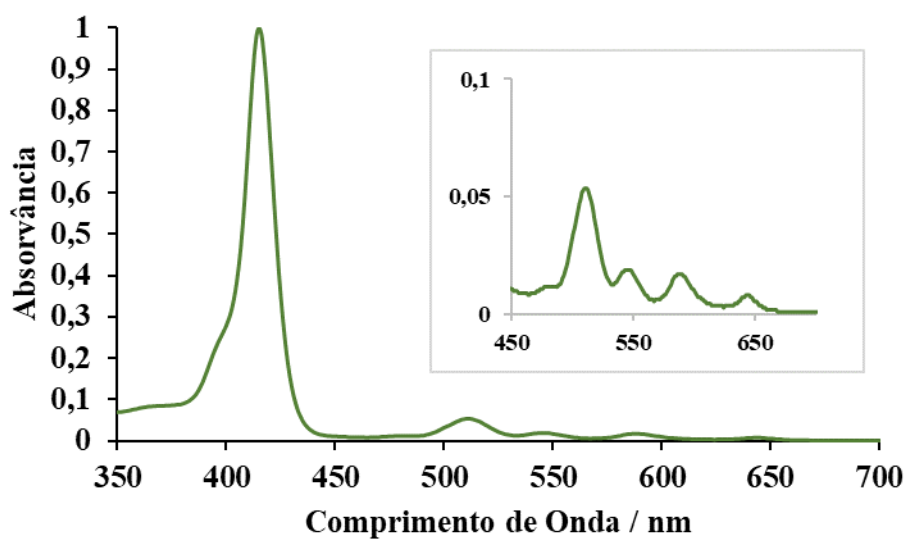


Figura A.1.6 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2nNonVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q.

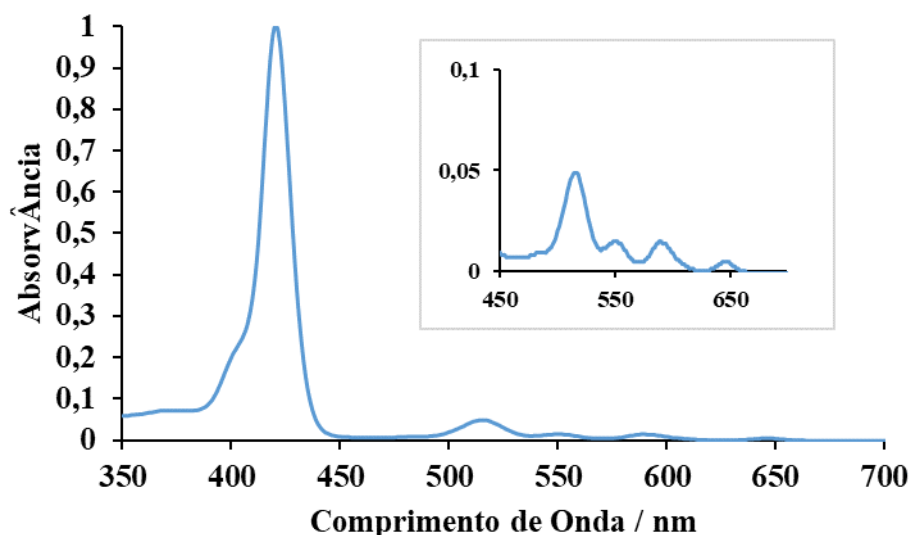


Figura A.1.7 – Espectro UV-vis normalizado da $H_2CyEVanTri-2PyP$ registrado em acetona. A expansão compreende às bandas Q.

A.2 - RMN de 1H das porfirinas neutras do tipo A_3B

Os espectros de RMN de 1H das porfirinas do tipo A_3B foram registrados em d^6 -DMSO ou $CDCl_3$ e apresentaram muitas semelhanças entre si. Foram observadas diferenças pequenas nos deslocamentos atribuídos aos hidrogênios β -pirrólicos, grupos 2-piridila, vanilina/*O*-alquilvanilina e *NH*-pirrólicos. Os espectros diferiram consideravelmente, como esperado, nas regiões associadas aos substituinte *p*-OR da vanilina (H ou alcanos).

5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina ($H_2VanTri-2-PyP$)

Hidrogênios *N*-pirrólicos (H internos): um singlete próximo a $-2,94$ ppm na região correspondente aos hidrogênios *NH* pirrólicos *a* internos da porfirina, que é o sinal mais blindado das porfirinas (**Figura A.2.1**) (LITTLE *et al.*, 1975; SARI *et al.*, 1990).

Hidrogênios alcóxilas: A presença de um singlete em $3,93$ ppm *z* é atribuído aos hidrogênios do grupo *m*- OCH_3 da vanilina. O hidrogênio fenólico da vanilina (*OH*), correspondente a um singlete em $9,54$ ppm (**Figura A.2.1**), que coincide com o sinal dos hidrogênios *OH* em $9,50$ ppm da porfirina do tipo $B_4 H_2VanP$ (NUTALAPATI, 2011).

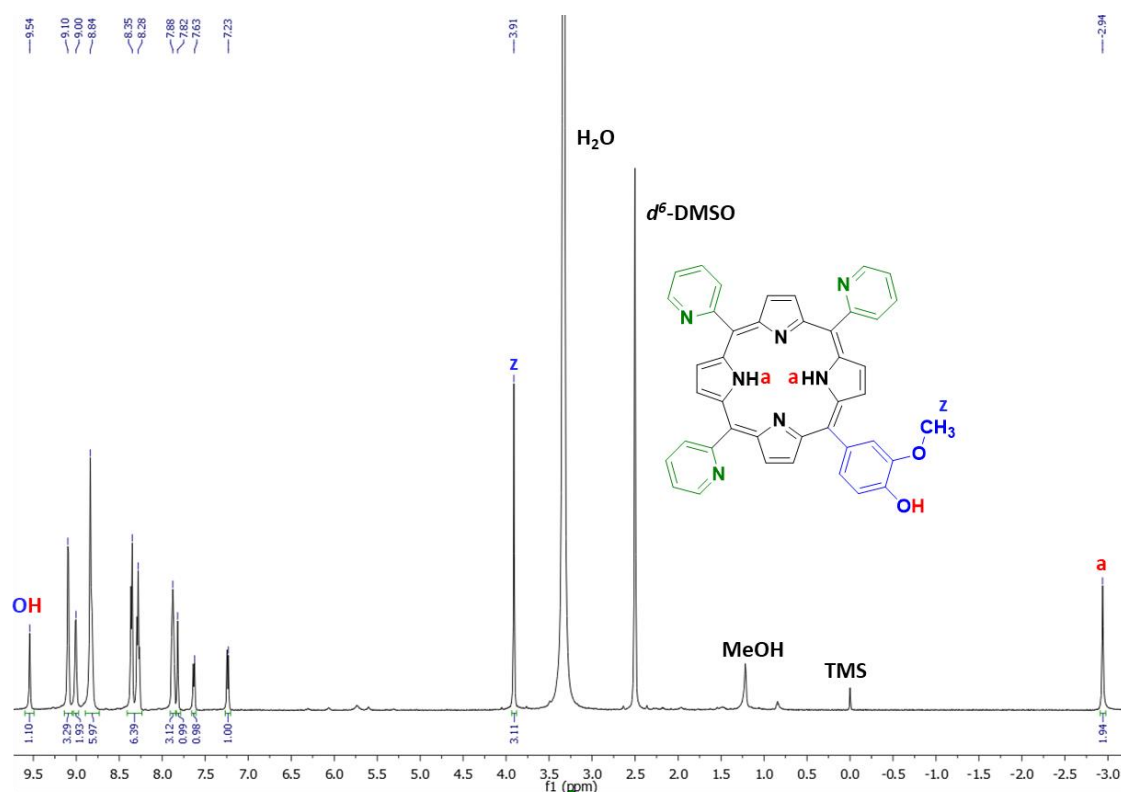


Figura A.2.1 – Espectro de RMN de ^1H 500 MHz em d^6 -DMSO da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$, com destaque para os hidrogênios NH-pirrólicos **a**, OH da vanilina e do grupo $m\text{-OCH}_3$ **z** da vanilina. As atribuições da região dos hidrogênios aromáticos serão detalhadas na **Fig. A.2.2**.

Os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos estão presentes na região de 7,00 até 9,30 ppm.

Hidrogênios β -pirrólicos: Ao contrário do singlete típico dos hidrogênios β de porfirinas meso-tetrassubstituídas, como a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (KAMP; SMITH, 1996; REBOUÇAS *et al.*, 2002), espera-se um conjunto de 4 dubletos para os hidrogênios β -pirrólicos na $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$, em razão da menor simetria desta porfirina. O dubleto em 9,00 ppm é correspondente aos dois hidrogênios $\beta 1$ (**Fig. A.2.2**), mais próximos do grupo vanilina, o que coincide com a região dos sinais dos hidrogênios β -pirrólicos da H_2TVanP (NUTALAPATI, 2011), que contém quatro substituintes vanilina. Os demais sinais dos hidrogênios $\beta 2$ a $\beta 4$, que correspondem aos hidrogênios mais próximos dos anéis 2-piridila, aparecem sobrepostos na região entre 8,78 e 8,90 ppm ($\beta 2$ - $\beta 4$) (**Fig. A.2.2**), que coincidem com a região dos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina do tipo A_4 de referência $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (KAMP; SMITH, 1996; REBOUÇAS *et al.*, 2002).

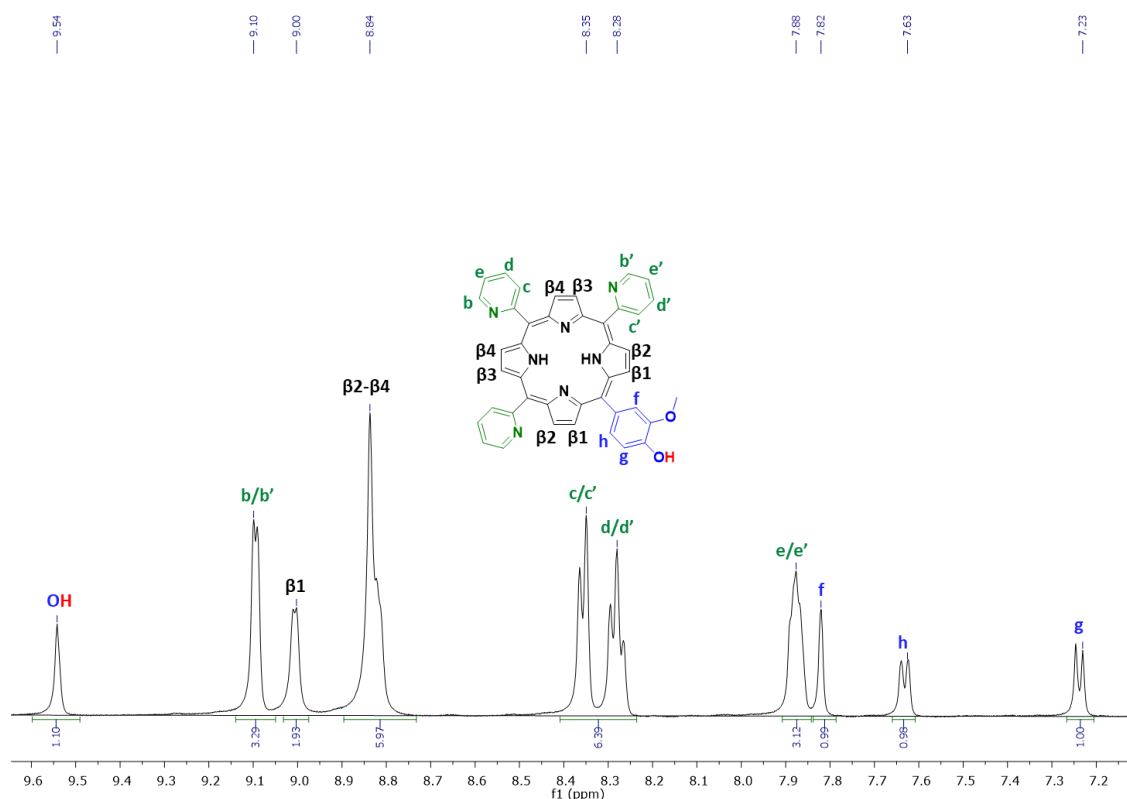


Figura A.2.2 - Espectro RMN de ^1H das regiões correspondentes aos átomos de hidrogênio do grupo fenil e 2-piridil da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$.

Hidrogênios arilas do grupos 2-piridila: Os sinais dos hidrogênios dos anéis 2-piridila aparecem na região entre 7,85 e 9,15 ppm (**Fig. A.2.2**). Os hidrogênios **b/b'** (posição 6 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,10 ppm, são os mais desblindados de cada grupo 2-piridila, por estarem ligados ao carbono vizinho ao nitrogênio, que exerce efeito de deblindagem de forma mais pronunciada na posição 6 do anel piridila (SARI *et al.*, 1990). Os hidrogênios **c/c'** (posição 3 do piridila) estão presentes em 8,28 ppm e acoplam ($J = 7,2$ Hz) com os hidrogênios **d/d'** (posição 4 do piridila), que estão presentes em 8,36 ppm (**Fig. A.2.2**). Os hidrogênios **e/e'** (posição 5 do piridila) são os mais blindados (7,88 ppm), por estarem na posição mais rica em densidade eletrônica no anel piridínico (REBOUÇAS *et al.*, 2002).

Hidrogênios arila do grupo Vanilina: Os sinais dos hidrogênios do grupo vanilina da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ aparecem na região entre 7,20 e 7,85 ppm. A presença de um singlete em 7,82 ppm é atribuído ao hidrogênio **f** (posição 2 do grupo fenila). Dois dubletos em 7,24 e 7,63 ppm podem ser atribuídos aos hidrogênios **g** (posição 5) e hidrogênio **h** (posição 6 do fenila), respectivamente, que acoplam ($J = 8,0$ Hz) entre si. O hidrogênio **d** é mais blindado que o hidrogênio **e** (NUTALAPATI, 2011).

5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂MVanTri-2-PyP)

De um modo geral, o espectro de RMN de ¹H (200 MHz) da H₂MVanTri-2-PyP, registrado em d⁶-DMSO, foi bastante semelhante àquele da H₂VanTri-2-PyP.

Hidrogênios β-pirrólicos: O dubleto em 8,97 ppm é correspondente aos dois hidrogênios β1 (Fig. A.2.3), mais próximos do grupo metilvanilina (NUTALAPATI, 2011). Os demais sinais dos hidrogênios β2 a β4, que correspondem aos hidrogênios mais próximos dos anéis piridila, aparecem sobrepostos na região entre 8,85 e 8,80 ppm (β2-β4) (Fig. A.2.3) (KAMP; SMITH, 1996; REBOUÇAS *et al.*, 2002).

Hidrogênios arilas do grupos 2-piridila: Os sinais dos hidrogênios dos anéis 2-piridila aparecem na região entre ppm (Fig. A.2.2). Os hidrogênios i/i' (posição 3 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,09 ppm (SARI *et al.*, 1990). Os hidrogênios g/g' (posição 4 do piridila) aparecem em 7,91 ppm. Os hidrogênios f/f' e h/h' aparecem sobrepostos na região entre 8,22-8,43 ppm (Fig. A.2.3).

Hidrogênios arila do grupo metilvanilina: Os sinais dos hidrogênios dos anéis fenila da H₂MVanTri-2-PyP aparecem na região entre 7,30 – 7,85 ppm. Um singlete em 7,82 ppm atribuído ao hidrogênio f (posição 2 do grupo fenila) está sobreposto com o sinal e/e' do grupo 2-piridila. Dois dubletos em 7,24 e 7,63 ppm podem ser atribuídos ao hidrogênio g (posição 5) e hidrogênio h (posição 6 do fenila), respectivamente, que acoplam entre si. O sinal do hidrogênio g é mais blindado que o sinal do hidrogênio h (Fig. A.2.3).

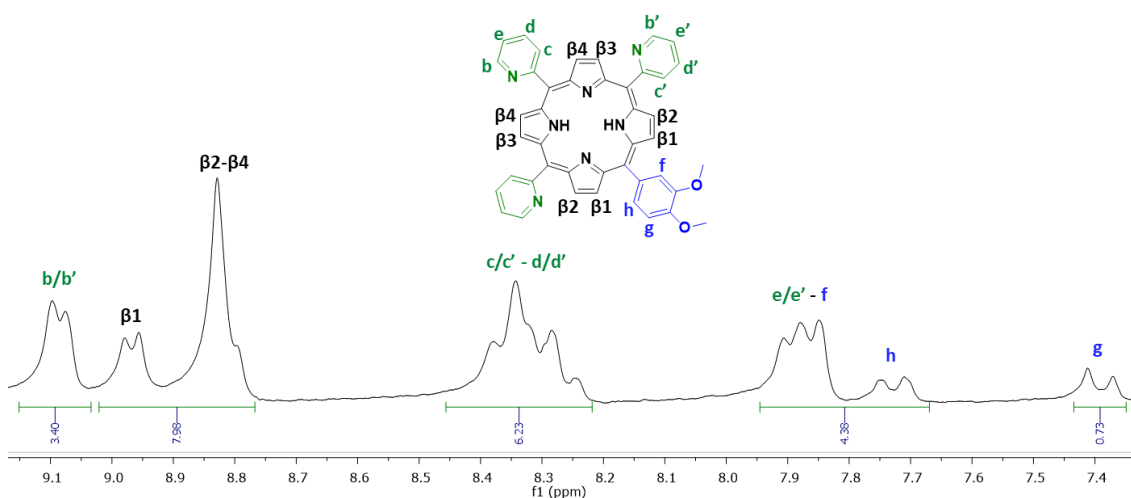


Figura A.2.3 - Espectro de RMN de ¹H de 200 MHz da H₂MVanTri-2-PyP registrado em d⁶-DMSO da região dos hidrogênios aromáticos: β-pirrólicos (preto), piridilas (verde), metilvanilina (azul).

Hidrogênios *N*-pirrólicos (H internos): um singlete próximo a $-2,98$ ppm na região correspondente aos hidrogênios *NH* pirrólicos **a** internos da porfirina, que é o sinal mais blindado (**Fig. A.2.4**) (LITTLE *et al.*, 1975; SARI *et al.*, 1990).

Hidrogênios alcoxilas: A presença de um singlete em $3,87$ ppm **b** na $H_2MVanTri-2-PyP$ é atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo *m*- OCH_3 da vanilina, em região semelhante à $H_2VanTri-2-PyP$. Os hidrogênios *p*- OCH_3 vanilina, correspondentes a um singlete em $4,04$ ppm, que coincidem com os sinais em $4,10$ ppm da $H_2TMVanP$ (NUTALAPATI, 2011) (**Figura A.2.4**).

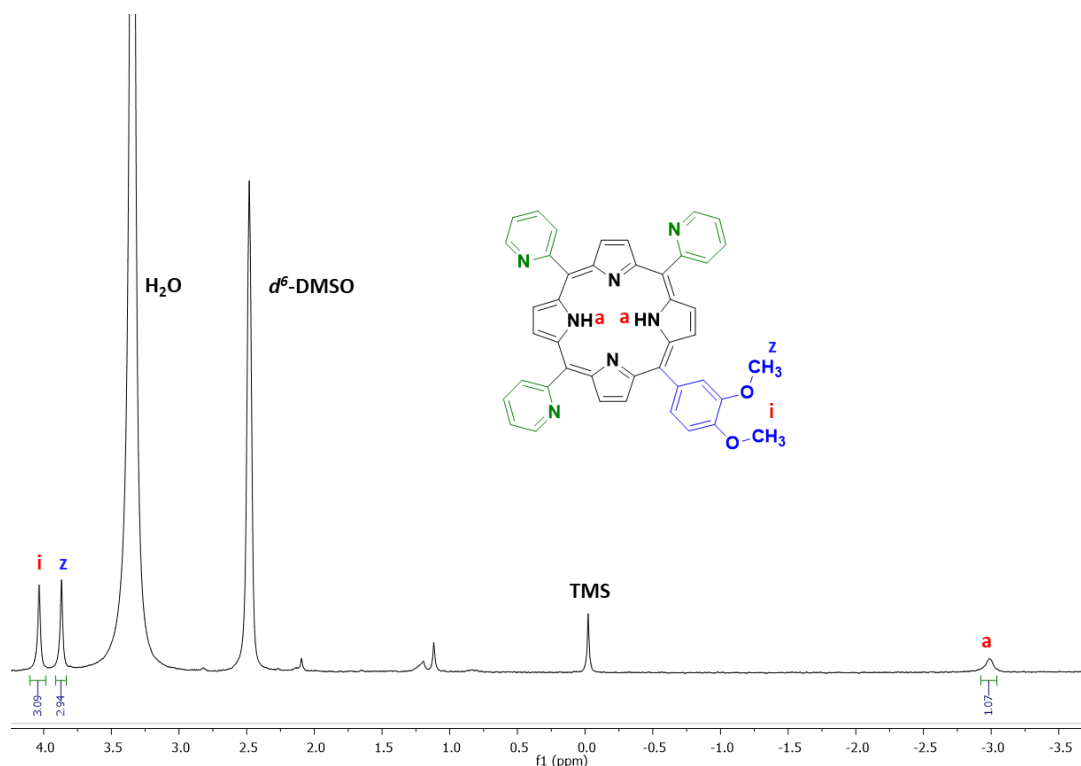


Figura A.2.4 - Espectro de RMN de 1H de 200 MHz da $H_2MVanTri-2-PyP$ registrado em d^6 -DMSO da região dos hidrogênios alcoxila, perto do sinal do TMS.

5-(3-metoxi-4-*n*-propoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂**nPrVanTri-2-PyP**)

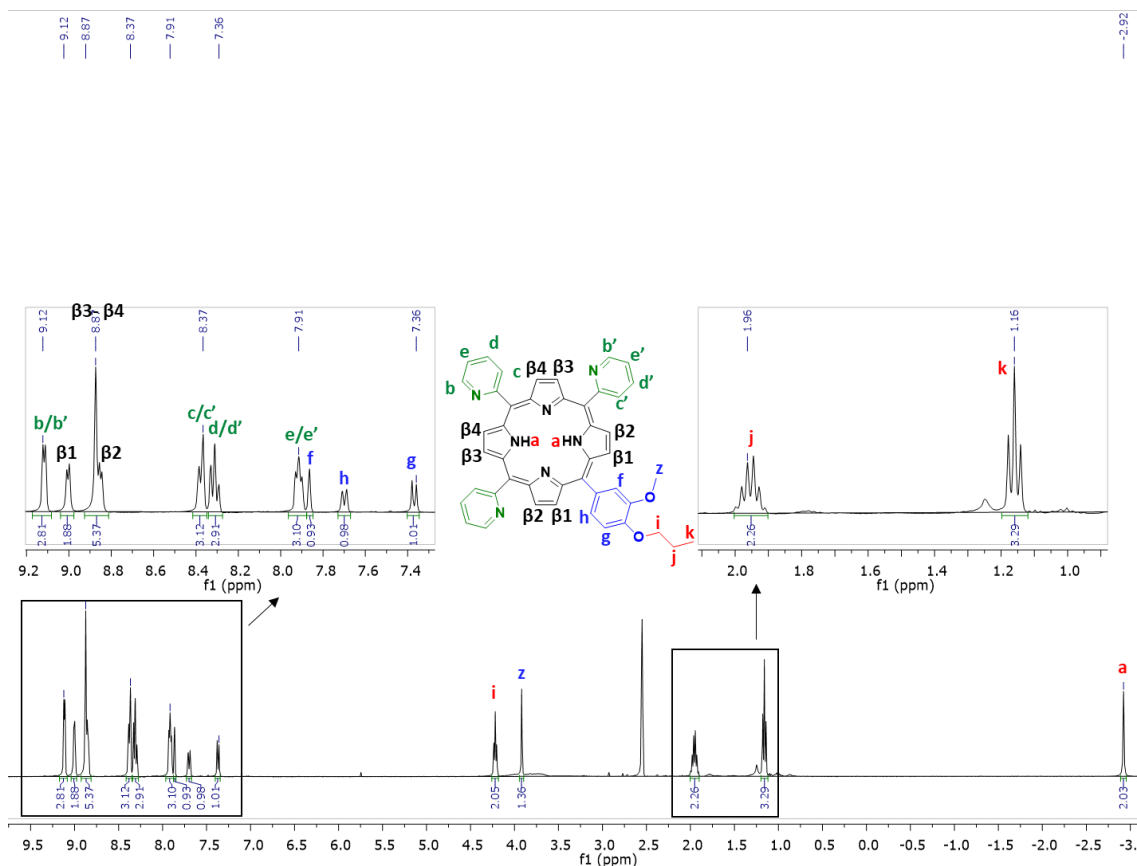


Figura A.2.5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da H₂**nPrVanTri-2-PyP**. Destaque para as atribuições dos hidrogênios NH internos **a**, *m*-OCH₃ **z** e do grupo *p*-OCH₂ **i**. As regiões expandidas compreendem aos deslocamentos dos hidrogênios aromáticos dos grupos *O*-*n*-propilvanilina, 2-piridila e β -pirrólicos e os hidrogênios *p*-OCH₂CH₂ (**i**) e *p*-OCH₂CH₂CH₃ (**k**).

5-(3-metoxi-4-*n*-butoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂**nBuVanTri-2-PyP**)

O espectro de RMN de ^1H 200MHz em CDCl₃ da H₂**nBuVanTri-2-PyP** será apresentado a seguir (**Fig. A.2.6**).

Hidrogênios β -pirrólicos: A H₂**nBuVanTri-2-PyP** apresentou um dubleto em 8,96 ppm correspondente aos dois hidrogênios **β1** (**Fig. A.2.6**) mais próximos do grupo *O*-*n*-butilvanilina. Um dubleto em 8,82 ppm correspondente aos hidrogênios **β2**, que acoplam ($J = 4,7$ Hz) com os hidrogênios **β1**. Os demais sinais dos hidrogênios **β3** e **β4** (8,85 ppm), que são mais próximos dos anéis 2-piridila (**Fig. A.2.6**). A região em que os hidrogênios **β3** e **β4** aparecem em região idêntica (8,85 ppm) aos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina A₄ H₂T-2-PyP (SARI *et al.*, 1990; KAMP; SMITH, 1996).

Hidrogênios arilas do grupos 2-piridila: Os hidrogênios **b/b'** (posição 6 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,13 ppm (SARI *et al.*, 1990). Os hidrogênios **c/c'** (posição 3 do piridila) aparecem na região 8,11-8,07 ppm. Os hidrogênios **d/d'** (posição 4 do piridila) aparecem na região entre 8,20-8,25 ppm (**Fig. A.2.6**). Os hidrogênios **g/g'** (posição 5 do piridila) aparecem sobrepostos com os sinais dos hidrogênios do grupo *O-n*-butilvanilina, entre 7,78-7,68 ppm.

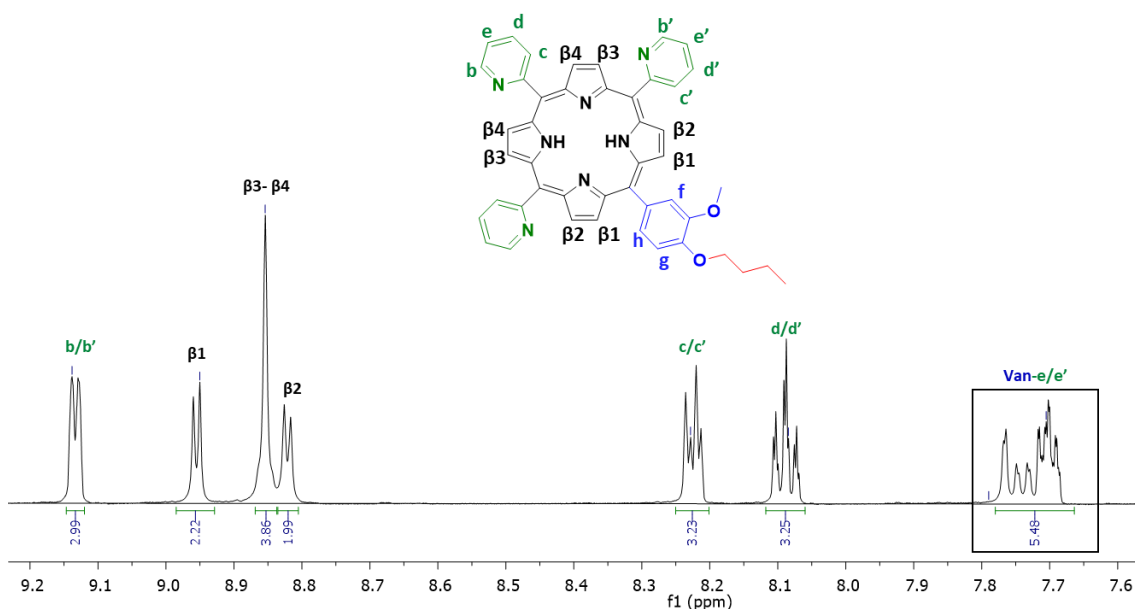


Figura A.2.6 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) da $\text{H}_2\text{nBuVanTri-2-PyP}$ registrado em CDCl_3 na região dos hidrogênios aromáticos.

Hidrogênios arila do grupo *O-n*-butilvanilina: Os sinais dos hidrogênios dos anéis fenila aparecem na região entre 7,78-7,68 ppm. Eles estão muito sobrepostos para serem atribuídos.

Hidrogênios *N*-pirrólicos (H internos): Não foi realizada a aquisição do espectro na região abaixo de $\delta 0,00$ (ppm) durante a análise.

Hidrogênios alcoxilas: A presença de um singlete em 3,97 ppm **z** é atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo *m*- OCH_3 da vanilina. Um tripleto centrado em 4,32 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios **i** do grupo *p*- OCH_2 e são desblindados pela proximidade do heteroátomo O (**Fig. A.2.7**). Um tripleto mais blindado centrado em 1,11 ppm é atribuído aos hidrogênios **l** do grupo CH_3 terminal da cadeia *n*-butila. Um sexteto em 2,04 ppm é atribuído aos hidrogênios **j** do grupo *p*- OCH_2CH_2 . Outro sexteto é atribuído aos hidrogênios **k** do grupo *p*- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, que acoplam com os hidrogênios **j** e **l**.

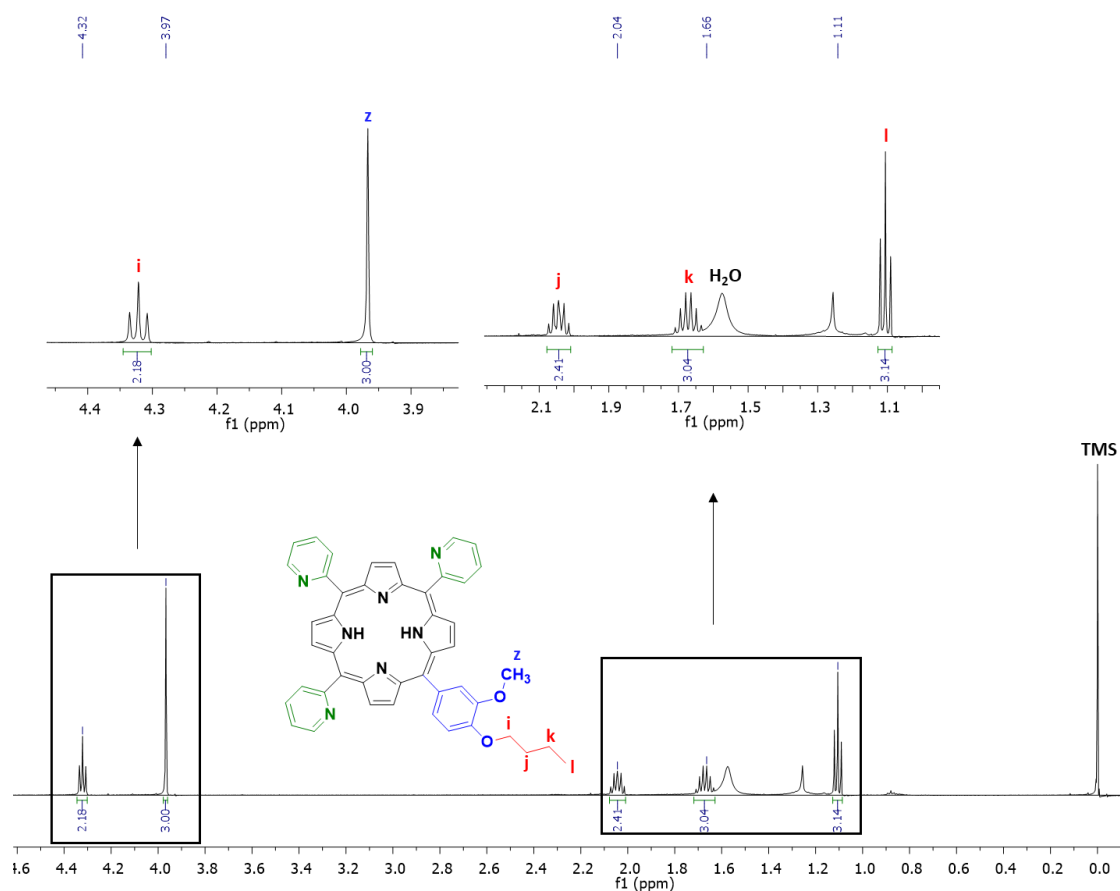


Figura A.2.7 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em CDCl_3 da $\text{H}_2\text{nBuVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS.

5-(3-metoxi-4-*iso*-butoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina ($\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$)

Os espectros de RMN de ^1H 200MHz em CDCl_3 da porfirina $\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$ apresenta muitas semelhanças com $\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$, pois são isômeros de posição.

Hidrogênios β -pirrólicos: A $\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$ apresentou um dubleto em 8,96 ppm correspondente aos dois hidrogênios $\beta 1$ (Fig. A.2.8) mais próximos do grupo *O-iso*-butilvanilina. Um dubleto em 8,82 ppm correspondente aos hidrogênios $\beta 2$, que acoplam ($J = 4,7$ Hz) com os hidrogênios $\beta 1$. Os demais sinais dos hidrogênios $\beta 3$ e $\beta 4$ (8,85 ppm), que são mais próximos dos anéis 2-piridila (Fig. A.2.8). A região em que os hidrogênios $\beta 3$ e $\beta 4$ aparecem em região idêntica (8,85 ppm) aos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina $\text{A}_4 \text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (SARI *et al.*, 1990; KAMP; SMITH, 1996).

Hidrogênios arilas do grupos 2-piridila: Os hidrogênios **b/b'** (posição 6 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,13 ppm (SARI *et al.*, 1990). Os hidrogênios **c/c'** (posição 3 do piridila) aparecem na região 8,11-8,07 ppm. Os hidrogênios **d/d'** (posição 4 do piridila) aparecem na região entre 8,20-8,25 ppm (Fig. A.2.8). Os hidrogênios **g/g'**

(posição 5 do piridila) aparecem sobrepostos com os sinais dos hidrogênios do grupo *O*-iso-butilvanilina, de 7,78-7,68 ppm.

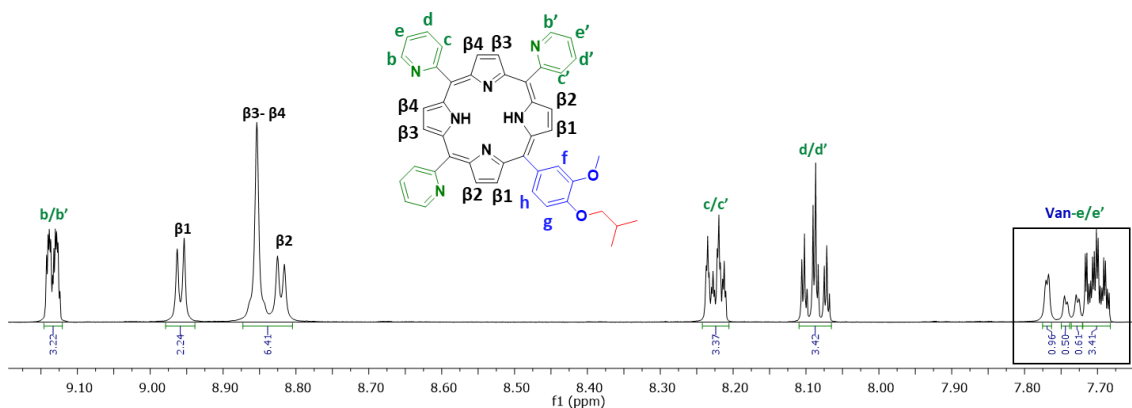


Figura A.2.8 – Espectro de RMN de ¹H (200 MHz) da H₂iBuVanTri-2-PyP registrado em CDCl₃ na região dos hidrogênios aromáticos.

Hidrogênios arila do grupo *O*-i-butilvanilina: Os sinais dos hidrogênios dos anéis fenila aparecem na região entre 7,78-7,68 ppm. Eles estão muito sobrepostos para serem atribuídos (Fig. A.2.8).

Hidrogênios *N*-pirrólicos (H internos): Não foi realizada a aquisição do espectro na região abaixo de δ0,00 durante a análise.

Hidrogênios alcoxilas: A presença de um singlete em 3,97 ppm **z** é atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo *m*-OCH₃ da vanilina. Um dubleto centrado em 4,08 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios **i** do grupo *p*-OCH₂ e são desblindados pela proximidade do heteroátomo O (Fig. A.2.9). Dois singletos mais blindados centrados em 1,21 ppm são atribuído aos hidrogênios **k/k'** dos grupos CH₃ terminais da cadeia *i*-butila. Um septeto em 2,39 ppm é atribuído ao hidrogênio **j**, que acopla com os hidrogênios **k/k'** (Fig. A.2.9).

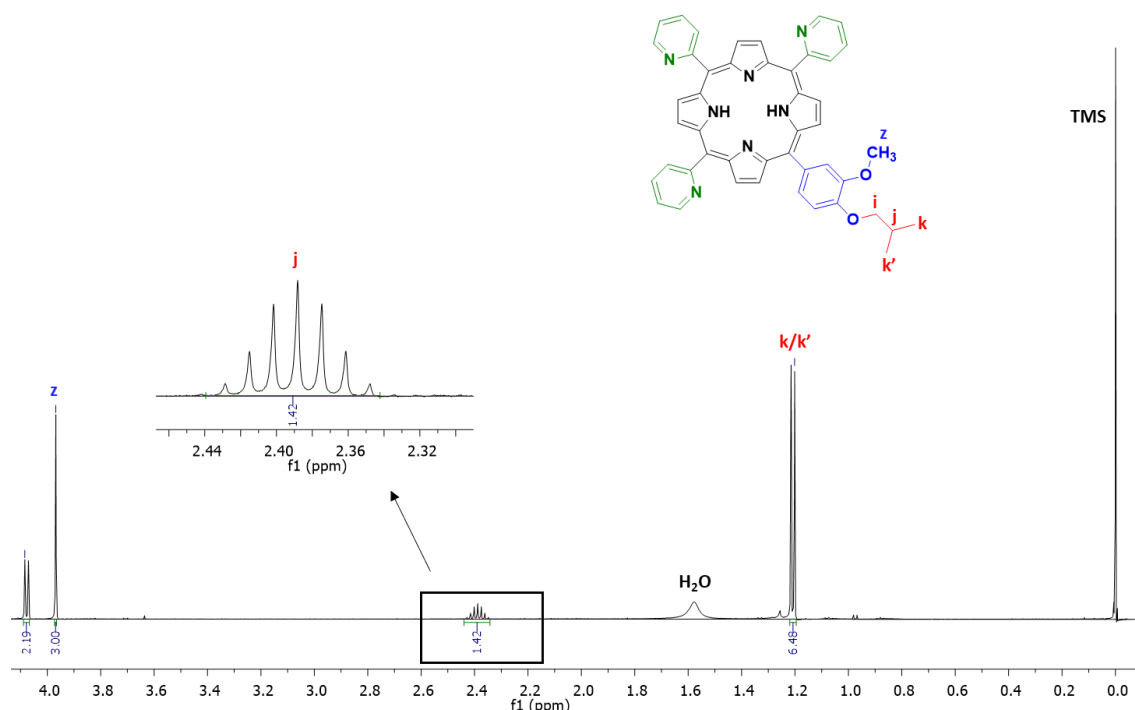


Figura A.2.9 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) em CDCl_3 da $\text{H}_2\text{iBuVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS.

5-(3-metoxi-4-*n*-hexiloxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina ($\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$)

Os dados de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ corroboraram com o que foi apresentado até agora para as porfirinas de do tipo A_3B .

Hidrogênios β -pirrólicos: A $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ apresentou um dubleto em 8,96 ppm correspondente aos dois hidrogênios $\beta 1$ (Fig. A.2.10) mais próximos do grupo *O*-*n*-hexilvanilina. Os demais sinais dos hidrogênios $\beta 2$, $\beta 3$ e $\beta 4$ (8,78-8,88 ppm) aparecem como sinais sobrepostos (Fig. A.2.10).

Hidrogênios arilas do grupo 2-piridila: Os hidrogênios b/b' (posição 6 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,08 ppm. Os hidrogênios c/c' (posição 3 do piridila) estão presentes em 8,27 ppm e acoplam ($J = 7,5$ Hz) com os hidrogênios d/d' (posição 4 do piridila), que estão presentes em 8,34 ppm (Fig. A.2.10). Os hidrogênios e/e' (posição 5 do piridila) são sinais em 7,87 ppm.

Hidrogênios arila do grupo *O*-*n*-hexilvanilina: Os sinais dos hidrogênios dos anéis fenila aparecem na região entre 7,78-7,68 ppm. Eles estão muito sobrepostos para serem atribuídos (Fig. A.2.10).

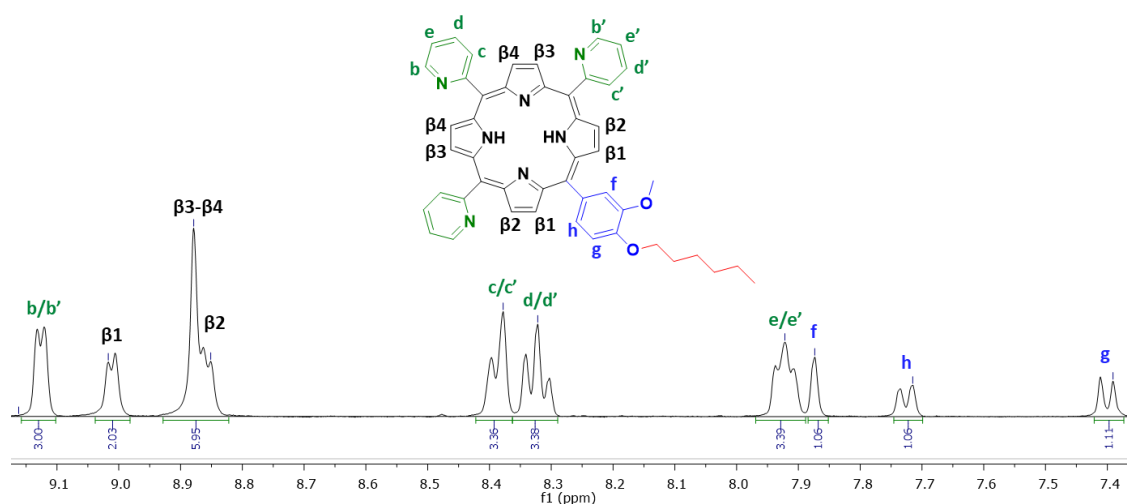


Figura A.2.10 – Espectro RMN de ^1H de 400 MHz da $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ registrado em d^6 -DMSO na região dos hidrogênios aromáticos.

Hidrogênios N-pirrólicos (H internos): um singlete próximo a $-2,97$ ppm na região correspondente aos hidrogênios NH pirrólicos **a** internos da porfirina, que é o sinal mais blindado das porfirinas (**Figura A.2.11**) (LITTLE *et al.*, 1975; SARI *et al.*, 1990).

Hidrogênios alcóxilas: A presença de um singlete em $3,87$ ppm **z** é atribuído aos hidrogênios do grupo $m\text{-OCH}_3$ da vanilina. Um tripleto centrado em $4,08$ ppm pode ser atribuído aos hidrogênios **i** do grupo $p\text{-OCH}_2$ e são desblindados pela proximidade do heteroátomo O (**Fig. A.2.11**). Um tripleto mais blindado centrado em $0,99$ ppm é atribuído aos hidrogênios **n** do grupo CH_3 terminal da cadeia n -hexila. Os hidrogênios **j** correspondem ao sinal de um quinteto em $1,94$ ppm. Os hidrogênios **k** correspondem ao sinal em $1,59$ ppm. Os sinais em $1,45$ ppm correspondem aos demais hidrogênios **l-m** da cadeia alquílica, que estão sobrepostos.

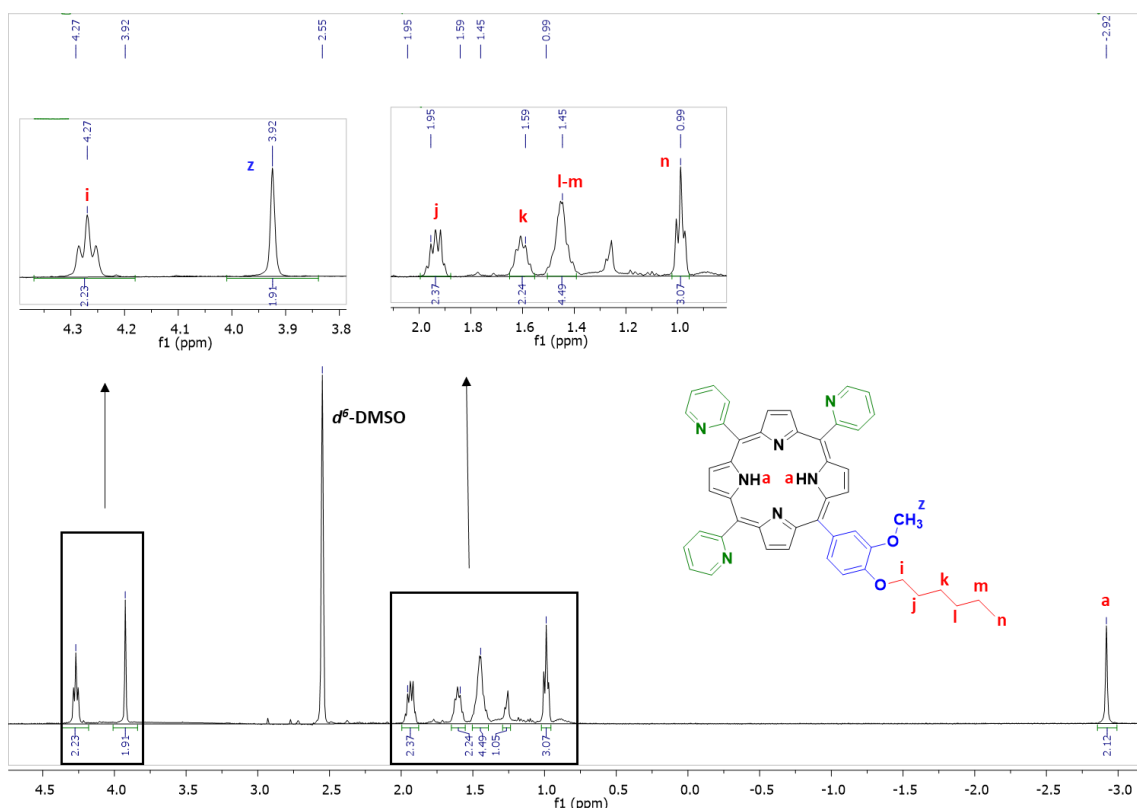


Figura A.2.11 – Espectro RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $\text{H}_2\text{nHexVanTri-2-PyP}$ na região próxima ao TMS, registrado com supressão do sinal de água residual.

5-(3-metoxi-4-*n*-noniloxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina ($\text{H}_2\text{nNonVanTri-2-PyP}$)

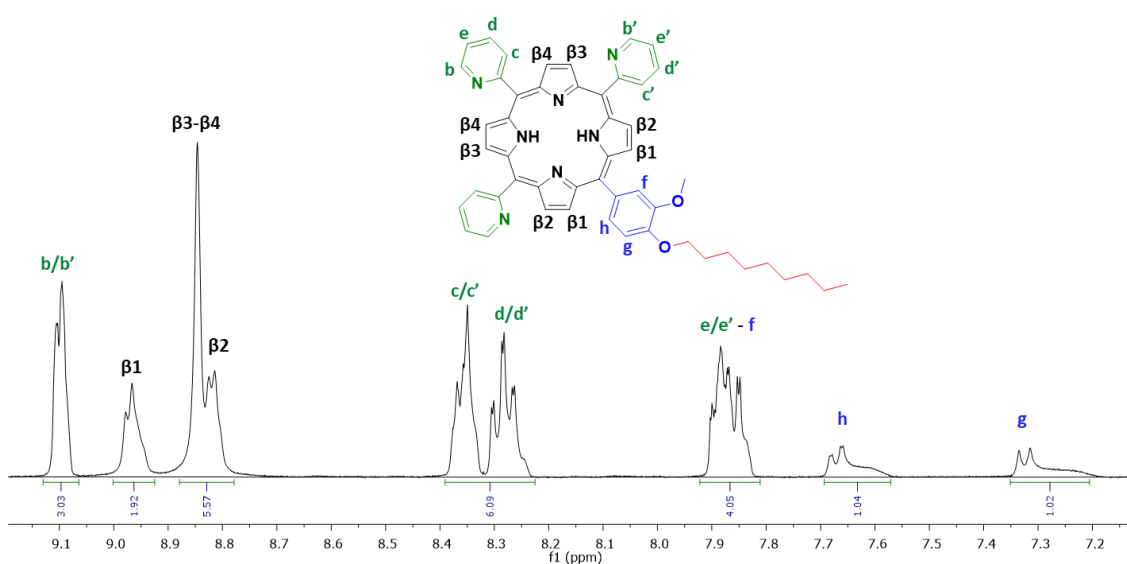


Figura A.2.12 – Espectro RMN de ^1H (400 MHz) em d^6 -DMSO da $\text{H}_2\text{nNonVanTri-2-PyP}$ na região dos aromáticos.

Hidrogênios β -pirrólicos: A $\text{H}_2\text{nNonVanTri-2-PyP}$ apresentou um duplete em 8,97 ppm correspondente aos dois hidrogênios $\beta 1$ (Fig. A.2.10) mais próximos do grupo *O-n*-

nonilvanilina. Os demais sinais dos hidrogênios $\beta 2$, $\beta 3$ e $\beta 4$ (8,78-8,88 ppm) aparecem como sinais sobrepostos (**Fig. A.2.10**).

Hidrogênios arilas do grupos 2-piridila: Os hidrogênios **b/b'** (posição 6 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,10 ppm. Os hidrogênios **c/c'** (posição 3 do piridila) e **d/d'** (posição 4 do piridila) estão presentes na região entre 8,21-8,40 ppm. Os hidrogênios **e/e'** (posição 5 do piridila) são sinais em 7,92 ppm (**Fig. A.2.12**).

Hidrogênios N-pirrólicos (H internos): um singlete próximo a -2,95 ppm na região correspondente aos hidrogênios NH pirrólicos **a** internos da porfirina, que é o sinal mais blindado das porfirinas (**Figura A.2.13**) (LITTLE *et al.*, 1975; SARI *et al.*, 1990).

Hidrogênios alcoxilas: A presença de um singlete em 3,87 ppm **z** é atribuído aos hidrogênios do grupo *m*-OCH₃ da vanilina. Um tripleto centrado em 4,20 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios **i** do grupo *p*-OCH₂ e são desblindados pela proximidade do heteroátomo O (**Fig. A.2.11**). Um tripleto mais blindado centrado em 0,89 ppm é atribuído aos hidrogênios **q** do grupo CH₃ terminal da cadeia *n*-nonila. Os hidrogênios **j** correspondem ao sinal de um quinteto em 1,87 ppm. Os hidrogênios **k** correspondem ao sinal em 1,54 ppm. Os sinais entre 1,20-1,50 ppm correspondem aos demais hidrogênios **l-p** da cadeia alquílica, que estão sobrepostos.

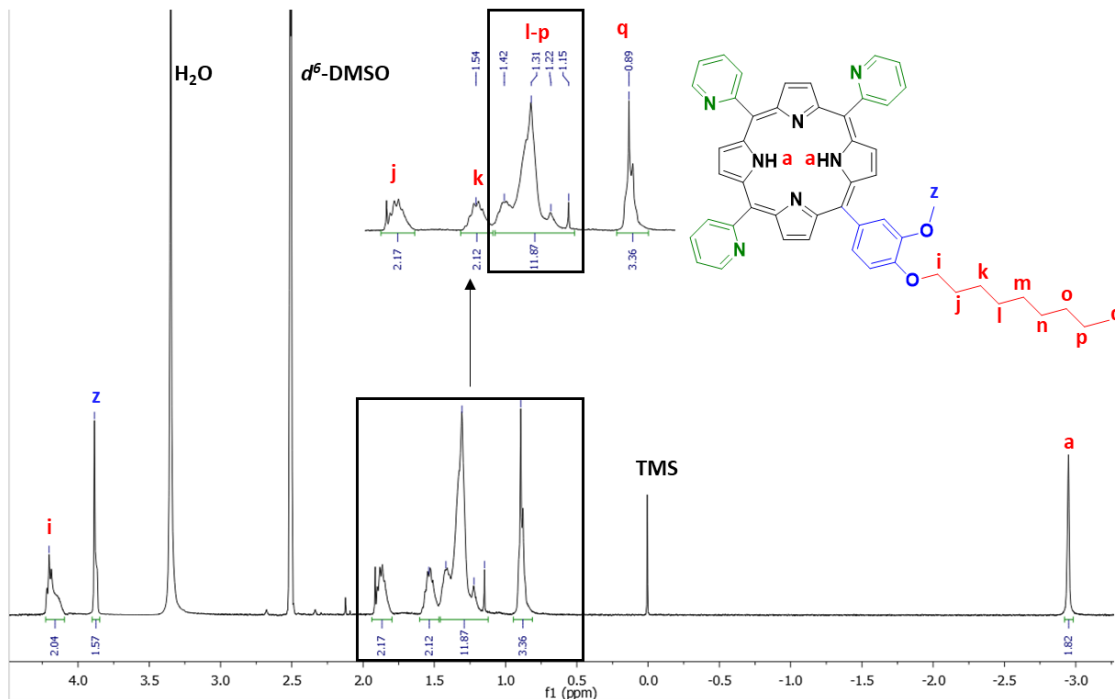


Figura A.2.13 - Espectro RMN de ¹H (400 MHz) em *d*⁶-DMSO da H₂*n*NonVanTri-2-PyP na região próxima ao TMS.

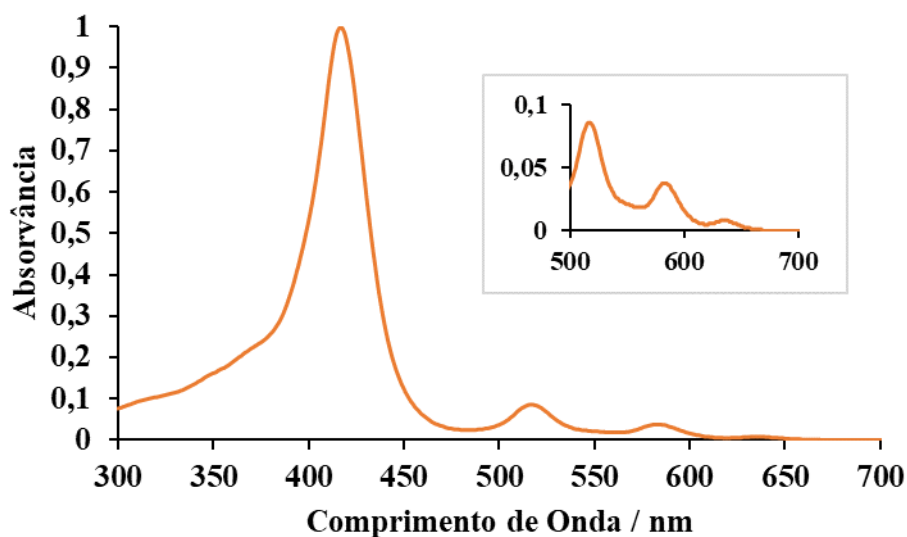
Apêndice B - Caracterizações das porfirinas do tipo $[A_3B]^{3+}$ **B.1 Espectros eletrônicos UV-vis das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$** 

Figura B.1.1 – Espectros UV-vis da $H_2VanTriM-2PyP^{3+}$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas Q.

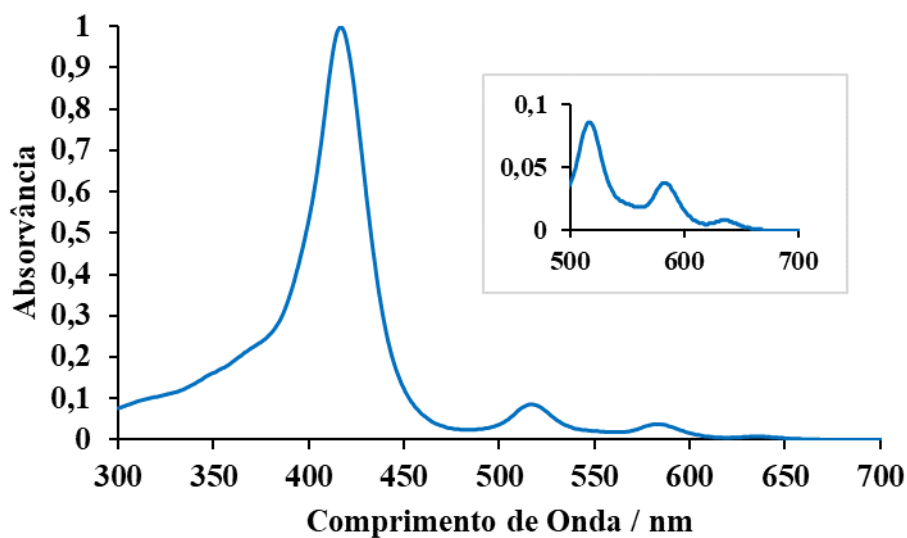


Figura B.1.2 – Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas Q.

B.2 RMN de ^1H das porfirinas catiônicas do tipo $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$

Cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirina:
($\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$):

Hidrogênios β -pirrólicos: O deslocamento dos sinais associados aos hidrogênios $\beta 2$, $\beta 3$ e $\beta 4$ resultou em sobreposição parcial com os hidrogênios $\beta 1$. Essa sobreposição, associada à presença de uma mistura de atropoisômeros, originou um conjunto complexo de sinais rotulados genericamente como β^* (Fig. B.2.1).

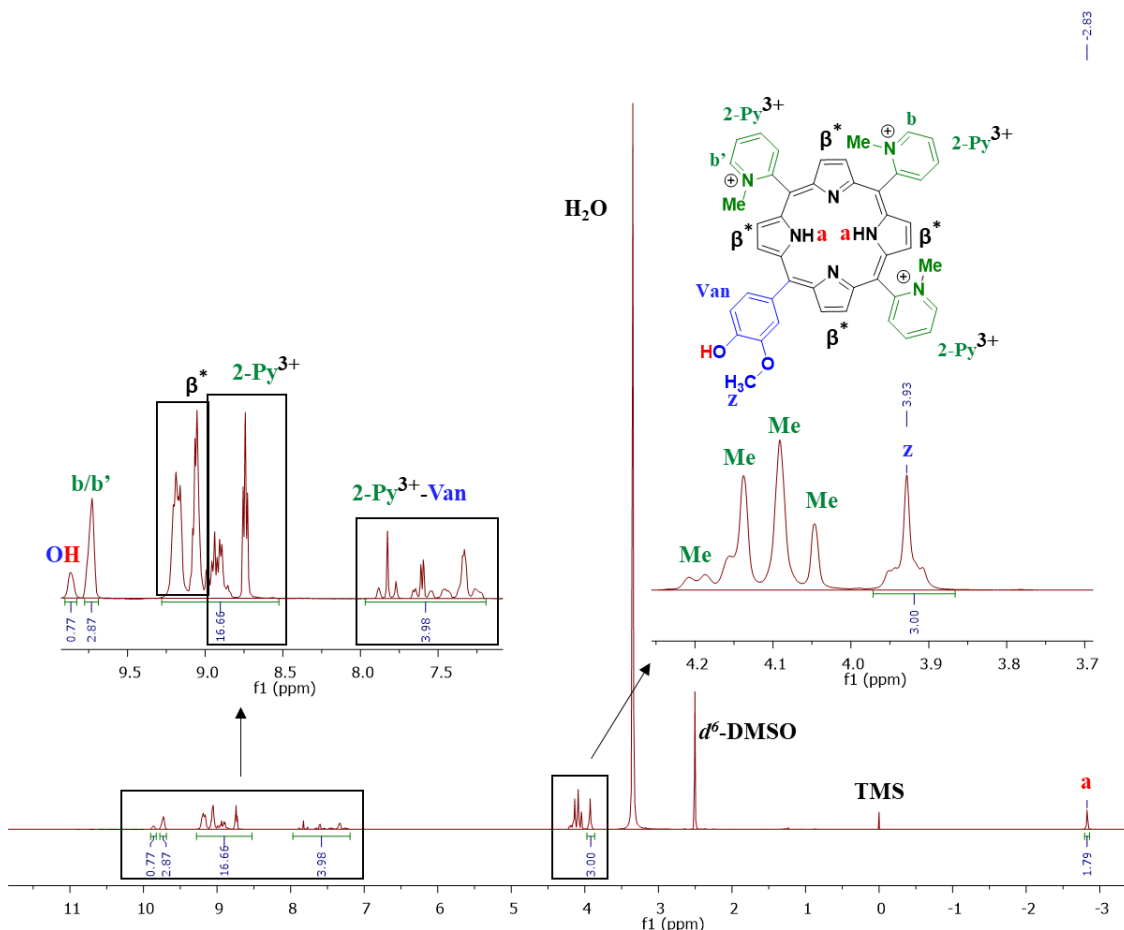


Figura B.2.1 - Espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (500 MHz; d^6 -DMSO) na região dos sinais aromáticos. β^* = β -pirrólicos; 2-Py $^{3+}$ /Me = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas; b/b' = posições 6 do 2-Py/2-Py $^{3+}$ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.

Hidrogênios aromáticos dos grupos meso-arila: Os sinais dos hidrogênios aromáticos meso-arilas (grupos 2-*N*-metilpiridínio vanilina) aparecem entre 7,20 e 9,73 ppm. As atribuições da maioria dos sinais dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-*N*-metilpiridínio não foram possíveis em virtude da mistura de atropoisômeros resultantes da metilação. O sinal em 9,73 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios b/b' (Fig. B.2.1). Os sinais dos

hidrogênios aromáticos do grupo vanilina (**Van**), que estão presentes na região entre 7,20 ppm e 7,90 ppm, não puderam ser atribuídos de forma individual, mas aparecerem em uma região semelhante aos sinais do grupo fenila da $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ (SARI *et al.*, 1990).

Hidrogênios *N*-pirrólicos (NH) e OH: Os hidrogênios NH-pirrólicos α^* são um singlete em -2,83 ppm (**Fig. B.2.1**).

Hidrogênios alifáticos dos grupos alcóxilas e 2-*N*-metilpiridínio: O singlete em 3,93 ppm correspondente ao grupo *m*-OCH₃ (**z**; **Fig. B.2.1**) da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$. Os sinais dos hidrogênios **Me** dos grupos 2-*N*-metilpiridínio aparecem na região entre 3,95 e 4,25 ppm (**Fig. B.2.2**); os hidrogênios metilas dos grupos 2-*N*-metilpiridínio aparecem como um conjunto de sinais devido à mistura de atropoisômeros (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007).

Cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina: ($H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$):

Hidrogênios β -pirrólicos: As características dos hidrogênios β^* da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ é idêntica à observada para a $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**Fig. B.2.2**).

Hidrogênios aromáticos dos grupos meso-arila: Os sinais dos hidrogênios aromáticos meso-arilas (grupos 2-*N*-metilpiridínio metilvanilina) aparecem entre 7,20 e 9,73 ppm. As atribuições da maioria dos sinais dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-*N*-metilpiridínio não foram possíveis em virtude da mistura de atropoisômeros resultantes da metilação. O sinal em 9,73 ppm pode ser atribuído aos hidrogênios **b/b'** (**Fig. B.2.2**). Os sinais dos hidrogênios aromáticos do grupo vanilina (**Van**), que estão presentes na região entre 7,20 ppm e 7,90 ppm, não puderam ser atribuídos de forma individual, mas aparecerem em uma região semelhante aos sinais do grupo fenila da $H_2PhTriM-2-PyP^{3+}$ (SARI *et al.*, 1990).

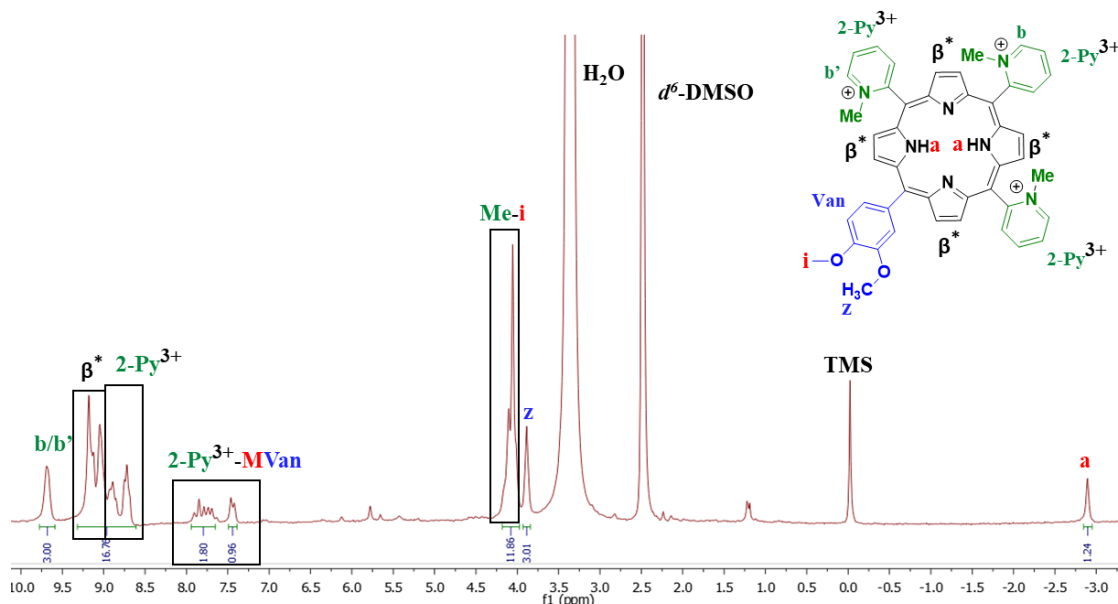


Figura B.2.2 - Espectro de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (200 MHz; $d^6\text{-DMSO}$) na região dos sinais aromáticos. β^* = β -pirrólicos; $2\text{-Py}^{3+}/\text{Me}$ = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas; b/b' = posições 6 do $2\text{-Py}/2\text{-Py}^{3+}$ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.

Hidrogênios *N*-pirrólicos (NH): Os hidrogênios NH-pirrólicos (a^*) da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ estão presentes em para $-2,85$ ppm (**Fig. B.2.2**).

Hidrogênios alifáticos dos grupos alcóxilas e 2-*N*-metilpiridínio: O singlete em 3,91 ppm correspondente ao grupo $m\text{-OCH}_3$ (z ; **Fig. 2.32**) da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$. O sinal atribuído aos hidrogênios do grupo $p\text{-OCH}_3$ i se sobrepuseram com os sinais dos hidrogênios Me dos grupos 2-*N*-metilpiridínio na região de 3,97 e 4,17 ppm (**Fig. B.2.2**); os hidrogênios metilas dos grupos 2-*N*-metilpiridínio aparecem como um conjunto de sinais devido à mistura de atropoisômeros (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007).

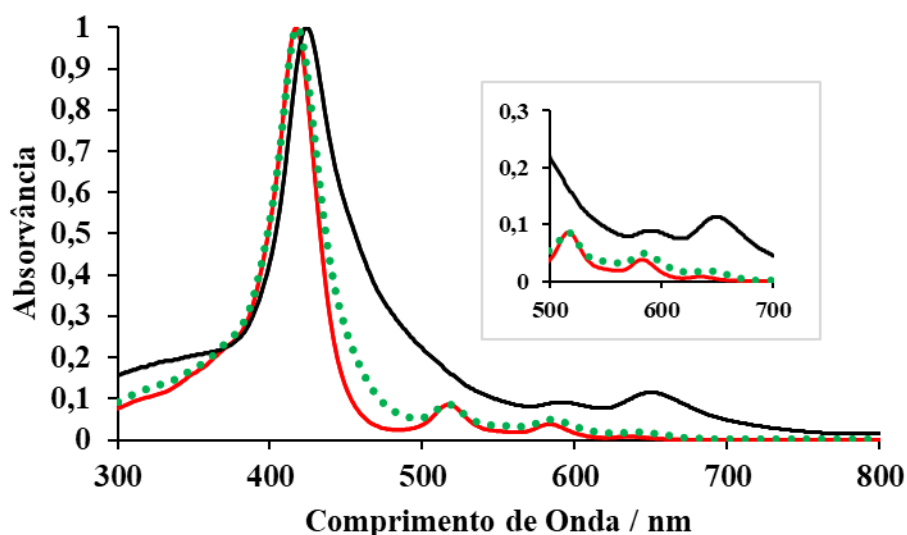
B.3 Estudos iniciais da acidez das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$ 

Figura B.3.1 – Espectros UV-vis normalizados da $H_2VanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em H_2O (linha vermelha), HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pontilhado verde) e HCl 1 mol L^{-1} (linha preta). A expansão compreende às bandas Q.

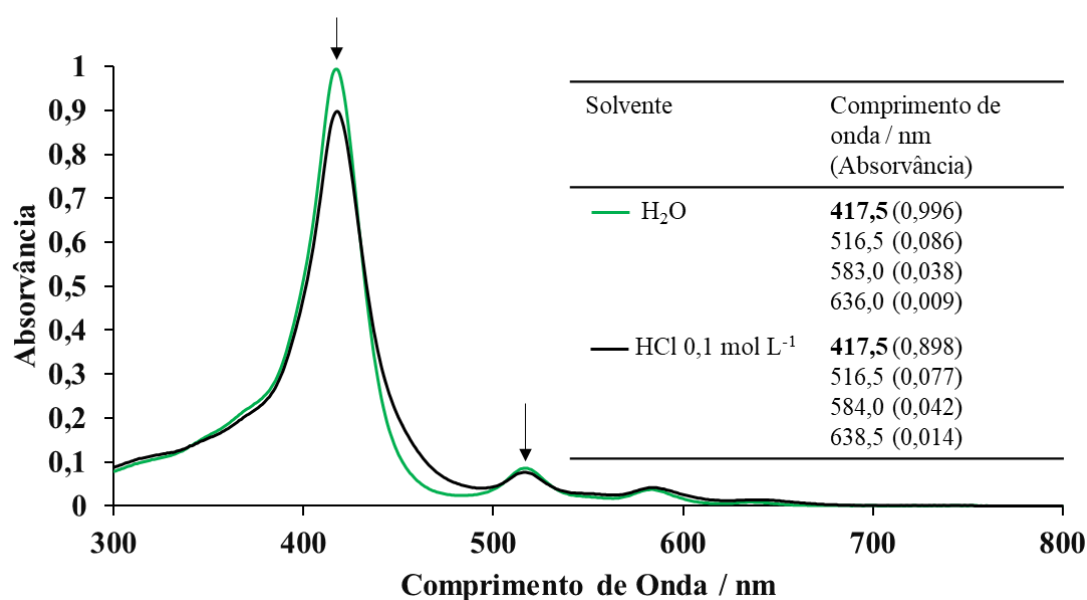


Figura B.3.2 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em H_2O (linha verde) e HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (linha preta). A tabela corresponde aos valores das bandas.

Comparando-se os espectros em H_2O e em HCl 1 mol L^{-1} (concentração de porfirina em $\sim 5,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), pode-se verificar que a relação entre as absorvâncias em HCl 1 mol L^{-1} e H_2O é de 0,7 (**Figura B.3.2**). Esse dado contribui para se ter uma estimativa o coeficiente de absortividade molar da espécie protonada.

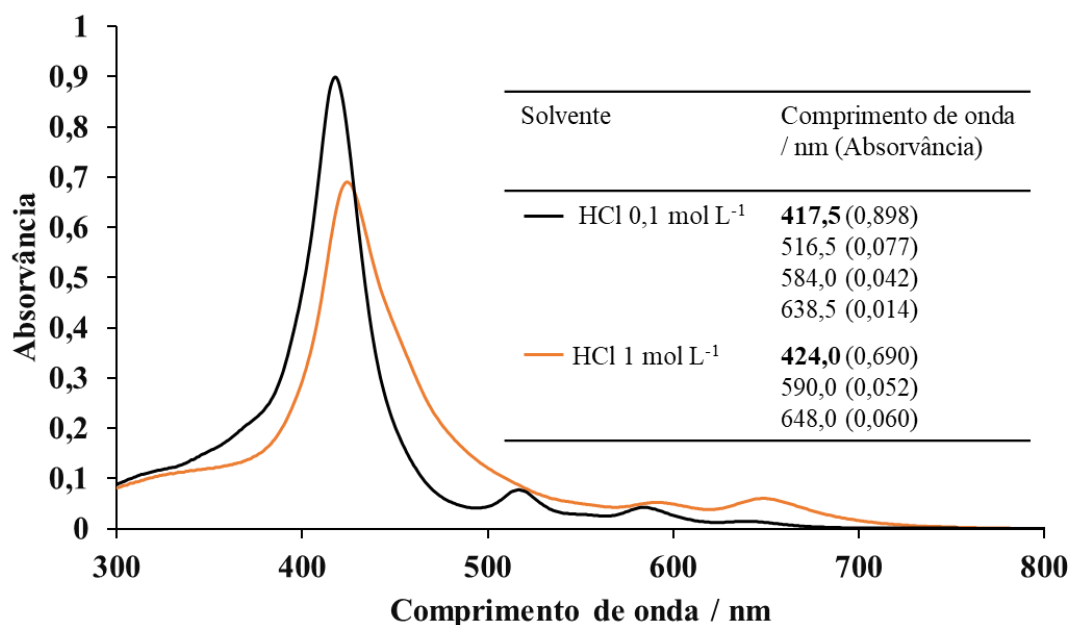


Figura B.3.3 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em H_2O (linha preta) e HCl 1 mol L^{-1} (linha laranja). A tabela corresponde aos valores das bandas.

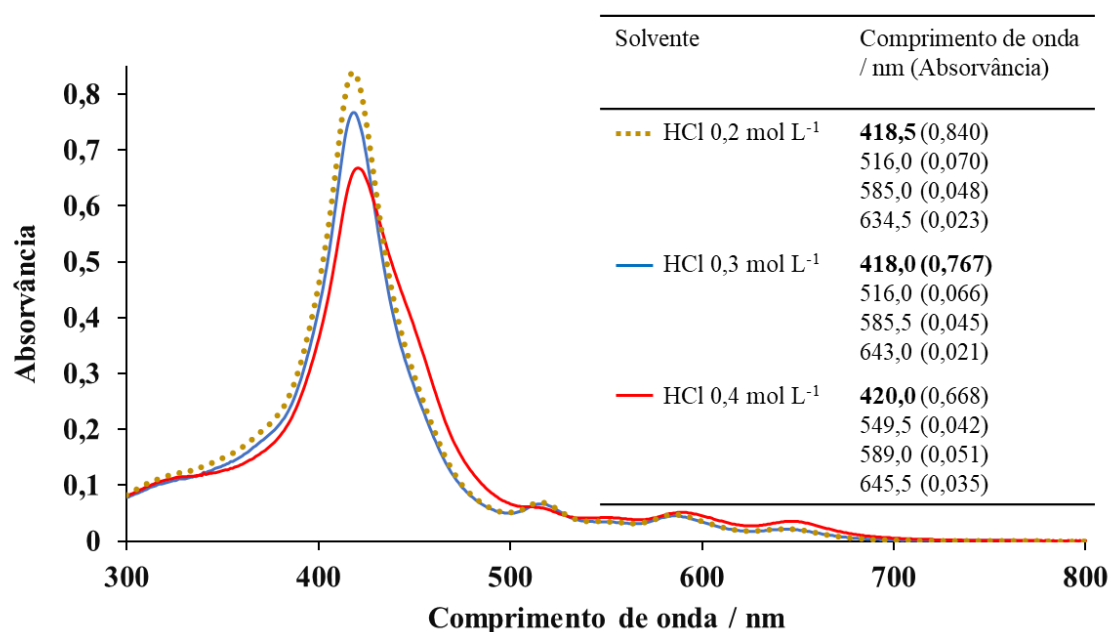


Figura B.3.4 - Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em HCl 0,2 mol L^{-1} (pontilhado dourado), HCl 0,3 mol L^{-1} (linha azul) e HCl 0,4 mol L^{-1} (linha vermelha). A tabela corresponde aos valores das bandas.

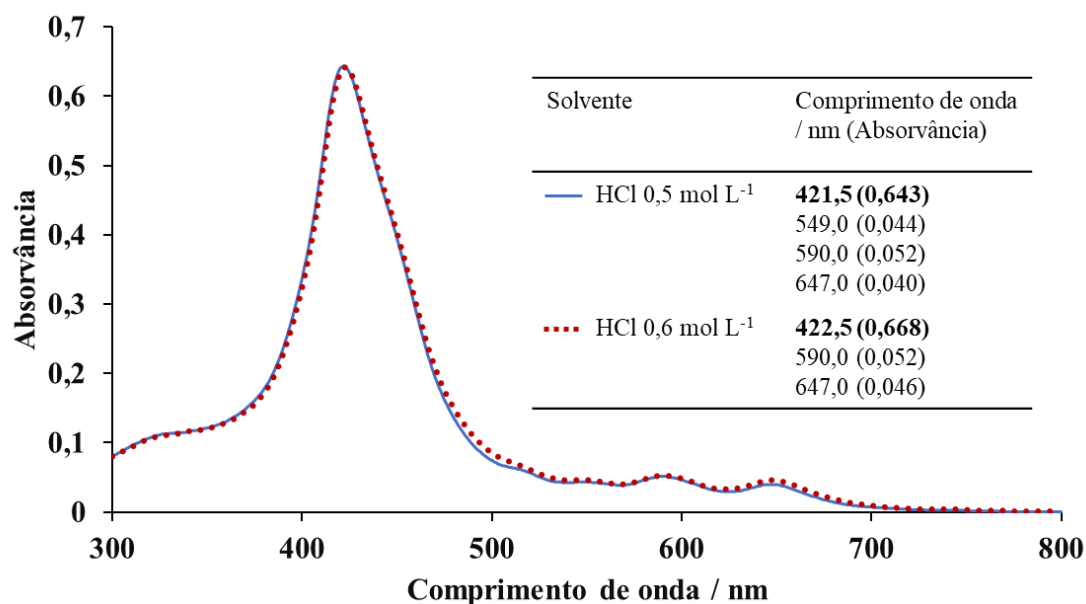


Figura B.3.5 - Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em HCl 0,5 mol L⁻¹ (linha azul) e HCl 0,6 mol L⁻¹ (pontilhado vermelho). A tabela corresponde aos valores das bandas.

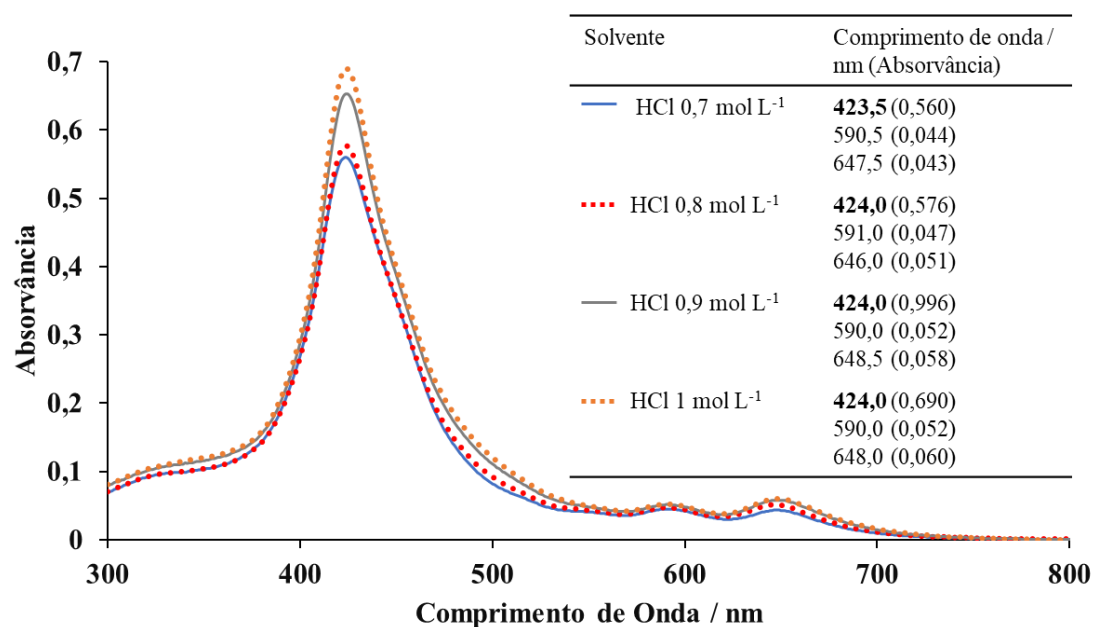


Figura B.3.6 - Espectros UV-vis da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2PyP}^{3+}$ (concentração de $\sim 5,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) registrados em HCl 0,7 mol L⁻¹ (linha azul), HCl 0,8 mol L⁻¹ (pontilhado vermelho), HCl 0,9 mol L⁻¹ (linha cinza) e HCl 1 mol L⁻¹ (pontilhado laranja). A tabela corresponde aos valores das bandas.

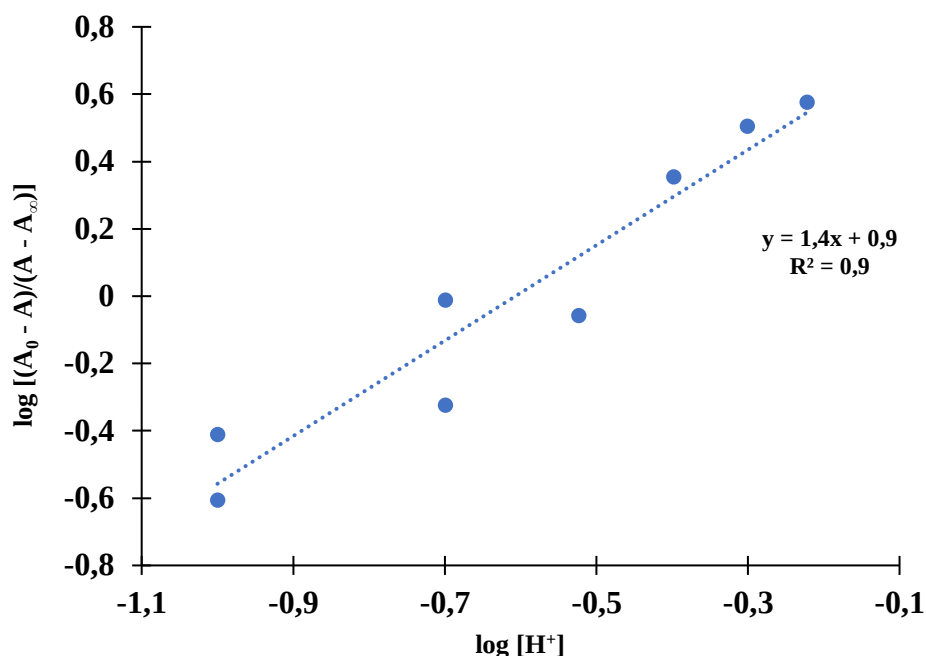


Figura B.3.7 – Estimativa rudimentar do pK_{a3} da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ utilizando o método gráfico de Benesi-Hildebrand a partir de dados espectrofotométricos no comprimento de onda 417 nm e concentração de HCl de 0 a 0,6 mol L⁻¹. O coeficiente linear da linearização corresponde ao valor de pK_a .

B.4 Curvas de TGA/DSC das porfirinas catiônicas do tipo $[A_3B]^{3+}$

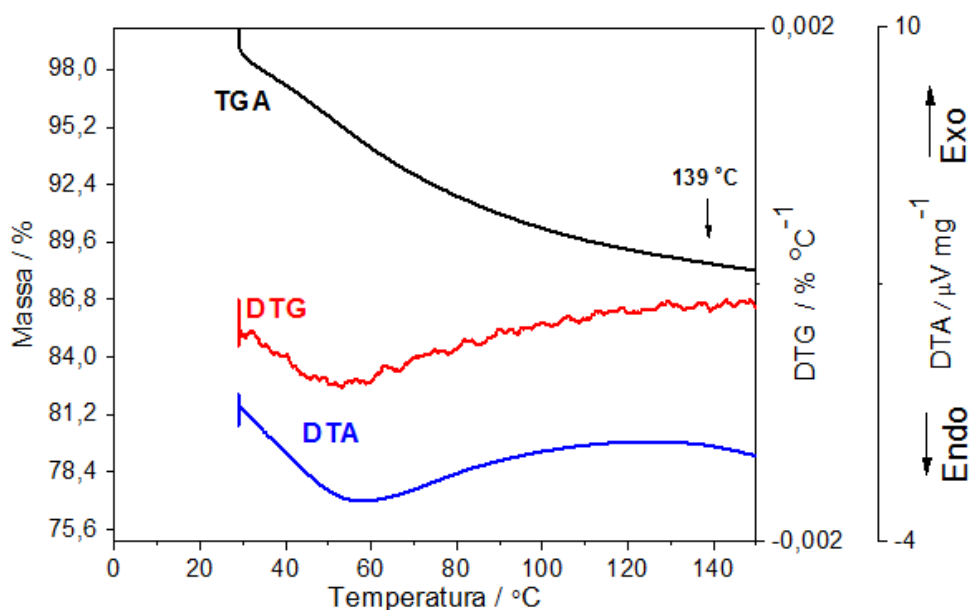


Figura B.4.1 – TGA, DTG, DTA da $H_2VanTriM-2-PyPCL_3 \cdot 6H_2O$.

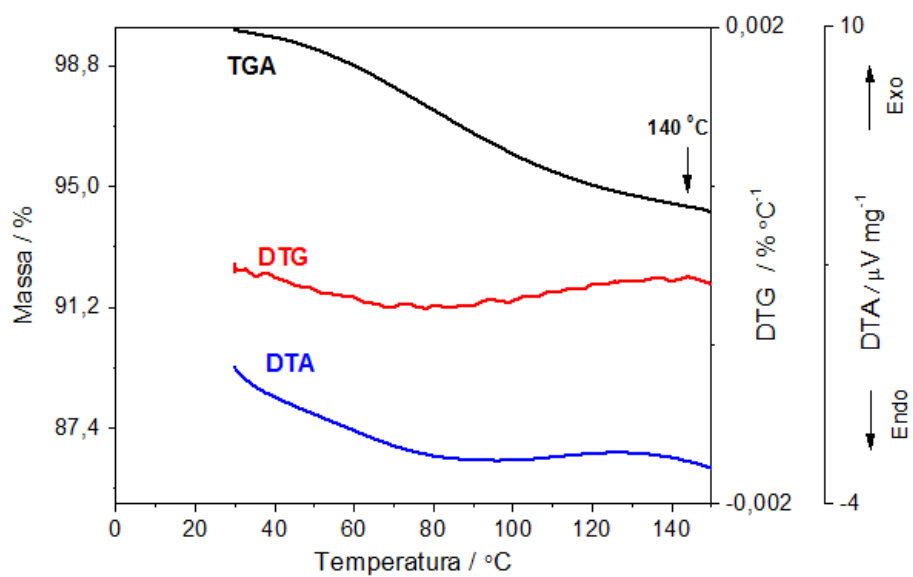


Figura B.4.2 - TGA, DTG, DTA da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyPCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Apêndice C - Caracterizações das Mn-porfirinas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$

C.1 Espectros eletrônicos UV-vis comparativos das Mn-porfirinas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$

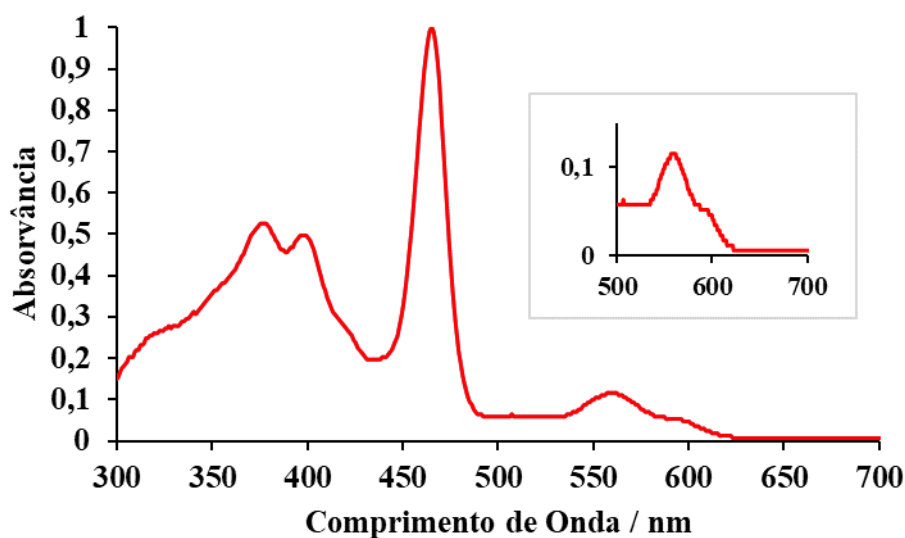


Figura C.1.1 – Espectro UV-vis normalizado da $MnnPrVanTri-2PyP^+$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas α e β .

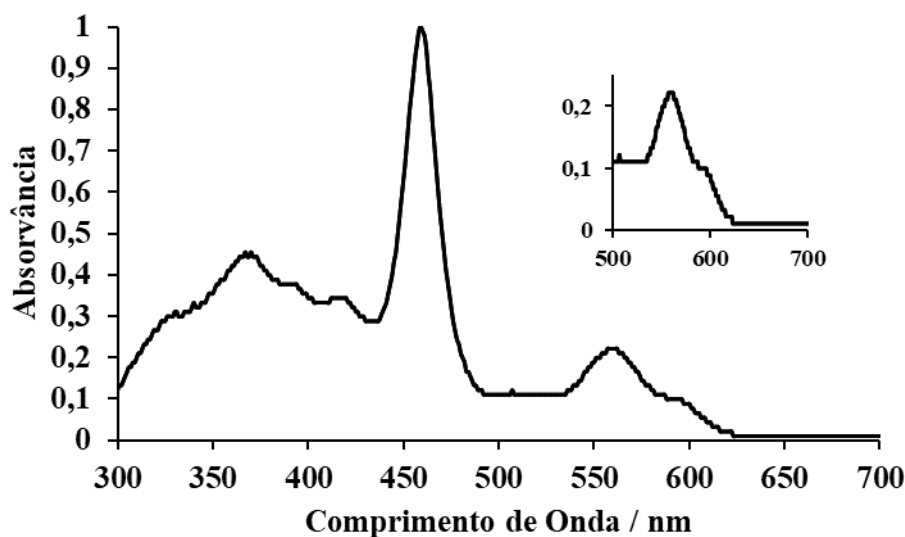


Figura C.1.2 – Espectro UV-vis normalizado da amostra de $MnnPrVanTriM-2PyP^{4+}$ contendo traços de base-livre registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas α e β .

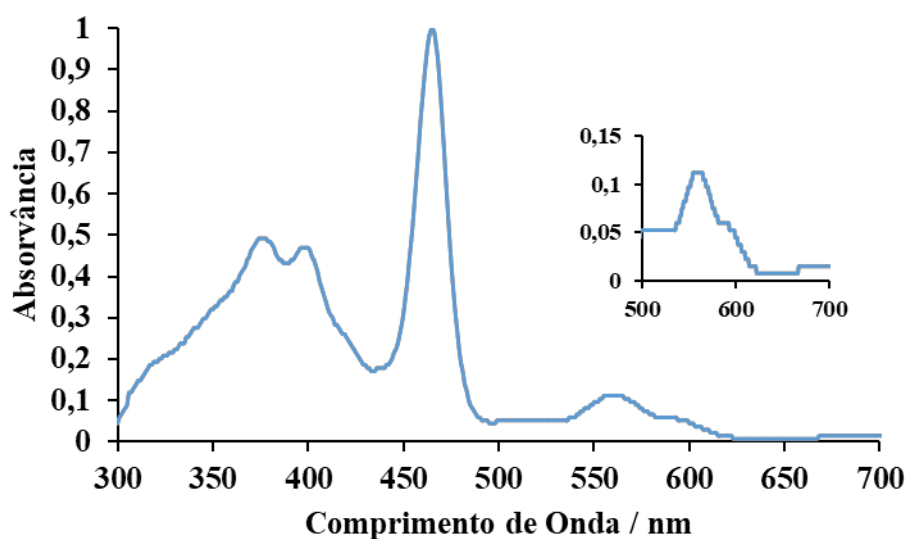


Figura C.1.3 – Espectro UV-vis normalizado da $\text{MnHexVanTri-2PyP}^+$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas α e β .

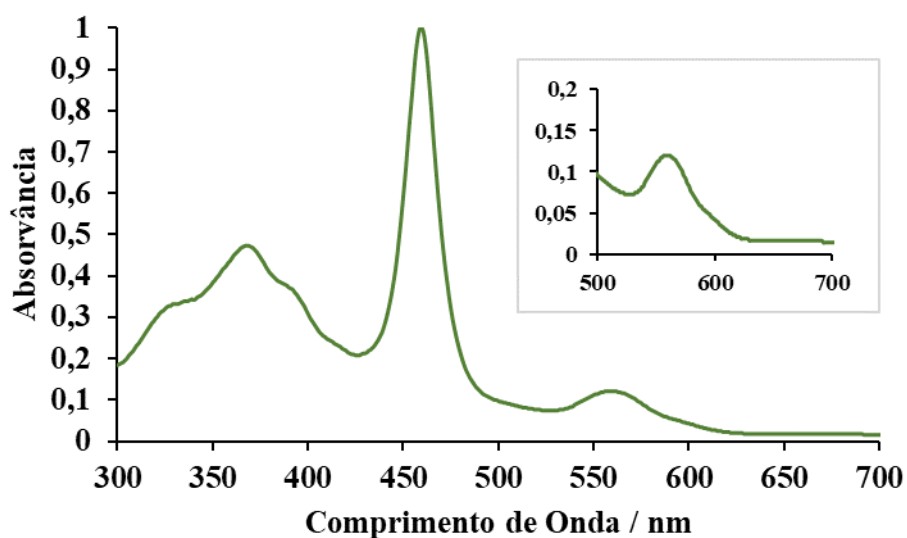


Figura C.1.4 – Espectro UV-vis normalizado da $\text{MnHexVanTriM-2PyP}^{4+}$ registrado em H_2O . A expansão compreende às bandas α e β .

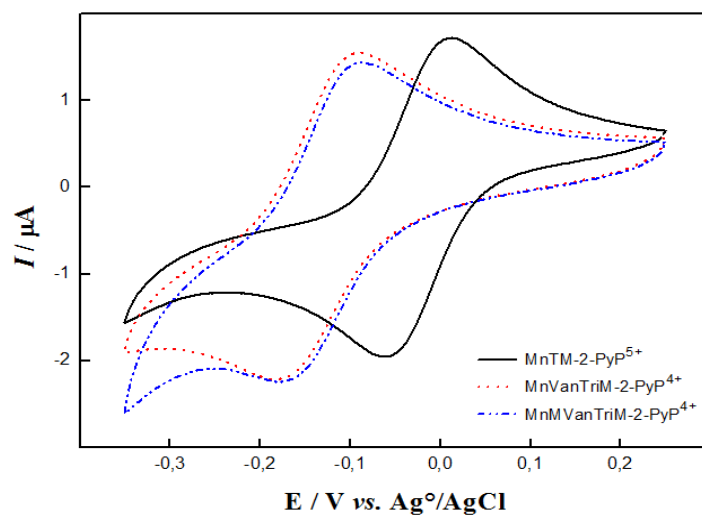
C.2 Voltametria Cíclica das Mn-porfirinas do tipo $[MnA_3B]^{4+}$ 

Figura C.2.1 - Voltamogramas cíclicos das MnPs $MnVanTriM-2-PyP^{4+}$, $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$ e do padrão $MnTM-2-PyP^{5+}$ obtidos em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato ($pH = 7,8$), $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $NaCl$, $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de $MnTM-2-PyP^{5+}$ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,35 a 0,25 V vs. $Ag^{\circ}/AgCl$ a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

C.3 Dados da atividade SOD da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTri-2-PyP⁴⁺

O teste do urato foi realizado para verificar se o sistema X/XO estava gerando O₂^{•-} de maneira adequada, sem inibição provocada pelos compostos testados. Ele consistiu na determinação da taxa de conversão de xantina em urato, acompanhado por UV-vis em 220 nm (MCCORD; FRIDOVICH, 1969). Uma vez verificada que a formação de urato estava ocorrendo na velocidade adequada (**Figura C.3.1a**), foram feitos testes de adição da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ ou MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺, para verificar se as MnPs inibiriam a XO e consequentemente produção de O₂^{•-} (220 nm). Ambas as MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ não afetaram de maneira significativa a curva de formação de urato na produção de O₂^{•-} (**Figura C.3.1b**).

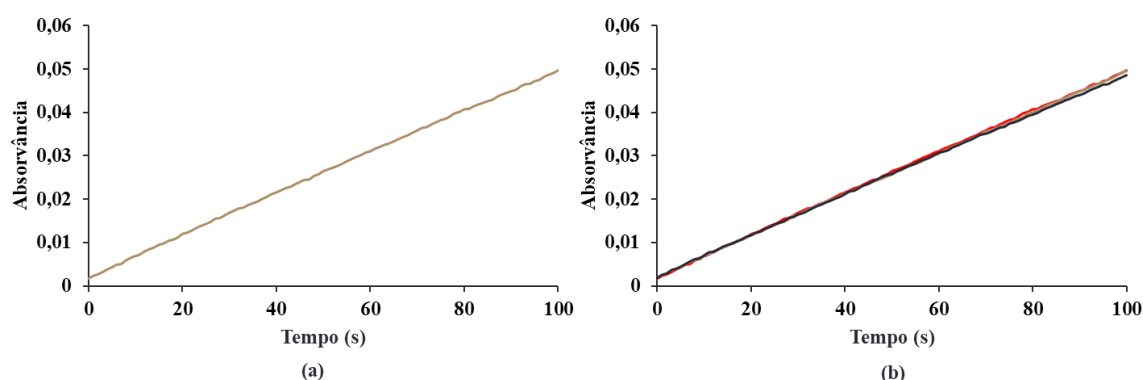


Figura C.3.1 - Representação dos dados obtidos nos testes do urato (295 nm), como medida indireta de geração de O₂^{•-}, nos experimentos para determinação da atividade SOD. (a) Reação de formação de urato em função do tempo e (b) formação de urato na presença de 1 $\mu\text{mmol L}^{-1}$ de MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ ou MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺, demonstrando não haver inibição do sistema gerador de O₂^{•-}.

O íon radical O₂^{•-} produzido pelo sistema X/XO reduz o centro metálico Fe(III) do citocromo *c* (Fe^{III}-cit *c*) a Fe(II) (Fe^{II}-cit *c*) em uma reação acompanhada espectrofotometricamente no comprimento de onda de 550 nm, sendo a curva associada à redução do FeIII-Citc para FeII-citc registrada durante 100 s (**Fig. C.3.2a**). A presença da MnTE-2-PyP⁵⁺, MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ ou MnMVanTri-2-PyP⁴⁺ no sistema remove o íon superóxido do meio, via dismutação, resultando na diminuição progressiva da inclinação da curva à medida que a concentração de MnP é aumentada (**Fig. C.3.2b**). A constante de velocidade k_{cat} é calculada a partir da inclinação do gráfico correlacionando a grandeza $(v_0/v_i - 1)$ versus a concentração do mímico, onde v_0 é a velocidade inicial da

reação não inibida e v_i são as velocidades iniciais das reações na presença de variadas concentrações da MnP.

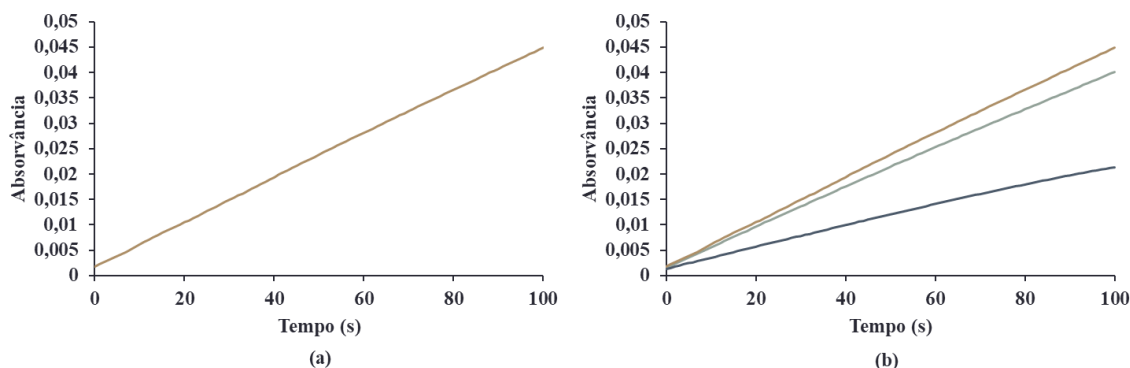


Figura C.3.2 - Representação dos dados obtidos no acompanhamento da reação de redução do FeIII-Citc pelo íon $O_2^{\bullet-}$ (550 nm), nos experimentos para determinação da atividade SOD. (a) Reação não-inibida (v_0) (linha marrom) e (b) reação inibida pelas concentrações de $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha cinza) e $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha preta) da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (v_i), por exemplo.

Determinou-se a atividade SOD (k_{cat}) considerando-se o valor da inclinação da reta do gráfico (**Figs. C.3.3 e C.3.4**), a concentração de Fe^{III}-cit c (fixa em $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em todos os ensaios) e a constante de velocidade da redução do Fe^{III}-cit c (k_{cit}) por superóxido, que é conhecida neste sistema (MCCORD; FRIDOVICH, 1969; SAWADA; YAMAZAKI, 1973).

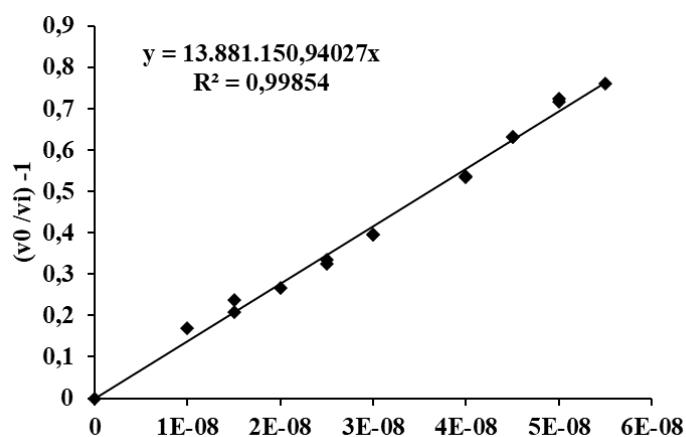


Figura C.3.3 - Gráfico de $(v_0/v_i) - 1$ vs concentração de MnP para o padrão MnTE-2-PyP⁵⁺. Condições: solução tampão de fosfato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,8), xantina $40 \mu\text{mol L}^{-1}$, Fe^{III}-citc ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$), xantina oxidase $\sim 2 \text{ nmol L}^{-1}$, EDTA $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$, 25°C .

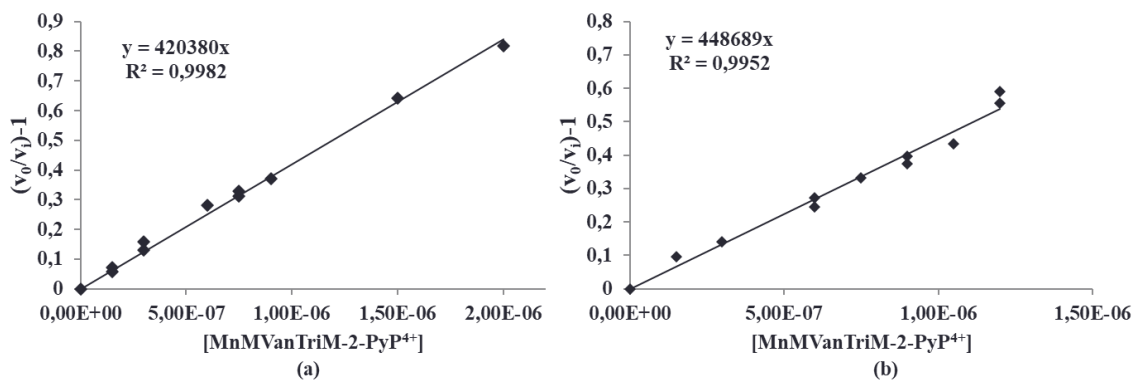


Figura C.3.4 - Gráfico de $(v_0/v_i) - 1$ vs concentração de MnP para (a) MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e (b) MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺. Condições: solução tampão de fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8), xantina 40 μmol L⁻¹, Fe^{III}-citc (10 μmol L⁻¹), xantina oxidase ~ 2 nmol L⁻¹, EDTA 0,1 mmol L⁻¹, 25° C.

Apêndice D – Produção científica

Durante o período do curso de doutorado (2016 – 2021), os estudos no Grupo de Porfirinas Aplicadas a Problemas Químicos, Medicinais e Tecnológicos resultaram em 4 artigos científicos, 3 depósitos de patentes e 1 premiação em evento internacional, conforme listados a seguir (Seções D.1, D.2 e D.3).

D.1 Artigos completos publicados em periódicos

1. SOUZA, T. H. S.; ANDRADE, C. G.; CABRAL, F. V.; **SARMENTO-NETO, J. F.**; REBOUÇAS, J. S.; SANTOS, B. S.; RIBEIRO, M. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; FONTES, A. **Efficient photodynamic inactivation of Leishmania parasites mediated by lipophilic water-soluble Zn(II) porphyrin ZnTnHex-2-PyP4⁺**, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Sub.*, 1865(7): 129897, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129897>.
2. ANDRADE, C. G.; FIGUEIREDO, R.; RIBEIRO, K.; SOUZA, L.; **SARMENTO-NETO, J. F.**; REBOUÇAS, J. S.; SANTOS, B. S.; RIBEIRO, M.; CARVALHO, L.; FONTES, A. **Photodynamic effect of zinc porphyrin on the promastigote and amastigote forms of Leishmania braziliensis**, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 17: 482-490, 2018. <https://doi.org/10.1039/C7PP00458C>.
3. SOUZA, T. H. S.; **SARMENTO-NETO, J. F.**; SOUZA, S. O.; RAPOSO, B. L.; SILVA, B. P.; BORGES, C. P. F.; SANTOS, B. S.; CABRAL FILHO, P. E.; REBOUÇAS, J. S.; FONTES, A. **Advances on Antimicrobial Photodynamic Inactivation Mediated by Zn(II) Porphyrins**, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochemistry Reviews*, 2021, 49, 100454. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2021.100454>.
4. BARBOSA, A. M.; **SARMENTO-NETO, J. F.**; MENEZES FILHO, J. E. R.; JESUS, I. C. G.; SOUZA, D. S.; VASCONCELOS, V. M. N.; GOMES, F. D. L.; LARA, A.; ARAÚJO, J. S. S.; MATTOS, S. S.; VASCONCELOS, C. M. L.; GUATIMOSIM, S.; CRUZ, J. S.; BATINIC-HABERLE, I.; ARAÚJO, D. A. M.; REBOUÇAS, J. S.; GOMES, E. R. **Redox-active drug, MnTE-2-PyP⁵⁺, prevents and treats cardiac arrhythmias preserving heart contractile function**, *Oxid. Med. Cell. Long.*, 2020: 4850697, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4850697>.

D.2 Inovação – Patentes

1. BARBOSA, A. M. ; VASCONCELOS, C. M. L. ; CRUZ, J. S. ; **SARMENTO-NETO, J. F.** ; SOUZA, D. S. ; ARAUJO, D. A. M. ; FONSECA, S. C. G. ; GOMES, F. D. L. ; GOMES, E. R. M. ; REBOUCAS, J. S. ; MENEZES FILHO, J. E. R. ; JESUS, I. C. G. . **Processo Para Proteção Cardíaca Por Meio Do Uso De Porfirina**. Número do registro: **BR1020170217612**. Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Brasil. Depósito: 10/10/2017.
2. GOMES, E. R. M.; BARBOSA, A. M.; VASCONCELOS, C. M. L.; **SARMENTO-NETO, J. F.**; MENEZES FILHO, J. E. R.; SOUZA, D. S.; ARAUJO, D. A. M.;

- REBOUÇAS, J. S.; NASCIMENTO, V. M. V.; GOMES, A. A. L. **Processo Para Prevenção E Tratamento De Arritmias Cardíacas Por Meio Do Uso De Porphirina. Número do registro: BR1020180077678.** Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Brasil. Depósito: 18/04/2018.
3. GOMES, E. R. M.; BARBOSA, A. M.; VASCONCELOS, C. M. L.; CRUZ, J. S.; **SARMENTO-NETO, J. F.**; SOUZA, D. S.; ARAUJO, D. A. M.; FONSECA, S. C. G.; REBOUCAS, J. S.; MENEZES FILHO, J. E. R.; JESUS, I. C. G.; GOMES, A. A. L. **Processo Para Bloqueio De Canais De Cálcio Por Meio De Porphirina. Número do registro: BR10201807374.** Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Brasil. Depósito: 19/11/2018.

D.3 Premiação em evento internacional

