



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

**Desenvolvimento de Mn-Porfirinas à base de *N*-
alquilpiridilporfirinas e *N*-alquilquinolilporfirinas como
candidatos a agentes terapêuticos redox-ativos**

Clarissa Gomes de Carvalho Maia

João Pessoa – PB – Brasil
Fevereiro/2023



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

**Desenvolvimento de Mn-Porfirinas à base de *N*-
alquilpiridilporfirinas e *N*-alquilquinolilporfirinas como
candidatos a agentes terapêuticos redox-ativos**

Clarissa Gomes de Carvalho Maia*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química para a obtenção do título de Doutora
em Química pela Universidade Federal da
Paraíba

Orientador: Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças

***Bolsista CNPq**

João Pessoa – PB – Brasil

Fevereiro/2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M217d Maia, Clarissa Gomes de Carvalho.

Desenvolvimento de Mn-Porfirinas à base de
N-alquilpiridilporfirinas e N-alquilquinolilporfirinas
como candidatos a agentes terapêuticos redox-ativos /
Clarissa Gomes de Carvalho Maia. - João Pessoa, 2023.
100 f. : il.

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

1. Química. 2. Mn-porfirinas. 3. Cinética de
decomposição. 4. Determinação de absorvidade molar.
5. Síntese de porfirinas - Grupo 2-quinolil. I.
Rebouças, Júlio Santos. II. Título.

UFPB/BC

CDU 54(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

FOLHA Nº 1 / 2023 - PPGQ (11.01.14.55)

Nº do Protocolo: 23074.013039/2023-21

João Pessoa-PB, 14 de Fevereiro de 2023

Desenvolvimento de Mn-porfirinas à base de N-alkilpiridilporfirinas e N-alkilquinolilporfirinas como candidatos a agentes terapêuticos redox-ativos.

Tese de Doutorado apresentada pela aluna Clarissa Gomes de Carvalho Maia e aprovada pela banca examinadora em 14 de fevereiro de 2023.

[Assinado digitalmente via SIPAC]

Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças

DQ/CCEN/UFPB

Orientador/Presidente

Documento assinado digitalmente



DAYSE CARVALHO DA SILVA MARTINS

Data: 15/02/2023 11:30:50-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Dayse Carvalho da Silva Martins

DQ/ICEx/UFGM

Examinadora

Valeria H
Springer

Firmado digitalmente

por Valeria H Springer

Fecha: 2023.02.15

14:36:27 -03'00'

Profa. Dra. Valeria Haydee Springer
Universidad Nacional del Sur/Argentina
Examinadora

[Assinado digitalmente via SIPAC]

Profa. Dra. Ana Paula Alves de Melo Guedes

DQ/CCEN/UFPB

Examinadora

[Assinado digitalmente via SIPAC]

Profa. Dra. Marta Maria da Conceição

DTA/CTDR/UFPB

Examinadora

(Assinado digitalmente em 14/02/2023 22:19)

ANA PAULA DE MELO ALVES GUEDES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
Matrícula: 2558610

(Assinado digitalmente em 15/02/2023 07:53)

JULIO SANTOS REBOUCAS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
Matrícula: 1698581

(Assinado digitalmente em 14/02/2023 23:15)

MARTA MARIA DA CONCEICAO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
Matrícula: 1544444

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufpb.br/documentos/> informando seu número: 1, ano: 2023, documento(espécie): FOLHA, data de emissão: 14/02/2023 e o código de verificação: 3a932e5118

*Aos meus pais Carmem e Caio,
À minha irmã Aninha
À Maria Luiza
Com amor,
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

Em mais uma etapa concluída, eu não poderia deixar de agradecer a Deus por estar sempre presente em minha vida, me guardando, me iluminando e me guiando.

Aos meus pais, Carmem, João (*in memoriam*) e Caio, por me darem apoio nos momentos mais difíceis e por nunca medirem esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

À minha irmã Aninha pelo amor e apoio em cada momento de minha vida.

À minha namorada Maria Luiza pelo companheirismo, pelo amor, pela leveza que traz à minha vida.

Ao prof. Júlio Rebouças por esses treze anos e 7 meses de orientação e ensinamentos, sempre transmitindo o entusiasmo e o amor pela pesquisa.

A Gabi, Isabelle e Victor Hugo, apesar de não estarem mais presentes em minha vida, fizeram parte da minha jornada acadêmica.

À Stephanie por todo apoio e companheirismo durante o desenvolvimento do meu doutorado.

A Ferreira e Israel, os irmãos que a vida me presenteou. Vocês tornaram a jornada menos pesada. Agradeço as conversas, o apoio, os ouvidos, os ombros, os sorrisos e acima de tudo, a amizade/irmandade.

Aos amigos da química e da vida pelo apoio e por estarem sempre ao meu lado: Amauri, Dariston, Elaine, Geórgia, Helivaldo, Iran, Jacqueline, Joaldo, Jandeilson, Madu, Paulo, Renato (sentirei saudades de todos vocês, das lanchadinhas na cozinha do laboratório, das leseiras, cafés e cervejas compartilhadas); Karla, Lucas, Dani, Rafa, Keka, Rapho, Gew. Muito obrigada pela ajuda, pelas conversas e suporte durante os momentos difíceis dessa trajetória. Todos vocês foram imprescindíveis para a realização e conclusão desse doutorado.

A Barbara e Betânia por toda ajuda e esforço para que nosso artigo se tornasse realidade. Barbara, agradeço por me apresentar o melhor carnaval do mundo e me proporcionar dias incríveis nessa cidade maravilhosa (Belo Horizonte).

Aos amigos da UFMG Alexandre, Nathany, Iasmin e Aline Curica pelo carinho com que me receberam no laboratório e na vida de vocês. Tive dias incríveis com vocês em BH.

Aos professores Gilson, Dayse, Rita, Irene e Wagner Mussel, pela receptividade, carinho, ensinamentos e conversas durante a minha estadia em BH. Em especial, o Prof. Gilson e Dayse, a forma que fui tratada por vocês, mudou a minha perspectiva como pesquisadora. Gratidão por isso.

Aos professores do DQ/UFPB por compartilhar os seus conhecimentos.

A todos aqueles que diretamente ou indiretamente estiveram presentes durante esses treze anos de caminhada acadêmica.

As agências de fomento CNPq, CAPES, FINEP, PROPESQ/UFPB pelo apoio concedido ao longo da execução deste projeto: suporte financeiro à pesquisa, à infraestrutura e à divulgação.

Sumário

Resumo.....	
Abstract	
A. Lista de Figuras.....	
B. Lista de Tabelas.....	
C. Lista de Siglas e Abreviaturas.....	
D. Organização da Tese.....	17
1. Introdução geral.....	18
1.1 Porfirinas: aspectos gerais.....	18
1.2 Porfirinas em Sistemas Biomiméticos.....	20
1.3 Objetivos Gerais.....	21
2. Estudo Cinético de Decomposição Térmica da Cloreto de <i>meso</i>- Tetraquis(<i>N</i>-etilpiridínio-2-il)porfirinamanganês (III) (MnTE-2- PyPCl₅).....	23
2.1 Introdução	
2.1.1 Mn-porfirinas	23
2.1.2 Estudos de Estabilidades Térmica de fármacos.....	27
2.1.3 Decomposição Térmica de sólidos	28
2.1.4 Redes Neurais Artificiais.....	31
2.2 Objetivos	33
2.3 Metodologia experimental	33
2.3.1 Mn-porfirinas	33
2.3.2 Análise térmica	34
2.3.3 Método isoconversional de Vyazovkin a partir de dados não isotérmicos de TG	34
2.3.4 Aplicação de uma Rede Neural MLP para o estudo cinético de decomposição química a partir de dados isotérmicos de TG.....	36

2.4 Resultados e discussão.....	39
2.4.1 Decomposição Térmica da MnTE-2-PyPCl ₅	39
2.4.2 Estudo Cinético não isotérmico usando o método isoconversional de Vyazovkin	41
2.4.3 Estudo cinético isotérmico através da Rede Neural Artificial MLP	43
2.5 Conclusão	52
3. Desenvolvimento de um Protocolo Espectrofotométrico assistido por Termogravimetria para determinação da absortividade molar da MnTE-2-PyPCl₅.....	53
3.1 Introdução	53
3.2 Objetivos	54
3.3 Metodologia Experimental	54
3.3.1 Reagentes.....	54
3.3.2 Equipamentos.....	55
3.3.3 Análise para avaliar o efeito da atmosfera na decomposição da MnTE-2-PyP ⁵⁺ (N ₂ versus Ar)	55
3.3.4 Análise da etapa de desidratação: determinação da absortividade molar (ϵ)	55
3.4 Resultados e Discussão	56
3.4.1 Análise para avaliar o efeito da atmosfera na decomposição da MnTE-2-PyP ⁵⁺ (N ₂ versus Ar)	56
3.4.2 Análise da etapa de desidratação: determinação da absortividade molar (ϵ)	58
3.5 Conclusão	60
4. Tentativa de síntese de uma Mn-porfirina catiônica à base de quinolina como modulador redox em potencial.....	61

4.1.1 Porfirinas em Sistemas Biomiméticos das Enzimas Superóxido Dismutase.....	61
4.1.2 Lipofilia como controle de biodisponibilidade de Mn-porfirinas....	63
4.1.3 Métodos de Síntese de Porfirinas <i>meso</i> -substituídas.....	65
4.2 Objetivos.....	67
4.3 Metodologia Experimental.....	68
4.3.1 Reagentes.....	68
4.3.2 Equipamentos.....	68
4.3.3 Síntese da <i>meso</i> -tetraquis(2-quinolil)porfirina (H ₂ T-2-QnP)..	68
4.3.4 Síntese da 2- <i>N</i> -metilquinolilporfirina (H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺).....	69
4.3.5 Síntese do complexo de Mn(III) derivados da 2- <i>N</i> -metilquinolilporfirina (MnTM-2-QnP ⁵⁺).....	70
4.3.6 Voltametria Cíclica.....	71
4.4 Resultados e Discussão.....	71
4.4.1 Síntese e Purificação da H ₂ T-2-PyP.....	71
4.4.2 Síntese e Purificação da H ₂ TM-2-PyP ⁴⁺	75
4.4.3 Síntese e Purificação da MnTM-2-PyP ⁵⁺	78
4.4.4 Voltametria Cíclica.....	80
4.7 Conclusões.....	82
5. Considerações Finais e Perspectivas Futuras.....	83
6. Referências Bibliográficas	84
APÊNDICE	100

Resumo

Porfirinas de Mn(III) catiônicas hidrossolúveis e derivadas das 2-*N*-piridilporfirinas foram originalmente desenvolvidas como potentes mímicos das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalisadores de decomposição de peroxinitrito e, mais tarde, provaram ser agentes terapêuticos redox-ativos eficientes. Nesta tese foram desenvolvidos três estudos independentes, tendo como foco as Mn-Porfirinas à base de *N*-alquilpiridilporfirinas e *N*-alquilquinolilporfirinas. Inicialmente, realizou-se o primeiro estudo sobre a cinética de degradação térmica (sob condições isotérmicas e não isotérmicas) de uma MnP redox-ativa, a MnTE-2-PyPCL₅, sendo o composto de escolha da maioria dos estudos pré-clínicos exploratórios, por ter uma reputação estabelecida para o design de mímicos SOD biodisponíveis. Nesse estudo, uma rede neural multicamadas (MLP) permitiu a avaliação simultânea de dez modelos cinéticos; os valores de energia de ativação calculados a partir de dados isotérmicos e não isotérmicos concordam entre si e são consistentes com a alta estabilidade térmica da MnTE-2-PyPCL₅ observada no estado sólido. O valor de vida útil de t_{90%} a 25 °C estimado a partir dos dados de decomposição isotérmica foi de aproximadamente 17 anos. Adicionalmente, foi desenvolvido um protocolo espectrofotométrico para a determinação da absorvidade molar da MnTE-2-PyPCL₅ assistida por análises termogravimétricas (TG) e análise térmica diferencial (DTA) como ferramentas. As condições para a determinação da absorvidade molar a partir da etapa de desidratação de análise térmica foram estabelecidas. Por fim, o último estudo diz respeito à tentativa de desenvolver uma nova classe de porfirinas contendo o grupo 2-quinolina. Algumas dificuldades foram enfrentadas durante a sua realização, dentre elas, destaca-se a não reprodutibilidade das sínteses, que foi associada à qualidade do 2-quinolinacarboxaldeído comercial. Apesar das dificuldades, rotas sintéticas foram desenvolvidas para a obtenção da H₂T-2-QnP, H₂TM-2-QnP⁴⁺ e MnTM-2-QnP⁵⁺, isoladas com rendimentos de 5, 68 e 78 %, respectivamente.

Palavras-chave: Mn-porfirinas, cinética de decomposição, determinação de absorvidade molar, síntese de porfirinas contendo o grupo 2-quinolil.

Abstract

Water-soluble cationic Mn(III) porphyrins derived from 2-*N*-pyridylporphyrins were originally developed as potent mimics of superoxide dismutase (SOD) enzymes, catalysts of peroxynitrite decomposition, and later proved to be efficient redox-active therapeutic agents. In this thesis, three independent studies were developed, focusing on Mn-Porphyrins based on *N*-alkylpyridylporphyrins and *N*-alkylquinolylporphyrins. Initially, the first study was carried out on the kinetics of thermal degradation (under isothermal and non-isothermal conditions) of a redox-active MnP, MnTE-2-PyPCL₅, being the compound of choice in most exploratory preclinical studies, for having an established reputation for the design of bioavailable SOD mimics. In this study, a multilayer neural network (MLP) allowed the simultaneous evaluation of ten kinetic models; activation energy values calculated from isothermal and non-isothermal data agree with each other and are consistent with the high thermal stability of MnTE-2-PyPCL₅ observed in the solid state. The $t_{90\%}$ shelf-life value at 25 °C, estimated from the isothermal decomposition data, was approximately 17 years. Additionally, a spectrophotometric protocol was developed to determine the molar absorptivity of MnTE-2-PyPCL₅ using thermogravimetric analysis (TG) and differential thermal analysis (DTA) as a tool. The conditions for the determination of molar absorptivity from the thermal analysis dehydration step were established. Finally, the last study concerns the attempt to develop a new class of porphyrins containing the 2-quinoline group. Some difficulties were encountered during its execution: among them, the non-reproducibility of the syntheses, which was related to the quality of the commercial 2-quinolinecarboxaldehyde. Despite the difficulties, synthetic routes were developed to obtain H₂T-2-QnP, H₂TM-2-QnP⁴⁺ and MnTM-2-QnP⁵⁺. The compounds were isolated in 5, 68 and 78 % yields, respectively.

Keywords: Mn-porphyrins, decomposition kinetics, determination of molar absorptivity, synthesis of porphyrins containing the 2-quinolyl group.

A. Lista de Figuras

Figura 1.1 – Estrutura da porfina.....	18
Figura 1.2 - Espectros UV-vis típicos de (a) uma porfirina base livre e (b) uma metaloporfirina.....	19
Figura 1.3 - Estruturas das Mn-porfirinas catiônicas derivadas da <i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -alquilpiridínio-2-il)porfirinas.....	21
Figura 2.1 - <i>N</i> - desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCL ₅ sob condições aeróbias durante análise termogravimétrica com taxa de aquecimento de 10°C/min.....	25
Figura 2.2 – Comparação entre os neurônios artificiais e biológico.....	32
Figura 2.3 – Esquema de Rede MLP.....	37
Figura 2.4 – Curva termogravimétrica da MnTE-2-PyPCL ₅ (traço vermelho, MnTE-2-PyPCL ₅ ·8H ₂ O) e MnT-2-PyPCL (traço azul) sob ar dinâmico a uma taxa de aquecimento de 10°C min ⁻¹ . Eventos térmicos correspondem a: I–desidratação; II– <i>N</i> -desalquilação; e III–decomposição do anel da porfirina para produzir óxidos de Mn. Dados correspondentes para a amostra não alquilada MnT-2-PyPCL (traço azul) é apresentado como um controle, indicando que não ocorreu nenhum processo de <i>N</i> -desalquilação na temperatura destacada entre 134 – 279°C.....	39
Figura 2.5 – Curvas não isotérmicas para a decomposição térmica da MnTE-2-PyPCL ₅	41
Figura 2.6 – Energia de ativação de acordo com a extensão da conversão determinada pelo método de Vyazovkin para a <i>N</i> -desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCL ₅	42
Figura 2.7 – Fração de decomposição de MnTE-2-PyPCL ₅ , $\alpha(t)$, em função do tempo (t) a 158, 160, 162 e 164°C. Os símbolos são para os dados experimentais, e a linha contínua é para resultados de MLP. Os erros residuais (e) dos ajustes de MLP em cada temperatura também são apresentados.....	45
Figura 2.8 – Erros residuais para o ajuste dos dados experimentais isotérmico sobre a <i>N</i> -desalquilação da MnTE-2-PyPCL ₅ para cada modelo cinético individualmente.....	46
Figura 2.9 – Contração geométrica de cristais cilíndricos que apresentam o mecanismo cinético R2.....	47
Figura 2.10 – Contribuições do modelo cinético para a descrição dos processos de decomposição isotérmica da MnTE-2-PyPCL ₅ em 158, 160, 162 e 164°C (valores normalizados) conforme determinado pela abordagem de rede neutra artificial MLP...	48
Figura 2.11: Energia de ativação (Ea) determinada pela multicamada rede neural artificial perceptron (MLP) para a decomposição térmica da MnTE-2-PyPCL ₅	49

Figura 3.1 – Gráficos típicos de Abs vs [MnP] de uma amostra anidra e hidratada (sem tratamento térmico) para a determinação da absorvidade molar.....	60
Figura 4.1 – Porphirinas de interesse nesse objeto de estudo.....	68
Figura 4.2 – Esquema proposto para a síntese da porfirina base livre neutra H ₂ T-2-QnP.....	73
Figura 4.3 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-vis comparativos da H ₂ T-2-QnP (linha azul) e H ₂ T-2-PyP (linha laranja) e registrados em acetonitrila.....	75
Figura 4.4 – Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CHCl ₃) da H ₂ T-2-QnP isolada.....	75
Figura 4.5 – Esquema proposto para a obtenção da porfirina hidrossolúvel e catiônica H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺	77
Figura 4.6 – Espectros Uv-vis da H ₂ T-2-QnP (linha azul) e da H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺ (linha laranja) em acetonitrila.....	78
Figura 4.7 – Esquema proposto para a obtenção do complexo de Mn(III) MnTM-2-QnP ⁵⁺	79
Figura 4.8 – Espectros Uv-vis da H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺ (linha laranja), da MnTM-2-QnP ⁵⁺ (linha preta) e MnTM-2-PyP ⁵⁺ (linha cinza) em água.....	80
Figura 4.9 – Voltamogramas cíclicos da MnTM-2-QnP ⁵⁺ e do padrão MnTM-2-PyP ⁵⁺ obtidos em 0,05 mol L ⁻¹ de tampão fosfato (pH = 7,8), 0,1 mol L ⁻¹ de NaCl, utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,25 a 0,25 V vs. Ag ^o /AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s ⁻¹ . Concentração das soluções de porfirinas 5 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	82

B. Lista de tabelas

Tabela 2.1 – Modelos matemáticos para cinética de decomposição térmica de sólidos e seus respectivos símbolos.....	30
Tabela 2.2 – Desvio padrão para o método de Vyazovkin de acordo com a conversão (α) para a <i>N</i> -desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCL ₅	43
Tabela 2.3 –Energia de ativação (E_a), fator de frequência $\ln(A)$ e tempo, para o qual a concentração decai em 10% ($t_{90\%}$ valor de vida útil), determinado pela rede neural artificial múltiplas camadas (MLP) para decomposição térmica da MnTE-2-PyPCL ₅ a 158 e 25°C.....	50
Tabela 3.1 - Dados da análise térmica para a MnTE-2-PyP ⁵⁺ sob atmosfera de N ₂ (fluxo de 110 cm ³ /min) e razão de aquecimento de 10 °C/min.....	57
Tabela 3.2 - Dados da análise térmica para a MnTE-2-PyP ⁵⁺ sob atmosfera dinâmica de ar sintético (fluxo de 110 cm ³ /min) e razão de aquecimento de 10 °C/min.....	57
Tabela 3.3 - Dados de análise térmica para MnTE-2-PyP ⁵⁺ e os valores de ε em log que foram obtidos para cada amostra analisada.....	58
Tabela 4.1 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis para a H ₂ T-2-QnP e a H ₂ T-2-PyP.....	74
Tabela 4.2 – Fatores de retenção em CCD-SiO ₂ (KNO ₃ (sat.)/H ₂ O /MeCN 1:1:8 v/v/v) de porfirinas base-livre relevantes para este trabalho.....	77
Tabela 4.3 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis para a H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺ e derivados da H ₂ T-2-PyP.....	78
Tabela 4.4 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis para a H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺ e a MnTM-2-QnP ⁵⁺ em H ₂ O.....	80
Tabela 4.5 – Dados comparativos dos fatores de retenção das Mn-porfirinas catiônicas em CCD-SiO ₂ (KNO ₃ (sat.)/H ₂ O /MeCN 1:1:8 v/v/v).....	81
Tabela 4.6 – Potenciais de redução (mV vs NHE) para o processo centrado no íon metálico (Mn ^{III} /Mn ^{II}) e o log k_{cat} para a dismutação do íon O ₂ ^{•-} da MnTM-2-QnP ⁵⁺ e compostos análogos derivados das 2- <i>N</i> -piridilporfirinas.....	82

C. Lista de Siglas e Abreviaturas

SOD	Enzimas Superóxido dismutase
MnPs	Mn-porfirinas
NHE	Eletrodo Normal de Hidrogênio
CCD	Cromatografia de camada delgada
UV-vis	Ultravioleta-Visível
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Rf	Fator de Retenção
CCD-SiO ₂	Cromatografia de camada delgada em sílica gel
MeOTs	Tosilato de metila
H ₂ T-2-PyP	<i>meso</i> -tetraquis(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
H ₂ T-2-QnP	<i>meso</i> -tetraquis(2- <i>N</i> -quinolil)porfirina
H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilquinolínio-2-il)porfirina
MnTM-2-QnP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilquinolínio-2-il) porfinatomanganês(III)
MnTnHex-2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
MnTE-2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-2-il) porfinatomanganês(III)
MnTnBuOE-2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -butoxietilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III)
MeCN	Acetonitrila
CHCl ₃	Clorofórmio
AcOEt	Acetato de etila
MeOH	Metanol

D. Organização da Tese

Com o objetivo de melhorar a distribuição do conteúdo, bem como de facilitar a leitura, este trabalho foi dividido em seis capítulos, conforme descrito a seguir.

No Capítulo 1 (Introdução geral) são apresentados alguns aspectos a respeito das porfirinas e aplicações com ênfase em sistemas biomiméticos das enzimas superóxido dismutases (SOD). Nesse capítulo, estão apresentados também os objetivos gerais da tese.

No Capítulo 2 (Estudo Cinético da Decomposição Térmica da *meso*-tetraquis(*N*-etilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnTE-2-PyPCL₅)) são apresentados os resultados do estudo de cinética do fenômeno de decomposição térmica da MnTE-2-PyPCL₅ utilizando métodos isotérmicos e não isotérmicos e modelos cinéticos de decomposição analisados via rede neural multicamadas MLP. Este estudo foi publicado na *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* em 2021 (MAIA *et al.*, 2021¹).

O Capítulo 3 (Desenvolvimento de um Protocolo Espectrofotométrico assistido por Termogravimetria para determinação da absorvidade molar da MnTE-2-PyPCL₅), apresenta um estudo da determinação da absorvidade molar da MnTE-2-PyPCL₅, a partir da amostra anidra obtida por desidratação térmica, assistido por análises termogravimétricas (TG) e análise térmica diferencial (DTA).

O Capítulo 4 (Tentativa de síntese de uma Mn-porfirina catiônica à base de quinolina como modulador redox em potencial), revisa a relevância da classe das *N*-piridilporfirinas como moduladores redox de estresse oxidativo, destaca as rotas de síntese para obtenção de porfirinas *meso*-substituídas e a importância da lipofilia no desenvolvimento de novos compostos à base de metaloporfirinas. Esse Capítulo aborda as tentativas de síntese e isolamento do complexo de Mn(III) derivado da 2-*N*-quinolilporfirina.

O Capítulo 5 são apresentadas as considerações finais da tese e perspectivas de continuidade deste estudo.

No Capítulo 6 estão as referências citadas ao longo de toda a tese.

¹ MAIA, CLARISSA G. C.; DE ARAUJO, BÁRBARA C. R.; DE FREITAS-MARQUES, MARIA B.; DA COSTA, ISRAEL F.; Yoshida, Maria Irene; DA NOVA MUSSEL, WAGNER; SEBASTIÃO, RITA DE CÁSSIA O.; Rebouças, Júlio S. Thermal Stability Kinetics and Shelf Life Estimation of the Redox-Active Therapeutic and Mimic of Superoxide Dismutase Enzyme, Mn(III) *meso*-Tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin Chloride (MnTE-2-PyPCL₅, BMX-010). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2021, p. 1-12, 2021

1 Introdução geral

1.1 Porfirinas: aspectos gerais

Porfirinas são compostos macrocíclicos tetrapirrólicos altamente conjugados derivados da porfina (**Figura 1.1**). Tais compostos estão presentes em diferentes proteínas exercendo funções indispensáveis para o organismo, tais como o transporte e o armazenamento de oxigênio promovidos pela hemoglobina e mioglobina, respectivamente, o transporte de elétrons mediado por citocromos a, b e c (entre outros), a oxidação de substratos orgânicos e inorgânicos catalisada por enzimas monooxigenases, como citocromos P450 e peroxidases, e a dismutação de peróxido de hidrogênio catalisada pela catalase (MILGROM, 1997; EICHER *et al.*, 2003).

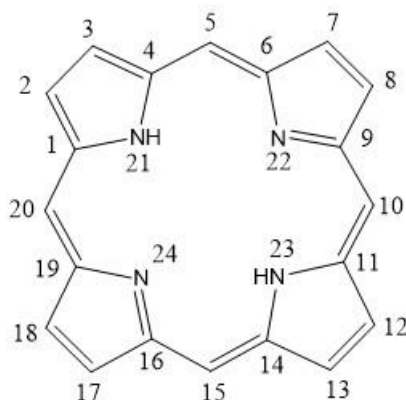


Figura 1.1 - Estrutura da porfina.

Dos 22 elétrons π no macrociclo da porfirina, 18 participam na deslocalização. Este sistema eletrônico altamente conjugado permite que as transições $\pi-\pi^*$ encontrem-se na região do visível e ultravioleta próximo, o que torna a espectroscopia de absorção no visível uma ferramenta poderosa para investigar a estrutura das porfirinas (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). A substituição dos átomos de hidrogênio centrais das porfirinas base livre por um cátion metálico dá origem às metaloporfirinas (MILGROM, 1997).

Espectros típicos de uma porfirina base livre e de uma metaloporfirina são mostrados na **Figura 1.2**. A maioria das porfirinas base livre apresenta uma banda de absorção bastante intensa ($\epsilon \sim 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), em comprimentos de onda próximos a 410 nm, denominada de banda B ou Soret. O outro conjunto de bandas é constituído por quatro bandas de menor intensidade denominadas de bandas Q, na região entre 500-700 nm (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). O aumento de simetria de D_{2h} na base livre para D_{4h} em uma metaloporfirina ou porfirina diácida (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994) é acompanhada por uma redução no número de bandas Q nesses sistemas. Em geral, o espectro de metaloporfirinas ou porfirinas diácidas apresenta uma banda intensa B (Soret) de 420-460 nm e duas bandas Q na região entre 550-600 nm.

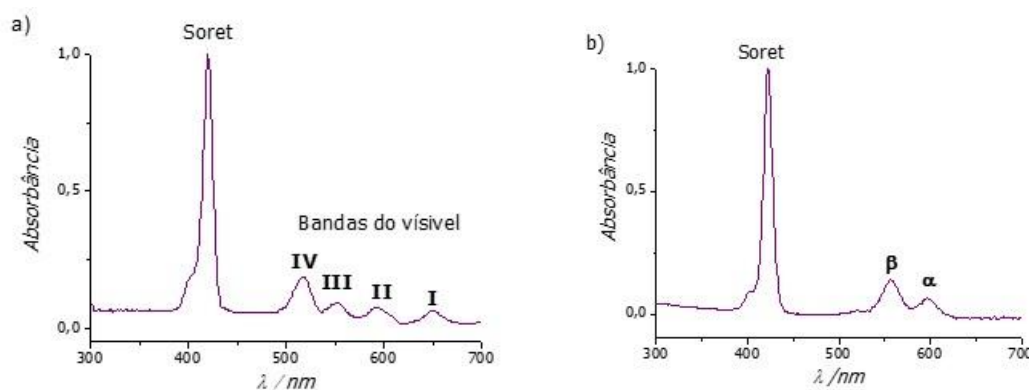


Figura 1.2 - Espectros UV-vis típicos de (a) uma porfirina base livre e (b) uma metaloporfirina.

Esses compostos apresentam grande ocorrência e importância biológica, por isso há um grande interesse em sintetizar porfirinas que sejam capazes de mimetizar as características eletrônicas, estruturais ou de reatividade dos sistemas biológicos (MEUNIER, 1992; MILGROM, 1997). Dentre os estudos, pode-se citar o interesse em desenvolver sistemas modelos de diversas metaloproteínas que desempenham papéis biológicos importantes, com destaque para os moduladores redox de estresse oxidativo, como as enzimas superóxido dismutases (SOD), citocromos P450 e peroxidases (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 2010; 2015). Todas essas enzimas fazem parte do Redoxoma celular e estão intimamente associadas aos processos de estresse oxidativo, que são caracterizados por um desequilíbrio celular no qual os níveis normais de oxidantes predominam sobre os níveis normais de antioxidantes.

1.2 Porfirinas em Sistemas Biomiméticos

Os complexos de Mn(III) derivados das *N*-piridilporfirinas, em particular, têm sido utilizados como modelos biomiméticos de diversas hemoproteínas e metaloproteínas que desempenham papéis biológicos importantes e se destacam como moduladores redox de estresse oxidativo (IAMAMOTO *et al.*, 1995; REBOUÇAS *et al.*, 2002). Recentemente, têm sido reportadas as atividades antioxidantes à base de metaloporfirinas para eliminação *in vitro* de espécies reativas e eficácia *in vivo* em relação a modelos de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2019).

A capacidade das Mn-porfirinas e outros complexos sintéticos em doar e aceitar facilmente elétrons lhes permite exercer atividades anti- e pró-oxidativas (SPASOJEVIC *et al.*, 2011; BATINIC-HABERLE *et al.*, 2012).

O desenvolvimento de moduladores redox à base de Mn-porfirinas pode ser dividido em três momentos. Em um primeiro momento, os esforços foram voltados para sintetizar compostos que pudessem ser possíveis miméticos das enzimas SOD, que fossem capazes de imitar as propriedades eletrostáticas e termodinâmicas da enzima. O segundo momento envolveu estudos para melhorar a lipofilia, e conseqüentemente, tornar esses compostos mais biodisponíveis. E, por fim, no terceiro momento buscou-se alcançar a redução da toxicidade desses compostos com propriedades oxidativas (SPASOJEVIC *et al.*, 2011).

Mn-porfirinas derivadas das *N*-alquilpiridilporfirinas encontram-se hoje como alguns dos melhores modelos biomiméticos das enzimas SOD. Elas têm se destacado em estudos pré-clínicos como uma das classes mais importantes de reguladores redox catalíticos, e dois compostos, a *meso*-tetraquis(*N*-etilpiridínio-2-il)porfinatomanganês(III) (MnTE-2-PyP⁵⁺) e a *meso*-tetraquis(*N*-*n*-butoxietilpiridínio-2-il)porfinatomanganês(III) (MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺) (**Fig. 1.3**), foram aprovados para estudos clínicos em humanos no Canadá (Fases clínicas I/II) e nos EUA (Fase clínica I) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021; GAD *et al.*, 2013, 2016, 2019). O uso dessas MnPs é justificado por apresentarem características como alta estabilidade metal-ligante, baixo peso molecular (possibilitando a penetração nas membranas celulares), constantes de velocidade para dismutação do O₂^{•-} (k_{cat}) próximas à da enzima SOD natural e versatilidade estrutural (que permite modular propriedades como lipofilia, carga, potencial de redução, entre outros) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2015).

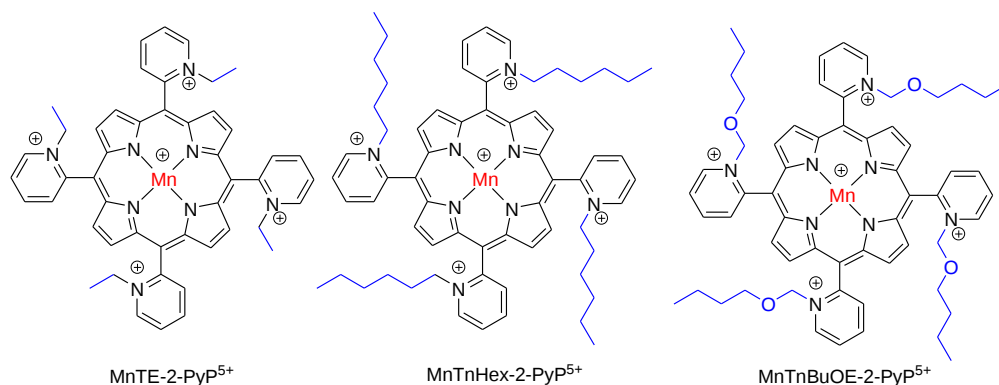


Figura 1.3- Estruturas das Mn-porfirinas catiônicas derivadas da *meso*-tetraquis(*N*-alquilpiridínio-2-il)porfirinas.

Dentre essas Mn-porfirinas, estudos farmacocinéticos foram realizados com a MnTE-2-PyP⁵⁺ (SPASOJEVIC *et al.*, 2007; 2008; WEITNER *et al.*, 2013) e MnTnHex-2-PyP⁵⁺ (SPASOJEVIC *et al.*, 2011) para detectar seus níveis tanto no plasma como em alguns órgãos (fígado, rim, pulmão, coração, baço e cérebro) de ratos. Nesses artigos, Spasojevic e colaboradores avaliaram diversos parâmetros, como a concentração máxima, tempo de meia-vida, vias de administração, entre outros. Porém, no que diz respeito à estabilidade desta classe de compostos, apenas um artigo foi publicado (PINTO *et al.*, 2013), avaliando a estabilidade térmica da MnTE-2-PyP⁵⁺. Vale ressaltar que as informações a respeito da estabilidade de MnPs dão suporte em purificação, manuseio, armazenamento, formulação, data de validade e uso geral desses compostos (JELIC, 2021, OLIVEIRA *et al.*, 2011).

1.3 Objetivos Gerais

Pretende-se neste trabalho contribuir para o avanço no desenvolvimento dos sistemas biomiméticos baseados em Mn-porfirinas sintéticas como moduladores redox de estresse oxidativo. Diante disso, os objetivos gerais deste trabalho envolvem:

- Descrever o primeiro estudo sobre a cinética de degradação térmica de uma MnP redox-ativa (MnTE-2-PyP⁵⁺) sob condições isotérmicas e não isotérmicas;

- Determinação espectrofotométrica da absorvidade molar da MnTE-2-PyPCL₅ assistida por termogravimetria;
- Tentativa de síntese de uma nova classe de porfirinas derivadas das *N*-quinolilporfirinas de Mn(III) como potencial modulador redox de estresse oxidativo.

2 Estudo Cinético de Decomposição Térmica da Cloreto de *meso*-Tetraquis(*N*- etilpiridínio-2-il)porfirinamanganês(III) (MnTE-2-PyPCL₅)²

2.1 Introdução

2.1.1 Mn-porfirinas

Porfirinas de Mn(III) catiônicas hidrossolúveis e derivadas das 2-*N*-piridilporfirinas foram originalmente desenvolvidas como potentes mímicos das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalisadores de decomposição de peroxinitrito e, mais tarde, provaram ser agentes terapêuticos redox-ativos eficientes (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, BATINIC-HABERLE *et al.*, 1999, FERRER-SUETA *et al.*, 2018, POLICAR, 2016, RADI, 2018, SLOSKY, VANDERAH, 2015). Dois compostos, cloreto de *meso*-tetraquis(*N*-etilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnTE-2-PyPCL₅, também conhecido como BMX-010) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1999) e cloreto de *meso*-tetraquis(*N*-*n*-butoxietilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnTnBuOE-2-PyPCL₅, também conhecido como BMX-001) (RAJIC *et al.*, 2012, RAJIC *et al.*, 2017), foram considerados seguros e bem tolerados em ensaios clínicos de fase I (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, GAD *et al.*, 2013, GAD *et al.*, 2019, GAD *et al.*, 2016, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2016). A MnTE-2-PyPCL₅ progrediu para ensaios clínicos de fase II sobre dermatite atópica e coceira, enquanto o análogo MnTnBuOE-2-PyPCL₅, que foi desenvolvido baseado no protótipo MnTE-2-PyPCL₅, está sendo investigado em quatro ensaios clínicos fase II como radioprotetores para glioma, câncer de cabeça e pescoço, múltiplas metástases cerebrais,

² Os dados apresentados neste capítulo foram publicados:

MAIA, CLARISSA G. C.; DE ARAUJO, BÁRBARA C. R.; DE FREITAS-MARQUES, MARIA B.; DA COSTA, ISRAEL F.; Yoshida, Maria Irene; DA NOVA MUSSEL, WAGNER; SEBASTIÃO, RITA DE CÁSSIA O.; Rebouças, Júlio S. Thermal Stability Kinetics and Shelf Life Estimation of the Redox-Active Therapeutic and Mimic of Superoxide Dismutase Enzyme, Mn(III) *meso*-Tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin Chloride (MnTE-2-PyPCL₅, BMX-010). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2021, p. 1-12, 2021.

e carcinoma de células escamosas anais (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, GAD *et al.*, 2019, GAD *et al.*, 2016, ZAKERI *et al.*, 2019).

A MnTE-2-PyPCL₅ tem uma reputação estabelecida de ser o protótipo à base de Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirina para o design de mímicos de SOD biodisponíveis, para o desenvolvimento de antioxidantes catalíticos e estudos mecanísticos (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2016, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011a, BATINIC-HABERLE, TOME, 2019, LEE *et al.*, 2013, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011b). Dado o seu perfil de toxicidade seguro em modelos animais e humanos (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, GAD *et al.*, 2013, GAD *et al.*, 2019, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2016), a MnTE-2-PyPCL₅ é geralmente o composto de escolha na maioria dos estudos pré-clínicos exploratórios (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011a, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011b, TOVMASYAN *et al.*, 2014, VICENT *et al.*, 2021, BARBOSA *et al.*, 2020, GRIESS *et al.*, 2020, TOVMASYAN *et al.*, 2018, YANG *et al.*, 2020, ZHU *et al.*, 2020), sendo encaminhado para a medicina translacional e ensaios clínicos (BATINIC-HABERLE *et al.* 2021, GAD *et al.*, 2013, GAD *et al.*, 2019), e agora é reconhecido como um excelente agente terapêutico redox-ativo (BATINIC-HABERLE *et al.* 2021), com farmacocinética bem definida (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2008, WEITNER *et al.*, 2013).

Apesar do grande número de estudos dedicados para desvendar os aspectos biológicos e clínicos da MnTE-2-PyPCL₅ tanto *in vitro* quanto *in vivo* (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, LEE *et al.*, 2013, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011b, TOVMASYAN *et al.*, 2014, TOVMASYAN *et al.*, 2018), estudos sobre a estabilidade desta classe de compostos ainda são limitados (PINTO *et al.*, 2013, TOVMASYAN *et al.*, 2015a, TOVMASYAN *et al.*, 2015b). Vale ressaltar, no entanto, que as informações da estabilidade da MnTE-2-PyPCL₅ pode lançar luz sobre a estabilidade de outros análogos de MnP (PINTO *et al.*, 2013) e suportar protocolos de purificação, manuseio, armazenamento, formulação, data de validade e uso geral desses compostos (JELIC, 2021, OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Como uma característica típica de Mn-porfirinas, a MnTE-2-PyPCL₅ apresenta o Mn no estado de oxidação +3 sendo extremamente estável contra a solvólise ácida: a desmetalção de Mn(III) é difícil mesmo sob condições de H₂SO₄ concentrado (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1999). A MnTE-2-PyPCL₅ é relativamente estável contra a degradação oxidativa sob condições biológicas, particularmente a presença de muitos

substratos reativos ou redutores biológicos de sacrifício (PINTO *et al.*, 2013). Não só as Mn-porfirinas resistem a reações com espécies de oxigênio e nitrogênio (ROS/RNS), mas também o H_2O_2 é uma molécula chave nos efeitos terapêuticos das Mn-porfirinas, como claramente demonstrado por Jaramillo *et al.* (JARAMILLO *et al.*, 2012) e recentemente revisado (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021). Enquanto a MnTE-2-PyP Cl_5 sofre alguma degradação bimolecular quando incubado com H_2O_2 (TOVMASYAN *et al.*, 2015a, TOVMASYAN *et al.*, 2018), a decomposição por peróxidos não é um problema para armazenamento em solução aquosa/estado sólido e/ou formulação geral deste composto (PINTO *et al.*, 2013).

A degradação térmica da MnTE-2-PyP Cl_5 , como representante da classe das Mn(III) 2- *N*-alquilpiridilporfirinas, foi abordada em um único estudo termogravimétrico até o momento (PINTO *et al.*, 2013). O comportamento térmico de sais de MnTE-2-PyP Cl_5 sob condições aeróbicas é caracterizado por três eventos: (i) perda de moléculas de água associadas ao composto (temperatura ambiente a 134°C), (ii) *N*-desalquilação via perda de cloreto de etila (134-279°C) para produzir MnT-2-PyP Cl (**Figura 2.1**), e (iii) vários processos sobrepostos de decomposição do anel porfirínico para produzir óxidos de manganês como resíduos de combustão (279-950°C) (PINTO *et al.*, 2013).

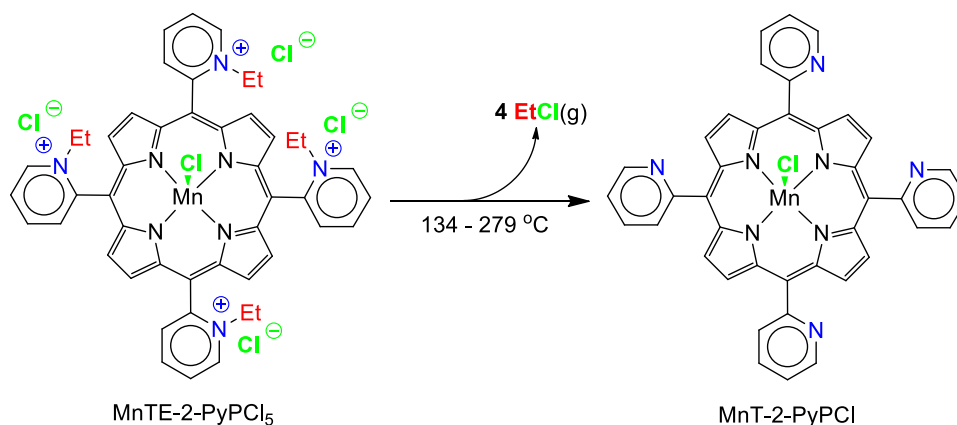


Figura 2.1: *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyP Cl_5 sob condições aeróbicas durante análise termogravimétrica com taxa de aquecimento de 10°C/min.

Como a MnTE-2-PyP Cl_5 é frequentemente administrada como formulações aquosas por várias vias (por exemplo, intraperitoneal, subcutânea, intravenosa e oral) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011, WEITNER *et al.* 2013, SPASOJEVIĆ *et al.*, 2008), a atividade biológica intrínseca de MnP, não é afetada pela desidratação reversível

(PINTO *et al.*, 2013). Por outro lado, a *N*-desalquilação de MnTE-2-PyPCL₅ altera a estrutura da porfirina de forma irreversível, reduzindo a carga total da molécula, que afeta o potencial redox Mn(III)/Mn(II), a facilitação eletrostática para superóxido/peroxinitrito, reações com tiolatos de proteínas e a atividade farmacológica da MnTE-2-PyP⁵⁺(aq) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, (BATINIC-HABERLE *et al.* 2011, SPASOJEVIĆ *et al.* 2011, POLLARD *et al.*, 2009).

As análises termogravimétricas (TG) são importantes para a avaliação e/ou comparação de estabilidades térmicas de materiais farmacêuticos, o estudo da compatibilidade fármaco-excipientes em medicamentos e a determinação de parâmetros cinéticos associados a processos térmicos (como energias de ativação, fator de frequência, e ordem de reação) (JELIC, 2021, OLIVEIRA *et al.*, 2011, BLESSY *et al.*, 2014). No geral, essas informações são úteis para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos e controle de qualidade (JELIC, 2021, OLIVEIRA *et al.*, 2011, BLESSY *et al.*, 2014, KHAWAM, FLANAGAN, 2006). Estudos sobre a cinética de degradação térmica são recomendados para avaliar a estabilidade térmica de princípios ativos e/ou suas formulações farmacêuticas em estado sólido (JELIC, 2021, OLIVEIRA *et al.*, 2011, BLESSY *et al.*, 2014, KHAWAM, FLANAGAN, 2006, REN *et al.*, 2020). Esses estudos cinéticos são frequentemente realizados no campo farmacêutico por análises termogravimétricas não isotérmicas (dinâmicas) ou isotérmicas (VYAZOVKIN, EIGHT, 1999, VYAZOVKIN, 1997, VYAZOVKIN *et al.*, 2011, VYAZOVKIN *et al.*, 2020, VYAZOVKIN *et al.*, 2014, SEBASTIÃO *et al.*, 2004, SEBASTIÃO *et al.*, 2003). Estudos cinéticos em condições isotérmicas de TG são particularmente relevantes, pois são passíveis de tratamento pela equação de Arrhenius e tornam possível a estimativa da taxa de degradação à temperatura ambiente a partir da extrapolação de dados experimentais (JELIC, 2021, REN *et al.*, 2020). Esses estudos cinéticos são particularmente úteis para fornecer estimativas confiáveis da vida útil de produtos farmacêuticos sob várias condições de armazenamento e manuseio (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

2.1.2 Estudos de Estabilidade Térmica de Fármacos

A análise térmica tornou-se uma importante ferramenta de trabalho em todos os setores que se dedicam à pesquisa, ao desenvolvimento de novos produtos e ao controle de qualidade da produção (IONASHIRO, 2004).

Os métodos analíticos térmicos para análise de novos fármacos tornaram-se uma ferramenta importante, pois envolvem técnicas precisas, utilizam-se pequenas quantidades de amostra (1-10 mg) que podem ser estudadas em uma ampla faixa de temperatura com atmosfera controlada (HATAKEYAMA & QUINN, 1997; SOVIZI, 2010; POURMORTAZAVI *et al.*, 2006; LEVER *et al.*, 2004).

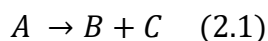
No que diz respeito ao desenvolvimento de fármacos, a aplicação de análises térmicas, especialmente TG e calorimetria exploratória diferencial (DSC) permitem a caracterização dos fármacos com a definição de eventos térmicos em estudos de pureza, na identificação de polimorfos, em estudos de compatibilidade de formulações farmacêuticas de dosagem sólida e na determinação da vida útil para cinética de degradação isotérmica, permitindo assim, sua qualidade, segurança e eficácia (BARBAS *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2008; SOVIZI, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Nesse sentido, diversos estudos já foram relatados quanto ao uso de análises térmicas para avaliar características de fármacos e insumos farmacêuticos. Pompeu e colaboradores (2013) avaliaram o comportamento térmico do fármaco Cetoprofeno e suas possíveis interações com os excipientes estearato de magnésio e lactose utilizando-se das curvas TG-DTA e DSC (POMPEU *et al.*, 2013). Um outro estudo (SOVIZI, 2010) relatou a estabilidade térmica de dois anti-inflamatórios não-esteroidais, naproxeno e celecoxibe, determinada por DSC e análises termogravimétrica/térmica diferencial simultâneas (TG/DTA). Os resultados da análise de TG revelaram que a principal degradação térmica do naproxeno e do celecoxibe ocorre nas faixas de temperatura de 196–300 e 245–359 °C, respectivamente.

Um estudo relatado por Oliveira e colaboradores (2005) avaliou possíveis interações entre alguns excipientes farmacêuticos e glibenclamida utilizando técnicas termoanalíticas (TG/DSC). Os dados da cinética térmica e isotérmica mostraram incompatibilidade entre glibenclamida e estearato de magnésio (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

2.1.3 Decomposição Térmica de Sólidos

O estudo da estabilidade térmica de sólidos é uma área que envolve conceitos multidisciplinares e está em plena expansão devido às suas aplicações tecnológicas. As reações de decomposição de sólidos podem ser tratadas como reações topoquímicas e apresentam a característica fundamental de ocorrer na interface entre duas fases sólidas, o reagente e o produto (YEREMIM, 1980). Uma representação dessa reação é apresentada na equação 2.1:



O caminho da reação depende da velocidade de consumo do reagente e, em condições favoráveis, ocorre o desenvolvimento e o aumento de espaços de fase estável B(s) até que se complete todo o consumo do reagente. A formação de B(s) pode se dar de forma lenta ou rápida. Quando é lenta, apenas uma pequena parte do sistema será coberta por uma camada de produto. Quando a formação de B(s) se dá de forma rápida, o reagente será coberto rapidamente por uma camada fina do produto e a velocidade do processo de decomposição será dada pelo desenvolvimento da interface formada para o interior do sólido (SEBASTIÃO, 2002).

O processo de decomposição térmica é usualmente analisado por meio do parâmetro de conversão α , definido como a quantidade de reagente perdido no tempo t , normalizada para a quantidade de reagente total, como pode ser visto na equação 2.2, em que N_0 é a quantidade de reagente total e N a quantidade de reagentes no instante da medição (GALWEY; BROWN, 2000; GALWEY, 2004).

$$\alpha = \frac{N_0 - N}{N_0} \quad (2.2)$$

O mecanismo de decomposição térmica de sólidos pode ser diferente em condições isotérmicas ou não-isotérmicas. O tratamento não-isotérmico é um método confiável, tradicional e disponível na literatura, que pode ser realizado com o uso de aproximações em alguns métodos para avaliar a energia de ativação da decomposição térmica. Os métodos mais usados para o tratamento são: Friedman (FR) (SBIRRAZZUOLI, 2007), Flynn-Wall-Ozawa (FWO) (FLYNN; WALL, 1966;

OZAWA, 1970), Kissinger-Akahira-Sunose (KAS) (AKAHIRA; SUNOSE, 1971; KISSINGER, 1957) e Vyazovkin (VYAZOVKIN; SBIRRAZZUOLI, 2006). Estes métodos tratam o processo por meio de uma equação cinética de etapa única usando o princípio de isoconversão, isto é, em uma taxa constante de conversão no tempo (α), a taxa de reação depende apenas da temperatura. A teoria fundamental é que a equação de uma etapa é aplicável apenas a uma conversão de extensão específica e a uma faixa de temperatura relacionada a essa conversão. Essa metodologia permite a análise de várias etapas, a serem verificadas por uma mudança de energia de ativação, um dos parâmetros de Arrhenius em relação a α . Experimentalmente, a análise deve ser realizada usando vários programas de temperatura com diferentes razões de aquecimento.

Nesses métodos de tratamento não isotérmico, a taxa de conversão α é definida como uma relação de massas, onde:

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_f} \quad (2.3)$$

sendo m_0 a massa inicial da amostra; m_f a massa final da amostra; m_t a massa da amostra no tempo t .

Os processos de decomposição térmica podem ser descritos, em muitos casos, pela equação geral da velocidade da reação (equação 2.4) (YOSHIDA, 1993; VYAZOVKIN; WIGHT, 1999)

$$-\frac{dx}{dt} = Ae^{-\frac{Ea}{RT}} f(x) \quad (2.4)$$

em que A é a constante pré-exponencial, R é a constante dos gases, Ea é a energia de ativação, x é a fração da amostra que não reagiu e T é a temperatura. Essa equação é uma combinação da equação geral da velocidade expressa em termos da concentração do reagente e da equação de Arrhenius.

De forma geral, as equações cinéticas podem ser separadas em cinco grupos distintos de processos que estão relacionados com a etapa determinante da reação (SEBASTIÃO *et al.*, 2004): 1. Exponencial; 2. Potência - equações aplicadas apenas à parte inicial da região de aceleração da decomposição; 3. Decaimento unimolecular; 4. Contração; 5. Sigmoidal - equações que descrevem as partes de aceleração e decaimento.

A decomposição térmica de sólidos é, usualmente, avaliada por meio de modelos matemáticos que descrevem os fenômenos de forma generalista. Nesta abordagem, os dados experimentais de decomposição térmica são comparados a modelos cinéticos existentes na literatura (**Tabela 2.1**) e procura-se um modelo, o que apresentar menor erro, para descrever o mecanismo de decomposição térmica do material.

Tabela 2.1: Modelos matemáticos para cinética de decomposição térmica de sólidos e seus respectivos símbolos.

Símbolo da Função	Equações Cinéticas	Modelos
F1	$-\ln(1 - \alpha) = kt + k_0$	Nucleação caótica (1ª. ordem)
Am	$[-\ln(1 - \alpha)]^{\frac{1}{m}} = kt + k_0$ <i>com $m = 2,3,4$</i>	Nucleação caótica seguida de crescimento nuclear à velocidade constante (Avrami-Erofeyev)
Au	$\frac{\ln \alpha}{(1 - \alpha)} = kt + k_0$	Nucleação em cadeias ramificadas (Avrami-Erofeyev)
R1	$\alpha = kt + k_0$	Contração Linear
R2	$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{2}} = kt + k_0$	Contração Superficial
R3	$1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{3}} = kt + k_0$	Contração Volumétrica
D1	$\alpha^2 = kt + k_0$	Difusão unidimensional
D2	$(1 - \alpha) \ln (1 - \alpha) + \alpha = kt + k_0$	Difusão bidimensional
D3	$\left[1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{3}}\right]^2 = kt + k_0$	Difusão tridimensional
D4	$1 - \frac{2}{3}\alpha - (1 - \alpha)^{\frac{2}{3}} = kt + k_0$	Difusão tridimensional (Gistling –Brounshtein)

Adaptado de VYAZOVKIN, Sergey; WIGHT, Charles A. Model-free and model-fitting approaches to kinetic analysis of isothermal and non-isothermal data. *Thermochimica Acta*, v. 340, p. 53-68, 1999.

Ajustar os dados experimentais de acordo apenas com os modelos cinéticos ou com os métodos isoconversionais, aplicados um a um, pode gerar erros muito grandes, visto que estes métodos não são suficientes na compreensão de diversos processos complexos de decomposição de sólidos. Uma das alternativas para contornar o problema é o uso de um método de modelagem baseado na contribuição de mais de um modelo, como Redes Neurais Artificiais, pelo método isoconversional (VYAZOVKIN; DOLLIMORE, 1996; VYAZOVKIN, 1997).

2.1.4 Redes Neurais Artificiais

A Rede Neural Artificial (RNA) é uma poderosa ferramenta matemática baseada no modelo de comunicação biológico para resolver problemas lineares e não lineares em diversas áreas da ciência e tem como unidade de processamento o neurônio artificial (XU, 2003). Essas unidades estão dispostas em paralelo em uma ou mais camadas e se comunicam unidirecionalmente entre si através das conexões sinápticas, através dos quais os seus pesos associados são modificados de forma ordenada pela função de ativação no intuito de armazenar o conhecimento da rede feito pelo processo de aprendizagem (HAYKIN, 1997).

A **Figura 2.2** traz uma comparação entre um neurônio artificial e um neurônio biológico. No modelo artificial, os pesos sinápticos assumem a função dos dendritos de receber os impulsos nervosos (informações) dos neurônios vizinhos e transmiti-los para o corpo celular. A função aditiva, em conjunto com a função ativação, assume a função do corpo celular, local responsável pelo processamento das informações recebidas anteriormente pelos pesos sinápticos. Como consequência, novos impulsos são gerados e transmitidos para as camadas sucessivas até gerarem a saída da rede, a sinapse artificial.

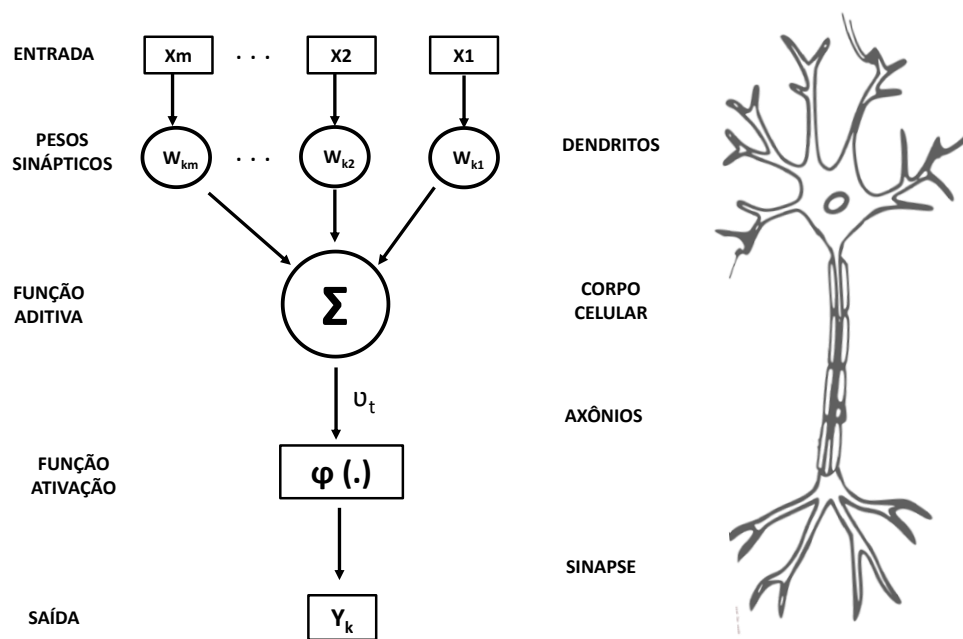


Figura 2.2: Comparação entre os neurônios artificiais e biológico.

Em uma Rede Neural, os neurônios e interconexões tem valores associados que são o estado do neurônio e peso de interconexão, respectivamente. Os pesos podem ser escritos como W_{kj} onde k , neste caso, é o neurônio e j é o neurônio diretamente ligado a ele (**Figura 2.2**).

Com a Rede Neural Artificial (RNA), os dados experimentais são usados diretamente e sem aplicação de filtros, como é feito convencionalmente. Além disso, é proposto o uso do MATLAB®, um software de programação – visto que a técnica utiliza análise numérica para se chegar a resultados de problemas complexos que serão resolvidos pelo método algébrico – de alto desempenho, de fácil entendimento e acessível em relações a outras linguagens de programação.

Há diversos modelos de Redes Neurais Artificiais, uma vez que a arquitetura é variável e pode ser otimizada de acordo com as características do problema em estudo. Neste trabalho, optou-se pelo uso das redes Multilayer Perceptron (MLP).

Para a realização desse trabalho, foram utilizadas RNAs em linguagem MATLAB®, com presença de neurônios em camada oculta. Essas redes consideram os modelos cinéticos da **Tabela 2.1**, equações que envolvem a taxa de decomposição, e podem ser alimentadas com dados isotérmicos ou não-isotérmicos de diferentes técnicas analíticas de análise térmica.

2.2 Objetivos

Descreve-se aqui o primeiro estudo sobre a cinética de degradação térmica de uma MnP redox-ativa sob condições isotérmicas e não isotérmicas. Além disso, vale a pena notar que os modelos cinéticos de decomposição térmica foram avaliados usando uma abordagem de última geração, baseada na rede neural artificial de múltiplas camadas (MLP).

A MnTE-2-PyPCL₅ foi escolhida por ser um forte candidato a fármaco pertencente à classe das Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirinas, atualmente desenvolvido como mímico de SOD, modelos biomiméticos, antioxidantes catalíticos e agente terapêutico redox-ativo.

2.3 Metodologia Experimental

2.3.1 Mn-Porfirinas

A MnTE-2-PyPCL₅ e o análogo não alquilado MnT-2-PyPCL (Figura 2.1) foram preparados e purificados conforme relatado anteriormente (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1999, REBOUÇAS *et al.*, 2002) e mostraram características consistentes com os dados publicados (PINTO *et al.*, 2013, REBOUÇAS *et al.*, 2002, REBOUÇAS *et al.*, 2008, REBOUÇAS *et al.*, 2009). Embora esses compostos sejam geralmente rotulados como espécies anidras (ou seja, MnTE-2-PyPCL₅), os sólidos isolados geralmente contêm quantidades variáveis de moléculas de água, dependendo do processamento da amostra, do manuseio e do armazenamento da amostra (PINTO *et al.*, 2013). Neste trabalho, a MnP catiônica (MnTE-2-PyPCL₅) continha 8 moléculas de água, enquanto a MnP neutra, MnT-2-PyPCL, foi analisada como uma espécie anidra, de acordo com dados termogravimétricos (ver seção de Resultados e Discussão). Todas as amostras foram investigadas por termogravimetria e análises térmicas diferenciais (TG/DTA) em condições isotérmicas e não isotérmicas.

2.3.2 Análise Térmica

As análises experimentais de TG foram realizadas nos Departamentos de Química da Universidade Federal Paraíba (UFPB) e na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em diferentes razões de aquecimento e temperaturas. As curvas TG foram

obtidas em uma termobalança Shimadzu DTG60, usando amostras de 2 a 3 mg, pesadas com precisão em cadinhos de alumina diretamente na termobalança, sob atmosfera dinâmica de ar sintético com uma taxa de fluxo de 50 mL.min⁻¹.

Para os estudos cinéticos, várias curvas TG foram registradas independentemente usando taxas de aquecimento de 5, 7,5, 10 e 12,5°C min⁻¹ na faixa de temperatura de 30 a 900 °C para experimentos não isotérmicos. Experimentos isotérmicos foram realizados a 158, 160, 162 e 164°C por um período de 60 minutos; nestes experimentos, as amostras foram aquecidas da temperatura ambiente para a temperatura isotérmica alvo com uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹.

2.3.3 Método isoconversional de Vyazovkin a partir de dados não isotérmicos de TG

O processo de decomposição em estado sólido segue a equação cinética geral de primeira ordem:

$$\frac{d\alpha}{dT} = k(T)f(\alpha) \quad (2.5)$$

com $k(T)$ como a constante de velocidade seguindo a equação de Arrhenius e $f(\alpha)$ como o modelo de reação, com α como o grau de conversão $\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_f}$ em que m_0 é a massa inicial da amostra, m_f é a massa final da amostra e m_t é a massa da amostra no tempo t .

O procedimento não-linear de Vyazovkin (VYAZOVKIN, 1997) considera a integral,

$$I(E, T) = \int_0^T \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right) dt \quad (2.6)$$

que, caso seja assumida como uma reação de primeira ordem pode ser descrita por

$$g(\alpha) = \frac{A}{\beta} \int_0^T \exp\left(-\frac{Ea}{RT}\right) dt = \frac{A}{\beta} I(E, T) \quad (2.7)$$

Com $g(\alpha) = \int_0^\alpha [f(\alpha)]^{-1} d\alpha$ e assumindo que o modelo de reação é independente da taxa de aquecimento, β_i ($i = 1, \dots, n$), para uma determinada conversão, é visto que:

$$\left(\frac{A_\alpha}{\beta_1}\right) I(E_\alpha, T_{\alpha 1}) = \left(\frac{A_\alpha}{\beta_2}\right) I(E_\alpha, T_{\alpha 2}) = \dots = \left(\frac{A_\alpha}{\beta_n}\right) I(E_\alpha, T_{\alpha n}) \quad (2.8)$$

O fator de frequência, A_α , é considerado constante para os processos submetidos a uma pequena variação da taxa de aquecimento, então esta equação pode ser tratada considerando a seguinte otimização:

$$\sum_{i=1}^n \sum_{j \neq 1}^n \frac{I(E_\alpha, T_{\alpha 1}) \beta_j}{I(E_\alpha, T_{\alpha 1}) \beta_i} = \text{minimum} \quad (2.9)$$

A integral de temperatura pode ser resolvida assumindo a seguinte aproximação (PÉREZ -MAQUEDA, CRIADO, 2000):

$$\int_0^T \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) dt = \frac{E}{R} \int_\infty^x \frac{\exp(-x)}{x^2} dx = \frac{E}{R} p(x)$$

com $x = E/RT$ e $p(x)$ calculado usando a aproximação Senum-Yang (PÉREZ -MAQUEDA, CRIADO, 2000) de terceiro grau:

$$p(x) = \frac{\exp(-x)}{x} \frac{x^2 + 10x + 18}{x^3 + 12x^2 + 368x + 24}$$

O erro percentual da função $p(x)$ para o 3º a aproximação racional é de cerca de 10^{-5} por cento (PÉREZ-MAQUEDA, CRIADO, 2000).

2.3.4 Aplicação de uma Rede Neural MLP para o estudo cinético de decomposição química a partir de dados isotérmicos de TG

A rede neural MLP aplicada neste estudo foi proposta inicialmente por Sebastião *et al.*, 2003, 2004. A arquitetura dessa MLP possui apenas um neurônio nas camadas de entrada e saída. A camada intermediária, no entanto, tem dez neurônios artificiais, de acordo com o número de modelos cinéticos considerados no processo de decomposição sólida térmica (Tabela 2.1). Quando trabalhamos com rede multicamadas, devemos saber que, em cada camada, os neurônios usam como dado de entrada os dados de saída do neurônio que os precede. Assim, com notação vetorial, a Equação 2.8 pode descrever os estados dos neurônios da rede:

$$o_k = f \left(\sum_{j=0}^m w_{kj} x_j \right) \quad (2.12)$$

em que $x_0, x_1, \dots, x_m$ são as entradas; $w_{k0}, w_{k1}, \dots, w_{kj}$ são os pesos sinápticos entre os neurônios k e j , f é a sua função ativação e x_k é a saída do neurônio – seu estado.

Neste tipo particular de rede, também existem pesos chamado bias, w_{i0} , definidos como parâmetros unitários para amplificar ou reduzir a correlação linear da rede (SEBASTIÃO *et al.*, 2003a, 2004). Nessa arquitetura proposta de MLP, os pesos w_{i1} e os bias w_{i0} foram pré-determinados a partir do ajuste dos dados experimentais por cada modelo cinético em cada temperatura estudada, em que os pesos são as constantes de velocidade e coeficiente lineares dos modelos cinéticos. A perda de informação química que acontece no processo é compensada com a fixação dos pesos na camada de entrada (SEBASTIÃO *et al.*, 2003b). A figura 2.3 mostra uma representação de uma Rede Neural MLP.

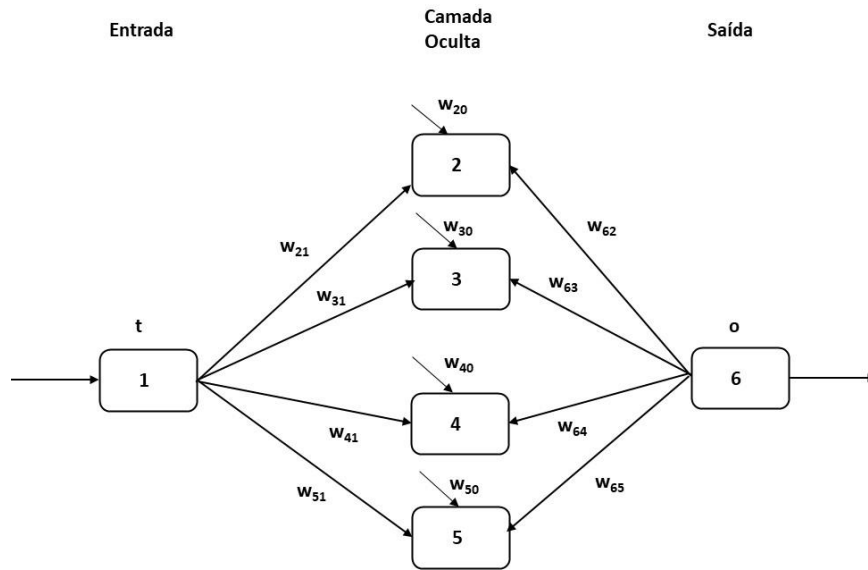


Figura 2.3: Esquema de Rede MLP

Para outra representação dessa rede, podemos dispor os dados em forma matricial e definir o vetor peso (W_1) como:

$$W_1 = \begin{pmatrix} w_{21} & w_{20} \\ w_{31} & w_{30} \\ w_{41} & w_{40} \\ \vdots & \vdots \\ w_{n1} & w_{n0} \end{pmatrix}$$

Assumindo que x são os dados de tempo experimentais para cada temperatura estudada,

$$X = \begin{pmatrix} t \\ 1 \end{pmatrix} \quad (2.14)$$

A linearização dos dados é feita com a multiplicação das duas matrizes. Com esse processo é obtida a matriz W_1x :

$$w_1 x = \begin{pmatrix} w_{21}t + w_{20} \\ w_{31}t + w_{30} \\ w_{41}t + w_{40} \\ w_{51}t + w_{50} \end{pmatrix} \quad (2.15)$$

Os neurônios na camada intermediária devem ser ativados por uma função de ativação, f , para enviar informações a camada de saída. A partir disso, seus estados são definidos por

$$o_k = f(w_1 x) \quad (2.16)$$

A função ativação a ser aplicada para simular o impulso dos neurônios e, consequentemente, obter os estados dos neurônios na camada de saída, deve seguir alguns requisitos: (i) as funções de ativação devem assumir um valor pré-determinado (geralmente, $f(x) = 0$ antes de calcular o estado dos neurônios); (ii) ativar os neurônios assumindo valores próximos de 1; e (iii) certificar de que esta é uma função crescente $df(x)/dx \geq 0$, para garantir a otimização da função energia (SEBASTIÃO *et al.*, 2003). Se foi escolhida uma função de ativação linear na camada de saída, a resposta da rede, dada pelo estado do neurônio na camada de saída, é

$$o_k = w_2 f(w_1 x) \quad (2.17)$$

com w_2 sendo o vetor de peso de interconexão da camada de saída.

A Rede MLP trabalha em um processo de aprendizagem que acontece pela otimização da função energia, a partir do qual os pesos de interligação de saída são estimados (SEBASTIÃO *et al.*, 2003). Considerando α_{exp} como dado experimental, a função energia é:

$$E = \|w_2 f(w_1 x) - \alpha_{exp}\|_2^2 \quad (2.18)$$

Para resolver esta equação, a contribuição w_2 de cada modelo cinético para descrever os dados experimentais pode ser calculado pelo conhecido algoritmo pseudo-inverso (SEBASTIÃO *et al.*, 2003):

$$w_2 = (B^T B)^{-1} B^T \alpha_{exp} \quad (2.19)$$

onde $B = f(w_1 x)$.

2.4 Resultados e discussão

2.4.1 Decomposição Térmica da MnTE-2-PyPCL₅

Estudo anterior sobre a estabilidade térmica da MnTE-2-PyPCL₅ (PINTO *et al.*, 2013), sob atmosfera dinâmica de ar sintético, estabeleceu três eventos termogravimétricos principais: (i) desidratação, (ii) *N*-desalquilação, e (iii) degradação da matéria orgânica, tendo o óxido de Mn como resíduo final a 900 ou 950°C. A reação de *N*-desalquilação da MnTE-2-PyPCL₅ ocorreu entre 134 e 279°C (**Figura 2.4**), sob atmosfera dinâmica de ar sintético, a uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹. A perda de cloreto de etila (EtCl) foi caracterizada por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) e pela caracterização do resíduo a 279°C, o que é consistente com as análises espectroscópicas e cromatográficas da MnT-2-PyPCL (Figura 2.1) (PINTO *et al.*, 2013).

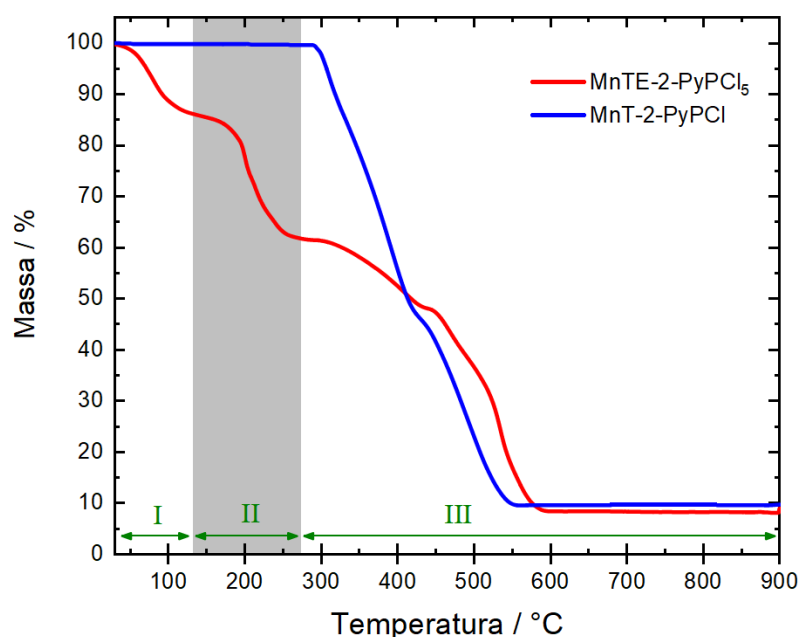


Figura 2.4: Curva termogravimétrica da MnTE-2-PyPCL₅ (traço vermelho, MnTE-2-PyPCL₅·8H₂O) e MnT-2-PyPCL (traço azul) sob ar dinâmico a uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹. Eventos térmicos correspondem a: I–desidratação; II–*N*-desalquilação; e III–decomposição do anel da porfirina para produzir óxidos de Mn. Dados correspondentes para a amostra não alquilada MnT-2-PyPCL (traço azul) é apresentado como um controle, indicando que não ocorreu nenhum processo de *N*-desalquilação na temperatura destacada entre 134 – 279°C.

Além disso, a análise termogravimétrica de uma amostra de MnT-2-PyPCL (Figura 2.1), preparada independentemente (REBOUÇAS *et al.*, 2002) e com os grupos *N*-etilas da MnTE-2-PyPCL₅ ausentes, não apresentou eventos importantes na faixa de temperatura associada à perda de EtCl em MnTE-2-PyPCL₅ (ver Figura 2.4 e APÊNDICE A e B) para dados complementares de termogravimetria derivada (DTG) e análise térmica diferencial (DTA)). Enquanto a desidratação é um processo reversível, a *N*-desalquilação de MnTE-2-PyPCL₅ para produzir MnT-2-PyPCL (Figura 2.1) representa o primeiro evento térmico irreversível que compromete a integridade estrutural da MnP, afetando permanentemente sua eficiência catalítica, lipofilia, biodisponibilidade e eficiência terapêutica esperada (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2011, PINTO *et al.*, 2013, POLLARD *et al.*, 2009, REBOUÇAS *et al.*, 2008).

Assim, a compreensão da cinética do processo de *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCL₅ pode ser útil para fornecer aos pesquisadores e à indústria farmacêutica, informações a respeito de manuseio/armazenamento de MnTE-2-PyPCL₅, prazo de validade e seu uso. Amostras comercialmente impuras de Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirinas, contendo uma mistura de compostos *N*-desalquilados provavelmente derivados de processos de degradação térmica (POLLARD *et al.*, 2009, REBOUÇAS *et al.*, 2008), já atrapalharam algumas conclusões biológicas sobre a atividade SOD *in vivo* dessas Mn-porfirinas (REBOUÇAS *et al.*, 2008, MONROE *et al.*, 2007).

Os estudos cinéticos sobre a *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCL₅ foram realizados por métodos não isotérmicos e isotérmicos conforme apresentado a seguir, observando as recomendações da Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) (VYAZOVKIN *et al.*, 2011, VYAZOVKIN *et al.*, 2014). As faixas de temperatura específicas para os estudos cinéticos foram escolhidas com base no intervalo em que prevalece apenas o processo de *N*-desalquilação da MnTE-2-PyPCL₅ (Figura 2.1) (REBOUÇAS *et al.*, 2008). Embora os dados termocinéticos sejam geralmente coletados em experimentos sob alta temperatura sob condições de degradação térmica acelerada, os resultados isotérmicos podem ser extrapolados para temperaturas mais baixas, usando a equação de Arrhenius, para fornecer estimativas da estabilidade térmica do fármaco sob diferentes temperaturas, alvo de interesse para manuseio e armazenamento associado a boas práticas de fabricação (OLIVEIRA *et al.*, 2011, REN *et al.*, 2020).

2.4.2 Estudo Cinético não isotérmico usando o método isoconversional de Vyazovkin

O processo de decomposição associado à *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCl₅ em condições não isotérmicas foi investigado. A partir desta metodologia, os parâmetros cinéticos de Energia de Ativação (E_a) e o fator de frequência (A) foram determinados de acordo com o grau de conversão (α). A isoconversão não linear, método proposto por Vyazovkin et al. (VYAZOVKIN *et al.*, 2011) foi usado. Este método permite uma análise indireta de processos multietapas, considerando a energia de ativação em função do grau de conversão.

A **Figura 2.5** mostra os dados experimentais não isotérmicos obtidos das quatro taxas de aquecimento escolhidas para o processo de *N*-desalquilação da MnTE-2-PyPCl₅: 5,0, 7,5, 10,0 e 12,5 °C.min⁻¹. As curvas não são sobrepostas e seguem as recomendações do ICTAC para estudos cinéticos (VYAZOVKIN *et al.*, 2011, 2014, 2020). Essas curvas foram tratadas pelo método não linear de Vyazovkin.

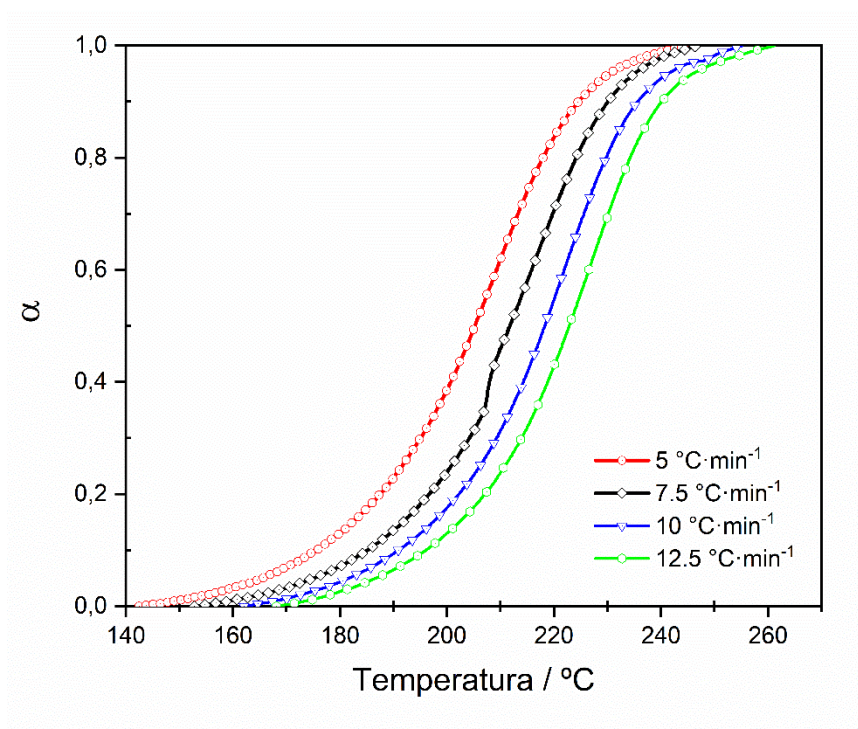


Figura 2.5: Curvas não isotérmicas para a decomposição térmica da MnTE-2-PyPCl₅.

A **Figura 2.6** apresenta a energia de ativação determinada para o processo de decomposição térmica da MnTE-2-PyPCl₅, em função do grau de conversão. A Figura 2.6 revela que a energia de ativação aumenta à medida que a conversão prossegue, partindo de 75 kJ mol⁻¹ no início do processo, chegando a 100 kJ mol⁻¹ em $\alpha = 0,5$, e terminando com valores de 125 kJ mol⁻¹. Essas altas energias de ativação não apenas indicam, mas também são consistentes com a alta estabilidade térmica observada do composto (PINTO *et al.*, 2013).

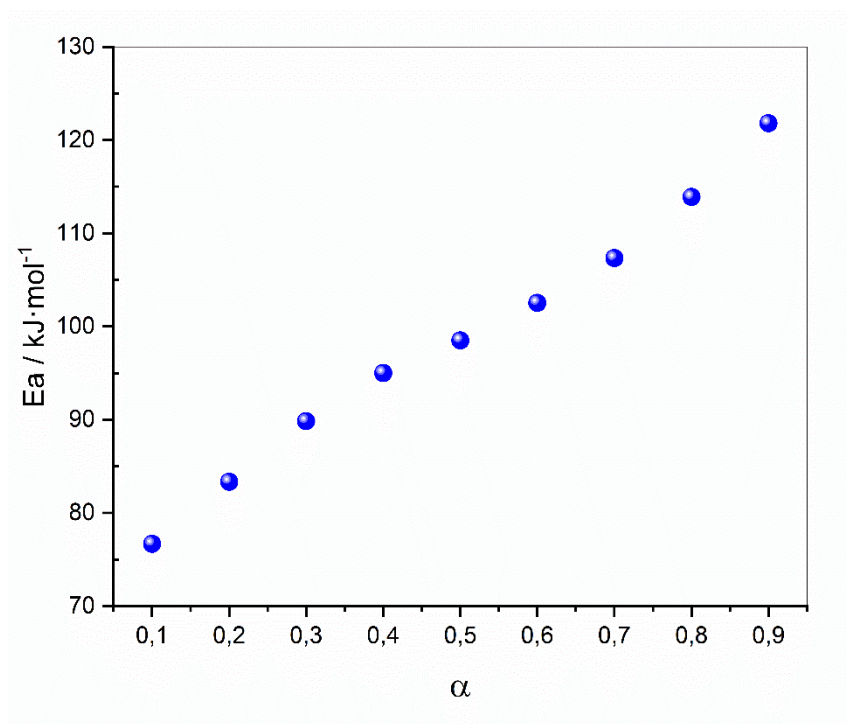


Figura 2.6: Energia de ativação de acordo com a extensão da conversão determinada pelo método de Vyazovkin para a *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCl₅.

Os desvios padrão para os ajustes de Vyazovkin são apresentados na **Tabela 2.2**, e seus pequenos valores garantem que o método de Vyazovkin foi usado adequadamente para tratar os dados da *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCl₅. Vale ressaltar que a energia de ativação representa a energia necessária para iniciar a decomposição irreversível da MnTE-2-PyPCl₅.

Tabela 2.2: Desvio padrão para o método de Vyazovkin de acordo com a conversão (α) para a *N*-desalquilação térmica da MnTE-2-PyPCL₅.

Conversão (α)	Desvio padrão/ 10^{-3}
0,10	1,1930
0,20	1,5438
0,30	2,8396
0,40	4,2336
0,50	1,5133
0,60	4,5673
0,70	3,3551
0,80	2,1008
0,90	3,8991

2.4.3 Estudo cinético isotérmico através da Rede Neural Artificial MLP

A decomposição isotérmica de sólidos geralmente ocorre na interface produto-reagente (VYAZOVKIN *et al.*, 1997), sendo descrita por modelos cinéticos bem estabelecidos na literatura (SEBASTIÃO *et al.*, 2004, 2003, MARQUES *et al.*, 2020). Esses modelos correlacionam a fração de decomposição, $\alpha(t)$, com o tempo em temperaturas apropriadas escolhidas. Um algoritmo de rede neural múltiplas camadas (MLP) foi desenvolvido pelo grupo da Profa. Rita Sebastião da UFMG (SEBASTIÃO *et al.*, 2004, 2003), usando a linguagem MATLAB (MARQUES *et al.*, 2020, FERREIRA *et al.*, 2019). O algoritmo é diferente das abordagens tradicionais de MLP, pois não varia os pesos de interconexão entre as camadas de entrada e intermediárias. Nesta abordagem MLP, apenas os pesos entre as camadas intermediária e de saída são otimizados, o que proporciona a contribuição de cada modelo cinético na descrição dos dados experimentais.

No estudo atual, um total de 12 modelos cinéticos (ver **Tabela 2.1**) foram investigados simultaneamente, dos quais 10 modelos (ou seja, D1, D2, D3, D4, R1, R2, R3, Am2, Am4 e Au) foram relevantes para descrever, de maneira combinada, a cinética de decomposição térmica associada à reação de *N*-desalquilação da MnTE-2-PyPCL₅.

As curvas de fração de decomposição, $\alpha(t)$, para experimentos isotérmicos da MnTE-2-PyPCL₅ a 158, 160, 162 e 164°C são apresentadas na **Figura 2.7**. Estas temperaturas foram escolhidas para coincidirem com o início da *N*-desalquilação; destaca-se, no entanto, que o processo classificado de modo geral como *N*-desalquilação pode englobar, na MnTE-2-PyPCL₅, a um conjunto de quatro desalquilações consecutivas. Assim, a seleção de uma faixa de estudo pequena de temperatura, bem no início da etapa de perda de massa associada aos grupos EtCl, foi efetuada buscando-se isolar cineticamente o processo de perda do primeiro grupo etila, minimizando a possibilidade de sobreposição (e correspondente contaminação dos dados cinéticos) com processos de perda de grupos etilas subsequentes. É importante destacar que a perda do primeiro grupo etila compromete irreversivelmente a estrutura da MnTE-2-PyPCL₅, caracterizando-se, assim, como a primeira etapa de decomposição formal da porfirina e, portanto, de interesse para estudo da estabilidade térmica temporal e vida útil deste agente terapêutico experimental redox-ativo.

Conforme mostrado na Figura 2.7, o erro residual do ajuste MLP em todos os casos é de cerca de 10^{-4} , atestando a robustez do método.

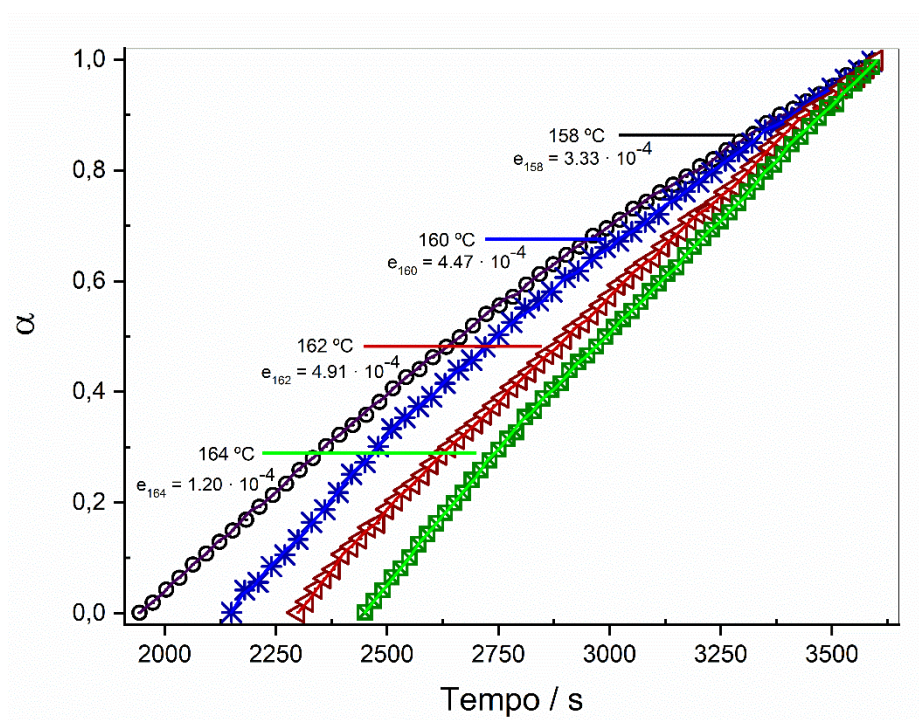


Figura 2.7: Fração de decomposição de MnTE-2-PyPCl₅, $\alpha(t)$, em função do tempo (t) a 158, 160, 162 e 164 °C. Os símbolos são para os dados experimentais, e a linha contínua é para resultados de MLP. Os erros residuais (e) dos ajustes de MLP em cada temperatura também são apresentados.

A abordagem da rede neural MLP é excepcionalmente precisa em comparação com o ajuste de cada modelo cinético individual separadamente. A **Figura 2.8** apresenta o erro residual de cada modelo cinético considerado individualmente para ajustar os dados experimentais. Vale a pena notar que o ajuste de dados experimentais com vários modelos cinéticos resultou em erros residuais comparáveis, muitos dos quais são da mesma ordem de grandeza (ver **Figura 2.7**). Este resultado sugere fortemente que a *N*-desalquilação da MnTE-2-PyPCl₅ através de um processo de decomposição térmica é melhor compreendida como uma contribuição sobreposta de muitos mecanismos combinados (SEBASTIÃO *et al.*, 2004, 2003); para este caso, os mecanismos R1, R2, Am2 e Am4 apresentaram menor erro residual para ajustar os dados experimentais.

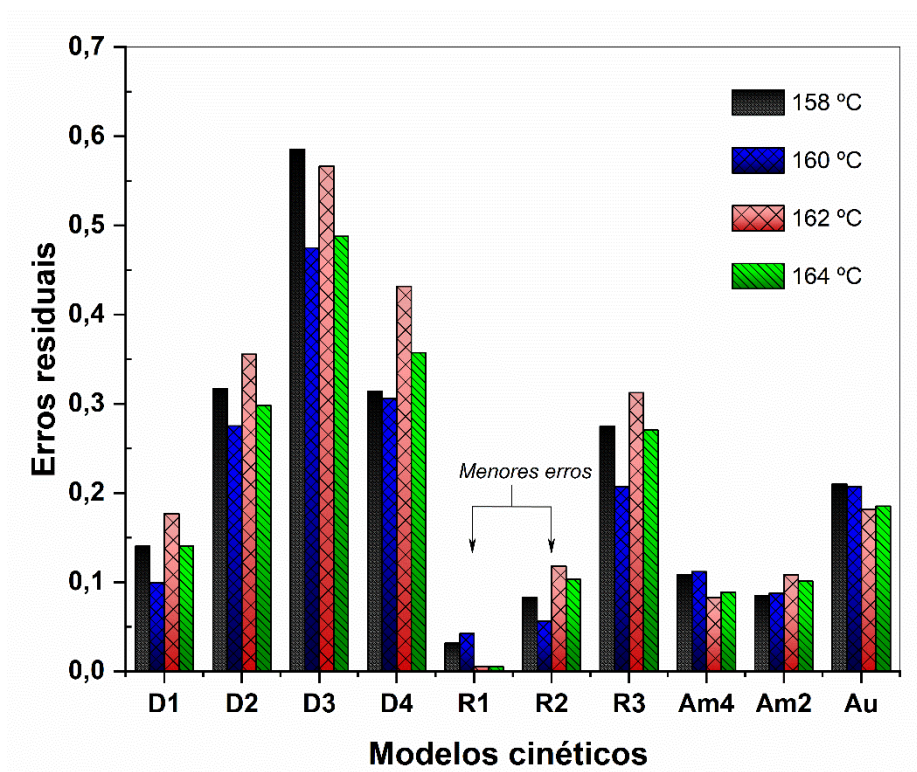


Figura 2.8: Erros residuais para o ajuste dos dados experimentais isotérmico sobre a *N*-desalquilação da MnTE-2-PyPCL₅ para cada modelo cinético individualmente.

Os modelos de contração R1 e R2 explicam os dados experimentais com mais precisão. O modelo R2 assume a nucleação ocorrendo rapidamente na superfície do cristal, que apresenta forma cilíndrica. Neste modelo cinético, isso representa uma área de contração; a contração do raio segue $r = r_0 - kt$, em que r é o raio no instante t , r_0 é o raio inicial e k é a constante de velocidade, conforme esquematicamente representado na **Figura 2.9**. Os modelos Rn generalizados, que englobam R1 e R2, são funções matemáticas que descrevem reações que ocorrem na fase limite, com processos de difusão extremamente rápidos, o que impede uma interação adequada dos reagentes na interface (KHAWAM, FLANAGAN, 2006a, KHAWAM, FLANAGAN, 2006b). Esses processos de reação controlados por limites de fase são, portanto, controlados pelo rearranjo dos reagentes no limite. Os modelos Rn são conhecidos como modelos de contração geométrica, mas R1 é semelhante aos usualmente aplicados para descrever os mecanismos de ordem de reação em um sistema homogêneo, seguindo uma taxa de reação de ordem zero.

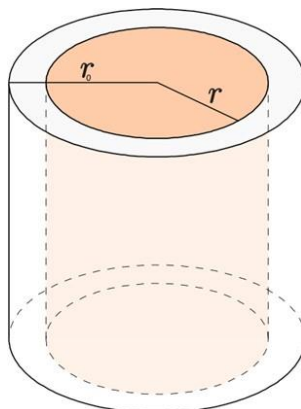


Figura 2.9: Contração geométrica de cristais cilíndricos que apresentam o mecanismo cinético R2.

Na abordagem de rede neural artificial MLP, dez modelos cinéticos (ou seja, D1, D2, D3, D4, R1, R2, R3, Am2, Am4 e Au, ver **Tabela 2.1**) foram considerados simultaneamente na camada intermediária, com a matriz w_1 determinada pela constante de velocidade (k) e coeficiente linear (k_0) dos modelos cinéticos pelos dados experimentais de ajuste de cada curva isotérmica. A contribuição dos modelos cinéticos para o processo de decomposição isotérmica da MnTE-2-PyPCL₅ é apresentada na **Figura 2.10**, que revela que para as temperaturas estudadas (158, 160, 162 e 164°C), as contribuições mais significativas foram aquelas associadas com os modelos de contração R1 e R2. Assim, os modelos de contração R1 e R2 apresentaram menor erro e maior contribuição na descrição do fenômeno da decomposição térmica do MnTE-2-PyPCL₅.

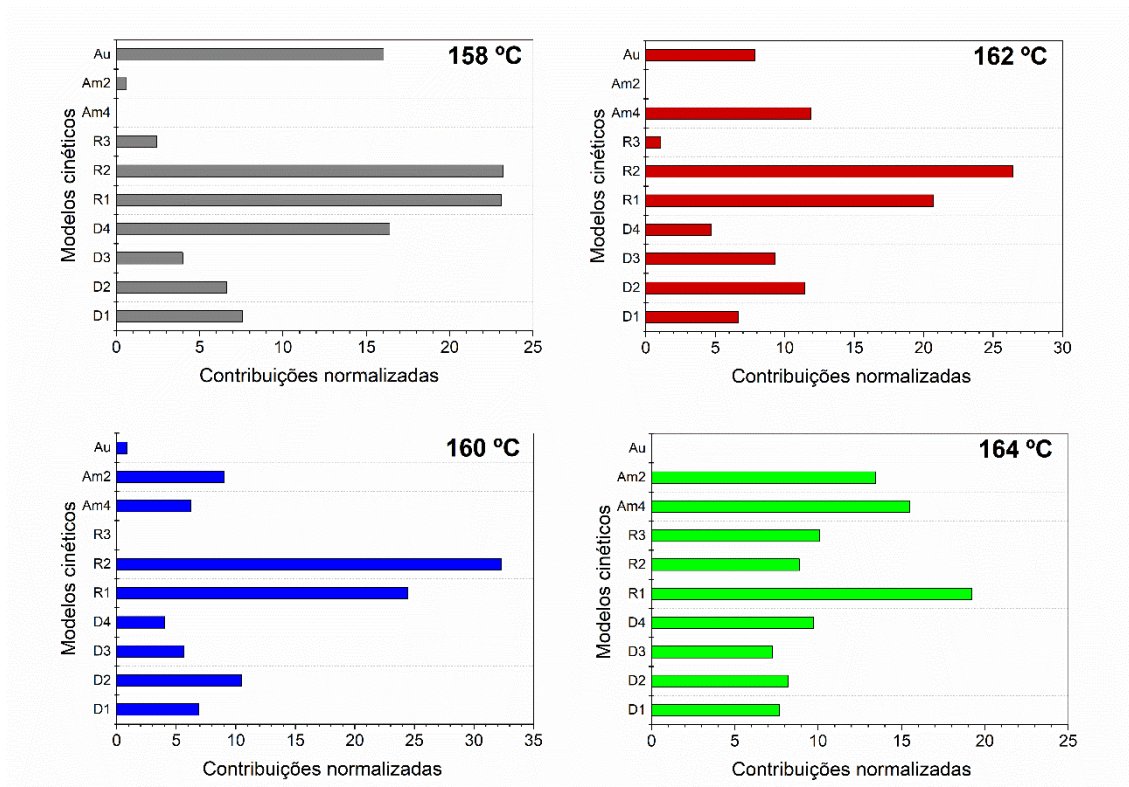


Figura 2.10: Contribuições dos modelos cinéticos para a descrição dos processos de decomposição isotérmica da MnTE-2-PyPCl₅ em 158, 160, 162 e 164°C (valores normalizados) conforme determinado pela abordagem de rede neutra artificial MLP.

As constantes de taxa de decomposição determinadas pelos dados experimentais nos modelos cinéticos através da rede neural MLP (matriz w_1) foram usados para calcular a energia de ativação da decomposição térmica da MnTE-2-PyPCl₅. Os valores derivados de MLP mostrados na **Figura 2.11** são comparáveis às energias de ativação calculadas usando o método de Vyazovkin (**Figuras 2.6 e 2.11**). Esta consistência com o resultado não isotérmico indica que o processo da decomposição não é afetado pela condição experimental (ou seja, protocolo isotérmico ou não isotérmico) e, novamente, os valores de MLP de energia de ativação são consistentes com a estabilidade global da MnTE-2-PyPCl₅.

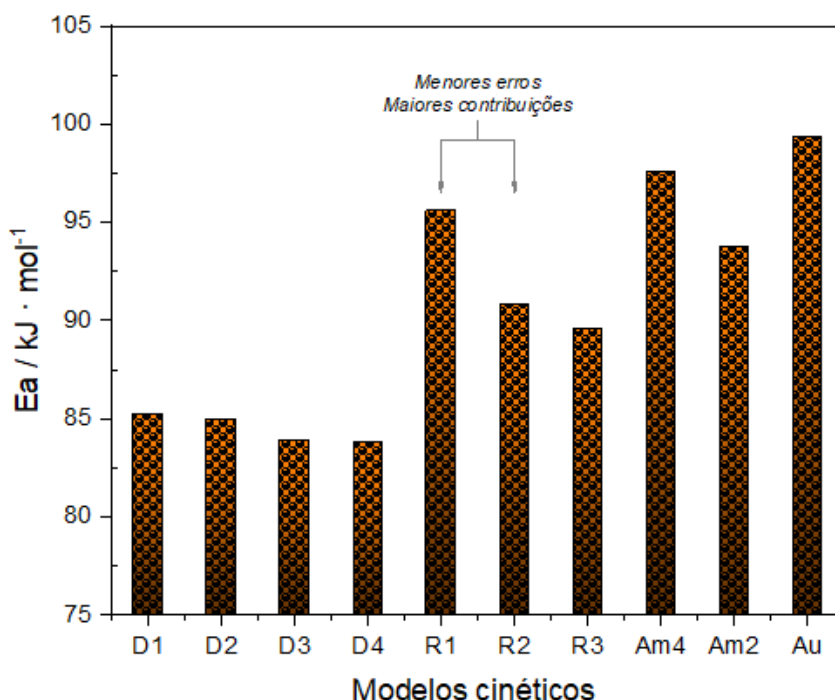


Figura 2.11: Energia de ativação (E_a) determinada pela rede neural artificial multicamada (MLP) para a decomposição térmica da MnTE-2-PyPCl₅.

A MnTE-2-PyPCl₅ é frequentemente armazenada como um sólido não formulado ou como formulações de solução aquosa (GAD *et al.*, 2013, 2019, BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2011). A MnTE-2-PyPCl₅ sólida não formulada tem sido frequentemente armazenada à temperatura ambiente, presumivelmente entre 15 e 35 °C (GAD *et al.*, 2013, 2019, PINTO *et al.*, 2013). Assim, considerando os valores de energia de ativação e constantes de velocidade determinados em alta temperatura, os parâmetros cinéticos a 25 °C foram estimados, utilizando a equação de Arrhenius. Esses dados cinéticos também permitiram a estimativa do valor de vida útil de $t_{90\%}$ para a MnTE-2-PyPCl₅ (ou seja, o tempo em que a concentração inicial de MnP decai em 10%) a 25 e 158 °C (ver **Tabela 2.3**). O valor $t_{90\%}$ é um parâmetro importante que é recomendado para estimar a vida útil de um princípio ativo (OLIVEIRA *et al.*, 2011, YOSHIDA *et al.*, 2011).

Tabela 2.3: Energia de ativação (E_a), fator de frequência $\ln(A)$ e tempo, para o qual a concentração decai em 10% ($t_{90\%}$ valor de vida útil), determinado pela rede neural artificial múltiplas camadas (MLP) para decomposição térmica da MnTE-2-PyPCl₅ a 158 e 25 °C.

Modelo Cinético	E_a (kJ mol ⁻¹)	$\ln(A)$	$t_{90\%}$ a 158 °C (h)	$t_{90\%}$ a 25 °C (anos)
D1	85,2302	17,3056	59,4421	5
D2	84,9668	16,1542	69,1946	5
D3	83,9006	15,1482	141,75	9
D4	83,8007	14,5778	242,58	16
R1	95,5999	19,2077	62,05	17
R2	90,7974	17,6960	74,48	11
R3	89,5753	17,1541	91,42	12
Am4	97,6001	19,6486	69,58	25
Am2	93,7599	19,1985	37,77	8
Au	99,2897	22,0898	9,70	4

Como o modelo R1 apresentou menor erro e maior contribuição para o fenômeno de decomposição térmica do material, o valor de $t_{90\%}$ determinado por este modelo é o mais adequado para descrever o comportamento da MnTE-2-PyPCl₅ ao longo do tempo. Portanto, espera-se que levaria cerca de 17 anos para que a MnTE-2-PyPCl₅ no estado sólido atingisse uma desalquilação de 10% a 25 °C, o que é consistente com a alta estabilidade observada empiricamente para este composto na rotina diária de manuseio e armazenamento no laboratório (REBOUÇAS *et al.*, 2008). É importante destacar que uma amostra sólida de MnTE-2-PyPCl₅ de alta pureza armazenada em um frasco fechado à temperatura ambiente no escuro por 7 anos em nossos laboratórios não mostrou sinais perceptíveis de *N*-desalquilação quando analisada por cromatografia em camada fina (dados cedidos pela Dra. Jacqueline C. Bueno-Janice e pelo Dr. Victor H. A. Pinto, do nosso grupo de pesquisa).

Como os valores de vida útil podem ser significativamente afetados pelo armazenamento e pelas formulações dos medicamentos (incluindo a natureza dos excipientes) (OLIVEIRA *et al.*, 2011, SILVA *et al.*, 2021, YOSHIDA *et al.*, 2011), o valor $t_{90\%}$ calculado para a MnTE-2-PyPCL₅ é válido se o material sólido for mantido em condições ideais de umidade. Conforme observado, a MnTE-2-PyPCL₅ é uma molécula hidratável. A presença de umidade pode desencadear processos hidrolíticos. Condições de alta umidade favorecem a absorção do excesso de umidade do ar, que pode ser tão destrutiva quanto ambientes com baixa umidade. Um excesso de umidade pode comprometer a potência e eficácia, levando à degradação ou mesmo à toxicidade de alguns produtos. Pode também promover o crescimento de microrganismos, comprometendo sua integridade biológica.

A Conferência Internacional de Harmonização (ICH) no tópico Q1 A(R2) trata dos testes de estabilidade de novos medicamentos e produtos, delimitando boas práticas de manipulação e armazenamento quanto aos parâmetros de temperatura e umidade. Essas variáveis levam em consideração a classificação da zona climática do país. A MnTE-2-PyPCL₅ deve ser armazenada em frasco hermeticamente fechado e mantida em temperatura de armazenamento de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75\% \pm 5\%$ visto que o Brasil pertence à zona climática IV (MARKENS, 2009). Vale ressaltar que os dados reportados aqui estimulam estudos adicionais sobre formulações e estabilidade da MnTE-2-PyPCL₅.

2.5 Conclusão

O primeiro estudo sobre a cinética de estabilidade térmica da Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirina foi realizado com o composto protótipo MnTE-2-PyPCL₅ usando termogravimetria (TG) sob condições não isotérmicas e isotérmicas. Uma rede neural multicamadas (MLP) permitiu o estudo simultâneo de dez modelos cinéticos e mostrou que a *N*-desalquilação associada com degradação da MnTE-2-PyPCL₅ é melhor explicada por uma combinação de vários mecanismos, com grandes contribuições dos modelos de contração R1 e R2.

Os valores de energia de ativação calculados a partir de dados isotérmicos e não isotérmicos concordam entre si e são consistentes com a alta estabilidade térmica da MnTE-2-PyPCL₅ observada no estado sólido. O valor de vida útil de $t_{90\%}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ estimado

a partir dos dados de decomposição isotérmica foi de aproximadamente 17 anos. Esses resultados contribuem para o desenvolvimento desta classe de agentes terapêuticos redox-ativos e mímicos de SOD e fornecem dados de suporte para protocolos de purificação, manuseio, armazenamento, formulação, data de validade e uso geral desses compostos.

Além disso, esses resultados da MnTE-2-PyPCL₅ não apenas estabelecem as bases para estudar outros mímicos de SOD à base de Mn(III) porfirina e agentes terapêuticos redox-ativos, mas também representam uma primeira aproximação aos parâmetros cinéticos de estabilidade térmica de porfirinas de Zn(II) (quimicamente relacionado) ZnTE-2-PyPCL₄, e seu análogo Zn(II) 2-*N*-alquilpiridilporfirina, que estão sendo ativamente desenvolvidos como fotossensibilizadores eficientes e seletivos para inibição fotodinâmica antimicrobiana (aPDI) (BENOV, 2015, VIANA *et al.*, 2015, ANDRADE *et al.*, 2018, SOUZA *et al.*, 2021a, 2021b, SOUZA *et al.*, 2022).

3 Desenvolvimento de um Protocolo Espectrofotométrico assistido por Termogravimetria para determinação da absortividade molar da MnTE-2-PyPCl₅

3.1 Introdução

Como foi reportado no capítulo anterior, Mn-porfirinas (MnP) hidrossolúveis da classe das Mn(III)-2-*N*-alquilpiridilporfirinas (alquil = etila, por exemplo) têm sido amplamente estudadas como agentes terapêuticos redox-ativos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2016). As formulações farmacêuticas comumente usadas nos ensaios pré-clínicos e clínicos são à base de soluções aquosas, que geralmente têm as concentrações determinadas por meio de espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis. Para a determinação da concentração de MnPs, o valor da absortividade molar (ϵ) em meio aquoso precisa ser conhecido. Contudo, o protocolo de formulação muitas vezes pode ser demorado e complexo, pois a quantidade de água no material sólido não é fácil de determinar, visto que amostras hidratadas apresentam quantidades variáveis de água nos sólidos.

Em meio aquoso, mesmo a altas temperaturas (fervura), não se observa a desalquilação dessas MnPs (PINTO *et al.*, 2013). Na área farmacêutica, um método redox que é muito utilizado para determinar água em compostos orgânicos e solventes, por exemplo, é a titulação de Karl–Fischer. Porém, esse método é ineficaz para MnPs, por exemplo, pois elas podem reagir com o indicador de iodo, e assim, a determinação não pode ser feita com precisão (SIMÕES *et al.*, 2017).

Em estado sólido, a tentativa de obtenção da MnP anidra poderia ser testada por aquecimento, mas um cuidado precisa ser tomado, pois o aquecimento sem controle e a temperaturas muito elevadas resulta em decomposição (PINTO *et al.*, 2013). No caso da

classe das Mn-porfirinas de interesse deste capítulo, essa determinação vem sendo realizada na literatura a partir de análise elementar (CHN), onde o número das moléculas de água é suposto, ou seja, é estimado de maneira indireta (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 1999).

Como observado anteriormente pelo grupo (PINTO *et al.*, 2013) e no Capítulo 2 desta tese (MAIA *et al.*, 2021), a desidratação de Mn(III) *N*-alquilporfirinas pode ser quantitativamente efetuada por TG, de maneira controlada, sem comprometer por exemplo, a estrutura formal da metaloporfirina (ver Fig. 2.4 e APENDICE A e B). Assim, a obtenção de uma Mn-porfirina anidra *via* análise térmica é possível, dando a possibilidade de se estudar, por exemplo, a determinação da absorvidade molar a partir de Mn-porfirinas anidras, de formulação definida.

3.2 Objetivos

O objetivo desse capítulo foi realizar o estudo da determinação da absorvidade molar de Mn-porfirinas anidras, assistida a partir de análises termogravimétricas (TGA) e análise térmica diferencial (DTA). A MnTE-2-PyP⁵⁺ (olhar a Figura 2.1) foi escolhida como prova de conceito, por se tratar de um composto redox-ativo potente e que se encontra em estudos clínicos em humanos (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2021, GAD *et al.*, 2019, GAD *et al.*, 2016, ZAKERI *et al.*, 2019).

3.3 Metodologia Experimental

3.3.1 Reagentes

A MnTE-2-PyP⁵⁺ utilizada para os ensaios de determinação de moléculas de água de hidratação e da absorvidade molar (ϵ) foi doada pelo grupo da Profa. Dra. Ines Batinić-Haberle (Duke University, EUA) ou preparada pelo grupo na ocasião dos estudos iniciais de análise termogravimétrica (PINTO *et al.*, 2013).

3.3.2 Equipamentos

Os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-vis (190-900 nm) foram registrados em espectrofotômetros Shimadzu (modelo UV-1800) ajustados para uma resolução de 1 nm, utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm.

A análise termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) foram obtidas em um equipamento da marca Shimadzu DTG-60.

3.3.3 Análise para avaliar o efeito da atmosfera na decomposição da MnTE-2-PyP⁵⁺ (N₂ versus Ar)

A análise foi realizada no intervalo de temperatura de 25 a 900 °C, em cadinhos de alumina, sob atmosfera dinâmica N₂, com fluxo de 110 cm³/min e taxa de aquecimento de 10 °C/min.

3.3.4 Análise da etapa de desidratação térmica e determinação da absorvidade molar (ϵ)

As análises para a determinação da absorvidade molar (ϵ) envolveram amostras de MnP anidras preparadas termicamente a partir de dez condições diferentes, dispostas adiante na seção de Resultados e Discussão. A análise espectrofotométrica para determinação da absorvidade molar (ϵ) foi realizada usando amostras anidras (após o tratamento térmico) e amostras hidratadas (sem tratamento térmico). Os dados foram obtidos na banda Soret da MnTE-2-PyP⁵⁺ em 454 nm.

Para as análises das amostras anidras, o procedimento consistiu em: após a análise térmica por TG nas condições apropriadas, o resíduo remanescente no cadinho foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 10,0 mL. Alíquotas da solução aquosa resultante foram transferidas para uma cubeta de quartzo contendo 3 mL de H₂O deionizada e o valor do ϵ foi determinado a partir de um gráfico de Abs vs [MnP].

Para as análises das amostras hidratadas, o procedimento seguido foi: a amostra de MnP de massa semelhante àquela utilizada para as análises por TGA (amostra anidra) foi quantitativamente transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL, que foi então aferido com H₂O deionizada. O valor do ϵ foi determinado a partir de um gráfico de Abs vs [MnP] considerando uma formulação contendo o número de moléculas de água dadas (MnP.xH₂O) pela análise TGA correspondente.

3.4 Resultados e discussão

Nesse capítulo, algumas análises foram realizadas com a MnTE-2-PyP⁵⁺ (**Fig. 2.1**) para avaliar a determinação da absorvidade molar (ϵ) assistida por termogravimetria, usando amostras anidras resultantes de tratamento térmico (30 – 130 °C). Amostras hidratadas da MnP foram utilizadas como controle.

3.4.1 Análise para avaliar o efeito da atmosfera na decomposição da MnTE-2-PyP⁵⁺ (N₂ versus Ar sintético)

Uma análise foi feita a fim de avaliar o efeito da atmosfera de N₂ durante a decomposição térmica da MnTE-2-PyP⁵⁺, visto que Pinto e colaboradores (2013) realizaram a análise em atmosfera de ar sintético. Os resultados das análises de TG/DTG/DTA são sumarizados nas **Tabelas 3.1 e 3.2**, nas quais observam-se que os processos termogravimétricos puderam ser associados a três grandes processos: I) desidratação, II) desalquilação e III) degradação.

A **Tabela 3.1** apresenta os dados obtidos durante a realização desse estudo e a tabela 3.2, os dados obtidos por Pinto (2013). As análises foram realizadas com amostras de MnTE-2-PyP⁵⁺ e sob atmosferas diferentes (N₂ e O₂, respectivamente). Comparando os resultados das **Tabelas 3.1** (em N₂) e **3.2** (em ar sintético), percebe-se que os processos (I, II, III) ocorrem em faixas semelhantes de temperatura, no entanto, as etapas de desidratação e desalquilação são diferentes dependendo da natureza da atmosfera utilizada. O processo III, que corresponde à degradação do anel porfirínico apresenta diferenças pronunciadas, devido ao fato de que em atmosfera inerte de o N₂, não se verifica, evidentemente, a decomposição total por combustão observada em atmosfera de ar sintético. Os experimentos seguintes foram realizados sob atmosfera de N₂ apenas por conveniência técnica (era o gás normalmente acoplado ao equipamento multiusuário de TG nas análises de rotina).

Tabela 3.1 - Dados da análise térmica para a MnTE-2-PyP⁵⁺ sob atmosfera de N₂ (fluxo de 110 cm³/min) e razão de aquecimento de 10 °C/min.

Processo	TG/DTG		DTA	Atribuição
	Intervalo (°C)	% Perda de massa		
I	34–136	14,01	92,8 (endo)	Desidratação (–9 H ₂ O)
II	136–257	21,50	236,0 (endo)	Desalquilação (–4 EtCl)
III	257–900	27,12	261,2 (endo)	Decomposição parcial da matéria orgânica

Tabela 3.2 - Dados da análise térmica para a MnTE-2-PyP⁵⁺ sob atmosfera dinâmica de ar sintético (fluxo de 110 cm³/min) e razão de aquecimento de 10 °C/min.

Processo	TG/DTG		DTA ^a	Atribuição
	Intervalo de temp.(°C)	% Perda de massa		
I	26–134	17,15	75,6 (endo)	Desidratação (–11 H ₂ O)
II	134–279	22,50	205,2 (endo)	Desalquilação (–4 EtCl)
IIIa	279–421	10,42	300,1 (exo)	Perda da matéria orgânica; incorporação de O ₂ para produzir o óxido de Mn residual.
IIIb	421–479	10,18	423,6 (endo), 447,4 (exo)	
IIIc	479–606	30,43	481,9 (endo), 521,4 (exo)	
IIId	606–901	2,91	709,9 (exo)	
	270–901	53,94		
Resíduo	902	6,35	–	Mn ₃ O ₄ como resíduo final

3.4.2 Análise da etapa de desidratação: determinação da absorvidade molar (ϵ)

As análises para a determinação da absorvidade molar (ϵ) foram realizadas em dez condições diferentes (I, II, III, IV, VI, VI, VII, VIII, IX, X). As condições de análise, os dados de TG, e os valores de ϵ estão resumidos na **Tabela 3.3**. A determinação do ϵ envolveu análises distintas, visto que as medidas das amostras anidras e hidratadas são independentes. Em todos os casos, a massa da amostra de $\text{MnP} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ foi medida, transferida para um balão volumétrico e analisada espectrofotometricamente ao mesmo tempo em que outra a massa de outra amostra foi medida, submetida à análise de TG para análise espectrofotométrica do resíduo térmico. A absorvidade molar (ϵ) foi determinada na banda Soret da MnTE-2-PyP^{5+} em 454 nm.

Tabela 3.3 – Dados de análise térmica para MnTE-2-PyP^{5+} e os valores de absorvidade molar (ϵ) que foram obtidos para cada amostra analisada.

Con.	Atm.	Taxa de Aquecimento (°C/min)	Faixa de temperatura (°C)	Perda de água (%)	x H ₂ O	Absorvidade molar (ϵ) (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)		
						Resíduo da TG ^a	Amostra sem tratamento térmico ^b	
							MnP	MnP·xH ₂ O
I	Ar	10	30-130	14,50	9,09	147465	123766	144749
II	Ar	1	30-130	16,03	10,20	146048	123519	151870
IIIa	N ₂	10	30-130	13,50	8,30	147392	130012	143857
IIIb	N ₂	10	30-130	13,03	8,00	146380	127309	140467
IV	N ₂	10	30-120	11,56	7,03	143187	125683	142162
V	N ₂	10	30-110	11,40	6,89	138722	123206	139061
VI	N ₂	10	30-100	11,40	6,90	142311	126499	141555
VII	N ₂	10	30-90	10,3	6,20*	141932	123778	140332
VIII	N ₂	10	30-80	7,5	4,30*	147369	131041	140478
IX	N ₂	10	30-70	5,8	3,30*	140562	130150	141952
X	N ₂	10	30-60	3,7	2,10*	131695	124784	141485

* análises que correspondem a desidratações incompletas

^a ϵ calculado a partir da massa de resíduo da TG, considerando uma formulação anidra da MnP: MnTE-2-PyP^{5+} (MM = 965,12 g mol⁻¹)

^b ϵ calculado a partir da amostra original hidratada, (sem tratamento térmico), considerando duas formulações: Uma como se a amostra fosse anidra (MnP, para avaliar a variabilidade) e outra formulada como $\text{MnTE-2-PyP}^{5+} \cdot x\text{H}_2\text{O}$, com o número de águas de hidratação determinada por TG.

As condições das análises variaram de acordo com cada experimento. Inicialmente, testaram-se taxas de aquecimento de 1 e 10 °C/min (condições I e II) para verificar se teria alguma influência na desidratação da Mn-porfirina. Os resultados mostram que não há alteração quanto à taxa de aquecimento, logo, optou-se por realizar as análises a uma taxa de 10 °C/min. Um outro parâmetro que foi avaliado diz respeito à faixa de temperatura, onde observa-se que nas condições (I, II, IIIa e IIIb) cuja faixa de temperatura é mais elevada (30-130 °C) não houve interferência na *N*-desalquilação dos grupos etila, sendo possível a determinação do ϵ a partir da amostra anidra. No entanto, nas condições (VII, VIII, IX e X) cujas temperaturas são mais baixas (25 até 90 °C), a desidratação é incompleta.

Os valores de absortividade molar (ϵ) da MnP obtidos neste trabalho (**Tabela 3.3**) foram comparados com o valor daquele reportado pela literatura ($\log = 5,14$) (BATINIĆ – HABERLE *et al.*, 1998; 1999). É importante lembrar que a determinação de $\log \epsilon$ reportada na literatura ocorreu após o resultado de análise elementar (CHN), onde o número de moléculas de água foi estimado. Apesar disso, os valores obtidos por TGA são próximos aos valores da literatura.

A **Figura 3.1** mostra a determinação do ϵ a partir de um gráfico típico Abs vs [MnP], considerando a formulação contendo o número de moléculas de água dadas (MnP.xH₂O) pela análise TGA correspondente. Para as análises dessa figura, estimou-se uma perda de 16,03%, o que corresponde a 10 moléculas de H₂O presentes na formulação.

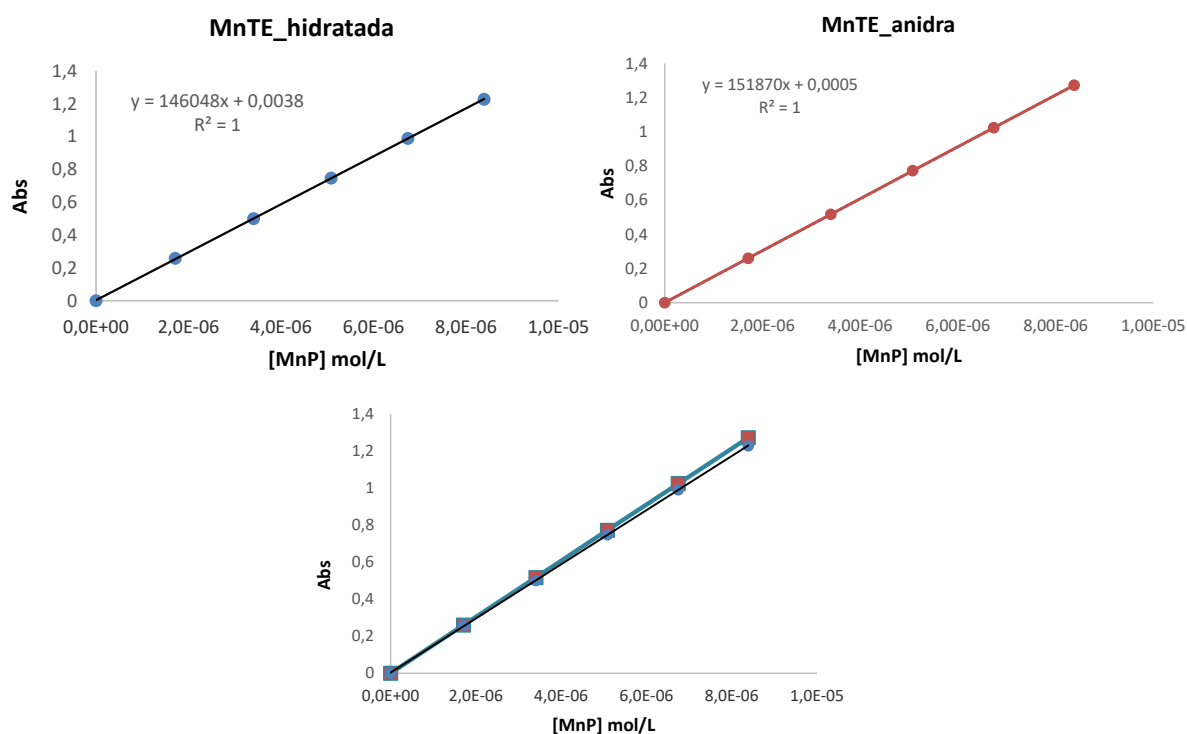


Figura 3.1 – Gráficos típicos de Abs vs [MnP] de uma amostra anidra e hidratada (sem tratamento térmico) para a determinação da absorvidade molar.

3.5 Conclusão

Para a determinação da concentração de MnPs, o valor da absorvidade molar (ϵ) em meio aquoso precisa ser conhecido, no entanto alguns protocolos podem ser demorados e complexos. Na literatura, a determinação do ϵ vem sendo realizada a partir de análise elementar (CHN), em que o número de moléculas de água é estimado de maneira indireta.

Aqui foi proposto um protocolo por meio de análise térmica, visto que o aquecimento da MnTE-2-PyP⁵⁺ até ~130 °C altera a composição da amostra pela perda de moléculas de água, mas, uma vez que a parte porfirínica não é afetada, sendo assim, é possível a determinação da absorvidade molar a partir da amostra anidra da Mn-porfirina.

A partir dos resultados obtidos com a etapa de desidratação da análise térmica, observa-se que a metodologia proposta nesse estudo pode ser útil para a re-determinação da absorvidade molar (ϵ) de outras Mn-porfirinas.

4 Tentativa de síntese de uma Mn-porfirina catiônica à base de quinolina como modulador redox em potencial

4.1 Introdução

4.1.1 Porfirinas em Sistemas Biomiméticos das Enzimas Superóxido Dismutase

Metaloporfirinas estão sendo exploradas no tratamento de patologias em que o desequilíbrio redox associado ao estresse oxidativo resulta em danos oxidativos a biomoléculas e compromete a integridade metabólica de células, tecidos e/ou órgãos (TOVMASYAN *et al.*, 2014a, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011a, BATINIC-HABERLE *et al.*, 2010). Dentre as espécies envolvidas no estresse oxidativo, pode-se destacar o superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o óxido nítrico ($\bullet NO$) e o peroxinitrito ($ONOO^-$). Essas espécies têm sido amplamente reconhecidas como espécies que afetam o equilíbrio redox celular e desempenham um papel central na maioria dos processos de estresse oxidativo e são comumente chamadas espécies reativas de oxigênio e/ou nitrogênio (ROS/RNS, do inglês reactive oxygen/nitrogen species) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011a).

Embora algumas dessas espécies estejam envolvidas em processos fisiológicos importantes (por exemplo, controle da pressão arterial), a produção exacerbada e descontrolada de ROS/RNS resulta em oxidação/nitração de proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos, entre outros, alterando a integridade física da célula, seus processos metabólicos e as vias de transdução de sinal celular; isto conduz eventualmente a condições patológicas (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011a). Uma vez que ROS/RNS são sensíveis à modulação redox, há um grande interesse no desenvolvimento de complexos metálicos redox-ativos como fármacos em potencial.

As enzimas superóxido dismutase têm papel essencial no controle do nível celular de ROS (via modulação direta de $O_2^{\cdot-}$) e de RNS (via modulação indireta de

ONOO⁻) e, por conseguinte, na regulação do nível de estresse oxidativo de células, órgãos e tecidos (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2009a). Essas enzimas existem em quatro isoformas: Cu,ZnSOD, MnSOD, FeSOD e NiSOD, porém apenas duas isoformas estão presentes em humanos (CuZnSOD e MnSOD).

Uma vez que o estresse oxidativo pode ser resultado da inativação ou baixa expressão dessas enzimas, compostos de massa molecular pequena que apresentem atividade SOD elevada (constante de velocidade para dismutação do superóxido, k_{cat}), seriam, potencialmente, candidatos excelentes a fármacos para o controle de patologias e/ou disfunções associadas a desequilíbrios celulares oxidativos (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011a).

Muitos compostos, tais como fulerenos (YUDOH *et al.*, 2007), nitróxidos (GOLDSTEIN *et al.*, 2006), Mn salens (DESSOLIN *et al.*, 2002), metalocorróis (HABER *et al.*, 2008), poliaminas cíclicas de Mn(II) e metaloporfirinas, entre outros, têm sido investigados como mímicos de SOD. O primeiro marco veio na década de 90 com o grupo de Irvin Fridovich, que iniciou os estudos de Mn-porfirinas como mímicos das enzimas SOD. Esses estudos continuaram com o grupo de Batinic-Haberle que estabeleceu uma relação estrutura-atividade entre a capacidade redox do metal e a constante catalítica para a dismutação do O₂^{•-} (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2010).

A partir dessa relação, tornou-se possível modular a atividade SOD da porfirina pela escolha de substituintes apropriados para regulação do potencial redox do sistema para valores biologicamente relevantes: as enzimas SOD possuem potencial de redução ($E_{1/2}$) de aproximadamente +300 mV vs NHE e catalisam a dismutação do superóxido em velocidades difusionais ($\log k_{cat}$ é aproximadamente 9). A correlação entre as propriedades redox e a atividade catalítica ($\log k_{cat}$) foi revisitada com o estudo de metaloporfirinas neutras, aniônicas e catiônicas para incorporar o impacto da contribuição eletrostática na dismutação do superóxido, também presente nos sistemas enzimáticos (REBOUÇAS *et al.*, 2008). Observou-se que as Mn-porfirinas catiônicas dão origem a mímicos promissores de SOD, sendo alguns complexos capazes de oxidar e reduzir o superóxido com constantes de velocidade de dismutação essencialmente indistinguível daquela da enzima SOD (DE FREITAS-SILVA *et al.*, 2008).

Embora essas enzimas não apresentem o anel porfirínico como grupo prostético, o planejamento de modelos biomiméticos de SOD à base de metaloporfirinas têm se destacado em diversos modelos celulares e animais por apresentarem características como

alta estabilidade metal-ligante, baixo peso molecular (possibilitando a penetração nas membranas celulares), constantes de velocidade para dismutação do $O_2^{\bullet-}$ (k_{cat}) próximas às da enzima SOD natural e versatilidade estrutural (que modula propriedades como lipofilia, carga e potencial de redução) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2015).

Esses compostos têm se mostrado, por exemplo, capazes de minimizar os efeitos nocivos e danos causados por radiação (ação radioprotetora), de inibir o crescimento de tumores (via ação anti-angiogênica), de aumentar a eficácia de radioterapia, quimioterapia e hipertermia no tratamento de câncer (ação sinérgica) e de proteger órgãos e tecidos em transplantes e/ou processos de isquemia/reperfusão (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2010; BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011). A eficácia terapêutica desses compostos está relacionada com a capacidade de remover cataliticamente $O_2^{\bullet-}$, peroxinitrito ($ONOO^-$) e outras espécies reativas, a capacidade de modular vias de sinalização redox, a acumulação dentro de compartimentos celulares (como as mitocôndrias) e a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (importante para mitigar danos e processos indesejados no sistema nervoso central) (WEITNER *et al.*, 2013).

No que diz respeito ao potencial terapêutico de moduladores redox à base de metaloporfirinas, é relevante avaliar alguns parâmetros, como biodisponibilidade e propriedades físico-químicas (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2015).

4.1.2 Lipofilia como controle de biodisponibilidade de Mn – porfirinas

A lipofilia é um parâmetro extremamente importante para o controle da biodisponibilidade, pois permite uma maior penetração das porfirinas no interior da célula e, conseqüentemente, uma maior acumulação em órgãos e tecidos (OKADOMATSUMOTO *et al.*, 2004; BATINIC-HABERLE *et al.*, 2009a). Embora a carga catiônica seja uma força motriz para localização em regiões importantes com potencial de membrana negativo (tais como mitocôndrias), a lipofilia é outro fator importante que afeta o transporte através das membranas celulares e barreiras (tais como a hematoencefálica), a distribuição subcelular entre as várias organelas e compartimentos, e, por sua vez, a eficácia terapêutica de Mn-porfirinas.

Algumas estratégias foram adotadas para aumentar a lipofilia dos complexos de Mn(III) derivados das *N*-alquilpiridilporfirinas. Dentre eles, podem-se citar: o aumento da cadeia lateral e a mudança da posição do nitrogênio no anel piridínico (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2011). Alguns estudos já foram reportados relacionando o aumento da lipofilia como consequência do aumento da cadeia lateral. Nesse caso, a lipofilia aumenta em 10 vezes para cada carbono adicionado à cadeia. Devido a esse aumento da lipofilia, Mn-porfirinas de cadeias alifáticas longas, acumulam-se nas células em níveis mais elevados (KOS *et al.*, 2009b; TOVMASYAN *et al.*, 2012).

Em 2004, OKADO-MATSUMOTO e colaboradores estudaram como o aumento da cadeia alquílica de Mn-porfirinas catiônicas (derivadas das *N*-alquilpiridil e *N*-*N'*-dietilimidazol), e consequentemente, o aumento da lipofilia, melhoraria a biodisponibilidade em relação ao crescimento aeróbico da *Escherichia coli* SOD-deficiente. Os resultados mostraram que os compostos mais lipofílicos foram eficazes no crescimento da *E. coli* SOD- deficiente quando administrado em concentrações mais baixas do que os compostos menos lipofílicos. A maior eficácia desses compostos foi conseguida ao custo de maior toxicidade que se tornou aparente quando estes compostos foram aplicados a concentrações mais elevadas (OKADO-MATSUMOTO *et al.*, 2004).

A determinação da lipofilia de Mn-porfirinas era estimada de maneira indireta em termos do valor do fator de retenção (R_f) em cromatografia de camada delgada. Em 2009, metodologias para a quantificação da lipofilia de Mn-porfirinas foram desenvolvidas por Kos e colaboradores (2009), que propôs um método adaptado a partir da determinação do coeficiente de partição *n*-octanol/água ($\log P_{OW}$). Assim, Kos determinou o $\log P_{OW}$ dos isômeros *orto* e *meta* de Mn-porfirinas derivadas de *N*-alquilpiridilporfirinas por meio de medidas espectrofotométricas. Correlações entre $\log P_{OW}$ e os fatores de retenção (R_f) dos compostos em cromatografia de camada delgada foram observados. Esta correlação, associada à praticidade da medida de R_f , possibilitou a estimativa rápida e barata do $\log P_{OW}$ desta classe de compostos. Esse estudo mostrou que os isômeros *meta* são 10 vezes mais lipofílicos do que os correspondentes isômeros *orto*. (KOS *et al.*, 2009b).

Em 2009 Batinic-Haberle e colaboradores (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2009b) destacaram a relevância da lipofilia quando mostram a sua importância no aumento da eficácia de Mn-porfirinas *in vivo*. Sabendo-se que a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ é significativamente mais lipofílica do que a MnTE-2-PyP⁵⁺, esse estudo mostrou que a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ é mais biodisponível e, por sua vez, 30 vezes mais efetivo no bloqueio

do desenvolvimento da tolerância crônica da morfina do que a MnTE-2-PyP⁵⁺. Sendo a MnTE-2-PyP⁵⁺ mais hidrofílica e a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ mais lipofílica foram, respectivamente, 10 e 300 vezes mais efetivas na inibição da tolerância à morfina, sendo a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ administrada (via intraperitoneal) com doses de 0,1 mg/kg /dia e 3 mg/kg/dia para a MnTE-2-PyP⁵⁺ (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2009b).

Um aumento na carga de Mn-porfirinas catiônicas pode influenciar na ligação a outras biomoléculas, o transporte através das membranas biológicas e na distribuição nos tecidos. O estado de oxidação do Mn nestes complexos também tem papel importante no controle da lipofilia, uma vez que 2-*N*-alquilpiridilporfirinas de Mn(II) são tetracatiônicas e consideravelmente mais lipofílicas que aquelas de Mn(III), pentacatiônicas (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011).

4.1.3 Métodos de Síntese de Porfirinas *meso*-substituídas

As porfirinas possuem uma estrutura bastante versátil, permitindo a introdução de grupos substituintes, responsáveis pela modulação das suas propriedades físico-químicas. Nas últimas décadas observou-se o desenvolvimento e otimização dos métodos de síntese de porfirinas, em especial das *meso*-substituídas, a partir de pirrol e aldeídos.

Um dos estudos pioneiros no processo de condensação de pirrol e aldeído, ocorreu com o trabalho de Adler/Longo na década de 60, que mostrou um aumento significativo nos rendimentos da obtenção de porfirinas *meso*-substituídas, caso a reação fosse realizada em meio ácido, meio aeróbico e à pressão atmosférica. Para a obtenção da *meso*-tetrafenilporfirina (H₂TPP), o procedimento consistia em reagir benzaldeído e pirrol na proporção em quantidade de substância de 1:1, em refluxo de ácido propiônico (141 °C), por 30 minutos em condições aeróbicas. O rendimento foi de aproximadamente 20% e o produto, obtido por cristalização sob resfriamento, apresentava alguns contaminantes, tais como polímeros de pirrol e clorina (ADLER *et al.*, 1967).

Várias propostas foram investigadas para aprimorar o processo de síntese destes compostos de modo que melhores rendimentos sejam obtidos e a eliminação de subprodutos contaminantes seja eficaz. Dentre eles destacam-se as alterações propostas por Lindsey e colaboradores (LINDSEY *et al.*, 1987), que modificaram o método de Adler/Longo e obtiveram maiores rendimentos para porfirinas *meso*-substituídas em condições de reações mais brandas. O método consiste em duas etapas, em que não há a

necessidade de purificação entre elas. Na etapa I, o porfirinogênio é formado a partir da condensação anaeróbia de pirrol e aldeído, na presença de um catalisador ácido e à temperatura ambiente. Na etapa II, o porfirinogênio é oxidado à porfirina *in situ* por oxidantes tais como *p*-cloranil ou 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ). Os rendimentos obtidos para H₂TPP encontravam-se em torno de 40%.

Na década de 90, uma modificação no método de Adler/Longo foi proposta por Gonsalves e colaboradores (GONSALVES *et al.*, 1991) para a síntese de uma série de porfirinas derivadas da H₂TPP. Esse método consiste na condensação de pirrol e aldeído, usando como solvente uma mistura de ácido acético:nitrobenzo (7:3 v/v), a uma temperatura de aproximadamente 130 °C. Esse método permite a oxidação de intermediários de reação a porfirinas (sem contaminação com as clorinas correspondentes) e com rendimentos relativamente maiores àqueles oriundos do método de Adler/Longo.

Apesar de inúmeros trabalhos envolvendo o desenvolvimento de rotas de síntese de porfirinas, os baixos rendimentos ainda constituem uma característica marcante na obtenção destes compostos. A possível causa está relacionada às etapas de condensação e ciclização do anel, nas quais são necessárias a reação orquestrada e alternada de 4 moléculas de pirrol e 4 de aldeído, para permitir a formação do anel porfirínico. Quando isso não ocorre, observa-se a presença de polímeros de pirrol, ocasionando a redução de rendimentos e dificuldade na purificação e isolamento da porfirina.

As condições dos métodos tradicionais, que incluem os procedimentos de Adler/Longo, Lindsey e Gonsalves precisam ser geralmente adaptadas de acordo com a porfirina de interesse. Por exemplo, enquanto a H₂TPP pode ser obtida por qualquer dos métodos (embora com rendimentos bastante diferentes entre si), a 2-*N*-piridilporfirina (H₂T-2-PyP) tem sido preparada apenas pelo método de Adler/Longo com rendimentos geralmente inferiores a 6 %. Com o uso do método de Lindsey para a síntese da H₂T-2-PyP, não se observam sequer traços dessa porfirina, uma vez que o próprio aldeído pode desativar o catalisador.

Recentemente, um novo método foi proposto pelo nosso grupo de pesquisa (MAIA, 2015) para a síntese do isômero *orto* da *N*-piridilporfirina (H₂T-2-PyP), o que permitiu a otimização das condições propostas por Adler/Longo (ADLER *et al.*, 1967), bem como o desenvolvimento de métodos de isolamento e purificação da H₂T-2-PyP. O método consiste na condensação de pirrol e aldeído, com relação estequiométrica (1:0,75)

na presença de ácido acético ou butírico como solventes/catalisadores, a uma temperatura de 100 °C com um tempo de reação entre 1,5 – 3h. O rendimento da H₂T-2-PyP passou de 1 a 5 % (condições clássicas, não-otimizadas) para 25% da porfirina isolada.

4.2 Objetivos

O objetivo inicial era desenvolver uma nova classe de moduladores redox, contendo o grupo 2-quinolina (**Figura 4.1**), incluindo os compostos de cadeias maiores (MnTE-2-QnP⁵⁺, MnTnBu-2-QnP⁵⁺, MnTnHex-2-QnP⁵⁺). No entanto, problemas com irreprodutibilidade nas sínteses apareceram no decorrer do estudo. Sendo assim, neste capítulo descreve-se uma tentativa de síntese apenas do complexo MnTM-2-QnP⁵⁺.

Dentre os objetivos específicos, podem-se destacar:

- ✓ Sintetizar a porfirina base livre neutra H₂T-2-QnP por condensação de pirrol e 2-quinolinacarboxaldeído;
- ✓ Sintetizar o derivado catiônico H₂TM-2-QnP⁴⁺ por metilação da H₂T-2-QnP com tosilato de metila;
- ✓ Sintetizar o complexo catiônico MnTM-2-QnP⁵⁺ por da metalação com cloreto de manganês;
- ✓ Caracterização dos compostos por CCD, espectroscopias UV-vis, RMN de ¹H (para os compostos diamagnéticos);
- ✓ 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) do complexo e lipofilia dos compostos (complexo).

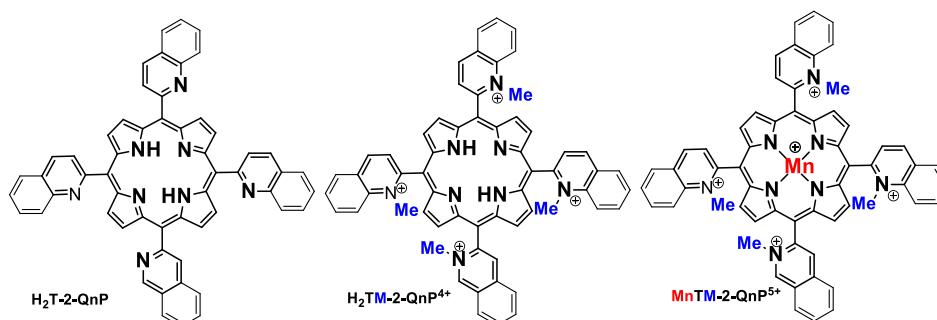


Figura 4.1 – Porphirinas de interesse nesse estudo.

4.3 Metodologia Experimental

4.3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados foram: pirrol (Sigma-Aldrich), 2-quinolinacarboxaldeído (Sigma-Aldrich), NaOH (Vetec), CHCl_3 (Tedia), NaHCO_3 (Química Moderna), H_2O_2 (Química Moderna), ácido acético (Química Moderna), hexano (Tedia), etanol (Tedia), DMF (Tedia), cloreto de tosilato (Aldrich), éter etílico (Vetec), NH_4PF_6 (Sigma-Aldrich), acetona (Tedia), MeCN (Tedia), Aliquat (Sigma-Aldrich), MnCl_2 (II) (Sigma-Aldrich), THF (Tedia). Todos os reagentes e solventes foram adquiridos em grau P.A. e utilizados sem purificação prévia.

4.3.2 Equipamentos

Os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-vis (300-800 nm) foram registrados em espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1800), ajustado para uma resolução de 1 nm, utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm.

Os espectros de RMN de ^1H foram registrados na Central Analítica da Universidade Federal da Paraíba em um espectrômetro VARIAN Mercury operado na frequência de 200 MHz.

A determinação do potencial de redução Mn(III)/Mn(II) foi realizada no Laboratório do Grupo de Estudos Avançados em Química Analítica (GEAQA) – DQ/CCEN/UFPB em um potenciostato/galvanostato da marca Autolab PGSAT 101, conectado a um microcomputador gerenciado pelo software NOVA 1.10.5.

4.3.3 Síntese da *meso*-tetraquis(2-quinolil)porfirina ($\text{H}_2\text{T-2-QnP}$)

A síntese da $\text{H}_2\text{T-2-QnP}$ seguiu um método adaptado daquele proposto para a 2-*N*-piridilporfirina (MAIA, 2015). O procedimento iniciou-se com a adição de 50 mL de ácido acético a um balão de 100 mL. O ácido foi aquecido em um banho de óleo e, quando a temperatura interna do sistema se estabilizou em 100 °C, foram adicionados 295 mg de 2-quinolinacarboxaldeído (1,875 mmol). Após sua total dissolução, adicionaram-se lentamente 175 μL de pirrol (2,5 mmol) e, posteriormente, 1350 μL de H_2O destilada (75 mmol). Após alguns segundos, o meio de reação adquiriu coloração preta azulada. A

reação foi monitorada por CCD-SiO₂ (CHCl₃:hexano:EtOH, 50:10:1 v/v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis.

Após 1,5 h a 100 °C, o aquecimento foi descontinuado e o balão de reação foi resfriado à temperatura ambiente. Após estabelecido o equilíbrio térmico, foram adicionados 561 µL de uma solução aquosa de H₂O₂ a 8,9 mol L⁻¹ e o sistema foi deixado em repouso por 30 minutos. A seguir, o sistema foi diluído com 100 mL de H₂O, e neutralizado com ~3 mL de NaOH (1 mol L⁻¹) até pH 2,0. O precipitado resultante foi recolhido por filtração à vácuo, lavado com ~ 200 mL de solução de NaHCO₃ (0,1 mol L⁻¹) e posteriormente, com água destilada até o filtrado apresentar-se neutro.

O sólido resultante, denominado de “porfirina bruta”, foi seco em estufa a 50 °C por 6 h. Este sólido foi parcialmente dissolvido em aproximadamente 40 mL de CHCl₃. O sobrenadante foi recolhido e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório. O sólido resultante foi purificado por meio de cromatografia em coluna de sílica-gel. Uma primeira coluna foi realizada usando como eluente a mistura CHCl₃:hexano:EtOH 50:10:1 (v/v/v). As frações contendo porfirinas foram agrupadas e submetidas a uma segunda coluna eluída com CHCl₃:THF 9:1 (v/v). As frações contendo a porfirina de interesse (H₂T-2-QnP) foram combinadas e o solvente foi eliminado em evaporador rotatório. Este procedimento de síntese e purificação resultou em rendimento isolado da H₂T-2-QnP da ordem de 17 mg (5,0 %). Este procedimento foi repetido 5 vezes para acúmulo de material em maior quantidade, visto que problemas de reprodutibilidade e oxidação do 2-quinolidacarboxialdeído foram observados ao longo do desenvolvimento do trabalho.

CCD-SiO₂ (CHCl₃:THF, 9:1 v/v): R_f = 0,35

UV-vis (THF): λ_{max}/nm: 422 (Soret), 515, 549, 591, 647.

4.3.4 Síntese da 2-*N*-metilquinolilporfirina (H₂TM-2-QnP⁴⁺)

A H₂TM-2-QnP⁴⁺ foi obtida por meio da reação de metilação da H₂T-2-QnP com tosilato de metila (MeOTs), através de um procedimento adaptado das 2-*N*-piridilporfirinas análogas (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2002). A um balão de fundo redondo foram adicionados 47 mg de H₂T-2-QnP (0,057 mmol) e 5 mL de DMF. O sistema foi levado a um banho de óleo a 107,5 °C e, após 5 minutos, foram adicionados 1,8 mL de MeOTs (11,4 mmol). O progresso da reação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO_{3(sat)}:H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 21 h de

reação a 107,5 °C, o sistema foi resfriado até atingir temperatura ambiente. Posteriormente, adicionaram-se alíquotas de éter etílico até completa precipitação da porfirina e total extração de DMF. O sobrenadante foi eliminado e o material foi lavado com porções de éter etílico. O material resultante foi solubilizado em água, sendo a porfirina precipitada com a adição gota a gota de uma solução aquosa de NH_4PF_6 (3 mol L^{-1}). O sólido foi filtrado, lavado com éter etílico e levado à secura na estufa à 50 °C por 24 h. A porfirina na forma de sal de PF_6^- foi dissolvida em MeCN e, então, precipitada na forma de sal de cloreto com adição gota a gota de Aliquat® (cloreto de tricaprililmetilamônio). O sólido resultante foi filtrado, lavado com acetona e levado à secura na estufa à 50 °C por 5 h. Esse procedimento de purificação foi repetido mais uma vez, resultando em 40 mg de $\text{H}_2\text{TM-2-QnP}^{4+}$ (rendimento: 68 %).

CCD-SiO₂ ($\text{KNO}_{3(\text{sat})}:\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$, 1:1:8 v/v/v): $R_f = 0,24$

UV-vis (MeCN): $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$: 430 (Soret), 516, 589, 643.

4.3.5 Síntese do complexo de Mn(III) derivado da 2-N-metilquinolilporfirina (MnTM-2-QnP^{5+})

A MnTM-2-QnP^{5+} foi sintetizada utilizando um procedimento adaptado para a obtenção da MnTM-2-PyP^{5+} (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 1998; 1999; 2002). O procedimento inicia-se com a dissolução de 20 mg da $\text{H}_2\text{TM-2-QnP}^{4+}$ (0,0196 mmol) em 1 mL de solução aquosa de NaOH (pH = 12). Posteriormente, foram adicionados 38,8 mg de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,196 mmol) à temperatura ambiente, sob agitação magnética. O progresso da reação foi monitorado por CCD-SiO₂ ($\text{KNO}_{3(\text{sat})}:\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 20 horas, o sistema foi desligado e a solução foi filtrada para eliminação de sais de manganês hidrolisados (óxidos, hidróxidos, entre outros) que se formaram durante a reação. A porfirina foi, então, precipitada da solução aquosa na forma de sal de PF_6^- com adição gota a gota de uma solução aquosa de NH_4PF_6 (3 mol L^{-1}). O sólido foi filtrado, lavado com éter etílico e secado em estufa a 50 °C. O sólido foi, então, dissolvido em acetona e a porfirina foi precipitada na forma de Cl^- com adição gota a gota de Aliquat®. O sólido resultante foi lavado com acetona, secado em estufa a 50 °C por 5 horas. Massa isolada da MnTM-2-QnP^{5+} : 17 mg (rendimento: 78 %).

CCD-SiO₂ (KNO_{3(sat)}:H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,22

UV-vis (H₂O): λ_{max} /nm: 459 (Soret), 565, 781.

4.3.6 Voltametria Cíclica

Os potenciais de meia onda correspondentes às reações de oxirredução foram calculados como a média dos picos anódicos e catódicos das Mn-porfirinas e convertidos de $E_{1/2}$ versus Ag/AgCl para $E_{1/2}$ versus NHE. As correntes correspondentes foram medidas em μA .

Para a realização dos voltamogramas cíclicos, prepararam-se soluções das Mn-porfirinas em solução tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8). As soluções foram preparadas em balões volumétricos de 3,00 mL e continham 0,1 mol L⁻¹ de NaCl e $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ das MnPs. A porfirina MnTM-2-PyP⁵⁺ foi utilizada como padrão externo.

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,25 a 0,25 V vs. Ag^o/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

4.4 Resultados e discussão

A proposta desse estudo envolveu a tentativa de sintetizar uma nova classe de porfirinas contendo o grupo 2-quinolil. A escolha dessa nova classe se deve ao fato da semelhança estrutural entre a classe das *N*-piridilporfirinas com as *N*-quinolilporfirinas.

Neste capítulo foram estabelecidas as rotas de síntese para a obtenção das porfirinas de interesse, bem como algumas caracterizações espectroscópicas e eletroquímicas dos produtos isolados.

4.4.1 Síntese e Purificação da H₂T-2-QnP

A síntese da H₂T-2-QnP (**Figura 4.2**) foi reportada por Costa (2013), que mostrou que a obtenção da porfirina por meio de um método adaptado de Adler/Longo. As condições de reação envolveram o uso de uma mistura de solventes (ácido propiônico e anidrido acético, 3:1 v/v), uma relação estequiométrica (1:1) de aldeído (7 mmol) e pirrol (7 mmol), sob refluxo (~140 °C) durante 4 horas (COSTA, 2013). O rendimento reportado foi de aproximadamente 15 %. No entanto, duas reações foram realizadas

usando as condições propostas por Costa (2013) e os resultados obtidos com a espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis e de cromatografia de camada delgada (CCD) do produto bruto (alíquota retirada do meio de reação, após as 4 horas de reação) mostraram uma grande quantidade de impurezas e apenas traços da porfirina de interesse.

Assim, reações exploratórias a partir das condições propostas por Adler/Longo também foram realizadas, envolvendo um meio reacional mais concentrado (0,2 mol L⁻¹) e uma relação estequiométrica (1:1) para pirrol e o 2-quinolinacarboxaldeído. Os rendimentos obtidos foram de aproximadamente 3%.

Diante disso, a síntese da H₂T-2-QnP foi realizada por meio do método adaptado para a obtenção da 2-*N*-piridilporfirina que foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa (MAIA, 2015). O procedimento consistiu de uma mistura de reação contendo 0,050 mol L⁻¹ de pirrol e 0,038 mol L⁻¹ da 2-quinolinacarboxaldeído, o que é quatro vezes mais diluído do que o método clássico desenvolvido por Adler/Longo. Os rendimentos isolados para a H₂T-2-QnP foram de aproximadamente 5% e se mostraram reprodutíveis ao longo de 5 bateladas.

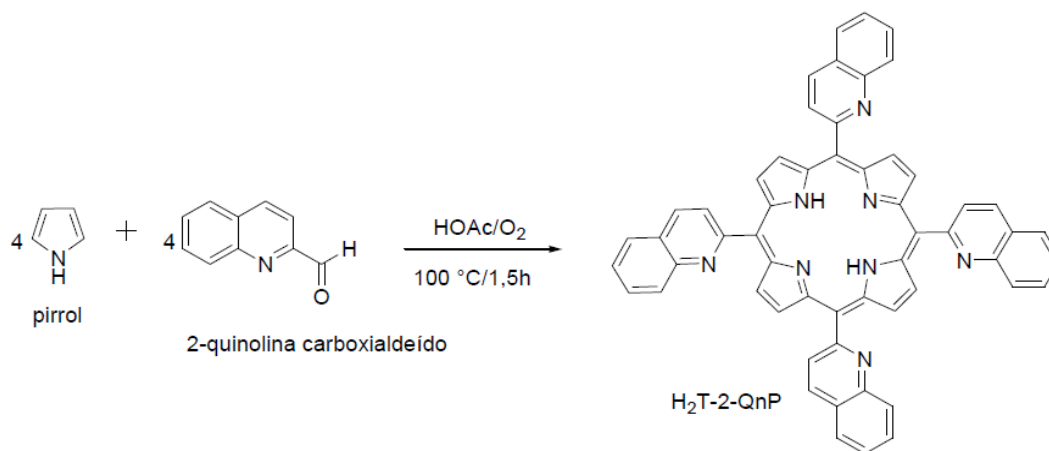


Figura 4.2 – Esquema proposto para a síntese da porfirina base livre neutra H₂T-2-QnP.

A purificação da porfirina iniciou com uma precipitação, resultando na obtenção de um precipitado escuro a partir da neutralização parcial do ácido acético. Testes de precipitação demonstraram que o pH ótimo para precipitação desta porfirina em solução aquosa de ácido acético é cerca de 2, não sendo necessário elevar o pH até 3,4 como inicialmente utilizado e reportado para as *N*-piridilporfirinas (HAMBRIGHT *et al.*, 1985). A filtração resultou em um sólido rico em H₂T-2-QnP (contaminado com polipirrol) e na eliminação do ácido acético do sistema.

A etapa seguinte consistiu em uma purificação parcial do sistema, na qual se submeteu o precipitado à separação sólido-líquido com CHCl_3 , possibilitando a extração de grande quantidade de porfirina para fase orgânica líquida. Por fim, na última etapa, realizaram-se colunas cromatográficas para a eliminação das impurezas restantes. Para otimizar a separação cromatográfica, foi necessário a realização de uma série de testes para descobrir um eluente que fosse capaz de separar a porfirina de suas impurezas. Foram testados inicialmente misturas de CHCl_3 :MeOH em diversas proporções (9:1, 20:1, 30:1 e 50:1), porém não se observou uma separação efetiva. Testes com a mistura CHCl_3 :acetona (1:1, 9:1 e 20:1) também foram realizadas, mas também não obteve êxito na separação. Por fim, uma mistura ternária contendo CHCl_3 :hexano:EtOH 50:10:1 (v/v/v) (REBOUÇAS *et al.*, 2002) foi testado e permitiu a separação da porfirina e grande parte das impurezas (de R_f maiores do que a porfirina). Porém, ao término da realização da purificação por coluna, foram observadas duas manchas além da correspondente porfirina. Sendo assim, realizou-se uma segunda coluna cromatográfica usando uma mistura de THF:MeOH 9:1 (v/v) a partir do que foi reportado na literatura (COSTA, 2013) como eluente. Ao término da segunda coluna, a porfirina estava isolada e com rendimento de aproximadamente 5%.

Os resultados, obtidos a partir da análise por espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis, estão registrados na **Figura 4.3**. O espectro da $\text{H}_2\text{T-2-QnP}$ apresenta as quatro bandas Q e uma banda Soret em 422 nm (em THF). Esses dados são consistentes com aqueles reportados na literatura (COSTA, 2013). Os dados espectroscópicos de UV-vis (**Tabela 4.1 e Figura 4.3**) também são consistentes com aqueles apresentados para compostos análogos, tais como a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$.

Tabela 4.1 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis para a $\text{H}_2\text{T-2-QnP}$ e a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$.

Porfirinas	λ (nm)		Solvente	Referências
	Soret	Bandas Q		
$\text{H}_2\text{T-2-QnP}$	422	515, 552, 590, 648	THF	(COSTA, 2013)
	422	515, 552, 590, 648	THF	este trabalho
	418	513, 546, 588, 643	MeCN	este trabalho
$\text{H}_2\text{T-2-PyP}$	416	511, 542, 584, 649	MeCN	este trabalho

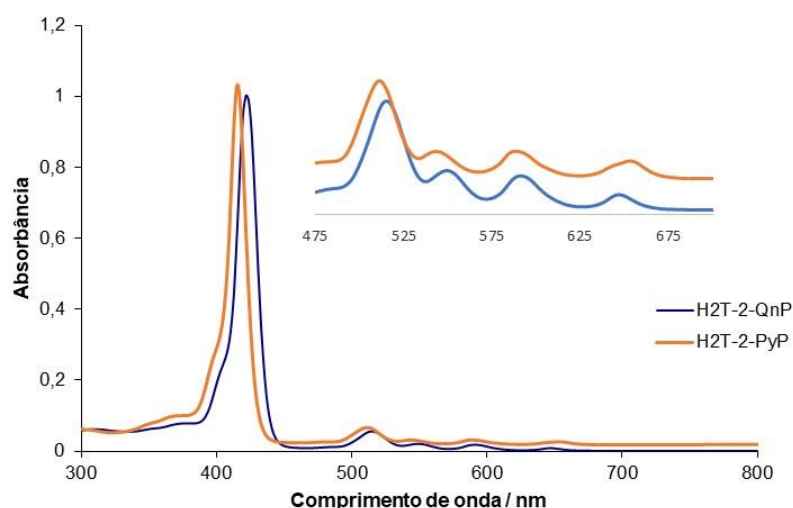


Figura 4.3 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-vis comparativos da H₂T-2-QnP (linha azul) e H₂T-2-PyP (linha laranja) e registrados em acetonitrila.

Além da caracterização por espectroscopia de absorção UV-vis para a comprovação de formação do anel porfirínico a H₂T-2-QnP foi também caracterizada por RMN de ¹H (Fig. 4.4).

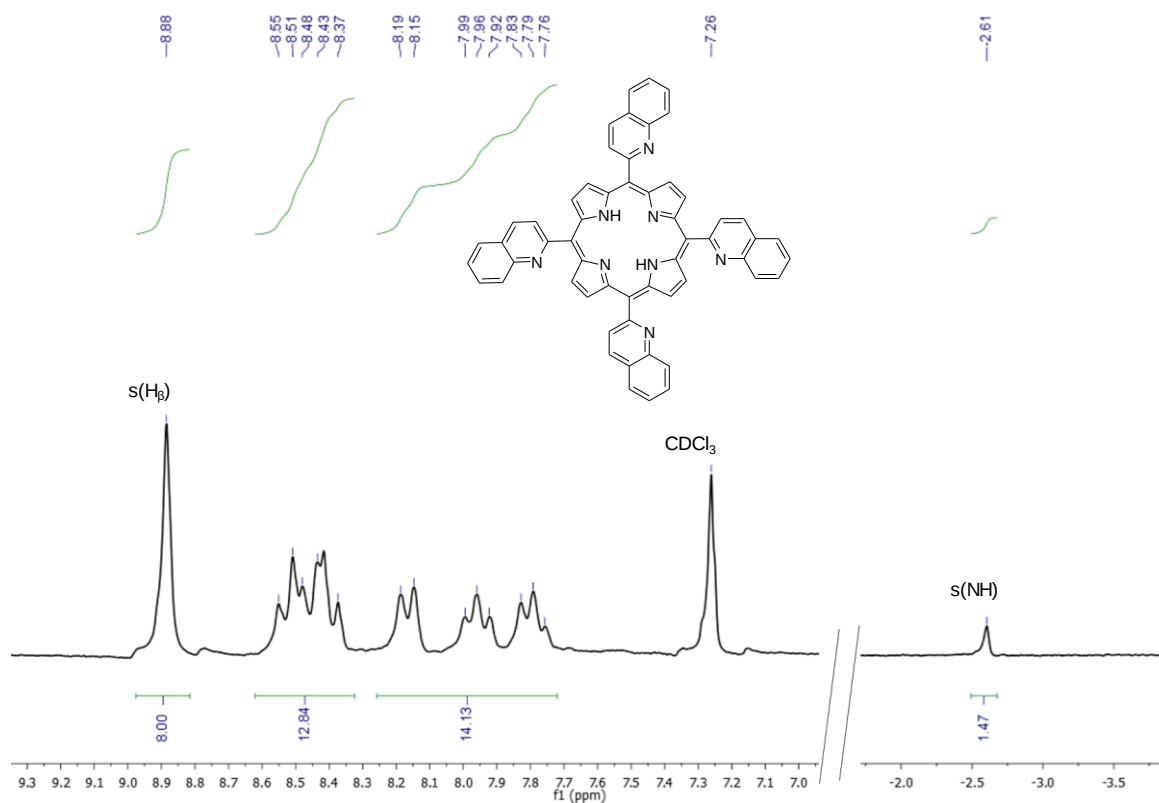


Figura 4.4 – Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CHCl₃) da H₂T-2-QnP isolada.

Analisando o espectro é possível observar um singleto com deslocamento químico $\delta -2,61$ que é característico dos átomos de hidrogênio internos NH da porfirina, que são altamente blindados pela corrente π do anel porfirínico. Na região dos hidrogênios aromáticos foi observado um singleto a $\delta 8,88$ que pode ser atribuído aos 8 átomos de hidrogênio das posições β -pirrólicas (COSTA, 2013). A título de comparação estes sinais na H₂T-2-PyP aparecem, respectivamente, em $\delta -2,83$ e $\delta 8,87$ (HAMBRIGHT *et al.*, 1985; MAIA, 2015).

Esta porfirina é simétrica, o que significa que os quatro grupos quinolina presentes nas posições *meso*-porfirínicas são equivalentes. Os átomos de hidrogênios referentes a esses grupos deveriam apresentar 6 grupos de sinais distintos (com aspectos de 2 tripletos e aspectos de 4 dupletos), pois se encontram em 6 regiões químicas diferentes (COSTA, 2013), porém não foi possível fazer as atribuições de modo inequívoco, pois os sinais encontram-se sobrepostos. As atribuições só seriam possíveis com a realização de um espectro bidimensional de correlação espectroscópica homonuclear (COSY) ou RMN ¹³C. Porém é possível notar que os sinais aparecem na mesma multiplicidade e na mesma região do grupo quinolina reportada na literatura (COSTA, 2013).

4.4.2 Síntese e Purificação da H₂TM-2-QnP⁴⁺

A reação de metilação dos quatro grupos quinolina (**Fig. 4.5**) foi feita com tosilato de metila em DMF como descrito na literatura para os sistemas análogos à base de *N*-piridilporfirinas (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 1998). Após 21 horas, a reação terminou conforme monitoramento por CCD-SiO₂ e por espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis.

A purificação da H₂TM-2-QnP⁴⁺ iniciou-se com a eliminação da DMF e/ou excesso de MeOTs por meio da precipitação da porfirina com a adição de alíquotas de éter etílico. A porfirina catiônica teve a sua purificação final realizada por meio do processo de metátese Ots⁻/PF₆⁻/Cl⁻ típico de isolamento de *N*-alquilpiridilporfirinas na forma de sal de cloreto (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1998). Os rendimentos desta etapa foram em torno de 68 %.

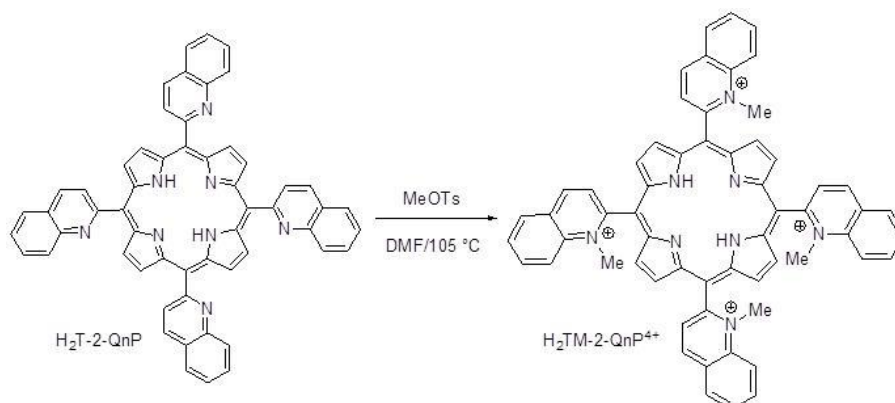


Figura 4.5 – Esquema proposto para a obtenção da porfirina hidrossolúvel e catiônica $H_2TM-2-QnP^{4+}$.

A partir da alquilação, a porfirina apresenta-se solúvel em água, o que é consistente com a obtenção da porfirina catiônica ($H_2TM-2-QnP^{4+}$). Análises de CCD mostram a presença de apenas uma mancha para a porfirina isolada e fluorescência vermelha característica sob a lâmpada UV de comprimento de onda longo. Comparando o R_f da $H_2TM-2-QnP^{4+}$ com a $H_2TM-2-PyP^{4+}$ (**Tabela 4.2**), percebe-se que o maior valor de R_f da $H_2TM-2-QnP^{4+}$ é consistente, visto que é mais lipofílica do que a $H_2TM-2-PyP^{4+}$.

Tabela 4.2 – Fatores de retenção em CCD-SiO₂ (KNO₃(sat.)/H₂O /MeCN 1:1:8 v/v/v) de porfirinas base-livre relevantes para este trabalho.

Porfirinas	Fatores de Retenção (R_f)
$H_2TM-2-PyP^{4+}$	0,15
$H_2TM-2-QnP^{4+}$	0,24

Os resultados obtidos a partir da análise por espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis estão apresentados na **Tabela 4.3 e Figura 4.6**, nas quais observa-se um deslocamento do espectro para a região do vermelho. A banda Soret desloca-se de 418 nm na base livre neutra para 430 nm na base livre catiônica (Fig. 4.6). A $H_2TM-2-QnP^{4+}$ é uma porfirina hidrossolúvel, porém os espectros mostrados abaixo foram registrados em acetonitrila, devido à espécie base livre ($H_2T-2-QnP$) não ser hidrossolúvel. Sendo assim, escolheu-se a MeCN pois é capaz de dissolver tanto a $H_2T-2-QnP$ quanto a $H_2TM-2-QnP^{4+}$.

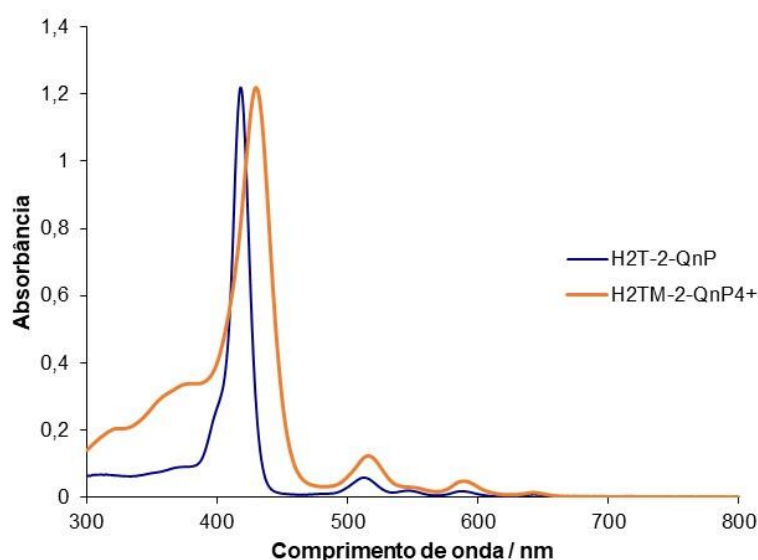


Figura 4.6 – Espectros Uv-vis da H₂T-2-QnP (linha azul) e da H₂TM-2-QnP⁴⁺ (linha laranja) em acetonitrila.

Para fins comparativos, a **Tabela 4.3** mostra os dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis das espécies base livre e catiônicas derivadas das 2-*N*-quinolilporfirinas e 2-*N*-piridilporfirinas.

Tabela 4.3 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis para a H₂TM-2-QnP⁴⁺ e derivados da H₂T-2-PyP.

Porfirinas	Solventes	λ (nm)	
		Soret	Bandas Q
H ₂ T-2-QnP	MeCN	418	513, 546, 589, 643
H ₂ TM-2-QnP ⁴⁺	MeCN	430	516, 589, 643
	H ₂ O	427	517, 586, 639
H ₂ TM-2-PyP ⁴⁺	MeCN	414	509, 544, 584, 637
	H ₂ O	413	510, 543, 581, 634

A partir dos dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis, que são bastante característicos em Química de Porfirinas, e os dados de CCD, corroborados por dados dos sistemas análogos à base de *N*-piridilporfirinas, deu-se prosseguimento à etapa de metalação deste macrociclo.

4.4.3 Síntese e Purificação da MnTM-2-QnP⁵⁺

A reação de obtenção do complexo de manganês MnTM-2-QnP⁵⁺ (**Fig. 4.7**) foi realizada utilizando uma adaptação do sistema correlato à base de *N*-alquilpiridilporfirinas (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 1998; 1999; 2002). A reação ocorreu à temperatura ambiente, com excesso de cloreto de manganês(II) (MnCl₂·4H₂O) em meio aquoso (pH = 12) e sob a agitação magnética. Após 21 horas, as análises por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat.)/H₂O /MeCN 1:1:8 v/v/v) e espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis indicaram que a porfirina estava metalada, devido à perda de fluorescência vermelha, característica das porfirinas base livre sob luz ultravioleta, bem como mudanças no espectro UV-vis, no qual observa-se um deslocamento na banda Soret para o vermelho e redução no número de bandas Q, confirmando a presença da MnTM-2-QnP⁵⁺.

A purificação do complexo porfirínico MnTM-2-QnP⁵⁺ inicia-se com uma filtração para promover a eliminação dos subprodutos gerados devido à hidrólise do sal de Mn²⁺(aq) que ocorre paralelamente à reação de metalação, gerando óxidos e hidróxidos de manganês. Posteriormente, finaliza-se a purificação com processos de metáteses Ots⁻/PF₆⁻/Cl⁻ de modo semelhante àquela da base-livre precursora. Após as purificações, observou-se por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat.)/H₂O/MeCN 1:1:8 v/v/v) que a porfirina estava isolada e totalmente metalada e o rendimento foi de 78 %.

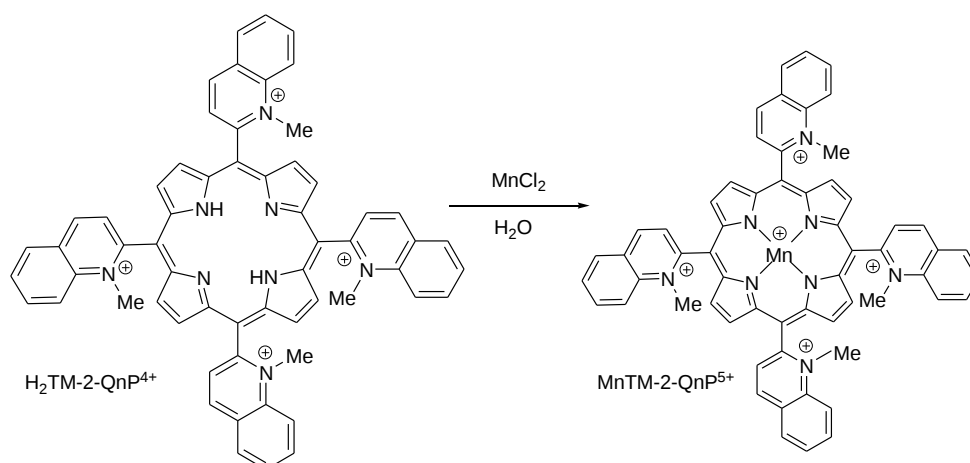


Figura 4.7 – Esquema proposto para a obtenção do complexo MnTM-2-QnP⁵⁺.

Os resultados obtidos a partir da análise por espectroscopia de absorção na região do visível, registrados na **Tabela 4.4** e **Figura 4.8**, mostram o deslocamento da banda Soret e a diminuição do número de bandas para a porfirina metalada. Isso ocorre devido

à mudança de simetria local de D_{2h} para D_{4h} que acompanha a metalação da $H_2TM-2-QnP^{4+}$ (D_{2h}) para resultar na $MnTM-2-QnP^{5+}$ (D_{4h}), o que implica na diminuição do número de bandas Q, em decorrência do aumento da simetria da molécula (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994).

Tabela 4.4 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção UV-vis para a $H_2TM-2-QnP^{4+}$, a $MnTM-2-QnP^{5+}$ e a $MnTM-2-PyP^{5+}$ em H_2O .

Porfirinas	λ (nm)	
	Soret	Banda Q
$H_2TM-2-QnP^{4+}$	427	517, 586, 639
$MnTM-2-QnP^{5+}$	459	565, 781
$MnTM-2-PyP^{5+}$	453	556, 686

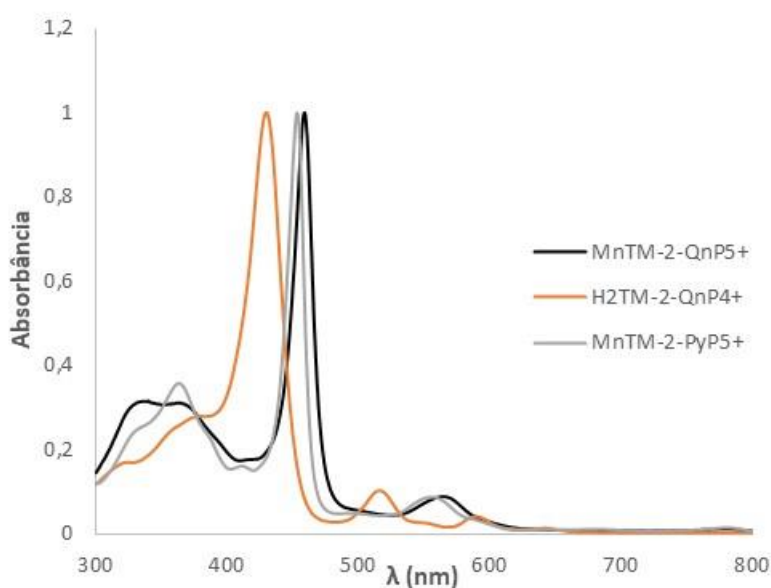


Figura 4.8 – Espectros Uv-vis da $H_2TM-2-QnP^{4+}$ (linha laranja), da $MnTM-2-QnP^{5+}$ (linha preta) e $MnTM-2-PyP^{5+}$ (linha cinza), em água.

A medida do R_f é um parâmetro de lipofilia observado nesses sistemas. Os valores de R_f da $MnTM-2-QnP^{5+}$ bem como para Mn-porfirinas derivadas das 2-N-piridilporfirinas, ($MnTM-2-PyP^{5+}$, $MnTM-2-PyP^{5+}$, $MnTnPr-2-PyP^{5+}$ e a $MnTnBu-2-PyP^{5+}$) estão mostrados na **Tabela 4.5**. O valor de R_f obtido para a $MnTM-2-QnP^{5+}$ é

muito próximo ao da MnTnBu-2-PyP⁵⁺, mostrando que a Mn-porfirina derivada das 2-*N*-quinoliporfirinas é mais lipofílica do que seu derivado análogo MnTM-2-PyP⁵⁺ (KOS *et al.*, 2009a, KOS *et al.*, 2009b).

Tabela 4.5 – Dados comparativos dos fatores de retenção das Mn-porfirinas catiônicas em CCD-SiO₂ (KNO₃(sat.)/H₂O /MeCN 1:1:8 v/v/v).

Mn-porfirinas	Fatores de Retenção (R _f)	Referências
MnTM-2-QnP ⁵⁺	0,22	Esse trabalho
MnTnBu-2-PyP ⁵⁺	0,20	Esse trabalho
	0,24	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
	0,14	Esse trabalho
MnTnPr-2-PyP ⁵⁺	0,11	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
	0,06	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
MnTE-2-PyP ⁵⁺	0,06	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
MnTM-2-PyP ⁵⁺	0,03	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011

4.4.4 Voltametria Cíclica

Foram observados processos redox centrados no íon metálico para a MnTM-2-QnP⁵⁺. Os voltamogramas cíclicos da MnTM-2-QnP⁵⁺ e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ estão exibidos na Figura 4.9 e os potenciais de meia-onda (E_{1/2}) determinados são apresentados na **Tabela 4.6**. O potencial Mn^{III}/Mn^{II} de meia onda centrado nos valores do íon metálico (E_{1/2}) para a MnTM-2-QnP⁵⁺ apresenta um valor (212 mV) bem próximo ao complexo de Mn derivado das 2-*N*-piridilporfirinas (220 mV) (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1999; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011).

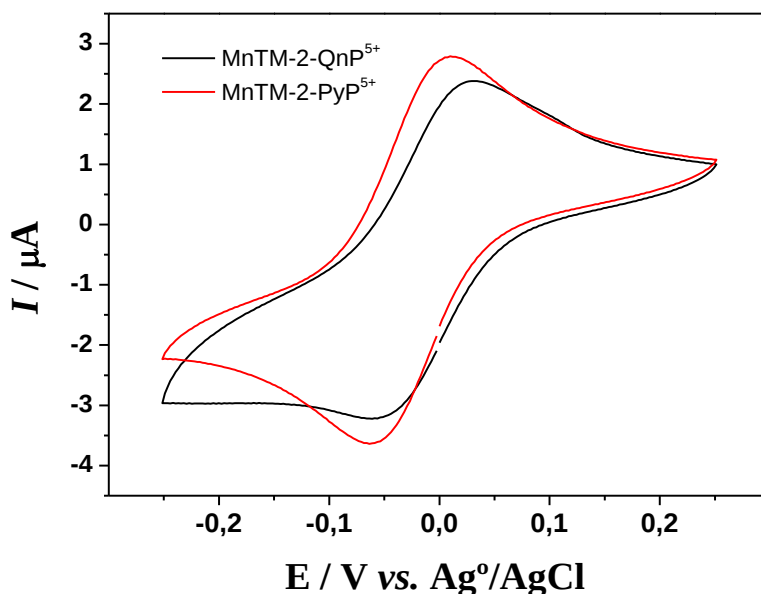


Figura 4.9 – Voltamogramas cíclicos da MnTM-2-QnP⁵⁺ e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ obtidos em 0,05 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH = 7,8), 0,1 mol L⁻¹ de NaCl, utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,25 a 0,25 V vs. Ag⁰/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. Concentração das soluções de porfirinas 5 × 10⁻⁴ mol L⁻¹.

A **Tabela 4.6** mostra os valores dos potenciais de redução Mn^{III}/Mn^{II} e o log k_{cat} para a dismutação do íon O₂^{•-} de algumas Mn-porfirinas. Analisando a tabela, observa-se que a MnTM-2-QnP⁵⁺ apresenta um potencial de redução Mn^{III}/Mn^{II} próximo aos compostos análogos derivados das 2-*N*-piridilporfirinas e, em especial a MnTE-2-PyP⁵⁺ que é considerada como um dos melhores mímicos da enzima SOD. Além disso, a MnTM-2-QnP⁵⁺ apresenta também uma lipofilia maior que a MnTM-2-PyP⁵⁺ e semelhante com a MnTnBu-2-PyP⁵⁺.

Tabela 4.6 – Potenciais de redução (mV vs NHE) para o processo centrado no íon metálico (Mn^{III}/Mn^{II}) e o log k_{cat} para a dismutação do íon O₂^{•-} da MnTM-2-QnP⁵⁺ e compostos análogos derivados das 2-*N*-piridilporfirinas.

Mn-porfirinas	E _{1/2} (mV vs NHE)	log k_{cat}	Referências
MnTM-2-QnP ⁵⁺	212	*	Esse trabalho
MnTM-2-PyP ⁵⁺	254	7,25	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
MnTE-2-PyP ⁵⁺	238	7,38	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
MnTnPr-2-PyP ⁵⁺	228	7,76	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011
MnTnBu-2-PyP ⁵⁺	220	7,78	SPASOJEVIĆ <i>et al.</i> , 2011

* O log k_{cat} da MnTM-2-QnP⁵⁺ não foi determinado

4.5 Conclusões

Esperava-se que o complexo de Mn(III) derivado das 2-*N*-alquilquinolilporfirinas pudesse imitar os efeitos eletrônicos, eletrostáticos das *N*-piridilporfirinas possibilitando explorar as propriedades e vantagens já conhecidas por esse grupo, aliado ao aumento da lipofilia (devido à extensão do grupo arila nos sistemas à base de 2-quinolinas). No entanto, devido às dificuldades enfrentadas durante o desenvolvimento desse trabalho, optou-se por interromper os estudos com compostos de cadeias laterais maiores (MnTE-2-QnP⁵⁺, MnTnBu-2-QnP⁵⁺, MnTnHex-2-QnP⁵⁺), ficando o estudo restrito apenas à obtenção da MnTM-2-QnP⁵⁺.

A síntese da porfirina base livre neutra H₂T-2-QnP foi realizada através de um método adaptado das condições de Adler/Longo, o qual levou à formação da porfirina de interesse, que posteriormente foi purificada por combinação de técnicas como extração sólido-líquido, precipitação seletiva e etapas cromatográficas e a H₂T-2-QnP foi isolada com rendimento de aproximadamente 5 %. A porfirina foi caracterizada por CCD-SiO₂, espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis e RMN de ¹H.

O derivado tetracatiônico H₂TM-2-QnP⁴⁺ foi sintetizado por alquilação dos grupos quinolinas com tosionato de metila. O método de purificação envolveu etapas de extração líquido-líquido, seguido por precipitação *via* metátese Ots⁻/PF₆⁻/Cl⁻. O rendimento isolado ficou em torno de 68 %. O RMN de ¹H não foi registrado até o presente momento, porém, por meio de CCD-SiO₂ e espectroscopia de absorção no UV-vis, comparativamente às características de solubilidade, cromatográfica e espectroscópica do análogo H₂TM-2-PyP⁴⁺, foi possível a indicar da formação da H₂TM-2-QnP⁴⁺.

Por fim, a H₂TM-2-QnP⁴⁺ foi submetida à metalização com cloreto de manganês(II) e sua purificação foi semelhante à porfirina base-livre catiônica precursora. O rendimento isolado do complexo MnTM-2-QnP⁵⁺ ficou em torno de 78 %. A Mn-porfirina foi caracterizada por CCD-SiO₂, espectroscopia eletrônica de absorção no UV-vis e voltametria cíclica.

5 Considerações Finais e Perspectivas futuras

O primeiro estudo da cinética de estabilidade térmica de uma Mn-porfirina foi realizado. Os resultados foram excelentes e contribuem para o desenvolvimento da classe das Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirina, possibilitando a realização de novos estudos com outros mímicos de SOD à base de Mn(III) porfirina e porfirinas de Zn(II).

As condições para a determinação da absorvidade molar a partir da etapa de desidratação de análise térmica foram estabelecidas. Então, para os próximos estudos, os esforços serão voltados para:

- ✓ Ampliar o estudo térmico da classe das Mn(III) 2-*N* alquilpiridinioporfirinas (MnTnBu-2-PyP⁵⁺, MnTnHex-2-PyP⁵⁺), a partir de análises termogravimétricas (TGA) e análise térmica diferencial (DTA);
- ✓ Avaliar se o tamanho da cadeia alquílica irá influenciar na estabilidade dessas Mn-porfirinas;
- ✓ A determinação do ϵ para as outras Mn-porfirinas derivadas das 2-*N*-alquilpiridinioporfirinas, bem como estudar a etapa de desalquilação, pois essa etapa irá ter efeito na atividade catalítica desses compostos.

Para o estudo de desenvolvimento de uma nova classe de Mn-porfirinas à base do grupo 2-quinolina, os resultados não foram animadores, visto as dificuldades enfrentadas no decorrer do projeto. Diante disso, optou-se por não prosseguir com os estudos envolvendo essa classe de compostos.

6 Referências Bibliográficas

ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; GODMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSAKOFF, L. A Simplified Synthesis for *meso*-Tetraphenylporphin. *J. Org. Chem.*, v. 32, p. 476, 1967.

ANDRADE, C. G., FIGUEIREDO, R. C. B. Q., RIBEIRO, K. R. C. et al., Photodynamic effect of zinc porphyrin on the promastigote and amastigote forms of *Leishmania braziliensis*, *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 17, no. 4, pp. 482–490, 2018.

BARBAS, R., PROHENS, R., PUIGJANER, C. A new polymorph of norfloxacin. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 89, p. 687-692, 2007.

BATINIĆ-HARBELE, I.; BENOVA, L.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. The ortho effect makes manganese (III) *meso*-tetrakis(N-methylpyridinium-2-yl)porphyrin (MnTM-2-PyP⁵⁺) a powerful and potentially useful superoxide dismutase mimic. *J. Biol. Chem.*, v. 273, p. 24521–24528, 1998.

BATINIĆ-HABERLE, I., SPASOJEVIĆ, I., HAMBRIGHT, P., BENOVA, L., CRUMBLISS, A. L., FRIDOVICH, I., Relationship among redox potentials, proton dissociation constants of pyrrolic nitrogens, and in vivo and in vitro superoxide dismutating activities of manganese (III) and iron (III) water-soluble porphyrins, *Inorganic Chemistry*, v. 38, no. 18, p. 4011–4022, 1999.

BATINIĆ-HARBELE, 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.*, v. 13, p. 2689-2696, 2002.

BATINIC-HABERLE, I.; SPASOJEVIC, I.; FRIDOVICH, I. Tetrahydrobiopterin rapidly reduces the sod mimic Mn(III) ortho-tetrakis(n-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 37, p.367–374, 2004.

BATINIĆ-HARBELE, I.; CUZZOCREA, S.; REBOUÇAS, J. S.; FERRER-SUETA, G.; MAZZON, E.; DI PAOLA, 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 Radic. Biol. Med.*, v. 46, p. 192-201, 2009a.

BATINIĆ-HABERLE, I.; NDENGLE, 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 Radical Biology & Medicine*, v.46, p. 212–219, 2009b.

BATINIĆ-HARBELE, I.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I. Superoxide Dismutase Mimics: Chemistry, Pharmacology and Therapeutic Potential. *Antioxid. Redox Sign.*, v. 13, p. 877-918, 2010.

BATINIĆ-HARBELE, I.; RAJIC, Z.; TOVMASYAM, A.; REBOUÇAS, J. S.; YE, X.; LEONG, K. W.; DEWHIRST, M. W.; VUJASKOVIĆ, Z.; BENOVA, L.; SPASOJEVIĆ, I. Diverse functions of cationic Mn(III) *N*-substituted pyridylporphyrins, recognized as SOD mimics. *Free Rad. Bio. Med.*, v. 51, p. 1035-1053, 2011a.

BATINIĆ-HABERLE, I., REBOUÇAS, J. S., BENOVA, L., SPASOJEVIĆ, I., Chemistry, biology and medical effects of water-soluble metalloporphyrins, in *Handbook of Porphyrin Science*, K. Kadish, K. Smith, and R. Guilard, Eds., p. 291–393, World Scientific Publishing Co. Pte Ltd, Singapore, 2011b.

BATINIC-HABERLE, I.; SPASOJEVIC, I.; TSE, H. M.; TOVMASYAN, A.; RAJIC, Z.; ST CLAIR, D. K.; VUJASKOVIC, Z.; DEWHIRST, M. W.; PIGANELLI, J. D. Design of Mn porphyrins for treating oxidative stress injuries and their redox-based regulation of cellular transcriptional activities. *Amino Acids.*, v. 42, p. 95–113, 2012.

BATINIĆ-HARBELE, I.; TOVMASYAM, A.; SPASOJEVIĆ, I. An educational overview of the chemistry, biochemistry and therapeutic aspects of Mn porphyrins—From superoxide dismutation to H₂O₂-driven pathways. *Redox Biology*, v. 5, p. 43–65, 2015.

BATINIC-HABERLE, I., TOVMASYAN, A., SPASOJEVIĆ, I., Mn porphyrin-based redox-active therapeutics, in *Redox-Active Therapeutics*, I. Batinic-Haberle, J. S. Rebouças, and I. Spasojevic, Eds., p. 165–212, Cham, Springer, 2016.

BATINIC-HABERLE, I AND TOME, M. E., Thiol regulation by Mn porphyrins, commonly known as SOD mimics, *Redox Biology*, v. 25, 2019.

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.

BARBOSA, A. M., SARMENTO-NETO, J. F., MENEZES FILHO, J. E. R. Redox-active drug, MnTE-2-PyP⁵⁺, prevents and treats cardiac arrhythmias preserving heart contractile function, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.

BENOV, L., Photodynamic therapy: current status and future directions, *Medical Principles and Practice*, v. 24, p. 14–28, 2015.

BLESSY, M., PATEL, R. D., PRAJAPATI, P. N., and AGRAWAL, Y. K., Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs - a review, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 4, no. 3, p. 159–165, 2014.

BORISSEVITCH, I. E., TOMINAGA, T.T., IMASATO, H., TABAK, M. Fluorescence and optical absorption study of interaction of two water soluble porphyrins with bovine serum albumin. The role of albumin and porphyrin aggregation. *J Lumin* v. 69, n. 2, p.65-76, 1996.

COSTA, L. D. S. Síntese e Caracterização de Porfirinas como Potenciais Agentes Fotossensibilizadores em Terapia Fotodinâmica. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade de Coimbra, 2013.

DE FREITAS-SILVA, G.; REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIC, I.; BENOV, L.; IDEMORI, Y. M.; BATINIC-HABERLE, I. SOD-like activity of Mn(II) beta-octabromo-meso-tetrakis(N-methylpyridinium-3-yl)porphyrin equals that of the enzyme itself. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 477, p. 105-112, 2008.

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.*, v. 447, p. 155-161, 2002.

EICHER, T., HAUPTMANN, S. and SPEICHER, A. The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions Synthesis and Applications. 2nd Edition, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.

FERRER-SUETA, G., TRUJILLO, M., BARTESAGHI, S., ROMERO, N., ALVAREZ, B., RADI, R., Biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration, *Chemical reviews*, v. 118, no. 3, p. 1338–1408, 2018.

FERREIRA, B. D. L. L.; SILVA, V. R.; JACOBSEM, B. B.; YOSHIDA, M. I.; SEBASTIAO, R. C. O. O. Estudo cinético de decomposição térmica de espumas rígidas de poliuretano por rede neural artificial. *Química Nova*, v. 40, n. 10, p. 1149–1157, 2018.

FERREIRA, L. D., MEDEIROS, F. S., ARAUJO, B. C. et al., Kinetic study of MWCNT and MWCNT@P3HT hybrid thermal decomposition under isothermal and non-isothermal conditions using the artificial neural network and isoconversional methods, *Thermochimica Acta*, vol. 676, pp. 145–154, 2019.

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.*, v. 32, p. 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.*, v. 38, p. 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.*, v. 35, p. 438-453, 2016.

GALWEY, A. K.; BROWN, M. E. Solid-state Decompositions — Stagnation or Progress? *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 60, n. 3, p. 863–877, 2000.

GALWEY, Andrew K. Is the science of thermal analysis kinetics based on solid foundations?: A literature appraisal. *Thermochimica Acta*, [S. l.], v. 413, n. 1–2, p. 139–183, 2004.

GOLDSTEIN, S.; SAMUNI, A.; HIDEK, K.; MERENYI, G. Structure-activity relationship of cyclic nitroxides as SOD mimics and scavengers of nitrogen dioxide and carbonate radicals. *J. Phys. Chem.*, v. 110, p. 3679-3685, 2006.

GONSALVES, A. M. A. R.; VAREJÃO, J. M. T. B.; PEREIRA, M. M. Some new aspects related to the synthesis of mesosubstituted porphyrins. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, Albuquerque, v. 28, n. 3, p. 635- 640, 1991.

GRIESS, B., MIR, S., DATTA, K., TEOH-FITZGERALD, M., Scavenging reactive oxygen species selectively inhibits M2 macrophage polarization and their pro-tumorigenic function in part, via Stat3 suppression, *Free Radical Biology and Medicine*, v. 147, p. 48–60, 2020.

HABER, A.; MAHAMMED, A.; FUHRMAN, B.; VOLKOVA, N.; COLEMAN, R.; HAYEK, T.; AVIRAM, M.; GROSS, Z. Amphiphilic/bipolar metallocorroles that catalyze the decomposition of reactive oxygen and nitrogen species, rescue lipoproteins from oxidative damage, and attenuate atherosclerosis. *Angew. Chem Int.*, v. 47, p. 7896-7900, 2008.

HAMBRIGHT, P.; ADEYEME, A.; SHAMIM, A.; LEMELLE, S. [[4,4',4'',4'''-Porphyrin-5,10,15,20-Tetrayltetrakis(1-methylpyridiniumato)](2il)]-indium(III) Pentaperchlorate. *Inorg. Synth.*, v. 23, p. 55-59, 1985.

HAYKIN, S. Neural Networks - A Comprehensive Foundation. New Jersey: Prentice-Hall PRT, 1997.

HATAKEYEMA, H.; TANAMACHI, N.; MATSUMURA, H.; HIROSE, S.; HATAKEYAMA, T. Bio-based polyurethane composite foams with inorganic fillers studied by thermogravimetry. *Thermochimica Acta*. v.431, n.01-02, p.155-160, 2005.

HATAKEYAMA, T., QUINN, F. X. Thermal Analysis: fundamentals and applications to polymer science. New York: John Wiley & Sons, 1997.

IAMAMOTO, Y.; IDEMORI, Y. M.; NAKAGAKI, S. Cationic Iron porphyrins As Catalyst In Comparative Oxidation Of Hydrocarbons: Homogeneous And Supported On Inorganic Matrices Systems. *Journal of Chemical Catalysis. A, Chemical*, Netherlands, v. 99, p. 187-193, 1995.

ICH Expert Working Group, Pharmaceutical development Q8(R2), 2009.

ICH topic Q 1 A (R2) stability testing of new drug substances and products. Step 5. Note for guidance on stability testing: stability testing of new drug substances and products, 2003, November 2021, https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drugsubstances-products-step-5_en.pdf.

IONASHIRO, M. Giolito: Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial. São Paulo: Giz Editorial, 2004.

JARAMILLO, M. C., BRIEHL, M. M., CRAPO, J. D., BATINIC-HABERLE, I., and TOME, M. E., Manganese porphyrin, MnTE-2-PyP 5+, acts as a pro-oxidant to potentiate glucocorticoid-induced apoptosis in lymphoma cells, *Free Radical Biology and Medicine*, v. 52, no. 8, p. 1272–1284, 2012.

JELIĆ, D., Thermal stability of amorphous solid dispersions, *Molecules*, vol. 26, no. 1, p. 238, 2021.

KHAWAM, A. and FLANAGAN, D. R., Basics and applications of solid-state kinetics: a pharmaceutical perspective, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 95, no. 3, p. 472–498, 2006a.

KHAWAM, A. AND FLANAGAN, D. R., Solid-state kinetic models: basics and mathematical fundamentals, *Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, no. 35, p. 17315–17328, 2006b.

KOS, I.; REBOUÇAS, J. S.; DE FREITAS-SILVA, G.; SALVEMINI, D.; VUJASKOVIC, Z.; DEWHIRST, M. W.; SPASOJEVIC, I.; BATINIC-HABERLE, I. The effect of lipophilicity of porphyrin-based antioxidants. Comparison of ortho and meta isomers of Mn(III) N-alkylpyridylporphyrins. *Free Radical Biol. Med.*, v. 47, p. 72-78, 2009a.

KOS, I., BENOVIĆ, 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.*, v.52, p.7868-7872, 2009b.

LEE, K., BRIEHL, M. M., MAZAR, A. P. et al., The copper chelator ATN-224 induces peroxynitrite-dependent cell death in hematological malignancies, *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 60, pp. 157–167, 2013.

LEU, D.; SPASOJEVIC, I.; NGUYEN, H.; DENG, B.; TOVMASYAN, A.; WEITNER, T.; SAMPAIO, R. S., BATINIC-HABERLE, I.; HUANG, Ting-Ting. CNS bioavailability and radiation protection of normal hippocampal neurogenesis by a lipophilic Mn porphyrin-based superoxide dismutase mimic, MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺. *Redox Biology*, v. 12, p. 864–871, 2017.

LEVER, S.D, PAPADAKI, M. Study of condition-dependent decomposition reactions: Part I. The thermal behaviour and decomposition of 2-nitrobenzoyl chloride. *J Hazard Mater.*, v. 115, p. 91-100, 2004.

LINDSEY, J.S.; SCHREIMAN, I.C.; HSU, H.C.; KEARNEY, P.C.; MARGUERETTAZ, A.M. Rothmund and Adler-Longo Reactions Revisited: Synthesis of Tetraphenylporphyrins under Equilibrium Conditions. *J. Org. Chem.*, v. 52, p. 827-836, 1987.

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. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, (PB). 2015.

MARKENS U., “Conducting stability studies - recent changes to climatic zone IV,” Life Science Services SGS Technical Bulletin, no. 13, pp. 1–4, 2009, <https://www.sgs.com/~media/global/documents/technical%20documents/sgs%20stability%20studies-en-09.pdf>.

MARQUES, M. B. F., ARAUJO, B. C. R., FERNANDES, C., YOSHIDA, M. I., MUSSEL, W. N., SEBASTIÃO, R. C. O., Kinetics of lumefantrine thermal decomposition employing isoconversional models and artificial neural network, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 31, no. 3, p. 512–522, 2020.

MEUNIER, B. Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. *Chem. Rev.*, v.92, p. 1411-1456, 1992.

MILGROM, L. R. The Colours of Life: An introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds. Oxford: Oxford University Press, p. 249, 1997.

MUNROE, W., KINGSLEY, C., DURAZO, A. et al., Only one of a wide assortment of manganese-containing SOD mimicking compounds rescues the slow aerobic growth phenotypes of both *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* strains lacking superoxide dismutase enzymes, *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 101, no. 11–12, p. 1875–1882, 2007.

OLIVEIRA, M. A. YOSHIDA, M. I., DE LIMA GOMES, E. C., Thermal analysis applied to drugs and pharmaceutical formulations in pharmaceutical industry, *Quimica Nova*, v. 34, no. 7, p. 1224–1230, 2011.

OLIVEIRA, G. G. G; FERRAZ, H. G., MATOS, J. S. R. Thermoanalytical study of glibenclamide and excipientes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 79, p. 267–270, 2005.

OKADO-MATSUMOTO, A; BATINIC-HABERLE I.; FRIDOVICH, I. Complementation of SOD-deficient *Escherichia coli* by manganese porphyrin mimics of superoxide dismutase activity. *Free Radic Biol Med.*, v. 37, p. 401–410, 2004.

OZAWA, Takeo. Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. *Journal of thermal analysis*, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 301–324, 1970.

PÉREZ-MAQUEDA L. A. CRIADO J. M., The accuracy of Senum and Yang's approximations to the Arrhenius integral, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 60, no. 3, p. 909–915, 2000.

PINTO, V.H.A.; CARVALHODA-SILVA; D.; SANTOS, J.L.M.S.; WEINER, T.; DA 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, p. 29–34, 2013.

PINTO, V. H. A., FALCÃO, N. K. S. M., BUENO-JANICE, J. C., I. SPASOJEVIĆ, I. BATINIĆ-HABERLE, REBOUÇAS, J. S, Cytochrome P450-like biomimetic oxidation catalysts based on Mn porphyrins as redox modulators, in *Redox-Active Therapeutics*, I. Batinic-Haberle, J. S. Rebouças, and I. Spasojevic, Eds., p. 213–243, Cham, Springer, 2016.

POLLARD, J. M., REBOUCAS, J. S., DURAZO, A. et al., Radioprotective effects of manganese-containing superoxide dismutase mimics on ataxia-telangiectasia cells, *Free Radical Biology and Medicine*, v. 47, no. 3, p. 250–260, 2009.

POLICAR C., Mimicking SOD, why and how: bio-inspired manganese complexes as SOD mimic, in *Redox-Active Therapeutics*, I. Batinic-Haberle, J. S. Rebouças, and I. Spasojevic, Eds., p. 125–164, Cham, Springer, 2016.

POMPEU, A. G.; PERARO-NASCIMENTO, A.; D' ASSUNÇÃO, L. M. Comportamento térmico do fármaco e do medicamento contendo Cetoprofeno. *Braz. J. Therm. Anal.*, v. 2, p. 31 – 37, 2013.

POURMORTAZAVI, S. M, HAJIMIRSADEGHI, S. S, HOSSEINI, S. G. Characterization of the aluminum/potassium chlorate mixtures by simultaneous thermogravimetry-differential thermal analysis. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 84, p. 557–561, 2006.

RADI, R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: redox pathways in molecular medicine, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 115, no. 23, p. 5839–5848, 2018.

RAJIC, Z., TOVMASYAN, A., I. SPASOJEVIC, I. A new SOD mimic, Mn(III)-ortho *N*-butoxyethylpyridylporphyrin, combines superb potency and lipophilicity with low toxicity, *Free Radical Biology and Medicine*, v. 52, no. 9, p. 1828–1834, 2012.

RAJIC, Z., TOVMASYAN, A. DE SANTANA, O. L. Challenges encountered during development of Mn porphyrin-based, potent redox- active drug and superoxide dismutase mimic, MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺, and its alkoxyalkyl analogues, *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 169, p. 50–60, 2017.

RANG, H. P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. Rang & Dale Farmacologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

REBOUCAS, J.S.; CARVALHO, M.E.M.D.; IDEMORI, Y.M. Perhalogenated 2-pyridylporphyrin complexes: synthesis, selfcoordinating aggregation properties, and catalytic studies. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, v. 6, p. 50-57, 2002.

REBOUÇAS, J. S., SPASOJEVIĆ, I., AND BATINIĆ-HABERLE, I., Quality of potent Mn porphyrin-based SOD mimics and peroxynitrite scavengers for pre-clinical mechanistic/therapeutic purposes, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 48, no. 3, p. 1046–1049, 2008a.

REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; TIAHJONO, D. H.; RICHAUD, A.; MÉNDEZ, F.; BENOVA, L.; BATINIĆ-HARBELE, I. Redox modulation of oxidative stress by Mn porphyrin-based therapeutics: the effect of charge distribution. *Dalton Trans.*; v.47, p. 1233-1242, 2008b.

REBOUÇAS, J. S., KOS, I., VUJASKOVIĆ, Z., AND BATINIĆ-HABERLE, I., Determination of residual manganese in Mn porphyrinbased superoxide dismutase (SOD) and peroxynitrite reductase mimics,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 50, no. 5, p. 1088–1091, 2009.

REN, N., WANG, F., ZHANG, J., and ZHENG, X., Progress in thermal analysis kinetics, *Wuli Huaxue Xuebao/ Acta Physico – Chimica Sinica*, v. 36, no. 6, 2020.

SANTOS, A. F. O, BASÍLIO, I.D. Jr, DE SOUZA, F. S, MEDEIROS, A. F. D, PINTO, M. F, DE SANTANA, D. P. Application of thermal analysis in study of binary mixtures with metformin. *J Therm Anal Calorim.*, v. 361, p. 361-364, 2008.

SBIRRAZZUOLI, N. Is the Friedman Method Applicable to Transformations with Temperature Dependent Reaction Heat? *Macromolecular Chemistry and Physics*, [S. l.], v. 208, n. 14, p. 1592–1597, 2007

SEBASTIÃO, R. C. O., BRAGA, J. P., and YOSHIDA, M. I., Competition between kinetic models in thermal decomposition: analysis by artificial neural network, *Thermochimica Acta*, v. 412, no. 1–2, p. 107–111, 2004.

SEBASTIÃO, R. C. O., BRAGA, J. P., and YOSHIDA, M. I., Artificial neural network applied to solid state thermal decomposition, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 74, no. 3, p. 811–818, 2003.

P. I. C.-o. Scheme, Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products (PE 009-15 Part I), 2021, May 2021, <https://picscheme.org/docview/4205>.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SILVA, C. R. G., FIALHO, S., BARBOSA, J. et al., Compatibility by a nonisothermal kinetic study of azathioprine associated with usual excipients in the product quality review process, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 32, no. 3, p. 638–651, 2021.

SLOSKY, L. M. VANDERAH, T. W., Therapeutic potential of peroxydinitrite decomposition catalysts: a patent review, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, v. 25, no. 4, p. 443–466, 2015.

SOVIZI, M. R. Thermal behavior of drugs: Investigation on decomposition kinetic of naproxen and celecoxib. *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 102, p. 285-289, 2010.

SOUZA, T. H., ANDRADE, C. G., CABRAL, F. V. et al., "Efficient photodynamic inactivation of Leishmania parasites mediated by lipophilic water-soluble Zn(II) porphyrin ZnTnHex-2-PyP⁴⁺", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1865, no. 7, 2021a.

SOUZA, T. H., SARMENTO-NETO, J. F., SOUZA, S. O. et al., Advances on antimicrobial photodynamic inactivation mediated by Zn(II) porphyrins, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, v. 49, 2021b.

SOUZA, SUELEN O.; RAPOSO, BRUNO L.; SARMENTO-NETO, JOSÉ F.; REBOUÇAS, J. S.; MACÊDO, DANIELLE P. C.; FIGUEIREDO, REGINA C. B. Q.; SANTOS, BEATE S.; FREITAS, ANDERSON Z.; CABRAL FILHO, PAULO E.; RIBEIRO, MARTHA S.; FONTES, A. Photoinactivation of Yeast and Biofilm Communities of *Candida albicans* Mediated by ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ Porphyrin. *Journal of fungi*, v. 8, p. 556, 2022.

SPASOJEVIĆ, I.; YUMIN, C.; NOEL, T.; YU, I.; POLE, M. P.; ZHANG, L.; ZHAO, Y.; ST. CLAIR, D. K.; BATINIĆ-HABERLE, I. Mn porphyrin-based SOD mimic, MnTE-2-PyP⁵⁺ targets mouse heart mitochondria. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 42, p. 1193–1200, 2007.

SPASOJEVIĆ, I.; CHEN, Y.; NOEL, T.J.; FAN, P.; ZHANG, L.; REBOUÇAS, J.S.; ST CLAIR, D.K.; BATINIĆ-HARBELE, I. Pharmacokinetics of the potent redox modulating manganese porphyrin, MnTE-2-PyP⁵⁺ in plasma and major organs of B6C3F1 mice. *Free Radic Biol Med.*, v.45, p. 943-949, 2008.

SPASOJEVIĆ, I.; KOS, I.; BENOVIĆ, L. T.; RAJIC, Z.; FELS, D.; DEDEUGD, C.; YE, X.; VUJASKOVIC, Z.; REBOUCAS, 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.*, v. 45, p. 188–200, 2011.

TOVMASYAN, A.; SHENG, H.; WEITNER, T.; ARULPRAGASAM, A.; LU, M.; WARNER, D. S.; SPASOJEVIC, I.; BATINIC-HABERLE, I. Design, mechanism of action, bioavailability and therapeutic effects of Mn porphyrin-based redox modulators. *Med. Princ. Pract.*, v. 22, p.103-130, 2012.

TOVMASYAN, A., CARBALLAL, S., GHAZARYAN, R., MELIKYAN, L., WEITNER T., MAIA, C. G. C., REBOUCAS, J. S., RADI, R., SPASOJEVIC, I., BENOVO, L., BATINIC-HABERLE, I., Rational design of superoxide dismutase (SOD) mimics: the evaluation of the therapeutic potential of New cationic Mn porphyrins with linear and cyclic substituents. *Inorganic Chemistry*, v. 53, p. 11467–11483, 2014a.

TOVMASYAN, A., REBOUCAS, J. S., BENOVO, L., Simple biological systems for assessing the activity of superoxide dismutase mimics, *Antioxidants and Redox Signaling*, v. 20, no. 15, p. 2416–2436, 2014b.

TOVMASYAN, A., MAIA, C. G. C., WEITNER, T. et al., A comprehensive evaluation of catalase-like activity of different classes of redox-active therapeutics, *Free Radical Biology and Medicine*, v. 86, p. 308–321, 2015a.

TOVMASYAN, A., BUENO-JANICE, J. C., JARAMILLO, M. C. et al., Radiation-mediated tumor growth inhibition is significantly enhanced with redox-active compounds that cycle with ascorbate, *Antioxidants and Redox Signaling*, v. 29, no. 13, p. 1196–1214, 2018.

TOVMASYAN, A. SAMPAIO, R.S. BOSS, M.K., BUENO-JANICE, J.C., BADER, B.H., THOMAS, M., REBOUCAS, J.S.; ORR, M.; CHANDLER, J.D., GO, Y.M.; JONES, D.P., VENKATRAMAN, T.N.; HABERLE, S.; KYUI, N.; LASCOLA, C.D., DEWHIRST, M.W., SPASOJEVIC, I., BENOVO, L., BATINICHABERLE, I. Anticancer therapeutic potential of Mn porphyrin/ascorbate system. *Free Radic. Biol. Med.* v. 89, p.1231–1247, 2015b.

VIANA, O. S., RIBEIRO, M. S., RODAS, A. C. D., REBOUCAS, J. S., FONTES, A., AND SANTOS, B. S., 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*, v. 20, no. 5, p. 8893–8912, 2015.

VINCENT, A., THAUVIN, M., QUÉVRAIN, E., Evaluation of the compounds commonly known as superoxide dismutase and catalase mimics in cellular models, *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 219, 2021.

VYAZOVKIN, S. and WIGHT, C. A., Model-free and model-fitting approaches to kinetic analysis of isothermal and nonisothermal data, *Thermochimica Acta*, v. 340–341, p. 53–68, 1999.

VYAZOVKIN, S., Advanced isoconversional method, *Journal of Thermal Analysis*, v. 49, no. 3, p. 1493–1499, 1997.

VYAZOVKIN, S., A. BURNHAM, K., CRIADO, J. M., L. PÉREZ-MAQUEDA, A., POPESCU, C., SBIRRAZZUOLI, N., ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data, *Thermochimica Acta*, v. 520, no. 1–2, p. 1–19, 2011.

VYAZOVKIN, S., A. BURNHAM, K., FAVERGEON L., ICTAC Kinetics Committee recommendations for analysis of multistep kinetics, *Thermochimica Acta*, v. 689, p. 178597, 2020.

VYAZOVKIN, S., CHRISSAFIS, K., DI LORENZO, M. L. et al., ICTAC Kinetics Committee recommendations for collecting experimental thermal analysis data for kinetic computations, *Thermochimica Acta*, v. 590, p. 1–23, 2014.

WEITNER, T., KOS, I.; SHENG, H.; TOVMASYAN, A., REBOUCAS, J.S., FAN, P., WARNER, D.S., VUJASKOVIC, Z.; BATINIC-HABERLE, I.; SPASOJEVIC, I., Comprehensive pharmacokinetic studies and oral bioavailability of two Mn porphyrin SOD mimics, MnTE-2-PyP and MnTnHex-2-PyP. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 58, p. 73–80, 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, Cap. 7, p. 193-239, 1994.

World Health Organization, “WHO guidelines on stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products,” WHO Technical Report Series 1010, World Health Organization, Geneva, 2018, <https://cdn.who.int/media/docs/defaultsource/medicines/normsandstandards/guidelines/regulatory-standards/trs1010-annex10-who-stability-testing-of-active-pharmaceuticalingredients.pdf>

World Health Organization, WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, World Health Organization, Geneva, 2018, May 2021, http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/expert_committee/trs_1010/en/.

XU, H. An SVD-like matrix decomposition and its applications. *Linear Algebra and its Applications*. v.368, p.1-24, 2003.

YANG, Y., WANG, Q., LUO, J. et al., Superoxide dismutase mimic, MnTE-2-PyP enhances rectal anastomotic strength in rats after preoperative chemoradiotherapy, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2020, 11 pages, 2020.

YANG, Y., ZHANG, P., YAN, R. et al., MnTE-2-PyP attenuates TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition of colorectal cancer cells by inhibiting the Smad2/3 signaling pathway, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, 2019.

YOSHIDA, M. I. Cinética e mecanismo de reação de decomposição térmica no estado sólido: influência de variações estruturais no ligante sobre os parâmetros cinéticos. 1993.

YOSHIDA, M. I., LIMA GOMES, E. C., VIANNA SOARES, C. D., AND OLIVEIRA, M. A., Thermal behavior study and decomposition kinetics of amiodarone hydrochloride under isothermal conditions, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 37, no. 6, p. 638–647, 2011.

YU, X.; LIU, R.; YI, R.; YANG, F.; HUANG, H.; CHEN, J.; JI, D.; YANG, Y.; LI, X.; YI, P. Study of the interaction between N-confused porphyrin and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A*, v.78, p. 1329 – 13335, 2011.

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.*, v. 56, p. 3307-3318, 2007.

ZAKERI, K., NARAYANAN, D., VIKRAM, B., EVANS, G., COLEMAN, C. N., PRASANNA, P. G. S., Decreasing the toxicity of radiation therapy: radioprotectors and radiomitigators being developed by the National Cancer Institute through small business innovation research contracts, *International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics*, v. 104, no. 1, p. 188–196, 2019.

ZHAO, P.; HUANG, Jin-W.; JI, Liang-N. Cationic pyridinium porphyrins appending different peripheral substituents: Spectroscopic studies on their interactions with bovine serum albumin. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 88, p. 130– 136, 2012.

ZHU, Y., KOSMACEK, E. A., CHATTERJEE, A., and OBERLEY-DEEGAN, R. E., MnTE-2-PyP suppresses prostate cancer cell growth via H₂O₂ production, *Antioxidants*, v. 9, no. 6, 2020.

APÊNDICE

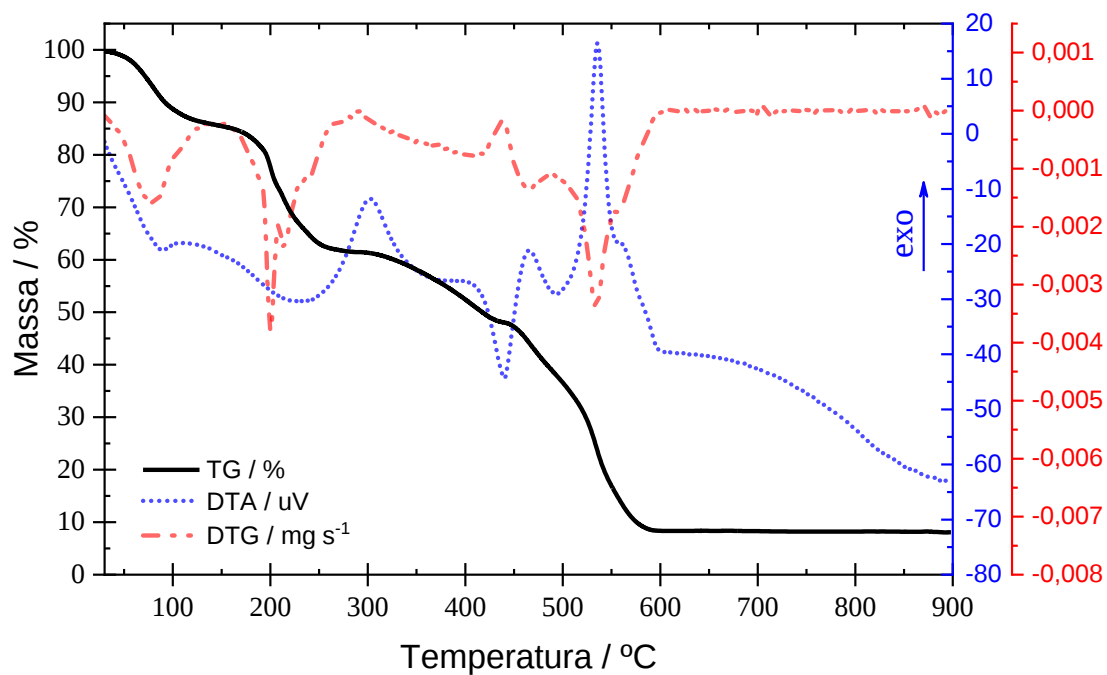
Apêndice A: Análises termogravimétricas (TG), termogravimétricas derivadas (DTG) e térmicas diferenciais (DTA) para MnTE-2-PyPCl₅

Figura A1: Curvas termogravimétricas (TG), termogravimétricas derivadas (DTG) e análises térmicas diferenciais (DTA) para MnTE-2-PyPCl₅ (formalmente MnTE-2-PyPCl₅·8H₂O) sob ar dinâmico a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Tabela A1: Dados de análise térmica para MnTE-2-PyPCl₅ (formalmente MnTE-2-PyPCl₅·8H₂O) sob atmosfera dinâmica de ar 1 atm (110 cm³ min⁻¹) a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Eventos	TG/DTG				DTA ^a		Atribuição	
	Temperatura, °C				% Perda massa			Pico DTA, °C
	Faixa	T _{onset}	T _{offset}	Pico DTG	Exp	Calcd		
I	27–134	57,3	101,1	77,5	13,9	12,9	89,7 (endo)	Perda de água de hidratação (–8 H ₂ O)
II	134–279	192,3	219,07	206,2	24,4	23,3	234,3 (endo)	Perda de EtCl (–4 EtCl)
III								
IIIa	279–438	344,1	427,6	380,4	13,5		302,0 (exo)	Perda de matéria orgânica, cloreto,
IIIb	438–492	448,7	477,4	462,1	9,8		439,8 (endo), 466,2 (exo)	incorporação de O ₂
IIIc	492–605	526,5	560,5	541,7	29,8		493,7 (endo), 535,3 (exo)	para produzir o óxido de Mn residual.
	279–900				53,1	56,9		
Resíduo	900				8,3	6,9	–	Mn ₃ O ₄ como resíduo final

^a Endo significa um evento endotérmico, enquanto exo significa um evento exotérmico.

Apêndice B: Análises termogravimétricas (TG), termogravimétricas derivadas (DTG) e térmicas diferenciais (DTA) para MnT-2-PyPCL

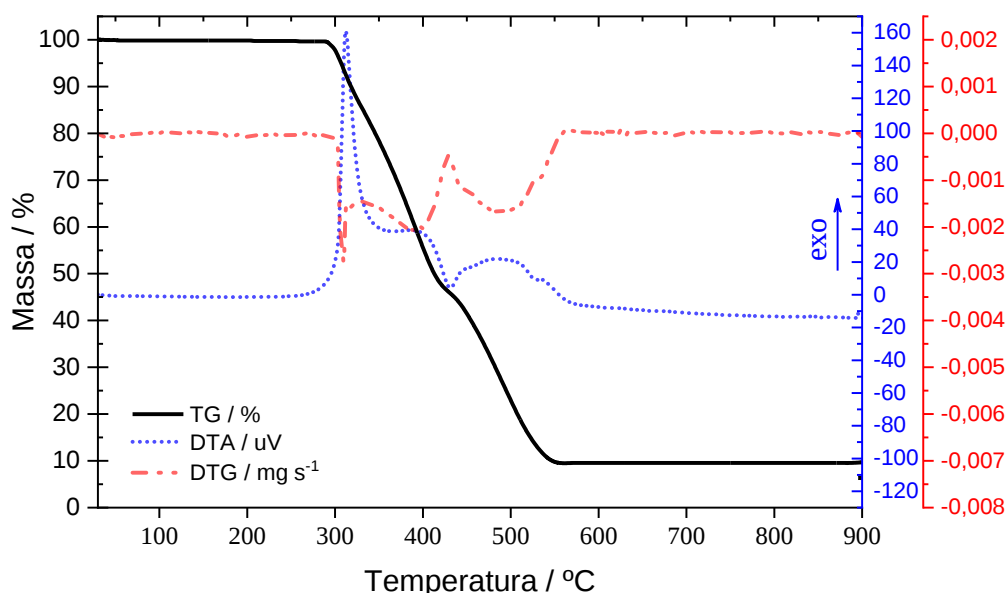


Figura B2: Curvas termogravimétricas (TG), termogravimétricas derivadas (DTG) e análises térmicas diferenciais (DTA) para MnT-2-PyPCL sob ar dinâmico de 1 atm a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Tabela B2: Dados de análise térmica para MnT-2-PyPCL sob atmosfera dinâmica de ar de 1 atm (110 cm³ min⁻¹) a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Evento ^a	TG/DTG					DTA ^b		Atribuição
	Temperatura, °C				% Perda massa		Pico DTA, °C	
	Faixa	T _{onset}	T _{offset}	Pico DTG	Exp	Calcd		
III								
IIIa	285–428	321,0	335,2	325,7	53,4		326,2 (exo)	Perda de matéria orgânica, cloreto, incorporação de O ₂ para produzir o óxido de Mn residual
IIIb	428–600	447,0	455,7	512,0	36,7		502,7 (exo)	
	285–900				90,1	89,2		
Resíduo	900				9,5	10,8	–	
								Mn ₃ O ₄ como resíduo final

^a Evento I (desidratação) e II (*N*-desalquilação) estavam ausentes (ver Tabela A1).

^b Endo significa um evento endotérmico, enquanto exo significa um evento exotérmico.