



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

Dissertação de Mestrado

**Síntese de uma Zn(II)-porfirina hidrossolúvel do tipo A₃B como
fotossensibilizador para inativação fotodinâmica de *Candida
albicans***

Maria Eduarda de Lima Oliveira

SAPIENTIA AEDIFICAT

João Pessoa – PB – Brasil

Maio/2024



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

Dissertação de Mestrado

**Síntese de uma Zn(II)-porfirina hidrossolúvel do tipo A₃B como
fotossensibilizador para inativação fotodinâmica de *Candida
albicans***

Maria Eduarda de Lima Oliveira*

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal da Paraíba como
requisito para a obtenção do título de
Mestre em Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças
Coorientador: Dr. José Ferreira Sarmiento Neto

* Bolsista CAPES

João Pessoa – PB – Brasil

Maiio/2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

048s Oliveira, Maria Eduarda de Lima.
Síntese de uma Zn(II)-porfirina hidrossolúvel do tipo A3B como fotossensibilizador para inativação fotodinâmica de *Candida albicans* / Maria Eduarda de Lima Oliveira. - João Pessoa, 2024.
115 f. : il.

Orientação: Júlio Santos Rebouças.
Coorientação: José Ferreira Sarmento Neto.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Fotossensibilização. 2. Zn(II)-porfirinas. 3. Fotossensibilizadores. 4. Inativação fotodinâmica. I. Rebouças, Júlio Santos. II. Sarmento Neto, José Ferreira. III. Título.

UFPB/BC

CDU 544.525(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

FOLHA Nº 1 / 2024 - PPGQ (11.01.14.55)

Nº do Protocolo: 23074.039230/2024-88

João Pessoa-PB, 16 de Maio de 2024

Síntese de uma Zn(II)-porfirina hidrossolúvel do tipo A₃B como fotossensibilizador para inativação fotodinâmica de *Candida albicans*.

Trabalho de Dissertação de Mestrado apresentada pela aluna MARIA EDUARDA DE LIMA OLIVEIRA e aprovada pela Comissão Examinadora composta abaixo, realizada no dia 16 de maio de 2024.

[Assinado eletronicamente via SIPAC]

Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças

DQ/UFPB

Orientador/Presidente

Documento assinado digitalmente



JOSE FERREIRA SARMENTO NETO

Data: 17/05/2024 06:58:33-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. José Ferreira Sarmiento Neto

PDJ-CNPq/DQ/UFPB

Coorientador

Documento assinado digitalmente



YASSUKO IAMAMOTO

Data: 16/05/2024 23:41:55-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Yassuko Iamamoto

USP/Ribeirão Preto-SP

Examinadora

[Assinado eletronicamente via SIPAC]

Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior

DQ/UFPB

Examinador

(Assinado digitalmente em 16/05/2024 15:34)

CLAUDIO GABRIEL LIMA JUNIOR
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
Matrícula: 1937438

(Assinado digitalmente em 16/05/2024 12:40)

JULIO SANTOS REBOUCAS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
Matrícula: 1698581

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufpb.br/documentos/> informando seu número: 1, ano: 2024, documento(espécie): FOLHA, data de emissão: 16/05/2024 e o código de verificação: c537bc316e

À minha mãe, Fernanda, cujo amor incondicional me deu confiança para enfrentar a vida e segurança para me expressar. Cada passo nesta jornada foi cuidadosamente preparado pelos sacrifícios que você generosamente fez. Com amor e carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação de mestrado não teria alcançado seu êxito sem o valioso apoio de diversas pessoas.

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha profunda gratidão aos meus pais, Fernanda Lima e Evandro Abreu, que sempre me proporcionaram amor, educação e apoio em meus estudos. Foram generosos e compassivos ao me darem todo o suporte e palavras de incentivo para que eu concluísse meu mestrado. Agradeço por sempre terem acreditado em mim, mesmo nos momentos em que eu própria duvidei. Sem vocês eu jamais teria conseguido chegar até aqui. Acima de tudo, agradeço pela dedicação em me proporcionarem oportunidades que nunca tiveram e pelo inesgotável apoio que continuam a oferecer aos meus sonhos infinitos.

Às minhas tias Flávia, Renata, Rejane, Betânia e aos meus tios Roberto e Cherrales, expresso minha profunda gratidão pela compreensão e apoio que me dedicaram ao longo dos anos. Sei que em muitos momentos foram privados da minha companhia e atenção, mas nunca me faltou amor e encorajamento. Agradeço por sempre desejarem o melhor para mim, por sua dedicação incansável em me ajudar a superar obstáculos e por me amarem incondicionalmente.

Ao meu orientador Júlio Santos Rebouças, pela orientação ao longo desses dois anos de mestrado. Agradeço a sua paciência, atenção e confiança durante esse período. Sua orientação foi fundamental para o meu desenvolvimento, e sou grata por sua dedicação em me ajudar a alcançar meus objetivos.

Ao meu coorientador José Ferreira Sarmiento Neto, por sua contribuição ao longo deste período. Agradeço a sua disponibilidade, sabedoria e apoio, que foram essenciais para o meu crescimento. Sou grata por ter tido a oportunidade de aprender com você, um querido e grande amigo.

Desejo igualmente agradecer a todos os meus amigos de laboratório: Annaíres, Jacqueline, Welida, Clarissa, Joaldo, Renato, Paulo, Iran e Cristiano. Agradeço o bom convívio, as boas discussões e, a alegria que por vezes se instalava.

À Profa. Dra. Adriana Fontes (UFPE) e a Ma. Geyse Santos de Lima (UFPE), gostaria de expressar minha gratidão pelo acolhimento em seu grupo de pesquisa durante os estudos com *Candida albicans*. Minha passagem pelo laboratório em Recife foi enriquecedora, e aprendi bastante com essa experiência.

Aos queridos amigos Brenda, Pietra, Du, Rebeka, Mylenna e Flaviano, expresso minha gratidão por terem sido uma presença constante e significativa ao longo desta jornada. Suas amizades foram o pilar que sustentou não apenas a elaboração desta dissertação, mas também os desafios e as alegrias que surgiram em cada etapa do caminho. Agradeço por compartilharem seus corações generosos, oferecendo apoio, encorajamento e compreensão em momentos de dúvida e incerteza. Cada conversa, risada compartilhada e gesto de solidariedade foram tesouros inestimáveis que enriqueceram meu coração. Vocês são verdadeiros tesouros em minha vida, e por isso, meu coração transborda de gratidão por tê-los ao meu lado.

Também gostaria de agradecer à Emilly, Ivo, Giulia, Julieta, Arthur, Fernando, Raul, Emille, Giovanna e João Pedro, que me apoiaram e estiveram ao meu lado durante esta caminhada, que muitas vezes compartilhei momentos de tristezas, alegrias, angústias e ansiedade, mas que sempre se fizeram presentes, me ajudando. Com certeza a vida é mais leve com vocês ao meu lado.

Ao psicólogo Theo Salles, que me auxiliou nos momentos mais difíceis desta jornada de pesquisa e autoconhecimento, expresso minha gratidão. Suas habilidades profissionais, empatia e apoio foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Cada sessão foi uma oportunidade de crescimento pessoal, e sou profundamente grata por sua orientação e dedicação.

Aos professores Cláudio Gabriel, Maria Gardênia, Yassuko Iamamoto, Fábio Sampaio e Dayse Moreira pela disponibilidade e contribuições na avaliação das bancas de qualificação e defesa do mestrado.

À CAPES, CNPq, FINEP, INCT-Info, INCT-CiMol, FACEPE, UFPB e UFPE pelo auxílio financeiro e infraestrutura para a realização desta dissertação.

Por último, obrigada a todos os seres que cruzaram meu caminho ao longo desses anos.

EPÍGRAFE

**“Se você só fizer o que sabe,
nunca será mais do que agora.”**

Mestre Shifu

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
2.1	Porfirinas e metaloporfirinas: propriedades estruturais, espectroscopia eletrônica e aplicações	3
2.2	Porfirinas <i>meso</i> -substituídas: uma abordagem sintética	6
2.2.1	Síntese de metaloporfirinas de Zn(II) <i>meso</i> -substituídas	11
2.3	Inativação fotodinâmica de microrganismos (PDI, do inglês “ <i>photodynamic inactivation of microorganisms</i> ”)	13
2.3.1	Processos e reações essenciais na fotoinativação de microrganismos	16
2.3.2	Porfirinas como fotossensibilizadores	19
2.3.3	Zn(II)porfirinas como fotossensibilizadores	22
2.3.3.1	Zn(II) N-alkilpiridínioporfirinas em inativação fotodinâmica de fungos	27
2.4	Desenvolvimento de porfirinas e Zn(II) porfirina do tipo A ₃ B.....	29
3	OBJETIVOS.....	32
3.1	Objetivo geral	32
3.1.1	Objetivos específicos	32
4	METODOLOGIA.....	33
4.1	Reagentes e solventes	33
4.1.1	Tosilato de Metila (MeOTs).....	33
4.2	Análise e Equipamentos.....	34
4.2.1	Cromatografia em Camada Delgada em sílica gel (CCD-SiO ₂)	34
4.2.2	Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis	34
4.2.3	Espectroscopia de fluorescência.....	34
4.2.4	Análise Termogravimétrica	35
4.2.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H (RMN de ¹ H)	35

4.2.6	Espectrometria de massas (ESI-MS)	35
4.3	Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H ₂ VanTri-2-PyP)	36
4.4	Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio 2-il)porfirina (H ₂ MVanTriM-2-PyPCl ₃)	39
4.5	Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio 2-il)porfirinatozinco(II) (ZnMVanTriM-2-PyPCl ₃)	42
4.5.1	Reações exploratórias em microescala	42
4.5.1.1	Obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ pela Rota 1	42
4.5.1.2	Obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ pela Rota 2	43
4.5.2	Reação de obtenção da ZnMVanTriM-2-PyPCl ₃ em escala preparativa pela Rota 2	44
4.6	Determinação da absortividade molar (ϵ) da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	46
4.7	Determinação do coeficiente de partição em <i>n</i> -octanol/água.	46
4.8	Inativação fotodinâmica de leveduras de <i>Candida albicans</i> utilizando ZnTM-2-PyP ⁴⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	47
4.8.1	Análise estatística	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1	Síntese e caracterização da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H ₂ VanTri-2-PyP)	51
5.1.1	Caracterizações da porfirina neutra H ₂ VanTri-2-PyP	54
5.2	Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio 2-il)porfirina (H ₂ MVanTriM-2-PyPCl ₃)	55
5.2.1	Caracterizações da porfirina catiônica H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	61
5.3	Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio 2-il)porfirinatozinco(II) (ZnMVanTriM-2-PyPCl ₃)	61
5.3.1	Reações em microescala para a síntese da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ pela Rota 1 e pela Rota 2	61

5.3.2	Reação de obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP ₃ em escala preparativa pela Rota 2	62
5.3.3	Caracterizações da porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	64
5.3.4	Determinação da absortividade molar (ϵ) da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	69
5.4	Lipofilia da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ : avaliação cromatográfica por CCD-SiO ₂ e determinação do coeficiente de partição em <i>n</i> -octanol/água (log P _{ow})	72
5.5	Inativação fotodinâmica de leveduras de <i>Candida albicans</i> utilizando ZnTM-2-PyP ⁴⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	74
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
6.1	CONCLUSÕES	77
6.2	PERSPECTIVAS	78
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICE	97
	Espectros de RMN de ¹ H da H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (200 MHz; d ⁶ -DMSO) e da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ (500 MHz; d ⁶ -DMSO).	97

RESUMO

As porfirinas hidrossolúveis de Zn(II) derivadas das 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, conhecidas como ZnTalquil-2-PyP⁴⁺, têm sido extensivamente investigadas como agentes fotossensibilizadores na inativação fotodinâmica de microrganismos. As Zn(II)-porfirinas demonstram eficácia *in vivo* devido à combinação de propriedades fotofísicas e biodistribuição. O nosso grupo inaugurou recentemente uma nova classe de porfirinas catiônicas de Zn(II) *meso*-substituídas do tipo [ZnA₃B]³⁺, com A representando o grupo 2-*N*-metilpiridil e B representando o grupo *O*-alquilvanilina. No presente estudo, foi sintetizada a cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnMVanTriM-2-PyP₃Cl₃), por meio da alquilação simultânea dos piridilas e da vanilina da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂VanTri-2-PyP), resultando na formação da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina (H₂MVanTriM-2-PyP₃Cl₃), seguida pela posterior metalação com Zn(II). A ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi caracterizada por CCD-SiO₂, espectroscopias de absorção UV-vis, de fluorescência e de RMN de ¹H, e, finalmente, por espectrometria de massas de alta resolução (ESI-HRMS). Conforme esperado, a determinação do coeficiente de partição *n*-octanol-água (logP_{ow}) para a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ indicou que esta ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺ é mais lipofílica do que seu protótipo estrutural do tipo [ZnA₄]⁴⁺, *meso*-tetraquis(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II) (ZnTM-2-PyP⁴⁺). A ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e a ZnTM-2-PyP⁴⁺ foram avaliadas como fotossensibilizadores na inativação fotodinâmica de *Candida albicans*. A maior atividade da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi atribuída à sua maior lipofilia. Este estudo demonstrou pela primeira vez, como prova de conceito em um modelo biológico patogênico, que as Zn(II)-porfirinas do tipo [ZnA₃B]³⁺ desenhadas pelo nosso grupo são boas candidatas para desenvolvimento de uma nova classe de fotossensibilizadores e sugeriu que as Mn(III)-porfirinas análogas, de interesse como agentes terapêuticos redox-ativos, poderiam ser biologicamente acessíveis também.

Palavras-chave: Zn(II)-porfirinas, fotossensibilizadores, inativação fotodinâmica.

ABSTRACT

Water-soluble Zn(II) porphyrins derived from 2-*N*-alkylpyridylporphyrins (ZnTalkyl-2-PyP⁴⁺) have been extensively investigated as photosensitizers in the photodynamic inactivation of microorganisms. Zn(II) porphyrins show *in vivo* efficacy due to a combination of photophysical and biodistribution properties. Our group recently introduced a new class of [ZnA₃B]³⁺-type, cationic *meso*-substituted Zn(II) porphyrins, with A representing the 2-*N*-methylpyridyl group and B representing the *O*-alkylvanillin group. In this study, 5-(3,4-dimethoxyphenyl)-10,15,20-tris(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphyrinatezinc(II) chloride (ZnMVanTriM-2-PyPCl₃) was synthesized through simultaneous alkylation of the pyridyl and vanillin moieties of 5-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-10,15,20-tris(2-pyridyl)porphyrin (H₂VanTri-2-PyP), resulting in the formation of 5-(3,4-dimethoxyphenyl)-10,15,20-tris(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphyrin chloride (H₂MVanTriM-2-PyPCl₃), followed by subsequent metallation with Zn(II). ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ was characterized by CCD-SiO₂, UV-vis absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, ¹H NMR spectroscopy, and finally by high-resolution mass spectrometry (ESI-HRMS). As expected, determination of the *n*-octanol-water partition coefficient (log Pow) for ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ indicated that this [ZnA₃B]³⁺-type ZnP is more lipophilic than its structural [ZnA₄]⁴⁺-type prototype, *meso*-tetrakis(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphyrinatezinc(II) (ZnTM-2-PyP⁴⁺). ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ and ZnTM-2-PyP⁴⁺ were evaluated as photosensitizers in the photodynamic inactivation of *Candida albicans*. The greater activity of ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ was attributed to its higher lipophilicity. This study demonstrated for the first time, as proof of concept in a pathogenic biological model, that [ZnA₃B]³⁺-type Zn(II) porphyrins designed by our group are good candidates for the development of a new class of photosensitizers and suggested that the analogous Mn(III) porphyrins, of interest as redox-active therapeutic agents, may also be biologically accessible.

Keywords: Zinc(II)-porphyrins, photosensitizers, photodynamic inactivation.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMR	Resistência Antimicrobiana (do inglês " <i>Antimicrobial Resistance</i> ")
aPDT	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (do inglês " <i>Antimicrobial Photodynamic Therapy</i> ")
DDQ	2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformida
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FS	Fotossensibilizador
MDR	Resistente a Múltiplos Medicamentos (do inglês " <i>Multidrug Resistant</i> ")
PACT	Quimioterapia Antimicrobiana Fotodinâmica (do inglês " <i>Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy</i> ")
PAN-BR	Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato (do inglês " <i>Phosphate Buffered Saline</i> ")
PDDI	Desinfecção Fotodinâmica (do inglês " <i>Photodynamic Disinfection</i> ")
PDI	Inativação fotodinâmica (do inglês " <i>Photodynamic Inactivation</i> ")
PDT	Terapia Fotodinâmica (do inglês " <i>Photodynamic Therapy</i> ")
H ₂ DiPhDiM -3-PyP ²⁺	5,10-difenil-15,20-di(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirina
H ₂ DiPhDiM -4-PyP ²⁺	5,10-difenil-15,20-di(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirina
H ₂ MVanTri -2-PyP	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ MVanTri -2-PyP ³⁺	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirina
H ₂ P	Porfirina base-livre
H ₂ PFPhTriM -4-PyP ³⁺	5-(pentafluorofenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirina
H ₂ PhTri -2-PyP	5-fenil-10,15,20-tris(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
H ₂ PhTriM -2-PyP ³⁺	5-fenil-10,15,20-tris(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirina
H ₂ T-2-PyP	<i>meso</i> -tetraquis(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
H ₂ TBAP ⁴⁻	<i>meso</i> -tetraquis(4-benzoato)porfirina ou <i>meso</i> -tetraquis(4-carboxifenil)porfirina
H ₂ TM -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirina
H ₂ TM -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirina
H ₂ TM -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-4-il)porfirina
H ₂ TPP	<i>meso</i> -tetrafenilporfirina
H ₂ TPPS ⁴⁻	<i>meso</i> -tetraquis(4-sulfonatofenil)porfirina
H ₂ TTriMAPP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N,N,N</i> -trimetilanelilínio-4-il)porfirina
H ₂ VanTri-2-PyP	5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina
H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺	5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirina
<i>i</i> -PrOH	<i>iso</i> -propanol
M	metila
MeCN	Acetonitrila
MeOH	Metanol
MeOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de metila (ou tosilato de metila)
MVan	<i>O</i> -Metilvanilina ou o grupo 3,4-dimetoxifenil
SOD	Superóxido dismutase
UV-vis	Ultravioleta-Visível

Van	Vanilina (3-metoxi-4-hidroxibenzaldeído) ou o grupo 3-metoxi-4-hidroxifenil
Zn MVan Tri-2-PyP ³⁺	5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(<i>N</i> -piridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
ZnP _s	Zn-porfirinas ou Zn(II)-porfirinas
Zn TBAP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(4-benzoato)porfirinatozinco(II)
Zn TE -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TE -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TM -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TM -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnBu -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -butilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnBu -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -butilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnBu -4-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -butilpiridínio-4-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnHex -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnHex -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -hexilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnOct -2-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -octilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II)
Zn TnOct -3-PyP ⁴⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -octilpiridínio-3-il)porfirinatozinco(II)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação estrutural das porfirinas meso-substituídas do tipo [A ₄] e [A ₃ B].	2
Figura 2- Estrutura da ZnTM-2-PyP ⁴⁺ , um modelo estrutural para ZnP do tipo [ZnA ₃ B] ³⁺	3
Figura 3- Estrutura molecular de (a) porfirina e (b) metaloporfirina, sendo indicadas as posições meso e β-pirrólica do anel porfirínico.	4
Figura 4 - (a) A banda Soret (próxima a 420 nm) e as bandas Q menos intensas (I a IV), que ocorrem na região visível, para porfirinas não metaladas. (b) Espectro típico de uma metaloporfirina, exibindo a banda Soret e as bandas α e β.	5
Figura 5 - Versatilidade de aplicações dos complexos metálicos de porfirinas.....	6
Figura 6 - Estrutura da Protoporfirina IX.	7
Figura 7 - Avanços complementares na evolução histórica dos métodos de síntese de <i>meso</i> -arilporfirinas. Fonte: Adaptado de Koifman & Ageeva, 2022.	7
Figura 8 - Uma metodologia geral de Adler-Longo para a preparação de porfirinas.....	8
Figura 9 - Representação dos produtos obtidos por meio da condensação de pirrol com uma mistura equimolar dos aldeídos A e B.	9
Figura 10 - Esquema de síntese da porfirina H ₂ VanTri-2-PyP e subprodutos, considerando diferentes proporções dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina. .	10
Figura 11 - Representação esquemática da síntese de porfirinas pelo Método de Gonsalves.	10
Figura 12 - Esquema geral de obtenção das Zn(II)-porfirinas.	11
Figura 13 - Esquema da obtenção das 2- <i>N</i> -alquilpiridínioporfirina de Zn(II) (ZnTR-2-PyP ⁴⁺). R: grupos alquila.	12
Figura 14 - Representação ilustrativa que esquematiza os locais de infecção atualmente tratados pela PDI, incluindo os diferentes tipos característicos de microrganismos associados (Adaptado de Pucelik & Dąbrowski, 2022).	15
Figura 15 - Diagrama de Jabłoński ilustrando os processos fotofísicos que ocorrem durante a PDI. FS: fotossensibilizador no estado fundamental; ¹ FS*: fotossensibilizador no estado singlete excitado; ³ FS*: fotossensibilizador no estado tripleto; (Adaptado de Pucelik & Dabrowski, 2022)	16

Figura 16 – Algumas porfirinas notáveis, incluindo Photofrin, Foscan e Hematoporfirina.	19
Figura 17 - Porphirinas que se destacaram como fotossensibilizadores.	21
Figura 18 - Compostos com potencial fotossensibilizador, incluindo Zn(II) porfirinas e azul de metileno.	23
Figura 19 - Esquema da obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	30
Figura 20 - Comparativo entre a Zn(II) 2- <i>N</i> -alquilpiridínioporfirina do tipo [ZnA ₄] ⁴⁺ ZnTM-2-PyP ⁴⁺ e a Zn (II)-porfirinas tetracatiônica do tipo [ZnA ₃ B] ³⁺ ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	31
Figura 21 - Esquema geral de síntese da porfirina H ₂ VanTri-2-PyP a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e a vanilina.	36
Figura 22 - Esquema geral das etapas da síntese e purificação inicial da porfirina H ₂ VanTri-2-PyP.	37
Figura 23 - Esquema geral das etapas finais de purificação da porfirina H ₂ VanTri-2-PyP.	38
Figura 24 - Esquema geral de síntese da porfirina catiônica H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	40
Figura 25 - Esquema geral de síntese da porfirina catiônica H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	40
Figura 26 - Esquema geral das etapas de purificação da porfirina H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	41
Figura 27 - Obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ por duas rotas: 1) utilizando água como solvente e aquecimento a 80 °C; 2) empregando hidróxido de sódio aquoso como solvente em temperatura ambiente.	42
Figura 28 - Esquema geral de teste de obtenção em microescala da Zn(II)-porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ pela Rota 1.	43
Figura 29 - Esquema geral de teste de obtenção em microescala da Zn(II)-porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ pela rota 2.	43
Figura 30 - Esquema geral de síntese da Zn(II)-porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	44
Figura 31 - Esquema geral das etapas de purificação da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	45
Figura 32 - Fonte de luz LED azul (410 ± 20 nm, LEDbox, Biolambda) empregada para a realização da inativação fotodinâmica.	48
Figura 33 - Esquema representativo da diluição seriada.	49

Figura 34 - Representação esquemática da contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL) para os diferentes fatores de diluição (10, 20, 40 e 80) utilizados na diluição seriada dos grupos experimentais.....	50
Figura 35 - Ilustração dos possíveis produtos obtidos a partir da condensação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e vanilina, com destaque para a porfirina A ₃ B de interesse, representada pela fórmula H ₂ VanTri-2-PyP.....	51
Figura 36 - Placa de CCD-SiO ₂ (eluente: CHCl ₃ :MeCN 1:1 v/v) obtida após as etapas de purificação prévias através de extração sólido-líquido e precipitação seletiva de impurezas. Marcações com * indicam as manchas fluorescentes quando observadas sob luz UV de comprimento de onda longo (~365 nm).....	53
Figura 37 - Placa de CCD-SiO ₂ (CHCl ₃ :MeCN 1:1 v/v) das frações combinadas ricas em porfirinas, obtidas após a coluna de SiO ₂ eluída com CHCl ₃ :MeOH (10:1 v/v). Observar que praticamente não há material no ponto de aplicação (R _f ~0) correspondendo a polipirróis. Marcações com * indicam as manchas fluorescentes quando observadas sob luz UV de comprimento de onda longo (~365 nm).....	54
Figura 38 - Espectro de absorção UV-vis normalizado da H ₂ VanTri-2-PyP e H ₂ T-2-PyP, registrados em acetona. No destaque, a região das bandas Q.....	55
Figura 39 - Porphirinas do tipo [A ₃ B] ³⁺ que diferem apenas no grupo vanilina/O-metilvanilina: H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (à esquerda) e H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (à direita)...	56
Figura 40 - Desprotonação da hidroxila fenólica da vanilina da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ .	57
Figura 41 - Substituição de um grupo 2- <i>N</i> -piridila por <i>O</i> -metilvanilina reduz a carga total de +4 para +3, aumentando a lipofilia da porfirina H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ em comparação com H ₂ TM-2-PyP ⁴⁺	57
Figura 42 - Espectros UV-vis normalizados da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ e H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ registrados em H ₂ O. A expansão compreende à região das bandas Q.	58
Figura 43 – Espectros UV-vis normalizados em tampão borato pH 9,3 da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (pontilhado vermelho) e H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (linha azul).....	59
Figura 44 - Ilustração esquemática da mistura de atropoisômeros de H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ . Os grupos 2- <i>N</i> -metilpiridínio, indicados como "Me", estão restritos em sua rotação, adotando posições acima (α) ou abaixo (β) do plano do anel porfirínico. Por outro lado, o grupo <i>O</i> -metilvanilina, sem substituinte orto, é representado por um traço devido à sua rotação livre. Fonte: Adaptado de Sarmiento-Neto, 2021.	60

Figura 45 - Espectros de absorção UV-vis normalizados da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ e da $H_2TM-2-PyP^{4+}$, em solução aquosa, com destaque para a região das bandas Q.	61
Figura 46 - Representação dos espectros UV-vis normalizados da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ via rota 1 (linha verde) e via rota 2 (linha pontilhada vermelha), em solução aquosa. A ampliação enfatiza a região das bandas de menor energia.	62
Figura 47 - Placa de CCD-SiO ₂ KNO ₃ (sat.)/H ₂ O/MeCN (1:1:8 v/v/v), onde H ₂ P refere-se à $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (R _f = 0,25), enquanto ZnP representa a $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ (R _f = 0,30).	63
Figura 48 - Representação dos espectros UV-vis normalizados da porfirina não metalada $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (linha azul) e da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ (linha vermelha) em solução aquosa. A ampliação enfatiza a região das bandas de menor energia.	64
Figura 49 - Espectros UV-vis normalizados da $ZnTM-2-PyP^{4+}$ (linha vermelha) e da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ (linha preta) registrados em H ₂ O. A expansão corresponde à região das bandas de menor energia.	65
Figura 50 - Espectros de RMN de ¹ H da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (200 MHz; <i>d</i> ⁶ -DMSO) e da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ (500 MHz; <i>d</i> ⁶ -DMSO). β* = β-pirrólicos; 2-Py³⁺/Me = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio; b/b' = posições 6 do 2-Py ³⁺ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.	66
Figura 51 - Espectro de ESI-MS da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ em H ₂ O-MeCN (1:1, v/v; contendo 0,1%, v/v de ácido heptafluorobutírico) (superior) e simulação da distribuição isotópica dos <i>clusters</i> de picos em torno de <i>m/z</i> 261,39 (meio, espécie $[ZnP^{3+} - 3H]^{3+}/3$) e 498,51 (inferior, espécie $[ZnP^{3+} - 2H + HFBA^-]^{2+}/2$), com sobreposição dos dados experimentais, em azul, e das simulações isotópicas, em vermelho. As simulações isotópicas foram realizadas no programa Molecular Weight Calculator.	68
Figura 52 - Espectros normalizados de fluorescência da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ em água. (A) Espectros de emissão da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ ($\lambda_{excitação} = 428$ nm) e da $ZnTM-2-PyP^{4+}$ ($\lambda_{excitação} = 425$ nm); (B) espectros de excitação da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ ($\lambda_{emissão} = 660$ nm) e da $ZnTM-2-PyP^{4+}$ ($\lambda_{emissão} = 655$ nm).	69
Figura 53 - Curvas TG, DTG e DTA para $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+} \cdot 7H_2O$ sob atmosfera dinâmica de N ₂ a uma razão de aquecimento de 10 °C/min.	70
Figura 54 - Gráfico típico de Abs vs [ZnP] de uma amostra anidra para a determinação da absorvidade molar.	71

Figura 55 - *Box plots* representando a resposta das leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) após incubação com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ([ZnP-A₃B]³⁺) e ZnTM-2-PyP⁴⁺ ([ZnP-A₄]⁴⁺), por 13 min no escuro (controle de toxicidade no escuro). Dados correspondem a dois experimentos em triplicata. 74

Figura 56 - *Box plots* representando a resposta das leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) após inativação fotodinâmica com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ([ZnP-A₃B]³⁺) e ZnTM-2-PyP⁴⁺ ([ZnP-A₄]⁴⁺) ambas a 1,5 µmol L⁻¹, 2,5 µmol L⁻¹ e 5 µmol L⁻¹ com PIT de 10 min e dose de luz de 4,3 J/cm². O gráfico também ilustra a proliferação das leveduras sem exposição à irradiação e sem tratamento com ZnP (Controle). Dados relativos a três experimentos em triplicata, *p < 0,05 em relação ao controle. 75

Figura 57 - Gráfico de barras representando a resposta das leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) após inativação fotodinâmica com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ([ZnP-A₃B]³⁺) e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ ([ZnP-Hexil]⁴⁺) com PIT de 10 min e dose de luz de 4,3 J/cm². O dado reportado para ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foi extraído de Souza *et al.* (2022). O gráfico também ilustra a proliferação das leveduras sem exposição à irradiação e sem tratamento com ZnP (Controle). *p < 0,05 em relação ao controle. 76

Figura A.1 - Espectro de RMN de ¹H 200 MHz da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ registrado em d⁶-DMSO. As regiões expandidas compreendem a β* = β-pirrólicos; 2-Py³⁺/Me = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio; b/b' = posições 6 do 2-Py³⁺ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina. 97

Figura A.2 - Espectros de RMN de ¹H 500 MHz da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ registrado em d⁶-DMSO. As regiões expandidas compreendem a β* = β-pirrólicos; 2-Py³⁺/Me = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio; b/b' = posições 6 do 2-Py³⁺ das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina. 97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes e solventes utilizados.....	33
Tabela 2 - Dados comparativos dos fatores de retenção (R_f) em CCD-SiO ₂ (CHCl ₃ :MeCN, 1:1, v/v) das porfirinas neutras relevantes nesse trabalho.	54
Tabela 3 – Porfirinas neutras e máximos de absorção UV-vis (λ_{max}) obtidos em acetona.	55
Tabela 4 - Dados comparativos de CCD-SiO ₂ das porfirinas catiônicas [A ₃ B] ³⁺ e [A ₄] ⁴⁺ relevantes neste trabalho.....	58
Tabela 5 -Porfirinas catiônicas e máximos de absorção UV-vis (λ_{max}) obtidos em água e em tampão borato pH 9,3 (solução de B ₄ O ₇ ⁻ 0,1 mol L ⁻¹)	59
Tabela 6 - Dados de espectroscopia de absorção UV-vis e fatores de retenção cromatográfico (R_f) em CCD-SiO ₂ para a H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ e a ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺	64
Tabela 7 - Dados dos espectros de RMN de ¹ H com os respectivos deslocamentos químicos δ (ppm) das porfirinas H ₂ MVanTriM-2-PyP ³ e ZnMVanTri-2-PyP ³⁺	65
Tabela 8 - Atribuições do espectro de ESI-MS da ZnMVanTriM-2-PyP ³⁺ em H ₂ O-MeCN (1:1, v/v; contendo 0,1%, v/v de HFBA).....	67
Tabela 9 - Dados comparativos de logP _{ow} e dos fatores de retenção cromatográficos (R_f) em KNO ₃ (sat)/H ₂ O/MeCN 1:1:8 (v/v/v) da ZnP _s relevantes para este trabalho.	72

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de agentes antimicrobianos foi um marco na melhoria da qualidade de vida humana, permitindo o tratamento eficaz de uma ampla variedade de doenças infecciosas. No entanto, a resistência antimicrobiana é uma ameaça crescente que deve ser abordada. Questões como o uso inadequado de antimicrobianos, rápida mutação e as mudanças climáticas contribuíram para o surgimento de populações microbianas resistentes, que antes eram sensíveis a essas terapias (MAGNANO SAN LIO *et al.*, 2023; MICHAEL; DOMINEY-HOWES; LABBATE, 2014; SALAM *et al.*, 2023).

Em 2019, cerca de 5 milhões de óbitos foram relacionados à resistência antimicrobiana (BERNATCHEZ, 2023). Em resposta a essa ameaça, a Organização Mundial da Saúde (OMS) elaborou uma lista de patógenos considerados prioritários em escala global. Dentre esses, merecem destaque os patógenos fúngicos emergentes que ganharam relevância durante a pandemia de COVID-19. A OMS identificou 19 espécies de fungos com diferentes níveis de resistência aos antimicrobianos, incluindo resistência crítica, alta e média (PARUMS, 2022). Dentre esses fungos, destaca-se a *Candida albicans*, classificada como um patógeno fúngico de prioridade crítica (PARUMS, 2022).

Além disso, o uso indiscriminado de antiparasitários, antivirais, antibacterianos e anti-inflamatórios para prevenir infecções secundárias em pacientes, durante a pandemia de COVID-19, amplia o risco de desenvolvimento de resistência desses medicamentos (AFSHINNEKOO *et al.*, 2021).

No Brasil, o Plano de Ação Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos (PAN-BR), lançado em 2019, enfatiza a relevância da pesquisa científica para a expansão do entendimento sobre a resistência antimicrobiana e a busca por soluções viáveis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Neste cenário desafiador, é importante conceber novas estratégias capazes de contornar os mecanismos de resistência, com o propósito de aprimorar a qualidade de vida e mitigar a letalidade causada pelos microrganismos.

A inativação fotodinâmica de microrganismos (PDI, do inglês “*photodynamic inactivation of microorganisms*”) é uma abordagem promissora, capaz de desativar um grande número de microrganismos patogênicos, prevenindo ou limitando o crescimento subsequente daqueles que possam sobreviver ao tratamento. Além disso, a PDI é uma abordagem altamente seletiva, que direciona sua ação principalmente aos patógenos, a

fim de minimizar qualquer dano aos tecidos na área afetada pela infecção (THOMAS *et al.*, 2015).

As porfirinas catiônicas de Zn(II) (ZnPs) derivadas das meso-2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, emergem como promissores fotossensibilizadores para aplicações em terapia fotodinâmica (PDT, do inglês “photodynamic therapy”) e PDI. Possuem características notáveis, tais como baixa toxicidade, alta eficiência na geração de espécies reativas de oxigênio, induzindo citotoxicidade nas células-alvo. Sua estrutura versátil permite realizar modificações estruturais, a fim de moldar o caráter hidrofílico ou lipofílico do sistema e variar o número de cargas. Além disso, tem o potencial de exibir características aprimoradas, tornando-se agentes fotossensibilizadores ainda mais eficazes do que seus análogos de base-livre (SOUZA *et al.*, 2021b). Ademais, vale destacar que outra vantagem significativa de utilizar porfirinas de Zn(II) é a abundância desse elemento no corpo humano (TAPIERO; TEW, 2003).

No entanto, a maioria das pesquisas recentes tem se concentrado em sistemas do tipo Zn[A₄], nas quais quatro substituintes idênticos estão presentes no anel porfirínico (**Fig. 1**) (LEDWABA *et al.*, 2022; SEEGER *et al.*, 2023; SHATILA *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2021a; WARSZYŃSKA; REPETOWSKI; DĄBROWSKI, 2023). Sistemas do tipo Zn[A₃B], nos quais um substituinte é diferente dos outros três (**Fig. 1**), foram pouco explorados (ALVARADO *et al.*, 2019; BOSCENCU *et al.*, 2019; SENGUPTA *et al.*, 2022) devido, em parte, às complexidades associadas à síntese e purificação desses sistemas.

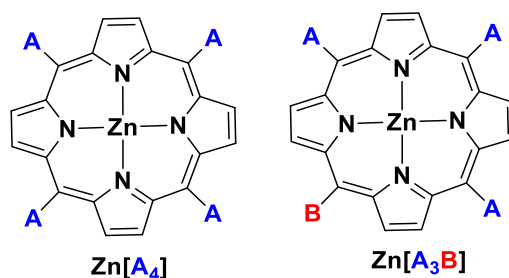


Figura 1- Representação estrutural das porfirinas meso-substituídas do tipo [A₄] e [A₃B].

Sarmiento-Neto (2021) relatou a síntese de uma ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺ (A = 2-*N*-metilpiridínio; B = *O*-metilvanilina) como potencial fotossensibilizador para PDI (SARMENTO-NETO, 2021). Um protótipo dessa classe, a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (**Fig. 2**), foi concebido como uma variação da estrutura ZnTM-2-PyP⁴⁺ (**Fig. 2**), representante da classe [ZnA₄]⁴⁺. Essa escolha de desenho estrutural se baseou nas propriedades fotoquímicas conhecidas das [ZnA₄]⁴⁺ meso-tetraquis(*N*-metilpiridínio-2-

il)porfirinatozínco(II) e resultou em um aumento da lipofilia proveniente da substituição de um grupo 2-*N*-metilpiridínio por um grupo metilvanilina de carga neutra (SARMENTO-NETO, 2021).

Neste contexto, esta pesquisa tem como objetivo comparar, *in vitro*, os efeitos da ZnTM-2-PyP⁴⁺ e da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ como fotossensibilizadores, utilizando o modelo biológico da *Candida albicans* como prova de conceito. A escolha desse modelo se baseia na sua relevância como um sistema simples e representativo para o estudo da PDI, contribuindo assim para o avanço da aplicação desses fotossensibilizadores.

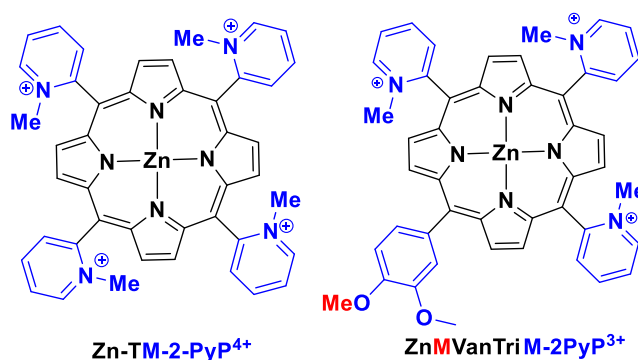


Figura 2- Estrutura da ZnTM-2-PyP⁴⁺, um modelo estrutural para ZnP do tipo [ZnA₃B]³⁺.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Porfirinas e metaloporfirinas: propriedades estruturais, espectroscopia eletrônica e aplicações

As porfirinas são moléculas macrocíclicas planas contendo quatro pirróis conectados em forma de anel por meio de quatro carbonos sp² em suas posições α . Este sistema é composto por 22 elétrons π , onde 18 elétrons π estão em ressonância, conferindo-lhe a propriedade de aromaticidade, de acordo com a regra de Hückel ($4n + 2$) (Fig. 3a). Além disso, o anel de porfirina oferece um sítio vacante em seu centro, que é adequado para a incorporação de um metal, resultando na formação de uma metaloporfirina (Fig. 3b) (JIANG *et al.*, 2019).

Devido ao processo de síntese complexo envolvido na produção da maioria das porfirinas naturais, os compostos mais úteis para aplicações em larga escala são aqueles com substituintes nas posições *meso* (Fig.3) e, na maioria dos casos, com as posições β livres (Fig.3) (PEREIRA; MONTEIRO; PEIXOTO, 2008).

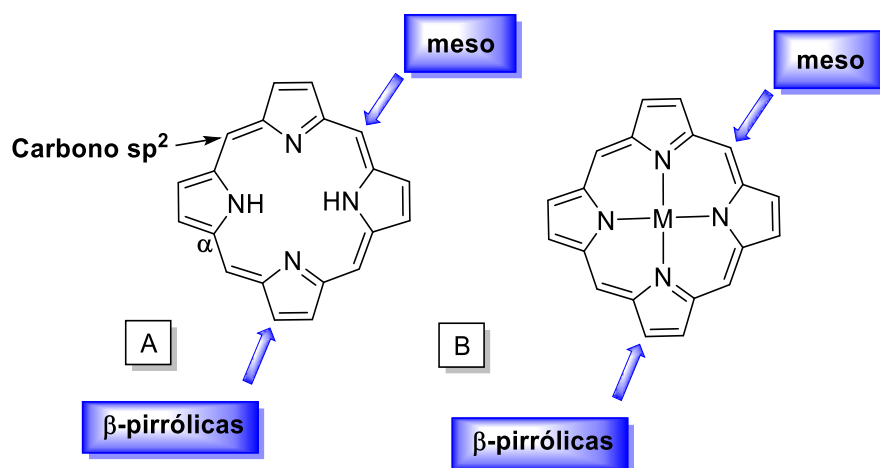


Figura 3- Estrutura molecular de (a) porfirina e (b) metaloporfirina, sendo indicadas as posições meso e β-pirrólica do anel porfirínico.

As porfirinas são reconhecidas por suas propriedades eletrônicas singulares, que desempenham um papel fundamental em suas diversas aplicações. As posições das bandas de absorção dessas moléculas podem ser utilizadas para diferenciar propriedades específicas, como o estado de spin, a natureza dos ligantes axiais e a natureza de certos substituintes no anel de porfirina (OWENS; O'CONNOR, 1988).

A notável intensidade de cor roxa desses compostos, assim como suas características eletrônicas e propriedades redox características, têm origem no sistema π altamente conjugado. Esta conjugação eletrônica é responsável pelas transições eletrônicas de natureza $\pi \rightarrow \pi^*$ (COOK; BREWER; WONG-NG, 2017; OWENS; O'CONNOR, 1988).

Um anel de uma porfirina base-livre possui geralmente cinco bandas na região visível. A banda de maior intensidade é comumente referida como banda Soret ($\epsilon \approx 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), localizada em torno de 420 nm. Além da banda Soret, observam-se quatro outras bandas na região visível, denominadas bandas Q, cujas intensidades são menores ($\epsilon \approx 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (**Fig. 4a**). Essas bandas Q são numeradas em algarismos romanos, seguindo uma ordem crescente de energia, normalmente ocorrendo na faixa de comprimentos de onda entre 500 e 700 nm (JIANG *et al.*, 2019).

A presença das quatro bandas na região visível é uma consequência da simetria local D_{2h} das porfirinas bases-livres (DAVID DOLPHIN, 1978). No entanto, quando um metal é introduzido no anel da porfirina, ocorre a substituição de dois hidrogênios internos pirrólicos, alterando a simetria local do anel porfirínico de D_{2h} (bases-livres) para D_{4h} (metaloporfirinas) e, como resultado, ocorre o deslocamento para o vermelho da banda Soret, reduzindo o número de bandas de menor intensidade de quatro para duas,

denominadas α e β (**Fig. 4b**) (DAVID DOLPHIN, 1978). As posições dessas duas bandas dependem da basicidade do ligante e do estado de oxidação do metal (DAVID DOLPHIN, 1978; P: HEMMERICH, 1970).

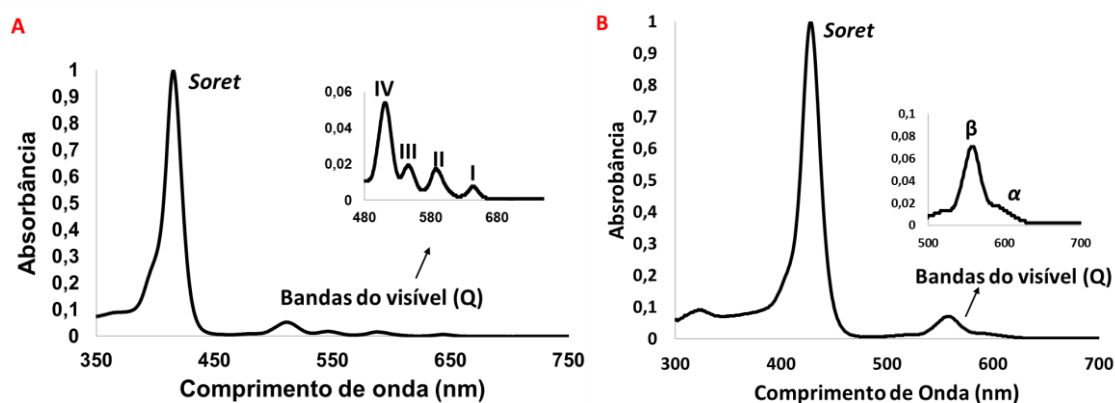


Figura 4 - (a) A banda Soret (próxima a 420 nm) e as bandas Q menos intensas (I a IV), que ocorrem na região visível, para porfirinas não metaladas. (b) Espectro típico de uma metaloporfirina, exibindo a banda Soret e as bandas α e β .

As porfirinas e metaloporfirinas são compostos versáteis com potencial para uma variedade de aplicações, destacando-se por seus coeficientes de absorção molar elevados e pela rápida transferência de energia e/ou elétrons, características que as distinguem de outros compostos eletro e fotoativos. (PODDUTOORI, 2023; TEBO; HERRERO; AUKAULOO, 2014).

As porfirinas e seus complexos metálicos são cromóforos fluorescentes, os quais exibem propriedades de emissão aprimoradas. Esses cromóforos podem ser utilizados para detectar uma ampla gama de substâncias, abrangendo ânions, pares de íons, compostos orgânicos voláteis, compostos nitroaromáticos, gases, espécies reativas de oxigênio e moléculas quirais (FARINHA; TOMÉ; CAVALEIRO, 2010; JUROW *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2012).

As porfirinas base-livres e metaloporfirinas se destacam também na Química Medicinal, com foco considerável na pesquisa direcionado ao desenvolvimento de novas macromoléculas para a PDT (JANAS *et al.*, 2021; LOURENÇO *et al.*, 2023; TIAN *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2023, 2019), bem como para aplicações de diagnóstico por imagem e agentes de contraste em ressonância magnética (GERALDES; CASTRO; PETERS, 2021; WAN *et al.*, 2023). Além disso, as porfirinas são candidatas promissoras como sondas fluorescentes no contexto do tratamento teranóstico de tumores (SILVEIRA-ALVES JR *et al.*, 2023; ZHOU; LIANG; DAI, 2016).

Os sistemas porfirínicos não estão limitados apenas ao campo médico; suas propriedades catalíticas também foram exploradas em uma variedade de transformações orgânicas (NAKAGAKI *et al.*, 2013). Nesse contexto, destaca-se a investigação do potencial das metaloporfirinas como catalisadores ácidos de Lewis na acetalização de aldeídos, especialmente na formação de grupos protetores (FERREIRA; CARVALHO; NAKAGAKI, 2019). Além disso, os complexos de metaloporfirinas representam atualmente uma das classes mais ativas de catalisadores para a reação de cicloadição de CO₂ com epóxidos (CABRAL *et al.*, 2021).

As porfirinas também podem ser imobilizadas em superfícies ou incorporadas em diversos materiais, tornando-as mais acessíveis para uso e reutilização (PINTO *et al.*, 2016; UCOSKI *et al.*, 2017). Além disso, as porfirinas fotoativas têm a capacidade de catalisar reações químicas induzidas pela luz, as quais são mais ecologicamente sustentáveis quando comparadas às reações tradicionais (CHEN *et al.*, 2022; LADOMENOU *et al.*, 2015; YU *et al.*, 2023; ZHANG *et al.*, 2022). A Figura 5 fornece evidências do amplo espectro de aplicações das metaloporfirinas.

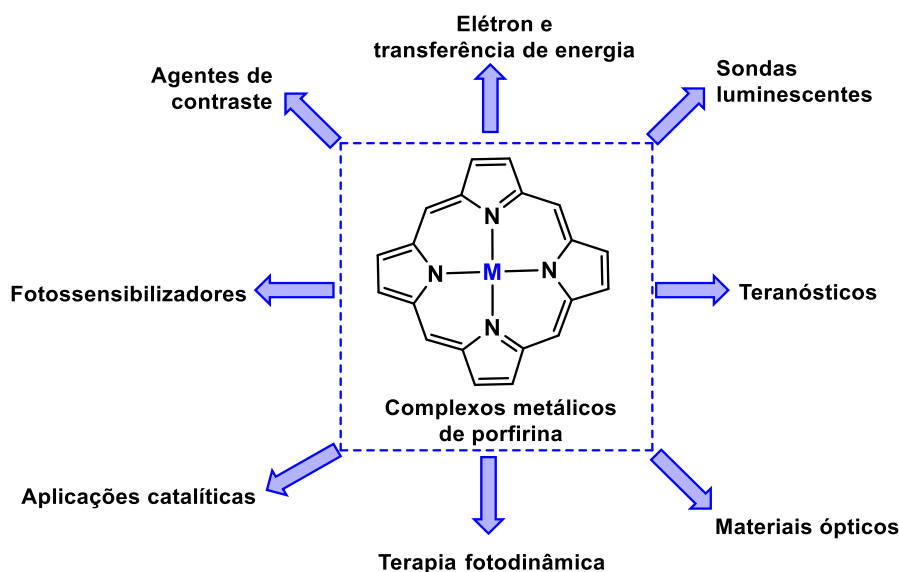


Figura 5 - Versatilidade de aplicações dos complexos metálicos de porfirinas.

2.2 Porfirinas *meso*-substituídas: uma abordagem sintética

As porfirinas β -substituídas exibem notável semelhança com as porfirinas encontradas na natureza, como a Protoporfirina IX (**Fig. 6**), enquanto as porfirinas *meso*-substituídas não possuem ocorrência natural (KARL KADISH; KEVIN M. SMITH; ROGER GUILARD, 1999).

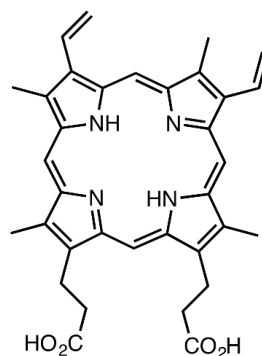


Figura 6 - Estrutura da Protoporfirina IX.

Estas duas categorias, *meso* e β -substituídas, apresentam abordagens sintéticas distintas. No processo de síntese, as porfirinas *meso*-substituídas podem ser produzidas em uma ou duas etapas, por meio da condensação de pirróis com aldeídos. Em contrapartida, as porfirinas β -substituídas exigem um processo de síntese mais elaborado, devido à sua complexidade estrutural (SINGH; CHANDRA, 2023). No contexto das porfirinas sintéticas, as *meso*-substituídas têm sido mais amplamente exploradas, não apenas devido às suas sínteses mais diretas, mas também devido à sua versatilidade, pois podem ser facilmente convertidas em uma variedade de derivados (TANAKA; OSUKA, 2017).

A síntese de *meso*-arilporfirinas é um processo que vem sendo desenvolvido há quase um século. Nesse período, foram alcançados importantes avanços, que culminaram no surgimento de abordagens estratégicas para a formação de um macrociclo tetrapirrólico (**Fig. 7**).

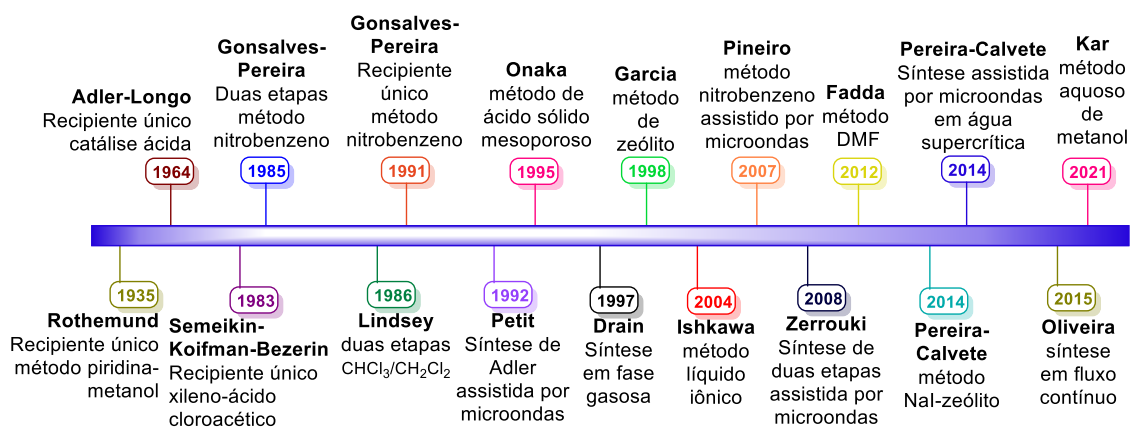


Figura 7 - Avanços complementares na evolução histórica dos métodos de síntese de *meso*-arilporfirinas. Fonte: Adaptado de Koifman & Ageeva, 2022.

Atualmente, a maioria das porfirinas *meso*-substituídas são sintetizadas de acordo com uma das duas metodologias: i) síntese *via* reação de condensação entre pirrol e aldeído, seguida pela ciclização para a formação do porfirinogênio e, por fim, a oxidação subsequente para gerar a porfirina desejada, ocorrendo em uma única etapa reacional; e ii) síntese *via* reação de condensação e ciclização do pirrol com o aldeído em uma única etapa e, em seguida, a oxidação do porfirinogênio resultante para obter a porfirina desejada, utilizando diferentes agentes oxidantes, em uma segunda etapa.

Dentre os métodos de síntese de *meso*-arilporfirinas, destaca-se o Método de Rothemund. Este método, pioneiramente desenvolvido por Rothemund em 1935, envolve uma reação de condensação entre aldeído e pirrol realizada em piridina, resultando na formação de tetraarilporfirinas (ROTHEMUND, 1935, 1939). Posteriormente, o método de Rothemund foi aprimorado por Adler e Longo, Lindsey e outros pesquisadores, tornando-se a base para muitos outros métodos empregados na síntese de macrociclos heterocíclicos de porfirinas.

Adler, Longo e colaboradores revisitaram a metodologia de síntese das porfirinas *meso*-substituídas proposta por Rothemund, culminando no desenvolvimento de uma abordagem alternativa (ADLER *et al.*, 1967, 1968; ADLER; LONGO; SHERGALIS, 1964). Essa abordagem consistia em reagir pirrol e benzaldeído em ácido propiônico ou acético, em refluxo por 30 minutos, em meio aeróbio. Assim, a partir dessas condições, uma variedade de benzaldeídos substituídos foi convertida na 5,10,15,20-tetrafenilporfirinas (Fig. 8).

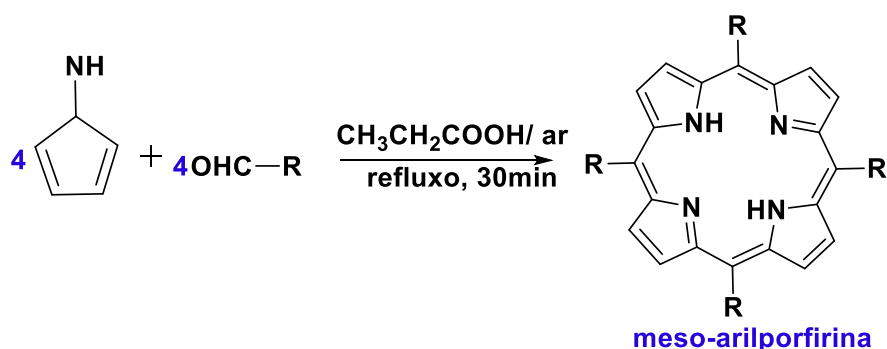


Figura 8 - Uma metodologia geral de Adler-Longo para a preparação de porfirinas.

Além disso, as reações também puderam ser ampliadas para obtenção de quantidades de porfirinas em gramas, e em alguns casos, rendimentos de até 20% foram alcançados, apesar da contaminação com cerca de 10% da clorina correspondente. Este método, devido à sua capacidade de produzir porfirinas em quantidades significativas,

ainda é amplamente empregado quando grandes quantidades de porfirina são necessárias e quando os aldeídos são capazes de resistir às condições ácidas (ADLER *et al.*, 1967, 1968; ADLER; LONGO; SHERGALIS, 1964).

O método Adler-Longo é frequentemente utilizado para a síntese de *meso*-tetraarilporfirinas assimétricas, que são preparadas por meio da reação de dois aldeídos aromáticos diferentes. O desafio consiste na separação da mistura de produtos, a qual pode conter até seis compostos distintos, nomeadamente A_4 , A_3B , *cis*- A_2B_2 , *trans*- A_2B_2 , AB_3 e B_4 (**Fig. 9**).

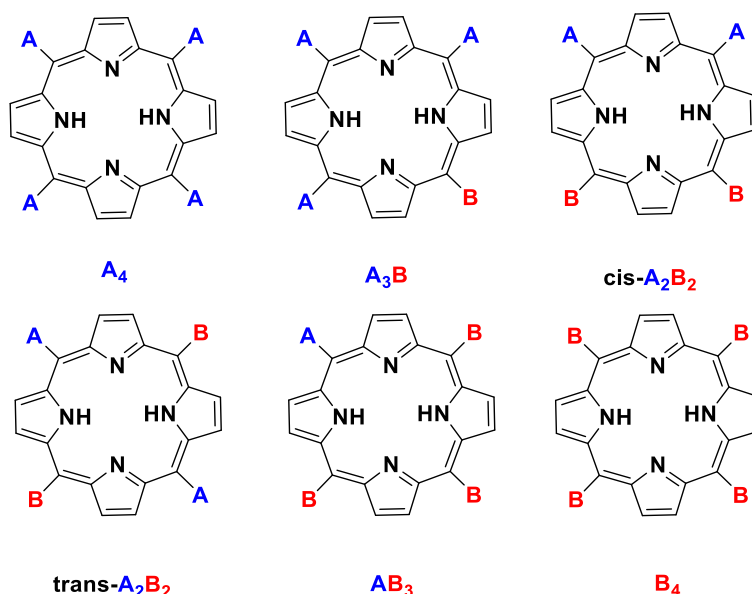


Figura 9 - Representação dos produtos obtidos por meio da condensação de pirrol com uma mistura equimolar dos aldeídos A e B.

No entanto, a manipulação da estequiometria dos reagentes, apresenta-se como uma estratégia viável para aumentar os rendimentos do produto desejado. Nesse contexto, destaca-se a recente síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H_2 VanTri-2-PyP) relatada por Sarmento-Neto (2021) (**Fig. 10**) (SARMENTO-NETO, 2021). Essa síntese surgiu como resultado de uma adaptação do método Adler-Longo, envolvendo a condensação do pirrol com os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina, conduzida em ácido acético. Sarmento-Neto (2021) empregou proporções relativas dos aldeídos de 3:1, mantendo-se constante a proporção entre aldeídos:pirrol em 1:1. A mistura resultante de produtos incluiu três porfirinas bases-livres, sendo uma delas a H_2 VanTri-2-PyP.

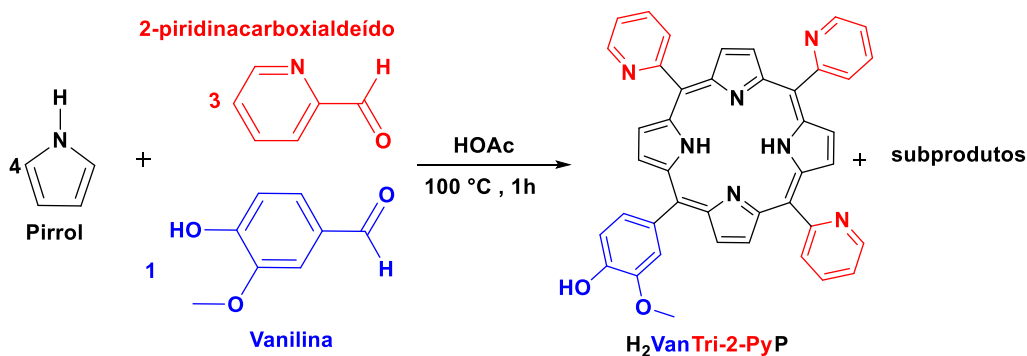


Figura 10 - Esquema de síntese da porfirina $H_2VanTri-2-PyP$ e subprodutos, considerando diferentes proporções dos aldeídos 2-piridinacarboxialdeído e vanilina.

O método Adler-Longo foi modificado por Gonsalves e colaboradores (1991). As alterações envolveram a reação de pirrol com aldeídos a 120 °C por 1 hora, utilizando uma mistura de ácido acético e nitrobenzeno na proporção de 7:3 (v/v) (**Fig. 11**).

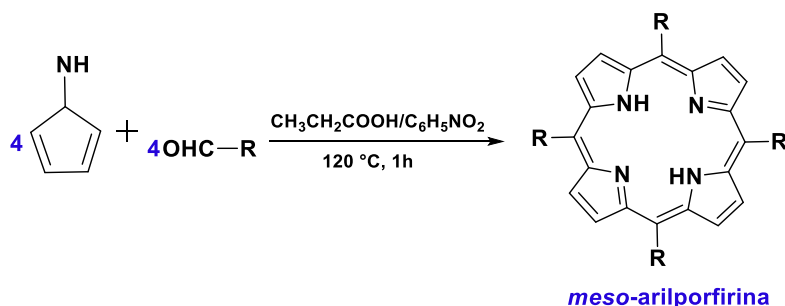


Figura 11 - Representação esquemática da síntese de porfirinas pelo Método de Gonsalves.

Uma característica vantajosa desse método é a capacidade de isolamento direto da porfirina cristalizada no meio reacional, após a adição de metanol, particularmente quando aplicado a porfirinas que não continham grupos polares ou suscetíveis à protonação em meio ácido. Isso resultou em rendimentos substancialmente superiores para a *meso*-tetra(*p*-nitrofenil)porfirina e a *meso*-(*p*-metoxifenil)porfirina, em comparação com os rendimentos previamente relatados pelo método original de Adler-Longo.

Adicionalmente, o método Gonsalves representou um avanço ao demonstrar que os porfirinogênios podem ser oxidados de maneira altamente eficiente pelo nitrobenzeno para formar porfirinas quando submetidos à ação do nitrobenzeno em meio ácido acético ou propiônico. Isso teve como resultado a possibilidade de evitar a utilização de quinonas de alto custo. Além disso, a combinação de nitrobenzeno e ácido acético permitiu a síntese de muitas porfirinas em uma única etapa reacional, eliminando a necessidade da

abordagem de ciclização-oxidação em duas etapas (GONSALVES; VAREJÃO; PEREIRA, 1991).

A partir da década de 1980, Lindsey e colaboradores buscaram desenvolver um método alternativo de síntese de tetraarilporfirinas, complementar ao método de Adler, Longo e colaboradores (LINDSEY *et al.*, 1987, 1994; LINDSEY; HSU; SCHREIMAN, 1986). Embora o método Lindsey tenha contribuído significativamente para o avanço na síntese de porfirinas *meso*-substituídas, uma desvantagem está associada ao uso de aldeídos que contêm grupos básicos, como 2-, 3- ou 4-piridinacarboxaldeído, os quais podem desativar o catalisador ácido (LINDSEY, 1994). Consequentemente, a síntese de *N*-piridilporfirinas pelo método de Lindsey não é viável. No entanto, é possível obter a H₂TPP por esse método, alcançando rendimentos de 40-50%.

2.2.1 Síntese de metaloporfirinas de Zn(II) *meso*-substituídas

A etapa de metalação na síntese de Zn(II)-porfirinas é realizada através da reação entre a porfirina base livre (H₂P) e um excesso de sal (ZnX₂). Este processo não apenas resulta na formação da Zn^{II}P, mas também gera o ácido correspondente (HX) (**Fig. 12**) (LAVALLEE, 1985). A reação oposta, denominada desmetalção, é favorecida pela presença de ácido forte (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1995).

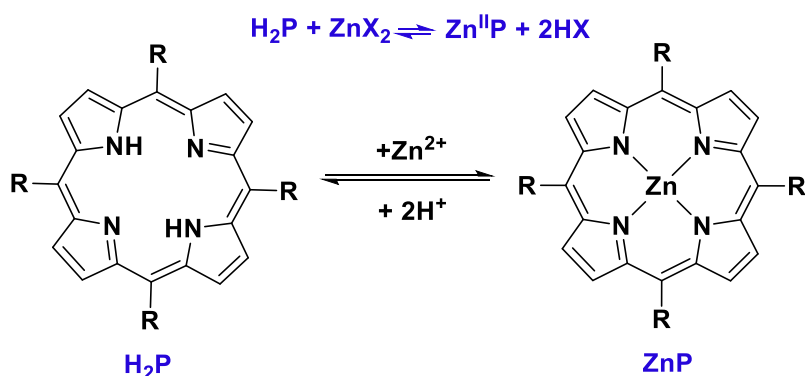


Figura 12 - Esquema geral de obtenção das Zn(II)-porfirinas.

Dentre os métodos empregados para a obtenção de ZnP_s, destaca-se o conhecido "método de clorofórmio/metanol", no qual uma solução concentrada do sal de Zn²⁺ em metanol é introduzida em uma solução também concentrada de H₂P em clorofórmio, mediante refluxo. Destaca-se a recomendação de adição de uma pequena quantidade de

acetato de sódio para tamponar o meio, especialmente relevante para sistemas sensíveis a ácidos, como o zinco (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1995).

Adler *et al.*, (1970) também demonstraram o método da *N,N*-dimetilformida (DMF), no qual a metalação é realizada por meio do refluxo de sal de cloreto de Zn(II) em DMF. Entretanto, uma grande desvantagem deste solvente é sua decomposição em dimetilamina, resultando em reações secundárias complexas, especialmente quando são exigidos tempos de reação prolongados (KADISH *et al.*, 1990).

A metodologia de obtenção das *N*-alquilpiridinioporfirinas de Zn(II) ocorre em duas etapas (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1998; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999, 2002). A primeira etapa é caracterizada pela alquilação da *meso*-tetraquis(X-piridil)porfirina ($H_2T-X-PyP$) ($X = 2, 3$ ou 4) com tosilato de alquila, gerando a base-livre catiônica correspondente, $H_2T\text{alquil-X-PyP}^{4+}$, enquanto, na segunda etapa, realiza-se a complexação metálica (Fig.13).

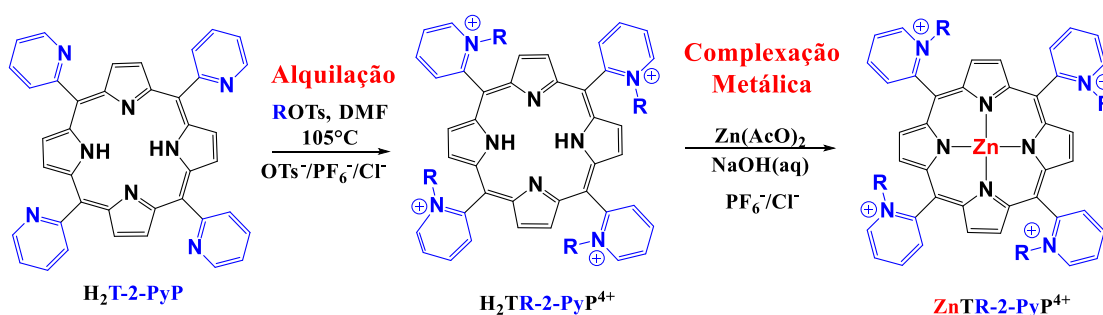


Figura 13 - Esquema da obtenção das 2-*N*-alquilpiridínioporfirina de Zn(II) ($ZnTR-2-PyP^{4+}$). R: grupos alquila.

A metalação da base-livre catiônica pode acontecer em solução aquosa, ajustando-se o meio para pH 12 (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1997). Esse procedimento resulta na desprotonação interna dos nitrogênios pirrólicos, sendo facilitado pela acidez apropriada das *N*-alquilpiridínioporfirinas, cujos valores de pKa estão na faixa de 10 a 13, resultando na $ZnT\text{alquil-2-PyP}^{4+}$ (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1998; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002).

Nesse método, tanto a $H_2T\text{alquil-2-PyP}^{4+}$ quanto a $ZnT\text{alquil-2-PyP}^{4+}$ apresentam solubilidade em água, o que implica limitações na purificação a meios de alta polaridade e há necessidade de sucessivas precipitações *via* metátese para isolar essas porfirinas (JESUS, 2020). Dessa forma, os compostos catiônicos são purificados por meio de reações de metátese com NH₄PF₆ em água. A porfirina é precipitada do meio aquoso na forma deste sal. Em seguida, realiza-se a metátese do sal de PF₆⁻ com cloreto de *N*-tetra-

n-butilamônio em acetona para isolar o derivado porfirínico na forma de sal de cloreto (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1998; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002).

2.3 Inativação fotodinâmica de microrganismos (PDI, do inglês “*photodynamic inactivation of microorganisms*”)

O aumento da resistência antimicrobiana (AMR, do inglês “*antimicrobial resistance*”) e a disseminação crescente de patógenos multirresistentes (MDR, do inglês “*multidrug resistant*”) permanecem como uma ameaça substancial à saúde global. Acarretando considerável morbidade, mortalidade e implicações econômicas significativas (OMS, 2001).

A pandemia de COVID-19, iniciada em 2020, agravou ainda mais essa problemática, pois induziu um aumento no uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento de infecções bacterianas secundárias ou coinfeções, intensificando, assim, o prognóstico desfavorável de pacientes gravemente enfermos (REHMAN, 2023).

Durante a pandemia, houve um aumento significativo de cepas multirresistentes, abrangendo uma ampla variedade de microrganismos. Essas cepas incluem *Enterobacterales*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida auris* (KAÇMAZ *et al.*, 2023; REHMAN, 2023; SHARMA *et al.*, 2022).

Além disso, em pacientes acometidos com COVID-19, foram identificadas infecções orais oportunistas, destacando-se as fúngicas, seguidas por infecções virais, bacterianas, protozoárias e helmínticas. No contexto das infecções oportunistas associadas à COVID-19, a candidíase e a infecção por herpes simples emergem como as mais frequentemente mencionadas (BERLINGIERI *et al.*, 2022).

O desenvolvimento de novos antimicrobianos convencionais encontra limitações em solucionar os problemas da resistência antimicrobiana, pois esses agentes atuam sobre alvos específicos, como enzimas, DNA e parede celular. Essa ação direcionada a um único alvo torna mais fácil para os microrganismos desenvolverem resistência aos novos fármacos (BLAIR *et al.*, 2015). Nesse sentido, a PDI parece ser uma alternativa muito promissora aos antimicrobianos convencionais, pois pode proporcionar uma inativação

rápida e localizada dos microrganismos patogênicos, sem afetar os tecidos saudáveis adjacentes (SOUZA *et al.*, 2021b).

O mecanismo de ação da PDI envolve a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais podem provocar danos oxidativos não específicos e irreversíveis nas células microbianas (FU *et al.*, 2024; HO *et al.*, 2021). A combinação essencial para o mecanismo de ação da inativação fotodinâmica envolve três componentes: um fotossensibilizador (FS), luz de comprimento de onda adequado para excitar o FS e oxigênio molecular (O_2) (MUEHLER *et al.*, 2022).

O FS no estado eletrônico excitado pode promover dois mecanismos distintos: i) o mecanismo do tipo I, onde a transferência de elétrons para o O_2 , resultando na formação de superóxido ($O_2^{\bullet-}$), eventualmente produzindo radicais hidroxila citotóxicos ($HO^{\bullet}$); ii) e o mecanismo do tipo II, que consiste na transferência de energia para o oxigênio tripleto (3O_2), levando à produção de oxigênio singleto (1O_2) (PUCELIK; DĄBROWSKI, 2022). As EROs geradas em ambos mecanismos resultam em danos às moléculas biológicas, incluindo lipídios, proteínas, enzimas, DNA e RNA (WAINWRIGHT *et al.*, 2017).

Em diversos contextos, a PDI se destaca como uma alternativa promissora ou complementar às abordagens terapêuticas convencionais para combater infecções bacterianas, fúngicas, virais e parasitárias. Na Figura 14, é apresentada uma ilustração descritiva com os locais de infecção atualmente sob tratamento pela PDI, englobando uma variedade de microrganismos característicos associados a essas condições.

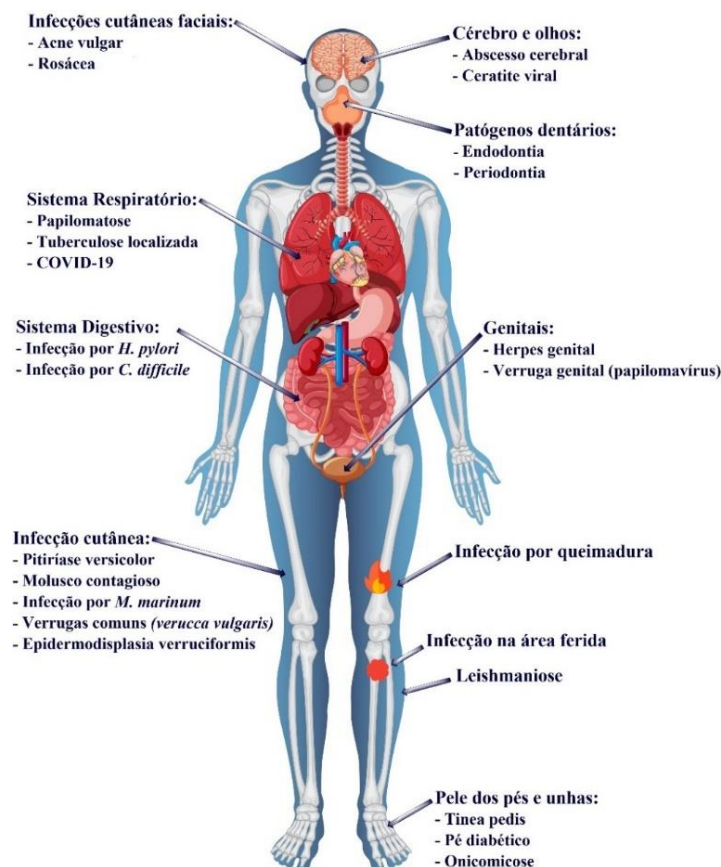


Figura 14 - Representação ilustrativa que esquematiza os locais de infecção atualmente tratados pela PDI, incluindo os diferentes tipos característicos de microrganismos associados (Adaptado de Pucelik & Dąbrowski, 2022).

No âmbito clínico, observam-se aplicações de grande relevância, como o tratamento de infecções cutâneas faciais, incluindo casos de acne vulgar e rosácea (LI *et al.*, 2022a; YANG *et al.*, 2018). Essa abordagem também demonstra eficácia em condições no sistema respiratório, como Papilomatose, tuberculose e COVID-19 (CHANG *et al.*, 2015; LIEDER; KHAN; LIPPERT, 2014; ZIGANSHYNA *et al.*, 2022).

No campo das infecções no sistema digestivo, alguns avanços foram alcançados no tratamento de patógenos como *H. pylori* e *C. difficile* (DE SORDI *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2021b). Além disso, a PDI apresenta potencial em infecções cutâneas diversas, como pitíriase versicolor, molusco contagioso, *M. marinum*, verrugas comuns e epidermodisplasia verruciforme (GOLD; MOIIN, 2007; KARRER *et al.*, 1999; LV *et al.*, 2024; WENLONG *et al.*, 2021; WU; HU, 2022).

No âmbito cerebral e oftalmológico, sua aplicação em infecções no cérebro e nos olhos é documentada (KHARKWAL *et al.*, 2011; SZENTMÁRY *et al.*, 2012). A PDI também é empregada em tratamentos odontológicos, como endodontia e periodontia, incluindo infecções dentárias (HIGUCHI *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2021a).

Outras aplicações abrangem o tratamento de herpes genital (CHANG; FIUMARA; WEINSTEIN, 1975), infecções por queimaduras e feridas (DE SOUZA DA FONSECA; DE PAOLI; MENCALHA, 2022; SUN *et al.*, 2020), leishmaniose (SOUZA *et al.*, 2021a; VITAL-FUJII; BAPTISTA, 2021) e infecções nos pés e unhas (BRANDÃO *et al.*, 2023; QIAO *et al.*, 2010; ROBRES *et al.*, 2015).

2.3.1 Processos e reações essenciais na fotoinativação de microrganismos

A Figura 15 apresenta o diagrama de Jablonski, destacando os mecanismos fundamentais de geração de espécies reativas de oxigênio, cruciais nos processos de PDI. A origem dessas espécies reativas está intrinsecamente ligada a reações fotoquímicas induzidas pela iluminação de fotossensibilizadores em um comprimento de onda específico. Este processo resulta na excitação do fotossensibilizador para um estado de curta duração denominado estado singlete excitado, representado como $^1\text{FS}^*$ (**Fig. 15**) (MACDONALD; DOUGHERTY, 2001)

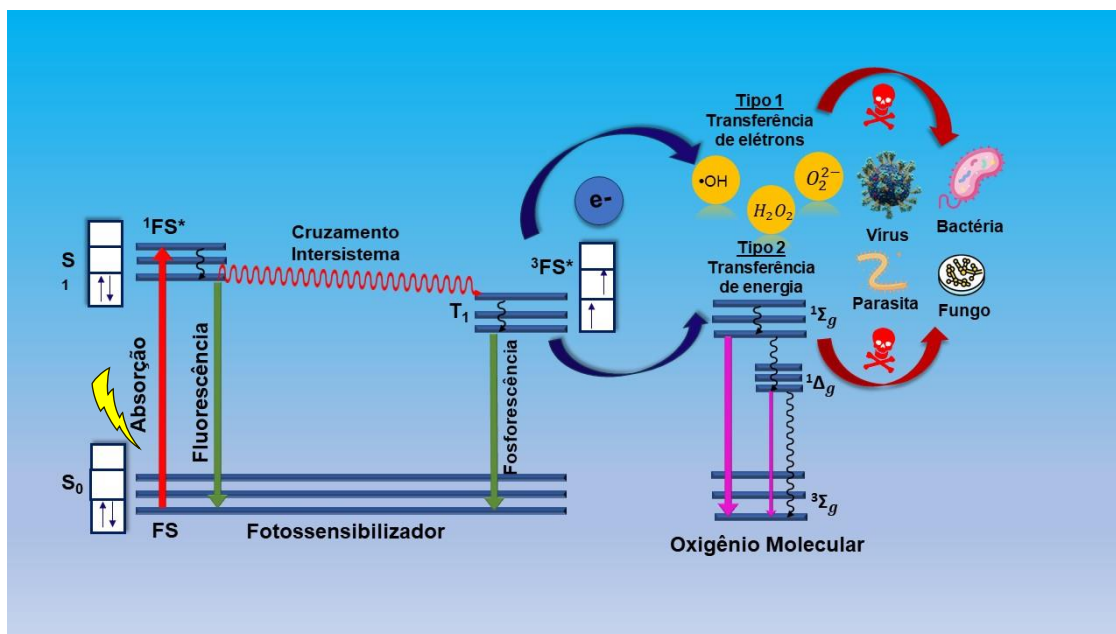


Figura 15 - Diagrama de Jablonski ilustrando os processos fotofísicos que ocorrem durante a PDI. FS: fotossensibilizador no estado fundamental; $^1\text{FS}^*$: fotossensibilizador no estado singlete excitado; $^3\text{FS}^*$: fotossensibilizador no estado tripleto; (Adaptado de Pucelik & Dabrowski, 2022)

Ao alcançar o estado singlete excitado de curta duração ($^1\text{FS}^*$), na ordem de nanossegundos, o fotossensibilizador pode perder sua energia e retornar ao estado fundamental emitindo luz (fluorescência) ou calor (**Fig. 15**) (BENOV, 2015). Alternativamente, o fotossensibilizador pode passar por um processo denominado

cruzamento intersistema (**Fig. 15**) (ISC, do inglês “*intersystem crossing*”), cuja importância é destacada na PDI (LI *et al.*, 2022b). Esse fenômeno envolve uma alteração na multiplicidade de spin, conduzindo o $^1FS^*$ a um estado de energia ligeiramente inferior, denominado estado tripleto ($^3FS^*$) (**Fig. 15**), que apresenta uma vida relativamente longa, na escala de microssegundos (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016; DE MELO *et al.*, 2013).

Quando se atinge o estado tripleto, a energia pode ser dissipada por emissão de fóton fosforescente ou por interação com moléculas abundantes no meio, como, por exemplo, o oxigênio molecular, resultando na formação de espécies altamente reativas (**Fig. 15**) (BENOV, 2015).

No estado tripleto excitado, o fotossensibilizador pode transferir um elétron/átomo de hidrogênio (mecanismo do tipo I) ou energia (mecanismo do tipo II) para o oxigênio molecular em seu estado fundamental. Após essa interação, o fotossensibilizador retorna ao estado fundamental singleto, enquanto a molécula de oxigênio passa por excitações e transformações que culminam na geração de diversas espécies reativas de oxigênio (**Fig. 15**) (EROs) (PUCELIK; DĄBROWSKI, 2022).

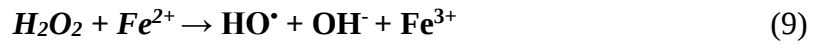
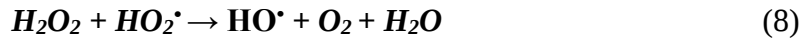
O mecanismo do tipo I envolve a transferência de um elétron (ou átomo de hidrogênio) para o orbital π^*2p de uma molécula de oxigênio, resultando na geração do íon superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Isso pode ocorrer na presença de um agente redutor (por exemplo, NADH, Eqs. 1 e 2) ou diretamente a partir de um fotossensibilizador excitado (Eq. 3).



O íon superóxido ($O_2^{\cdot-}$) pode ser posteriormente transformado em um radical peridroxila ($HO_2^{\cdot}$), conforme indicado na Equação 4. Ambas as espécies reativas de oxigênio passam por uma reação de desproporcionamento, levando à formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), conforme descrito nas Equações 5 e 6. A reação de desproporcionamento do íon superóxido é facilitada pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD). (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004; DĄBROWSKI, 2017).



O peróxido de hidrogênio apresenta uma meia-vida maior em comparação com outras EROs e, em contraste com estas, possui a capacidade de transpor membranas biológicas, resultando em danos a diferentes compartimentos celulares (OSZAJCA *et al.*, 2016). O H_2O_2 pode participar em diversas reações (Equações 7-9) que levam à formação de radicais hidroxila altamente reativos (NI *et al.*, 2021). Dentre essas reações, destaca-se a reação Fenton, que ocorre na presença de íons Fe^{2+} , gerando radicais hidroxila por meio da redução de um elétron (Equação 9). No ambiente celular, o íon Fe^{3+} pode ser reduzido a Fe^{2+} pelo radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (Equação 10), em um processo conhecido como reação de Haber-Weiss (KEHRER, 2000). Além disso, o radical hidroxila ($HO^{\bullet}$) penetra facilmente nas membranas e não pode ser impedido ao entrar nas células, causando danos às estruturas celulares, tais como proteínas, lipídios e DNA (CASTANO; DEMIDOVA; HAMBLIN, 2004; PRZYGODA *et al.*, 2023).



O mecanismo do tipo II (Eqs. 11–13) envolve a transferência de energia do $^3FS^*$ no estado tripleto excitado para o 3O_2 , resultando na geração de oxigênio singlete (1O_2 , $^1\Delta_g$), que é uma molécula com caráter fortemente oxidante, capaz de causar danos aos componentes celulares, tais como lipídios, proteínas e DNA, culminando no desencadeamento da morte celular (PRZYGODA *et al.*, 2023). A reatividade do 1O_2 em relação a compostos ricos em elétrons é atribuída à presença de um orbital molecular antiligante π^* (provindo da combinação linear de orbitais 2p), o qual não está preenchido na molécula (NI *et al.*, 2021).



Ambos os mecanismos podem ocorrer de maneira simultânea, sendo sua ocorrência dependente da concentração de oxigênio, constante dielétrica do tecido, pH e estrutura do fotossensibilizador (KWIATKOWSKI *et al.*, 2018a). As reações do tipo II

são particularmente relevantes para a PDI, sendo consideradas a via mais comum em reações fotodinâmicas (SAI *et al.*, 2021).

2.3.2 Porfirinas como fotossensibilizadores

A eficácia da PDI depende, entre outros fatores, da seleção de um fotossensibilizador adequado. Um fotossensibilizador promissor é caracterizado por alta pureza, estabilidade, baixa toxicidade no escuro, alto coeficiente de absorção molar na faixa de luz visível ou infravermelho próximo e facilidade de excreção do corpo para evitar fototoxicidade pós-tratamento (KUBRAK *et al.*, 2022). O fotossensibilizador pode realizar isso por meio de (i) ligação/interação com a membrana celular do microrganismo, (ii) penetração na célula microbiana (iii) afetar a célula sem contato direto, caso o $^1\text{O}_2$ seja gerado com eficiência elevada (NAGATA *et al.*, 2012).

Na década de 1990, foi aprovado para uso clínico o primeiro fotossensibilizador baseado em porfirina, conhecido como *Photofrin*® (**Fig. 16**) (de origem norte-americana/canadense). Derivado da hematoporfirina (**Fig. 16**), um composto de origem natural, este fotossensibilizador é um polímero semissintético que serviu como precursor para os fotossensibilizadores de primeira geração (KOU; DOU; YANG, 2017).

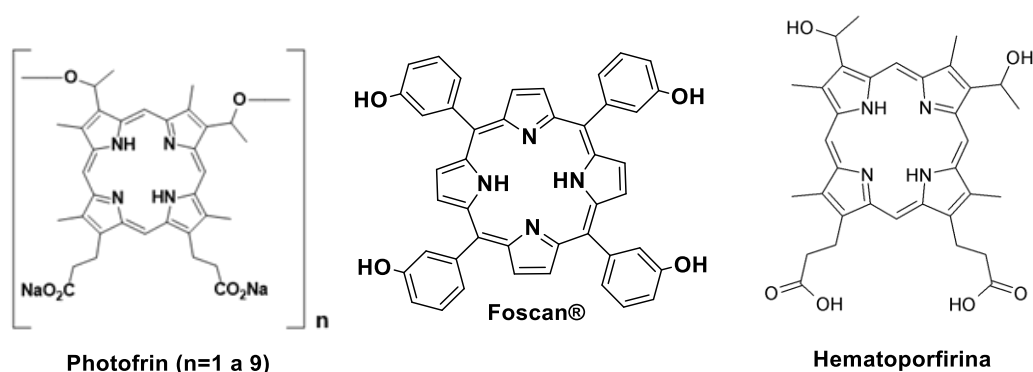


Figura 16 – Algumas porfirinas notáveis, incluindo Photofrin, Foscan e Hematoporfirina.

O *Photofrin*® é utilizado no tratamento de carcinomas cerebrais, laríngeos, pulmonares, cutâneos, gástricos e esofágicos (CHISSOV *et al.*, 1995; STYLLI *et al.*, 2004; YOSHIDA *et al.*, 1995). Entretanto, esse fotossensibilizador apresenta algumas limitações, como alto peso molecular, caráter aniônico elevado e baixa fotoestabilidade (SOUZA *et al.*, 2021b). Além disso, apresenta fototoxicidade cutânea prolongada por um período de seis a dez semanas, requerendo cautela para evitar a exposição à luz solar intensa e luz artificial durante esse intervalo (ORMOND; FREEMAN, 2013).

Tais limitações foram alvo de aprimoramento com fotossensibilizadores de segunda geração, especialmente por meio das porfirinas sintéticas derivadas de *meso*-tetrafenilporfirinas (**Fig. 16**) (ORMOND; FREEMAN, 2013). O *Foscan*® (**Fig. 16**) (originário do Reino Unido) é uma droga completamente sintética, análoga à *meso*-tetrafenilporfirina, e demonstrou ser aproximadamente 100 vezes mais fotoativa do que o *Photofrin*®, devido ao seu maior tempo de vida no estado tripleto, maior hidrofobicidade, maior seletividade e excitação em um comprimento de onda maior. Contudo, apresentou fotossensibilidade na pele ligeiramente inferior àquela provocada pelo *Photofrin*® (SIMPLICIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002). Tem sido utilizado no tratamento de cânceres de cabeça e pescoço, cânceres gástricos e pancreáticos, hiperplasia, esterilização de campo após cirurgia de câncer, e para o controle de bactérias resistentes a antibióticos (JOSEFSEN; BOYLE, 2012).

As propriedades dos fotossensibilizadores de segunda geração são otimizadas pela introdução de grupos retiradores de elétrons próximos ao macrociclo da porfirina, facilitando o cruzamento intersistema e aumentando o tempo de vida do estado tripleto e a produção de EROs (SOUZA *et al.*, 2021b). Além disso, fatores como carga, tamanho, forma, acessibilidade e orientação espacial do FS afetam propriedades fotofísicas, bem como absorção e distribuição celular (COOK; BREWER; WONG-NG, 2017; HAMBLIN, 2016; REGIEL-FUTYRA *et al.*, 2017).

Merchat *et al.* (1996a) observaram em um estudo comparativo que as porfirinas catiônicas *meso*-tetraquis(*N*-metilpiridínio-4-il)porfirina ($H_2TM-4-PyP^{4+}$) (**Fig. 17**) e *meso*-tetraquis(*N,N,N*-trimetilaniônio-4-il)porfirina ($H_2TTrMAPP^{4+}$) (**Fig. 17**) inibiram o crescimento tanto de bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Por outro lado, a porfirina aniônica *meso*-tetraquis(4-sulfonatofenil)porfirina ($H_2TPPS_4^{4-}$) (**Fig. 17**) inibiu apenas bactérias Gram-positivas (MERCHAT *et al.*, 1996a). Isso está associado ao fato de bactérias gram-positivas apresentarem parede celular composta por camadas espessas de peptidoglicano com a presença de ácidos lipoteicóico e teicóico dispostos ao longo dessas camadas, conferindo porosidade que facilita a internalização do FS na célula (GOMPERTS; KRAMER; TATHAM, 2009). Por outro lado, a membrana externa das células Gram-negativas contém lipopolissacarídeos e ácido siálico (STEEGHS, 2001), resultando em uma superfície de caráter mais aniônico do que a parede celular de bactérias Gram-positivas e, conseqüentemente, uma repulsão eletrostática significativa a FSs aniônicos.

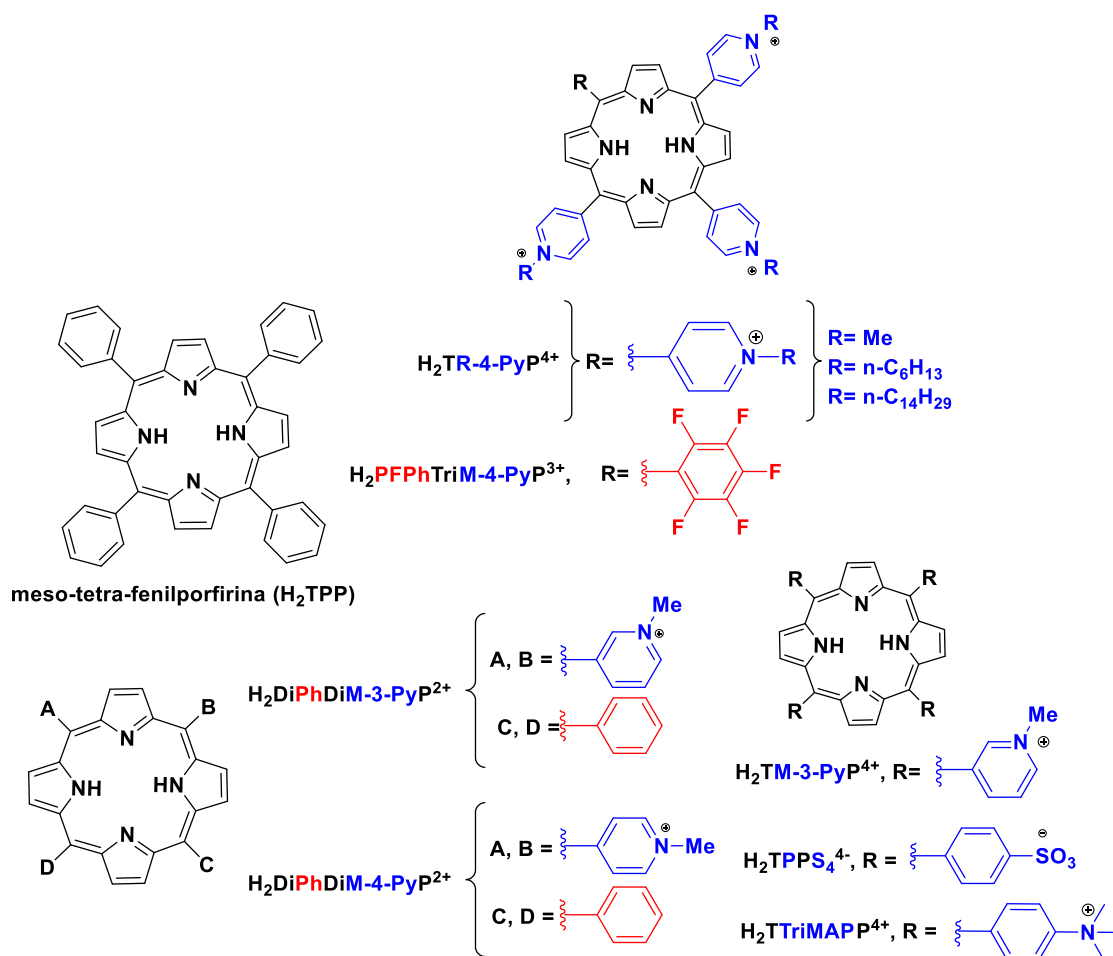


Figura 17 - Porfirinas que se destacaram como fotossensibilizadores.

Engelmann *et al.*, (2007) utilizando a $H_2TM-4-PyP^{4+}$ e seu isômero meta $H_2TM-3-PyP^{4+}$ (Fig. 22), investigaram como a modulação da lipofilia por meio da substituição de grupos metil-piridínio por grupos fenil afeta a interação com lipossomos, mitocôndrias e eficiência fotodinâmica em eritrócitos. As porfirinas *cis*-dicatiônicas $H_2DiPhDiM-X-PyP^{2+}$ ($X = 3, 4$) (**Fig. 17**), apresentaram a melhor interação com a membrana mitocondrial simulada, atribuída a uma combinação de interações hidrofílicas pelos dois grupos *N*-metilpiridínio-*X*-il e interações hidrofóbicas pelos dois grupos fenil (ENGELMANN *et al.*, 2007a)

Ricchelli *et al.*, (2005) observaram, em células de fibrossarcoma (células HT-1080), que a captação celular aumenta com o tamanho da cadeia alquílica em $H_2TR-4-PyP^{4+}$ ($R = CH_3, n-C_6H_{13}, n-C_{14}H_{29}$) (**Fig. 17**). No entanto, a porfirina com $R = n-C_{22}H_{45}$ apresentou uma diminuição na captação celular em relação àquela com $R = n-C_{14}H_{29}$; a agregação em solução e o tamanho das cadeias alquílicas (ou volume do composto

resultante) podem ser fatores importantes para esses resultados (RICCHELLI *et al.*, 2005).

Merchat *et al.*, (1996b) avaliaram o efeito do aumento da lipofilia da porfirina de base livre na PDI de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Grupos catiônicos *N*-metilpiridínio-4-il da H₂TM-4-PyP⁴⁺ (**Fig. 17**) foram substituídos por um ou dois grupos fenil, reduzindo a carga total dos compostos resultantes para +3 ou +2. Esses FSs foram mais eficazes do que o H₂TM-4-PyP⁴⁺ tanto em bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas (MERCHAT *et al.*, 1996b). Alves *et al.* (2015) também observaram uma melhor atividade de uma porfirina tricatiônica contendo um grupo *meso*-pentafluorofenil e três grupos *N*-metilpiridínio-4-il (H₂PFPhTriM-4-PyP³⁺, **Fig. 17**) em comparação com a H₂TM-4-PyP⁴⁺ (ALVES *et al.*, 2015).

Os fungos geralmente possuem a parede celular carregada negativamente (GARCIA-RUBIO *et al.*, 2020), constituída principalmente por quitina, β -glucanos e manoproteínas na região mais externa, apresentando resistência a agentes exógenos devido à sua baixa permeabilidade/porosidade (GOW; HUBE, 2012). Assim, fotossensibilizadores positivamente carregados se ligam rapidamente à célula microbiana por atração eletrostática, produzindo espécies reativas de oxigênio quando irradiados, o que levará a danos fotossensíveis na parede celular e, posteriormente, em outros alvos celulares dentro da célula (AL-ASMARI; MEREDDY; SULTANBAWA, 2017).

Amorim *et al.* (2023) investigaram os efeitos das porfirinas H₂TM-4-PyP⁴⁺ e H₂TM-3-PyP⁴⁺, bem como da porfirina H₂TPPS₄⁴⁻ (**Fig. 17**), na inativação fotodinâmica de espécies do gênero *Candida*: *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*. Todas as espécies demonstraram sensibilidade à ação de inativação fotodinâmica das porfirinas catiônicas em todos os tratamentos de luz testados (15, 45 e 90 minutos), resultando em uma inibição de crescimento de 100%. No entanto, o análogo aniônico não conseguiu inibir 100% do crescimento no menor tempo de fotoinativação (15 minutos) em nenhuma das espécies de *Candida* (AMORIM *et al.*, 2023). Isso está associado ao fato de que fotossensibilizadores aniônicos exibem menor afinidade à parede celular destes fungos (NOVAIRA; CORMICK; DURANTINI, 2012).

2.3.3 Zn(II)porfirinas como fotossensibilizadores

A complexação de um elemento diamagnético, como o Zn(II), pelo centro porfirínico para originar ZnP_s, frequentemente conduz ao aprimoramento das

características espectroscópicas e fotofísicas, bem como na estabilidade de compostos derivados de porfirina (SOUZA *et al.*, 2021b). Adicionalmente, as porfirinas de Zn(II) comumente demonstram eficácia como geradoras de espécies reativas de oxigênio (EROs) e exibem uma atividade fotodinâmica superior contra bactérias quando comparadas às porfirinas de base livre (SANTAMARINA *et al.*, 2022).

Benov *et al.* (2002) conduziram um estudo sobre a inativação fotodinâmica da bactéria Gram-negativa *E. coli*, explorando os isômeros 2, 3 e 4-*N*-metilpiridilporfirinas ($H_2TM-X-PyP^{4+}$, X = 2, 3 ou 4, **Fig. 18**) e seus complexos de Zn(II) ($ZnTM-X-PyP^{4+}$, X = 2, 3 ou 4, **Fig. 18**), juntamente com o análogo 2-*N*-piridínio etilado $ZnTE-2-PyP^{4+}$ (**Fig. 18**). A análise inicial focou na capacidade dessas porfirinas e seus complexos de Zn(II) em foto-oxidar o NADH em ensaios *in vitro*, servindo como indicador indireto da geração de EROs. O Photofrin® e azul de metileno foram incluídos como controles positivos (BENOV *et al.*, 2002).

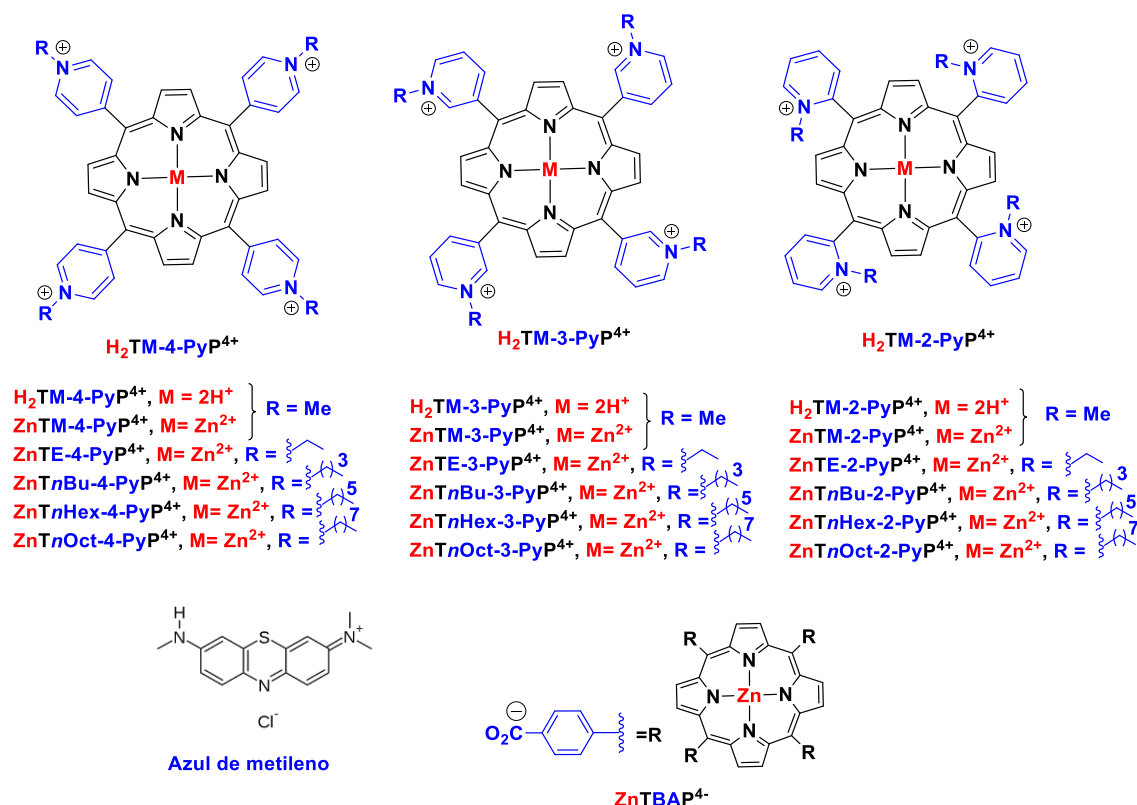


Figura 18 - Compostos com potencial fotossensibilizador, incluindo Zn(II) porfirinas e azul de metileno.

Os resultados revelaram que $H_2TM-2-PyP^{4+}$ e seu complexo de Zn(II), bem como o análogo etilado $ZnTE-2-PyP^{4+}$ e o azul de metileno, foram mais eficazes na oxidação do NADH, seguidos pelas demais porfirinas, sendo o Photofrin® menos ativo *in vitro*.

Esses achados indicam uma maior eficiência fotodinâmica dos isômeros 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas na geração de EROs *in vitro* (BENOV *et al.*, 2002).

Nos testes de inativação fotodinâmica, a ordem de atividade foi $\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$, ZnTR-2-PyP^{4+} (R = metil ou etil) < $\text{H}_2\text{TM-3-PyP}^{4+}$, $\text{ZnTM-3-PyP}^{4+} = \text{H}_2\text{TM-4-PyP}^{4+}$, ZnTM-4-PyP^{4+} . Os isômeros 3- e 4-*N*-metilpiridínioporfirinas e seus complexos de Zn(II) erradicaram a *E. coli* em meio líquido em aproximadamente 3 minutos, enquanto os isômeros 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas (alquil = metil ou etil) levaram cerca de 15 minutos. Tanto o *Photofrin*® quanto o azul de metileno (**Fig. 18**) não foram eficazes na erradicação da *E. coli* nos períodos testados, sendo o *Photofrin*® o menos ativo (BENOV *et al.*, 2002).

Ezzeddine *et al.* (2013) conduziram um estudo sistemático com Zn(II) *meso*-tetraquis(*N*-alquilpiridínio-*X*-il)porfirinas nas posições *orto*, *meta* e *para* (*X* = 2, 3 ou 4, respectivamente **Fig. 18**) contra células de adenocarcinoma de cólon humano. As cadeias alquílicas alifáticas variaram de 1 a 6 carbonos e mostraram aumento na captação com o aumento do comprimento da cadeia alquílica lateral (EZZEDDINE *et al.*, 2013).

O análogo 2-metilpiridínio ZnTM-2-PyP^{4+} apresentou distribuição citoplasmática e forte captação no lisossomo. O isômero *meta*, ZnTM-3-PyP^{4+} , foi identificado no núcleo e citoplasma. Já a acumulação do análogo *para*, ZnTM-4-PyP^{4+} , é predominantemente nuclear (EZZEDDINE *et al.*, 2013). Os análogos etílicos, ZnTE-X-PyP^{4+} (*X* = 2, 3 ou 4), foram preferencialmente encontrados no lisossomo/citosol, enquanto os análogos hexílicos mais lipofílicos, $\text{ZnTnHex-X-PyP}^{4+}$ (*X* = 2, 3 ou 4), se localizaram principalmente nas mitocôndrias, seguindo a ordem de acumulação *orto* < *meta* < *para* (EZZEDDINE *et al.*, 2013).

Thomas *et al.* (2015) conduziram estudos para avaliar porfirinas de Zn(II) 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas com modificações sistemáticas nas cadeias alquílicas laterais, quanto à toxicidade e à atividade fotodinâmica, utilizando cepas de *E. coli*, sensíveis e resistentes a antibióticos, como alvos modelo de bactérias Gram-negativas. Nesse estudo, as cadeias alquílicas foram variadas entre metil, etil, *n*-butil, *n*-hexil e *n*-octil. Além disso, foram investigados o isômero 2-*N*-metilpiridínioporfirina ($\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$) e a ZnP tetra-aniónica ZnTBAP^{4-} (**Fi. 18**) (THOMAS *et al.*, 2015). Os resultados apontaram que todas as porfirinas catiônicas testadas reduziram a respiração celular e causaram danos à membrana plasmática da *E. coli*. Especificamente, a $\text{ZnTnHex-2-PyP}^{4+}$ destacou-se como a mais eficaz nesse contexto. Entretanto, o análogo com cadeia *n*-octil, $\text{ZnTnOct-2-PyP}^{4+}$,

revelou-se tóxico no escuro, o que impõe restrições à sua aplicação como fotossensibilizador (THOMAS *et al.*, 2015).

Awad *et al.*, (2016) investigaram a atividade da ZnTM-2-PyP⁴⁺ e da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ para PDI de *E. coli*. As ZnPs foram adicionadas a uma suspensão de células bacterianas para uma concentração final de 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e, em seguida, irradiadas por 2 horas. Os resultados revelaram que não foi detectada fragmentação de DNA após a PDI com porfirinas (AWAD *et al.*, 2016).

Durante a PDI com ZnTnHex-2-PyP⁴⁺, ocorreu oxidação da membrana plasmática e proteínas, levando ao vazamento de metabólitos e adenosina trifosfato (ATP). Além disso, enzimas citosólicas, como glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) e isocitrato desidrogenase (IDH), tiveram atividade significativamente reduzida. Esses eventos impediram a recuperação das células bacterianas do estresse oxidativo induzido pela PDI (AWAD *et al.*, 2016).

Os processos de PDI mediados por essas ZnPs também danificaram a membrana plasmática. O grau de dano aos componentes celulares seguiu a tendência ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ > ZnTM-2-PyP⁴⁺. Enquanto ZnTM-2-PyP⁴⁺ não foi capaz de promover uma diminuição significativa no número de colônias, ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ reduziu o número de células em 3 log₁₀ (AWAD *et al.*, 2016).

Alenezi *et al.*, (2017) realizaram uma comparação entre 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas ZnTR-3-PyP⁴⁺ (R = *n*-hexil, *n*-octil, **Fig. 18**), e o isômero 2-*N*-alquilpiridínioporfirina, ZnTR-2-PyP⁴⁺ (R = *n*-hexil, *n*-octil, **Fig. 18**) na inativação fotodinâmica de *E. coli*. Ensaios de captação revelaram a maior internalização celular ou ligação à superfície para os isômeros 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas (ALENEZI *et al.*, 2017).

Nos testes de PDI todos os compostos mostraram eficiência expressiva, com os isômeros 3-*N*-alquilpiridínioporfirinas sendo os mais ativos. Entretanto, apesar de a ZnTnOct-2-PyP⁴⁺ ser mais lipofílica e acumular-se em níveis mais elevados, não demonstrou uma eficiência fotossensibilizadora superior ao seu análogo *n*-hexil, que é menos lipofílico (ALENEZI *et al.*, 2017). Isso ressalta que a eficácia da PDI não é exclusivamente determinada pela quantidade de porfirina acumulada, mas também é influenciada pela distribuição do fotossensibilizador dentro da célula. Novamente, foi constatada a toxicidade no escuro das porfirinas *N*-*n*-octiladas de ambos os isômeros (ALENEZI *et al.*, 2017).

Souza *et al.*, (2021a) investigaram os efeitos fotodinâmicos mediados por ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ em concentrações de 0,62 e 1,25 µmol L⁻¹ em formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania amazonenses* (SOUZA *et al.*, 2021a). A porcentagem de sobrevivência de promastigotas foi avaliada pela exclusão de azul de tripano, e ambas as concentrações do FS induziram a morte celular em mais de 99% para ambas as espécies de *Leishmania*, em comparação com o controle sem tratamento. A PDI também resultou em reduções de aproximadamente 64% no número de amastigotas por macrófago e 70% no índice de infecção a 1,25 µmol L⁻¹ (SOUZA *et al.*, 2021a).

Para os fotossensibilizadores baseados em Zn(II) porfirinas aplicados na inativação fotodinâmica, mecanismos do Tipo I e II (mencionados na seção 2.3.1) podem ocorrer simultaneamente. Entretanto, a proporção entre ambos os processos depende do fotossensibilizador, substrato, concentração de oxigênio e afinidade de ligação do fotossensibilizador ao substrato (CORREIA *et al.*, 2021).

Uma forma de avaliar a competição entre esses mecanismos é medir o rendimento quântico da formação de oxigênio singlete ($\Phi^1\text{O}_2$), que é uma das características mais importantes de um FS e é determinado pelo rendimento quântico e tempo de vida do seu estado tripleto excitado (CORREIA *et al.*, 2021). Além disso, a capacidade de induzir produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) está associada aos tempos de vida médios prolongados do estado tripleto excitado, uma característica típica de complexos de porfirinas com metais diamagnéticos, como o Zn(II) (ESPITIA-ALMEIDA *et al.*, 2020).

Os fotossensibilizadores baseados em porfirinas de Zn(II) são frequentemente classificados de acordo com a formação de $\Phi^1\text{O}_2$ e/ou experimentos de captura de spin de oxigênio superóxido por ressonância paramagnética eletrônica (SOUZA *et al.*, 2021b). Zoltan *et al.* (2015) afirmaram que as porfirinas ZnTPPS⁴⁻ e ZnTEtOAc-4-PyP⁴⁺ apresentaram baixos valores de $\Phi^1\text{O}_2$ e foram categorizadas como FSs Tipo I, demonstrando maior eficiência na geração de radicais livres (ZOLTAN *et al.*, 2015). Por outro lado, Pavani *et al.* (2012) indicaram que a ZnTM-4-PyP⁴⁺ é classificada como um FS Tipo II devido aos valores elevados de $\Phi^1\text{O}_2$ (PAVANI; IAMAMOTO; BAPTISTA, 2012).

Kalyanasundaram (1984) observou que os tempos de vida do estado tripleto excitado para as *N*-metilpiridilporfirinas variam entre 1,16, 0,39 e 0,17 ms para os isômeros *orto*, *meta* e *para*, respectivamente. A introdução de Zn(II) no anel tetrapirrólico aumenta significativamente os tempos de vida do estado tripleto excitado do isômero *orto*

(ZnTM-2-PyP⁴⁺) para 1,4 ms, e para 2,0 ms nos isômeros *meta* e *para* (ZnTM-3-PyP⁴⁺ e ZnTM-4-PyP⁴⁺, respectivamente) (KALYANASUNDARAM, 1984).

É importante destacar que a eficácia biológica dos fotossensibilizadores (FSs) não é exclusivamente determinada pela capacidade das Zn(II) porfirinas em gerar $\Phi^1\text{O}_2$ ou outras EROs. Além disso, essa eficiência também está intrinsecamente ligada à captação efetiva pelas células, à distribuição subcelular e à interação geral com os sistemas biológicos. Esses aspectos podem ser otimizados por meio da modulação da lipofilia e da carga iônica da porfirina (KWIATKOWSKI *et al.*, 2018b; SHARMAN; ALLEN; VAN LIER, 2000; ZOLTAN *et al.*, 2015).

2.3.3.1 Zn(II) N-alquilpiridínioporfirinas em inativação fotodinâmica de fungos

Devido à sua herança eucariótica, as diferenças na composição molecular entre um patógeno fúngico e seu hospedeiro humano são pequenas. Portanto, a descoberta e o subsequente desenvolvimento de novos medicamentos antifúngicos são extremamente desafiadores (VANREPPELEN *et al.*, 2023). Além disso, uma preocupação emergente em escala global é resistência aos medicamentos antifúngicos, incluindo variantes resistentes inéditas de patógenos anteriormente suscetíveis e espécies que são resistentes a múltiplos medicamentos antifúngicos (FISHER *et al.*, 2022).

Observou-se resistência aos medicamentos nistatina, clotrimazol, fluconazol, itraconazol e cetoconazol em cepas de *C. albicans* (DHASARATHAN *et al.*, 2021). Isso ressalta a importância do desenvolvimento de terapias alternativas que evite a probabilidade de resistência (DHASARATHAN *et al.*, 2021). Nesse contexto, a PDI tem surgido como uma abordagem promissora (PUCELIK; DĄBROWSKI, 2022).

Foram encontrados poucos estudos utilizando ZnP como FS para PDI de fungos. Viana *et al.* (2015) avaliou a atividade da ZnTE-2-PyP⁴⁺ para mediar a PDI de *C. albicans* (ATCC 10231). A aplicação de ZnTE-2-PyP⁴⁺ a uma concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com uma pré-incubação de 10 minutos seguida por irradiação (LED, $\lambda = 460 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$, e 150 mW/cm^2) por 9 minutos, resultou em uma redução de 3 $\log_{10}$ UFC na viabilidade celular, destacando o potencial da ZnTE-2-PyP⁴⁺ como fotossensibilizador para inativação fotodinâmica fúngica. A ZnTE-2-PyP⁴⁺ não apresentou toxicidade na ausência de luz (VIANA *et al.*, 2015).

Moghnie *et al.* (2017) investigaram o efeito de Zn(II) 2-N-alquilpiridínioporfirinas na PDI de leveduras *S. cerevisiae*, conforme avaliado

previamente por Awad *et al.* (2016) em bactérias *E. coli* (mencionado na Seção 2.3.3). O estudo avaliou a eficácia de Zn(II) 2-*N*-alquilpiridilporfirinas catiônicas, onde a lipofilia de ZnP foi modulada pela escolha das cadeias alquílicas laterais: metil (ZnTM-2-PyP⁴⁺), *n*-butil (ZnTnBu-2-PyP⁴⁺), *n*-hexil (ZnTnHex-2-PyP⁴⁺) e *n*-octil (ZnTnOct-2-PyP⁴⁺); a clorina e6 foi avaliada como controle positivo. As células de *S. cerevisiae* foram incubadas por 90 minutos com o FS e depois irradiadas (300 W de luz branca, 78 mW/cm²) por 60 minutos (MOGHNIE *et al.*, 2017).

Os resultados indicaram que ZnTM-2-PyP⁴⁺, seguido por ZnTnBu-2-PyP⁴⁺, apresentaram a menor fotoeficiência, provavelmente devido às cadeias laterais mais curtas e por serem mais hidrofílicas em comparação com outros compostos da série. O composto mais lipofílico, ZnTnOct-2-PyP⁴⁺, exibiu forte atividade na fotoinativação de leveduras, mas também demonstrou alta toxicidade no escuro.

A ZnP com cadeia lateral alquil de seis carbonos (ZnTnHex-2-PyP⁴⁺) produziu um FS anfifílico, que suprimiu completamente o metabolismo da levedura. A PDI mediada por ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ causou a inativação enzimática da lactato desidrogenase (LDH) e isocitrato desidrogenase (IDH), juntamente com danos significativos à membrana plasmática. Além disso, este estudo demonstrou que as leveduras internalizaram ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ de forma mais eficiente do que o análogo hidrofílico, ZnTM-2-PyP⁴⁺, o que contribuiu para o efeito fotodinâmico eficaz de ZnTnHex-2-PyP⁴⁺. Por fim, ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ em concentrações baixas de 0,5 a 5 µmol L⁻¹ mostrou-se um FS mais eficaz para a inativação de leveduras do que a clorina e6 comercial (MOGHNIE *et al.*, 2017).

Souza *et al.* (2022) utilizaram a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ para investigar a fotoinativação cepas de *C. albicans*, empregando um tempo de pré-incubação de 10 minutos e uma duração de irradiação de 3 minutos com uma fonte de luz (LEDbox, Biolambda) em 410 ± 10 nm, e uma irradiância ajustada para 24,1 mW/cm² (dose de luz = 4,3 J/cm²) (SOUZA *et al.*, 2022). Na cepa ATCC 10231, observou-se uma redução de aproximadamente 2 log₁₀ na concentração mais baixa testada, 0,15 µmol L⁻¹, e a erradicação completa foi alcançada em 0,8 µmol L⁻¹. Para a cepa ATCC 90028, obteve-se uma redução de 3,3 log₁₀ em 0,8 µmol L⁻¹, com erradicação completa observada em 1,5 µmol L⁻¹. Adicionalmente, sob as mesmas condições de irradiação, a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (0,8 µmol L⁻¹) demonstrou eficácia em reduzir não apenas o número de hifas nos biofilmes de ATCC 90028, mas também a viabilidade celular em 89%. Vale ressaltar que esse tratamento não apresentou toxicidade em células epiteliais mamíferas (SOUZA *et al.*, 2022).

Raposo *et al.* (2023) investigaram a fotoinativação de leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) utilizando ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ e ZnTE-2-PyP⁴⁺ em condições semelhantes às de Souza *et al.* (2022) (RAPOSO *et al.*, 2023a; SOUZA *et al.*, 2022). Foi observado uma redução de aproximadamente 3 log₁₀ quando as células foram irradiadas na presença de ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (0,8 µmol L⁻¹), resultado semelhante ao relatado por Souza *et al.* (2022) (RAPOSO *et al.*, 2023b; SOUZA *et al.*, 2022). Em contraste, a ZnTE-2-PyP⁴⁺ (5 µmol L⁻¹) proporcionou uma redução mais discreta (2 log₁₀). Assim, embora ambos compostos tenham mostrado efeito fotodinâmico antimicrobiano em *C. albicans*, a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ demonstrou uma eficácia superior (RAPOSO *et al.*, 2023b). Essa tendência de maior eficácia da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ também está em conformidade com os resultados anteriormente relatados por Viana *et al.* (2015) (VIANA *et al.*, 2015).

2.4 Desenvolvimento de porfirinas e Zn(II) porfirina do tipo A₃B

O desenvolvimento de rotas para a síntese de porfirinas do tipo A₃B (A = 2-*N*-metilpiridínio; B = *O*-alquilvanilina) em nosso grupo de pesquisa teve início durante o Mestrado e Doutorado de Sarmiento Neto (SARMENTO-NETO, 2016, 2021). Sarmiento Neto explorou a condensação do pirrol com uma mistura de 2-piridinacarboxaldeído e 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (vanilina), resultando no composto H₂VanTri-2-PyP (previamente mencionado na seção 2.2). A caracterização incluiu técnicas como cromatografia em camada delgada em sílica (CCD-SiO₂), espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H (SARMENTO-NETO, 2016).

A escolha desse aldeído foi fundamentada na presença do grupo *m*-OCH₃ na vanilina, o que resulta em um substituinte *meso*-arila estruturalmente mais distinto dos grupos *meso*-2-piridila em termos estéricos, ocupando as faces α e β do anel porfírinico. Essa diferença facilita a separação cromatográfica das porfirinas resultantes da mistura desses aldeídos. Além disso, a presença de um grupo OH (na posição *para*) torna possível funcionalizações subsequentes, como alquilação, acilação, entre outras (SARMENTO-NETO, 2021).

É crucial destacar que estudos prévios reportaram os isômeros 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas como mais eficientes na geração de EROs (BENOV *et al.*, 2002). Pesquisas sobre a intercalação do DNA revelaram que o isômero 4-metilpiridilporfirina (H₂TM-4-PyP⁴⁺) exerce a função de intercalador de DNA (FIEL *et al.*, 1979; SARI *et al.*,

1990; TITA; PERUSSI, 2001). O isômero 2-metilpiridilporfirina ($\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$), por outro lado, não apresenta essa capacidade (SARI *et al.*, 1990). O isômero 3-metilpiridil ($\text{H}_2\text{TM-3-PyP}^{4+}$) também exibiram afinidade pelo DNA, embora em menor grau (LEBEDEVA *et al.*, 2021; SARI *et al.*, 1990). Essa maior afinidade pelo DNA decorre do fato de que os grupos $\text{N}^+\text{-CH}_3$ na posição *para* possuem uma maior liberdade de rotação ao longo do eixo, permitindo que a molécula adote uma conformação mais planar durante a intercalação no DNA. Por outro lado, quando o grupo $\text{N}^+\text{-CH}_3$ está na posição *meta*, sua rotação é mais limitada, ocupando um volume maior (LEBEDEVA *et al.*, 2021).

Sarmiento-Neto (2016) explorou a obtenção da porfirina catiônica $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ através da alquilação simultânea dos grupos 2-piridila e vanilina da porfirina $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$, empregando MeOTs (**Fig. 19**) (SARMENTO-NETO, 2016). Posteriormente, em sua tese de doutorado, Sarmiento Neto (2021) investigou a metalação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ com Zn(II), resultando no complexo $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ como produto final (**Fig. 19**) (SARMENTO-NETO, 2021). A caracterização incluiu técnicas como cromatografia em camada delgada em sílica (CCD- SiO_2), UV-vis e RMN de ^1H (SARMENTO-NETO, 2021; SOARES NETO, 2023).

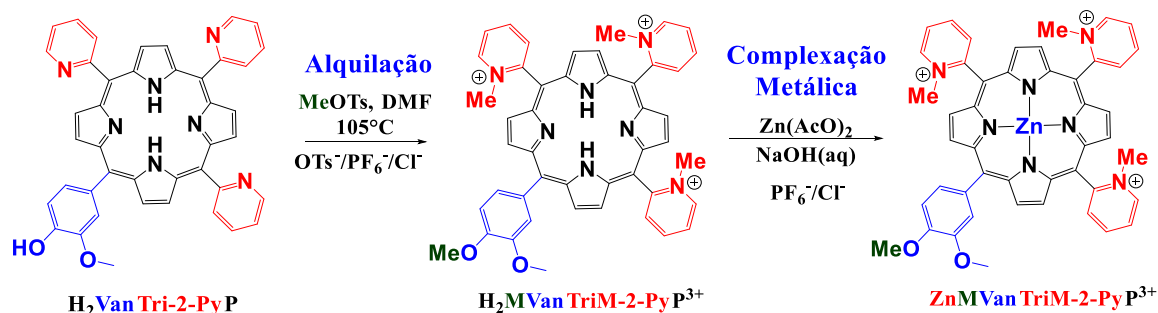


Figura 19 - Esquema da obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

O sistema $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ exibe vantagens significativas em comparação ao seu protótipo estrutural simétrico, do tipo A_4 , ZnTM-2-PyP^{4+} . O desenho do sistema $[\text{ZnA}_3\text{B}]^{3+}$ proporciona a capacidade independente de controlar a lipofilia por meio da modificação da vanilina, além das cargas por meio da alquilação dos grupos 2-*N*-piridilas (**Fig. 20**) (SARMENTO-NETO, 2021).

A alquilação dos grupos 2-piridila confere solubilidade em água ao composto, tornando-o anfifílico. Essa característica é fundamental para a eficácia do FS, pois facilita sua penetração através das membranas lipídicas das células, garantindo sua disponibilidade e distribuição nos tecidos, otimizando sua ação terapêutica (LIMA; REIS, 2023). Além disso, a questão das cargas é crucial, uma vez que a superfície das células

geralmente é carregada negativamente, o que pode resultar em uma maior captação celular de FSs catiônicos (SOUZA *et al.*, 2021b).

A incorporação do Zn(II) no centro porfirínico é mantida devido a todas as vantagens discutidas na seção 2.3.3. Por outro lado, as porfirinas simétricas $[ZnA_4]^{4+}$, apesar de terem se mostrado bons fotossensibilizadores, não apresentam a mesma flexibilidade para o controle independente de cargas e lipofilia/volume em sua estrutura. A notável flexibilidade da $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$ resulta da substituição de um grupo catiônico, o 2-*N*-metilpiridínio, por um grupo neutro, a metilvanilina (SARMENTO-NETO, 2021).

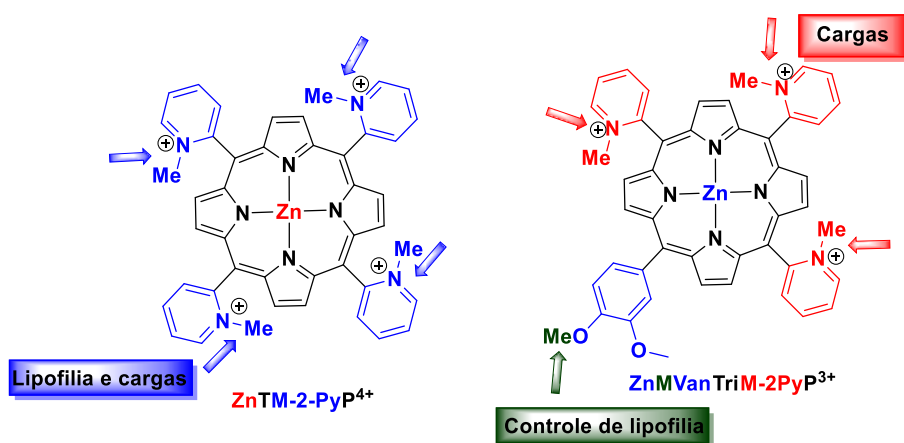


Figura 20 - Comparativo entre a Zn(II) 2-*N*-alquilpiridínioporfirina do tipo $[ZnA_4]^{4+}$ $ZnTM-2-PyP^{4+}$ e a Zn(II)-porfirinas tetracatiônica do tipo $[ZnA_3B]^{3+}$ $ZnMVanTriM-2-PyP^{3+}$.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi sintetizar a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, pertencente à classe das porfirinas de Zn(II) do tipo A_3B , em que A representa o grupo 2-*N*-metilpiridínio e B indica o grupo *O*-metilvanilina. Além disso, realizar suas caracterizações e estudar, pela primeira vez, seu efeito como fotossensibilizador na inativação fotodinâmica direcionada a fungos da espécie *Candida albicans*.

3.1.1 Objetivos específicos

- Investigar a síntese da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ via alquilação simultânea dos grupos 2-piridila (A) e da vanilina (B) da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ buscando, em particular, reduzir o tempo de síntese.
- Realizar a metalação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ com Zn(II) por rotas distintas, minimizando os tempos de reação necessários para obter a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$.
- Realizar as caracterizações da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$.
- Avaliar a lipofilia da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ via medidas de $\log P_{\text{ow}}$ e fator de retenção cromatográfico em comparação aos sistemas $[\text{ZnA}_4]^{4+}$ da literatura.
- Avaliar comparativamente o efeito da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e da ZnTM-2-PyP^{4+} como fotossensibilizadores na inativação de *Candida albicans* (ATCC 90028).

4 METODOLOGIA

4.1 Reagentes e solventes

Os seguintes reagentes, solventes e adsorventes foram utilizados (Tabela 1), sem purificação prévia:

Tabela 1 - Reagentes e solventes utilizados.

Reagente e Solvente	Marca
Sílica-gel para CCD com e sem indicador de fluorescência	Sigma-Aldrich
Sílica-gel de grau cromatográfico (60 Å, 70-230 mesh)	
2-piridinacarboxaldeído, 99%	
Pirrol, 98%	
Cloreto de tosila, 98%	
Ácido heptafluorobutírico, 98%	
Acetato de zinco(II) diidratado, ≥98%	
Aliquat 336 (predominantemente cloreto de <i>N</i> trioctilmetilamônio)	
Hexafluorofosfato de amônio, ≥95%	
Vanilina, 98%	
Acetona, >99%	Biograde
Clorofórmio, >99%	
Diclorometano, >99%	
Éter etílico, >99%	
Metanol, >99%	
<i>N,N</i> -dimetilformamida, >99%	
Hexano, >99%	Tedia
Acetonitrila, >99%	
Ácido acético, >99%	
Bicarbonato de sódio, 99%	Química moderna
Carbonato de potássio, 99%	
Cloreto de sódio, 99%	
Hidróxido de sódio, 99%	
Nitrato de potássio, 99%	Dinâmica
<i>iso</i> -Propanol, 98%	

4.1.1 Tosilato de Metila (MeOTs)

A síntese do tosilato de metila (MeOTs) foi realizada seguindo uma adaptação descrita na literatura (GUAN *et al.*, 2010). Para a obtenção do MeOTs, 60 mL de metanol foram adicionados a um balão de fundo redondo contendo 100 mL de CH₂Cl₂ em um banho de gelo. Em seguida, 9,5 mL de uma solução aquosa concentrada de NaOH (~10 mol L⁻¹) foram adicionados. Após aguardar 10 min para restabelecer o equilíbrio térmico,

18 g de cloreto de tosilato (0,095 mols) foram adicionados lentamente. Após 3 horas de reação, o MeOTs foi purificado por meio de extração líquido-líquido com HCl 2 mol L⁻¹ (2 × 10 mL) para neutralizar o sistema básico. As etapas de extração foram continuadas com água destilada (3 × 10 mL), NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ (3 × 10 mL) e solução saturada de NaCl (2 × 10 mL). A fase orgânica resultante foi coletada, tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada, e o solvente foi removido em um evaporador rotatório (GUAN *et al.*, 2010). Tipicamente, este procedimento resultou no isolamento de 10 mL de MeOTs na forma de um óleo incolor com características cromatográficas comparáveis com uma amostra comercial (Sigma-Aldrich) e rendimento isolado de 65%.

4.2 Análise e Equipamentos

4.2.1 Cromatografia em Camada Delgada em sílica gel (CCD-SiO₂)

As análises realizadas em CCD-SiO₂ foram realizadas em placas cromatográficas comerciais de sílica-gel suportadas em alumínio (Sigma-Aldrich), com ou sem indicador de fluorescência.

4.2.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis

Os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-visível foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1800) com resolução de 0,5 nm, utilizando-se cubetas de quartzo ou vidro com 1 cm de caminho óptico. Foram utilizados solventes como acetona para porfirina neutra, água ou tampão borato pH 9,3 (0,1 mol L⁻¹) para porfirinas catiônicas.

4.2.3 Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de emissão e excitação das Zn(II)porfirinas (1,0 μmol L⁻¹) foram registrados em solução aquosa de tampão fosfato (0,01 mol L⁻¹, pH 7,2), à temperatura ambiente, em um ângulo de 90° (ângulo reto) utilizando cubeta de quartzo. O equipamento utilizado foi o espectrofluorímetro Agilent Cary Eclipse, com lâmpada pulsada de Xenônio de 450 W como fonte de excitação. Os espectros de emissão foram coletados no intervalo espectral de 550 a 750 nm, excitado em 425 nm para a ZnTM-2-PyP⁴⁺ e em 428 nm para a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺. Os espectros de excitação foram

registrados de 350 a 500 nm, com emissão em 660 nm para a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e 655 nm para a ZnTM-2-PyP⁴⁺. Os espectros de emissão e excitação foram obtidos com auxílio do doutorando Cristiano Tenório dos Santos (PPGQ/UFPB).

4.2.4 *Análise Termogravimétrica*

A análise termogravimétrica (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) foram obtidas simultaneamente em um equipamento da marca Shimadzu DTG-60. A análise foi realizada no intervalo de temperatura de 30 a 130 °C, em cadinhos de alumina, sob atmosfera dinâmica de N₂, com fluxo de 50 cm³/min e razão de aquecimento de 10 °C/min.

4.2.5 *Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H (RMN de ¹H)*

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H) da porfirina base-livre e da Zn(II)porfirina foram registrados com frequência de operação 200 MHz ou de 500 MHz. Para as análises de RMN de ¹H foi utilizado o solvente *d*⁶-DMSO. O tetrametilsilano (TMS) foi empregado como padrão interno na maioria dos espectros. Os espectros registrados em *d*⁶-DMSO sem TMS foram calibrados a partir do sinal de DMSO residual em δ 2,50 (GOTTLIEB; KOTLYAR; NUDELMAN, 1997). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises da UFPB (LMCA-UFPB).

4.2.6 *Espectrometria de massas (ESI-MS)*

A análise por espectrometria de massas por ionização por *eletrospray* (ESI-MS) da Zn(II)porfirina foi realizada no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (DQ-UFMG). Utilizou-se um espectrômetro de massas IT-TOF da Shimadzu para a aquisição dos dados. A amostra foi preparada em uma mistura de H₂O-MeCN (1:1, v/v; contendo 0,1%, v/v de ácido heptafluorobutírico, HFBA) e introduzida no instrumento por infusão direta.

4.3 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂VanTri-2-PyP)

A síntese da porfirina A₃B, onde A= 2-piridila e B= vanilina, foi realizada envolvendo a condensação de pirrol com dois aldeídos distintos: o 2-piridinacarboxaldeído e a vanilina. A proporção entre os aldeídos utilizada nessa reação seguiu a estequiometria de 3:1 (**Fig. 21**), com base em resultados anteriormente reportados (SARMENTO-NETO, 2021).

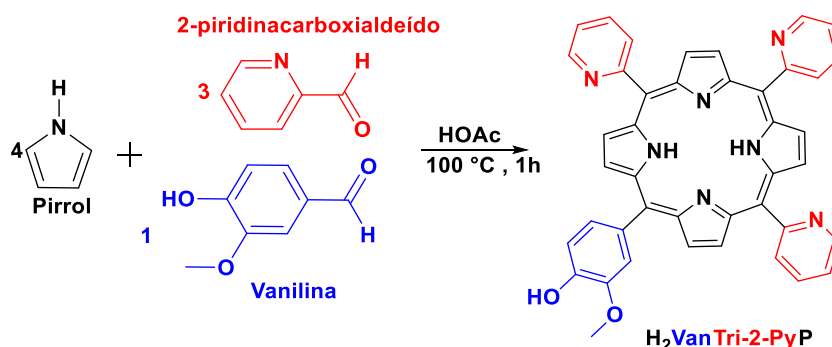


Figura 21 - Esquema geral de síntese da porfirina H₂VanTri-2-PyP a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e a vanilina.

Uma representação esquemática das etapas de síntese e purificação da H₂VanTri-2-PyP está ilustrada na Figura 22.

Em um balão de fundo redondo, contendo 40 mL de ácido acético, procedeu-se ao aquecimento em banho de óleo até que a temperatura do ácido se estabilizasse em 100 °C. Posteriormente, 380 mg de vanilina (2,5 mmol) foi dissolvida em ~2 mL de ácido acético e transferida quantitativamente para o balão de reação com o auxílio de uma porção de ~8 mL de solvente, totalizando 50 mL de ácido acético no balão. Um intervalo de 10 minutos foi necessário para que o sistema alcançasse novamente o equilíbrio térmico a 100 °C. Em seguida, adicionou-se 713 µL (7,5 mmol) de 2-piridinacarboxaldeído, seguido de uma adição gradual de 700 µL (10 mmol) de pirrol (**Fig. 22**). O progresso da reação foi monitorado através de CCD-SiO₂ e espectroscopia UV-vis.

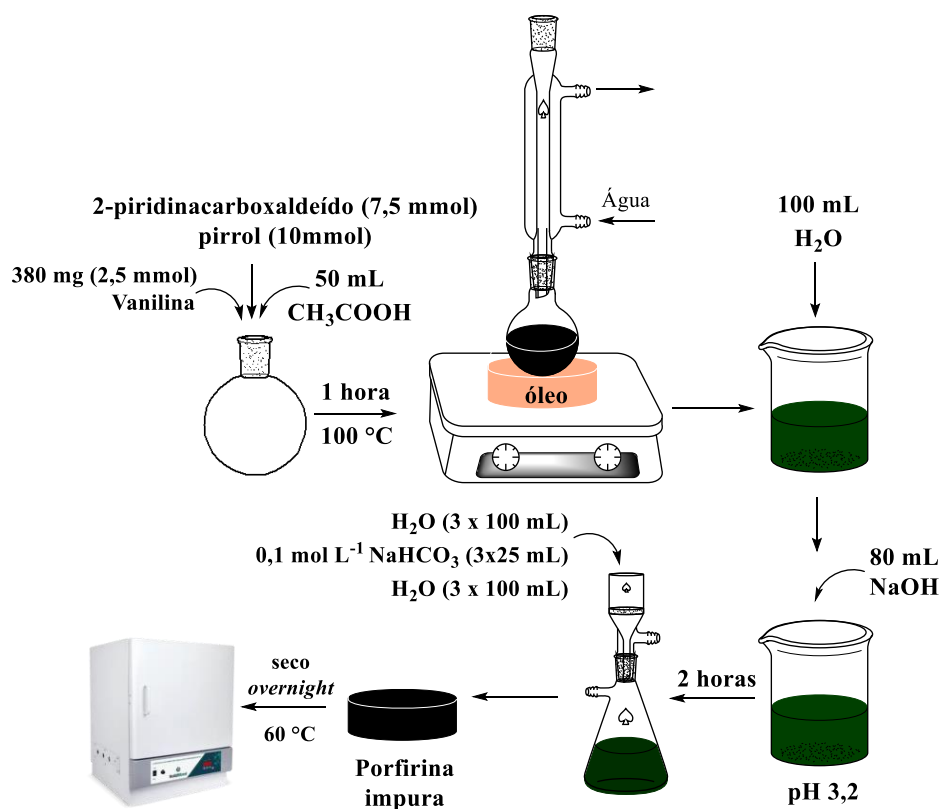


Figura 22 - Esquema geral das etapas da síntese e purificação inicial da porfirina H₂VanTri-2-PyP.

Decorrido o período de 1 h de reação, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente e em seguida diluído com 100 mL de água. Após isso, efetuou-se o ajuste da acidez do meio com aproximadamente 80 mL de uma solução aquosa de NaOH (1 mol L⁻¹), até que o pH atingisse 3,2. Neste estágio, foi evidenciada a formação de um precipitado escuro, identificado como a porfirina em sua forma impura. O sistema permaneceu em repouso por um intervalo de 2 horas, ao término do qual o precipitado foi coletado por meio de filtração a vácuo. Posteriormente, realizou-se a lavagem do precipitado utilizando água (3 x 100 mL), seguida de uma solução de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ (3 x 25 mL), e, por fim, água (3 x 100 mL). A porfirina impura obtida foi então submetida a um processo de secagem *overnight* em uma estufa ajustada a 60 °C (**Fig. 22**).

Uma representação para as etapas seguintes de purificação da H₂VanTri-2-PyP está ilustrada na Figura 23.

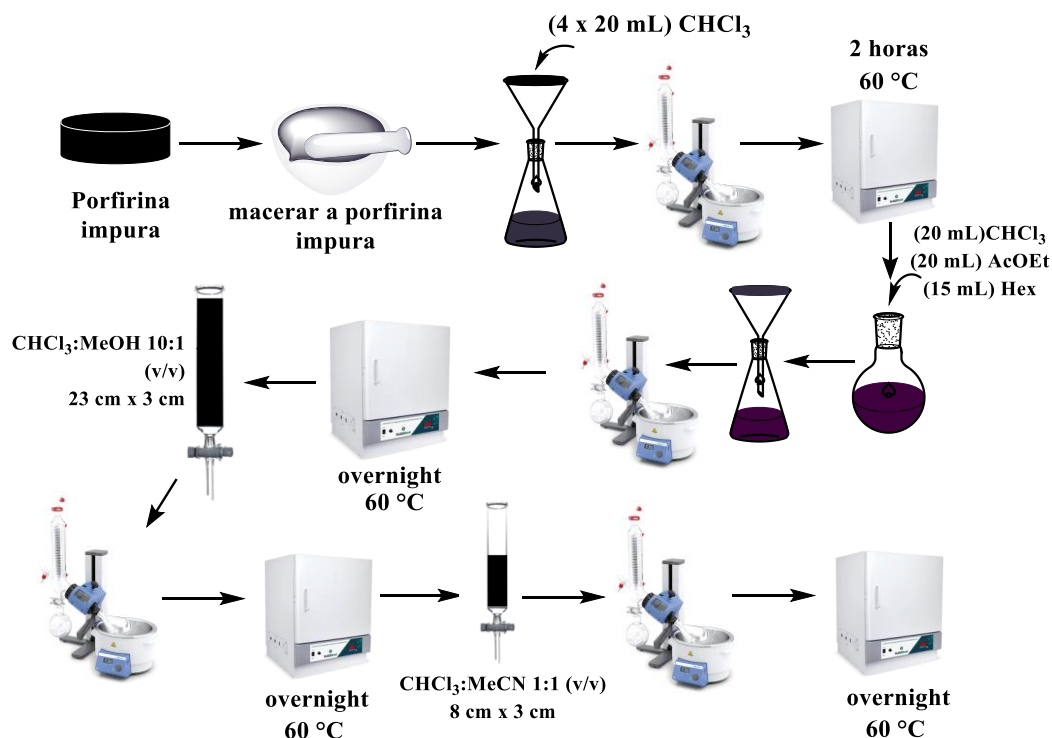


Figura 23 - Esquema geral das etapas finais de purificação da porfirina $H_2VanTri-2-PyP$.

A porfirina impura obtida na síntese da $H_2VanTri-2-PyP$ foi submetida a um processo de extração sólido-líquido utilizando alíquotas de $CHCl_3$ (4 × 20 mL). Cada alíquota foi filtrada, analisada *via* CCD- SiO_2 ($CHCl_3:MeCN$ 1:1 v/v) e coletada em frascos Erlenmeyer individuais (**Fig. 23**). Os sobrenadantes resultantes foram combinados e, em seguida, levados à secura em evaporador rotatório.

O sólido obtido foi solubilizado em 20 mL de $CHCl_3$. Em seguida, foram adicionados a esta solução, sequencialmente e nesta ordem, 20 mL de $AcOEt$ e 15 mL de hexano. Isso resultou em uma mistura ternária composta por $CHCl_3:AcOEt:Hex$ na proporção de 4:4:3 (v/v/v) (**Fig. 23**). Esta combinação levou à formação de um precipitado de cor escura com sobrenadante violeta. Esse precipitado foi posteriormente separado por filtração, lavado com a mesma mistura ternária $CHCl_3:AcOEt:Hex$ 4:4:3 (v/v/v) e, por fim, o precipitado escuro foi descartado. O sobrenadante desta etapa (um líquido violeta) e as soluções resultantes da lavagem com a mistura ternária foram coletados e combinados.

Em seguida, os solventes foram removidos *via* evaporação rotatória sob pressão reduzida. O sólido resultante de coloração roxa foi submetido a um processo de purificação em duas etapas utilizando cromatografia em coluna de SiO_2 (**Fig. 23**). Na primeira coluna de SiO_2 (dimensões: 23 cm de altura x 3 cm de diâmetro) foi utilizada

uma eluição isocrática com o eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ 10:1 (v/v). Durante esse procedimento, a eluição foi monitorada através de CCD-SiO_2 ($\text{CHCl}_3:\text{MeCN}$ 1:1 v/v) e também por meio de espectroscopia UV-visível.

O processo foi interrompido assim que as porfirinas foram completamente eluídas; as impurezas de cor escura (polipirróis) permaneceram retidas na sílica e foram subsequentemente descartadas. As frações que continham a mistura de porfirinas foram combinadas e submetidas a um processo de evaporação rotatória. Em seguida, foram secas *overnight* em uma estufa a 60 °C.

O sólido de coloração violeta foi então submetido a uma segunda coluna de SiO_2 (dimensões: 8 cm de altura x 3 cm de diâmetro). Nesta etapa, a eluição isocrática foi conduzida utilizando uma mistura de $\text{CHCl}_3:\text{MeCN}$ 1:1 (v/v). A porfirina $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ foi o segundo composto porfirínico a ser eluído nesta segunda coluna cromatográfica. As propriedades cromatográficas e espectroscópicas foram consistentes com as descritas anteriormente (SARMENTO-NETO, 2021). A massa isolada foi de 20-25 mg, representando um rendimento de 2%.

CCD-SiO₂ ($\text{CHCl}_3:\text{MeCN}$, 1:1 v/v): $R_f = 0,53$.

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

RMN de ¹H (500 MHz; *d*⁶-DMSO; TMS): δ 9,54 (s, 1H, OH), 9,10 (d, 3H, $J_{\text{H3H4}} = 4,1$ Hz, *H*³-piridil), 9,01 (s, 2H, *H* β -pirrol), 8,84 (s, 6H, *H* β -pirrol), 8,36 (d, 3H, $J_{\text{H6H5}} = 7,4$ Hz, *H*⁶-piridil), 8,28 (t, 3H, $J_{\text{H5H6}} = 7,2$ Hz, *H*⁵-piridil), 7,88 (m, 3H, *H*⁴-piridil), 7,82 (s, *H*²-fenil), 7,63 (d, 1H, $J_{\text{H6H5}} = 8,0$ Hz, *H*⁶-fenil), 7,24 (d, 1H, $J_{\text{H5H6}} = 8,0$ Hz, *H*⁵-fenil), 3.93 (s, 3H, *m*-OCH₃), -2.94 (s, 2H, N-H).

4.4 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio 2-il)porfirina ($\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}$)

De um modo geral, a cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina ($\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}$) foi obtida através da alquilação simultânea dos grupos vanilina e piridilas da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**Fig. 24**) (SARMENTO-NETO, 2016).

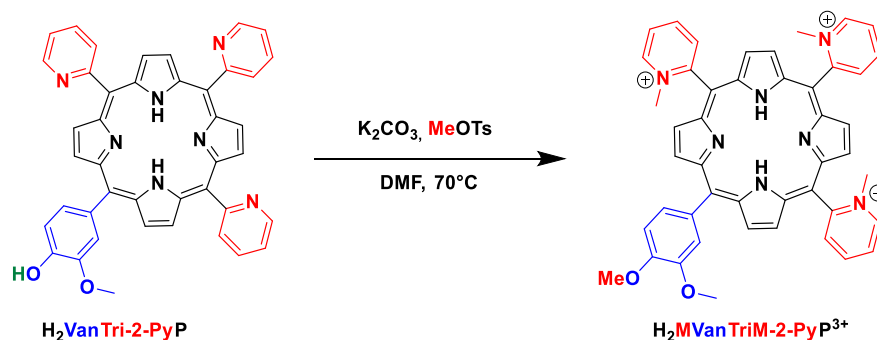


Figura 24 - Esquema geral de síntese da porfirina catiônica $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

Uma representação esquemática para as etapas de síntese da porfirina catiônica $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ está ilustrada na Figura 25.

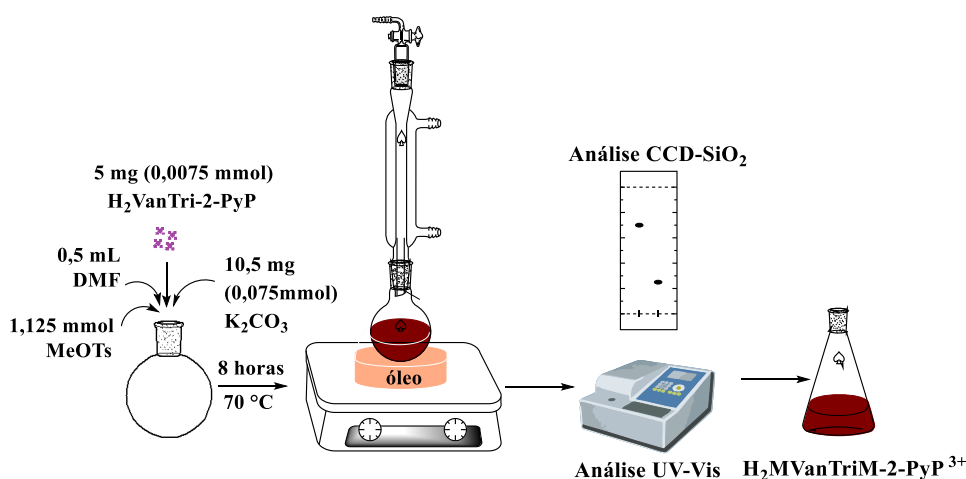


Figura 25 - Esquema geral de síntese da porfirina catiônica $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

A síntese envolveu a dissolução de 5 mg (7,5 μmol) de $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ em 0,5 mL de DMF. Em seguida, adicionaram-se 10,5 mg de K_2CO_3 (75 μmol). O sistema foi aquecido em banho de óleo sob a temperatura de 70 °C, e após 5 minutos foram adicionados 171 μL de tosilato de metila (1,125 μmol), de modo que relação molar tosilato:porfirina fosse de 150:1. A reação foi mantida sob agitação constante a 70 °C por um período de 8 horas (**Fig. 25**). Durante a reação, o progresso da alquilação foi monitorado via CCD- SiO_2 ($\text{KNO}_3(\text{sat})\text{:H}_2\text{O}\text{:MeCN}$, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis, utilizando H_2O como solvente.

Uma representação para as etapas de purificação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ está ilustrada na Figura 26.

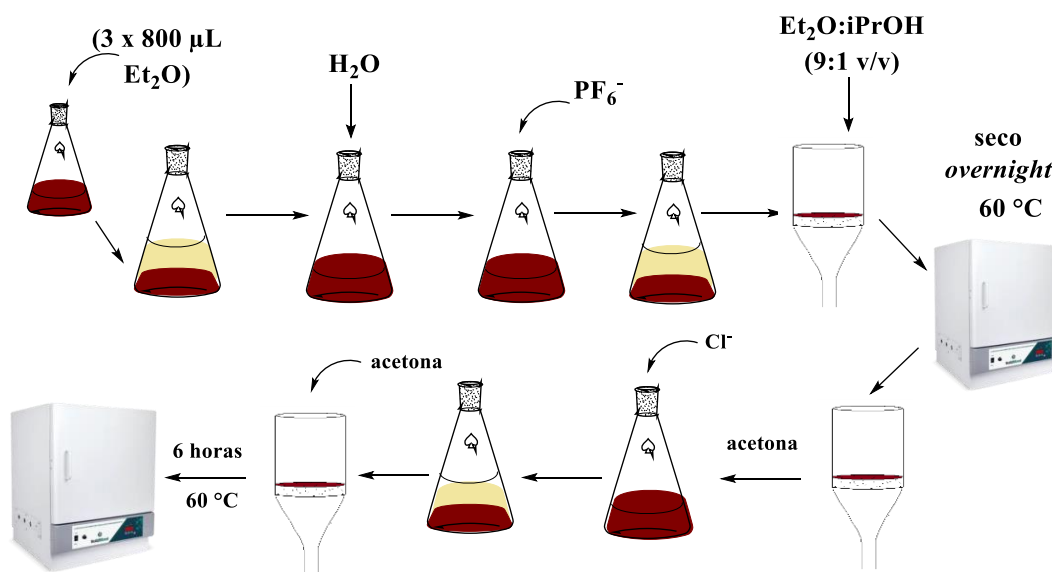


Figura 26 - Esquema geral das etapas de purificação da porfirina $H_2MVanTriM-2-PyPCL_3$.

Após as 8 horas de reação a $70^\circ C$, a mistura reacional foi resfriada e transferida para um Erlenmeyer. Em seguida, adicionou-se $800\ \mu L$ de Et_2O , resultando na precipitação de um material com aspecto pastoso, que aderiu às paredes do Erlenmeyer (**Fig. 26**). O solvente foi eliminado e o material viscoso foi lavado mais duas vezes utilizando porções de $800\ \mu L$ de Et_2O .

Após a remoção do solvente, o material resultante foi dissolvido em água e a porfirina foi precipitada como um sal de PF_6^- com a adição de uma solução aquosa de NH_4PF_6 ($3\ mol\ L^{-1}$). O sólido foi separado por filtração usando um funil de placa sinterizada, seguido de lavagem com uma mistura de $Et_2O:iPrOH$ (9:1 v/v) e secagem *overnight* em estufa a $60^\circ C$ (**Fig. 26**). Em seguida, a porfirina foi resfriada e dissolvida em acetona.

A solução obtida foi posteriormente filtrada utilizando um funil de placa sinterizada, e a $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ foi precipitada na forma de sal de Cl^- por meio da adição gradual de Aliquat 336 (predominantemente cloreto de *N*-trioctilmetilamônio). O sólido obtido passou por lavagem com acetona e, finalmente, secagem em estufa a $60^\circ C$ por 2 horas (**Fig. 26**). O procedimento de metátese ($Cl^-/PF_6^-/Cl^-$) foi repetido para assegurar a pureza da porfirina catiônica. Após a conclusão das etapas de metátese, a $H_2MVanTriM-2-PyPCL_3$ foi transferida para um dessecador. A massa isolada foi de 5,2 mg, representando um rendimento de 83%.

CCD-SiO₂ ($KNO_3(sat):H_2O:MeCN$, 1:1:8 v/v/v): $R_f = 0,25$.

UV-vis (H_2O): λ_{max}/nm : 417 (*Soret*), 517, 583, 635.

RMN de ^1H (200 MHz; d^6 -DMSO; TMS): δ 9,73 (d largo, 3H, H^3 -Piridil), 9,25-9,10 (m, 6H, $\text{H}\beta$ -pirrol), 9,10-9,01 (5H, H^6 -piridil + $\text{H}\beta$ -pirrol) 9,01-8,82 (m, 3H, H^5 -piridil) 8,74 (t, 3H, H^4 -piridil), 7,90-7,65 (m, $\text{H}^{2,5,6}$ -fenil), 4,24-4,01 (m, 9H, Me-piridil), 3,93 (s, 3H, m - H_3CO), -2,85 (s, 2H, N-H).

4.5 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio 2-il)porfirinatozinc(II) ($\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^3+$)

4.5.1 Reações exploratórias em microescala

A síntese da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ foi realizada em microescala por meio de duas rotas distintas, ambas partindo da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^3+$, conforme representado na Figura 27.

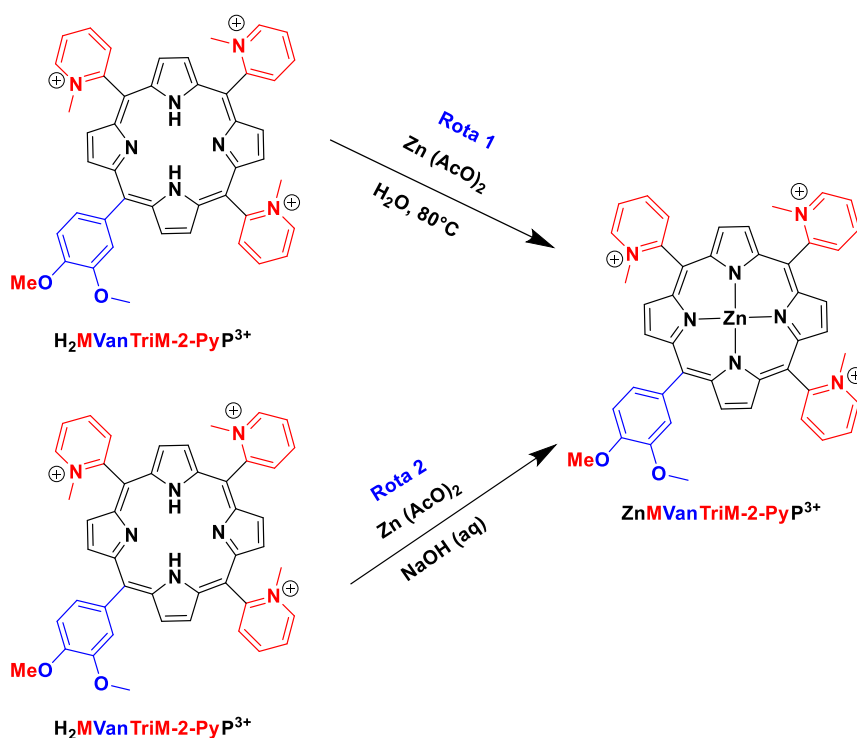


Figura 27 - Obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ por duas rotas: 1) utilizando água como solvente e aquecimento a 80°C ; 2) empregando hidróxido de sódio aquoso como solvente em temperatura ambiente.

4.5.1.1 Obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ pela Rota 1

A síntese consistiu na dissolução de 2 mg ($2,4\ \mu\text{mol}$) de $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^3\text{Cl}_3$ em 2 mL água, seguidos pela adição de 5 mg de $\text{Zn}(\text{AcO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($24\ \mu\text{mol}$). O sistema

foi então submetido à agitação constante a uma temperatura de 80°C, mantendo-se nessas condições por 25 minutos. O progresso da reação foi monitorado através de CCD-SiO₂ e espectroscopia UV-vis (**Fig. 28**).

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

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

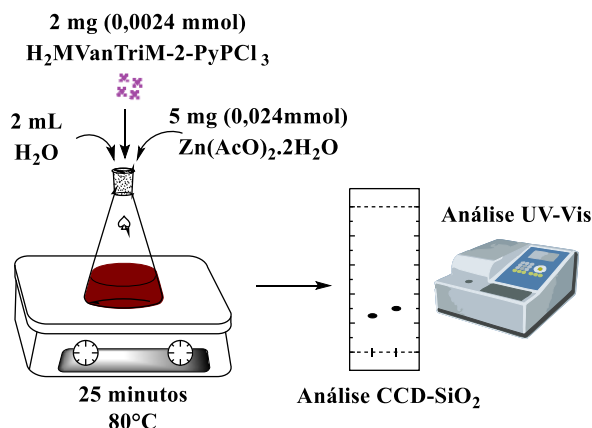


Figura 28 - Esquema geral de teste de obtenção em microescala da Zn(II)-porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ pela Rota 1.

4.5.1.2 Obtenção da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ pela Rota 2

A síntese envolveu a dissolução de 2 mg (2,4 μmol) de H₂MVanTriM-2-PyPCl₃ em uma solução aquosa de NaOH (pH~12), seguida pela adição de 5 mg de Zn(AcO)₂·2H₂O (24 μmol). O sistema foi mantido sob agitação magnética em temperatura ambiente por 25 minutos. O progresso da reação foi acompanhado por meio de CCD-SiO₂ e espectroscopia UV-vis (**Fig. 29**).

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

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

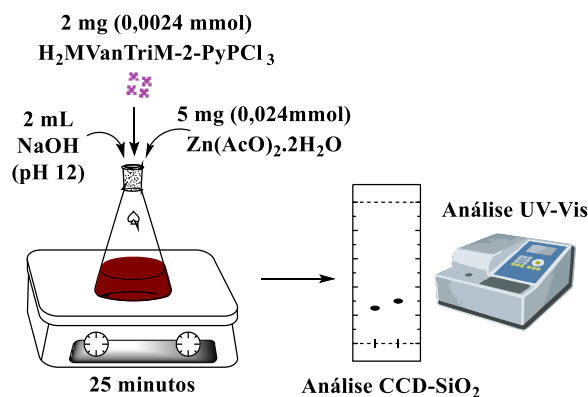


Figura 29 - Esquema geral de teste de obtenção em microescala da Zn(II)-porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ pela rota 2.

4.5.2 Reação de obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyPCL}_3$ em escala preparativa pela Rota 2

A obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyPCL}_3$ foi realizada por meio de uma adaptação do método descrito por BENOVA *et al.* em 2002, utilizado para sintetizar a ZnTM-2-PyPCL_4 (BENOVA *et al.*, 2002) (Fig. 30).

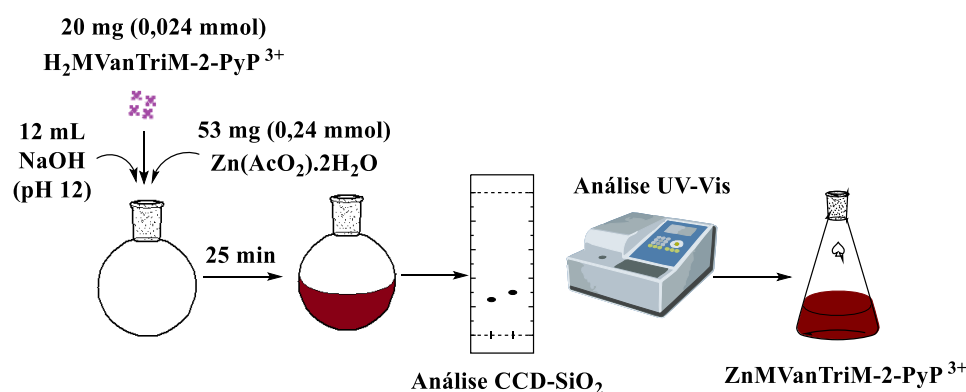


Figura 30 - Esquema geral de síntese da Zn(II)-porfirina catiônica $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$.

A síntese envolveu a dissolução de 20 mg (0,024mmol) de $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyPCL}_3$ em 12 mL de uma solução aquosa de NaOH (pH 12). Posteriormente, adicionaram-se 53 mg de $\text{Zn}(\text{AcO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,24 mmol) à temperatura ambiente. A solução resultante adquiriu uma coloração avermelhada e foi agitada sem a necessidade de aquecimento. O progresso da reação de metalação foi monitorado por CCD-SiO₂ ($\text{KNO}_3(\text{sat})\text{:H}_2\text{O:MeCN}$, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. O sistema foi mantido sob agitação por 25 minutos.

Uma representação para as etapas de purificação da $\text{ZnMVanTriM-2-PyPCL}_3$ está ilustrada na Figura 31. Após o consumo total da base-livre, o sistema foi filtrado em funil de placa sinterizada, e o hidróxido de Zn(II) formado foi lavado com água. Posterior à filtração, o sobrenadante avermelhado foi recolhido, submetido à agitação e a ele adicionaram-se 700 μL de uma solução aquosa de NH_4PF_6 (3 mol. L^{-1}), até a precipitação do composto na forma de sal de PF_6^- . O sólido resultante foi filtrado sob vácuo, lavado com 20 mL de éter etílico e seco *overnight* em estufa, à temperatura de 60°C.

4.6 Determinação da absorvidade molar (ϵ) da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺

Para determinar a absorvidade molar (ϵ) da ZnMVanTriM-2-PyP₃, adotou-se um protocolo espectrofotométrico assistido por análise termogravimétrica (TGA), conforme descrito por Maia, (2023).

A desidratação da ZnMVanTriM-2-PyP₃ por TGA ocorreu na faixa de 30 a 130 °C, sob atmosfera dinâmica de N₂, fluxo de gás de 50 cm³/min e razão de aquecimento de 10 °C/min. A ZnP desidratada presente no cadinho foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 3,0 mL, onde foi preparada uma solução estoque em água. A determinação do ϵ foi enfim realizada por meio da adição de alíquotas (de volume conhecido) da solução estoque de ZnP em uma cubeta de quartzo contendo 3 mL de H₂O. As medidas foram realizadas em triplicata para cada concentração de ZnP testada. O valor do ϵ foi expresso como o coeficiente angular da relação linear entre absorbância e a concentração de ZnP na cubeta.

4.7 Determinação do coeficiente de partição em *n*-octanol/água.

O coeficiente de partição *n*-octanol/água (log P_{OW}) foi medido indiretamente, a partir da conversão da medida do coeficiente de partição *n*-butanol/água, conforme metodologia descrita na literatura para sistema à base de Mn(III)-porfirinas (KOS *et al.*, 2009). A medida experimental utilizou a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺, empregando uma variação do método de frascos agitados (ENGELMANN *et al.*, 2007c; KOS *et al.*, 2009).

Para saturar ambos os solventes em ambas as fases, água deionizada e *n*-butanol foram vigorosamente misturados por 24 h à temperatura ambiente, sendo as fases, então, separadas. Em seguida, em um tubo de 2 mL, 0,1 mL de uma solução de ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em água (saturada com *n*-butanol) foi adicionada à 1 mL de *n*-butanol (saturado com água). A mistura foi agitada em Vórtex por 3 min e centrifugada a 4000 rpm por 5 min para separar as fases. As concentrações de ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em cada fase foram medidas por UV-vis. Se alguma diluição fosse necessária para as medidas UV-vis, a fase aquosa seria diluída com água saturada com *n*-butanol, enquanto para a fase orgânica, *n*-butanol saturado com água seria utilizado. As linhas de base dos espectros (brancos) foram registradas de acordo com a fase em análise.

Assim, os coeficientes de partição foram obtidos em *n*-butanol/água (log P_{BW}), com base na equação 14 (KOS *et al.*, 2009). Essa análise considera a mesma absorvidade

molar nos dois solventes (água e *n*-butanol), sendo a partição a única responsável por quaisquer variações na absorbância (ENGELMANN *et al.*, 2007c).

$$\log P_{BW} = \log \left(\frac{C_{nBuOH}}{C_{H_2O}} \right) \quad (14)$$

Os coeficientes foram inicialmente obtidos em *n*-butanol/água ($\log P_{BW}$) e posteriormente convertidos para $\log P_{OW}$ usando a equação 15 (ENGELMANN *et al.*, 2007c). Essa correlação entre os coeficientes de partição em *n*-butanol/água ($\log P_{BW}$) e *n*-octanol/água ($\log P_{OW}$) é bem estabelecida na literatura (COLLANDER *et al.*, 1951; SEILER, 1974; TAYAR *et al.*, 1991).

$$\log P_{OW} = -0,54 + 1,55 \log P_{BW} \quad (15)$$

4.8 Inativação fotodinâmica de leveduras de *Candida albicans* utilizando ZnTM-2-PyP⁴⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP³⁺

A ZnTM-2-PyP⁴⁺ utilizada para os ensaios fotoinativação de leveduras de *Candida albicans* foi preparada pelo grupo na ocasião dos estudos iniciais de síntese de metaloporfirinas do tipo [ZnA₄]⁴⁺ e [ZnA₃B]³⁺ (SARMENTO-NETO, 2021). As soluções estoque de ZnTM-2-PyP⁴⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foram preparadas em tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ de pH=7,2 e as concentrações da ordem de 1 mmol L⁻¹ foram determinadas espectrofotometricamente utilizando os seguintes valores de absorvidade molar para a ZnTM-2-PyP⁴⁺ ($\epsilon_{425 \text{ nm}} = 324.000 \text{ cm}^{-1} \text{ L mol}^{-1}$) (SOUZA *et al.*, 2021b) e para a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ($\epsilon_{428 \text{ nm}} = 198.534 \text{ cm}^{-1} \text{ L mol}^{-1}$).

Os ensaios de PDI de *Candida albicans* (ATCC 90028) foram realizados durante uma missão de estudo no grupo da Profa. Dra. Adriana Fontes (UFPE), participando dos experimentos conduzidos pela mestrandia Geyse Santos de Lima (PPG Engenharia Biomédica, UFPE).

Foram conduzidos ensaios de fotoinativação em leveduras de *C. albicans* por meio de três ensaios independentes, cada um executado em triplicata utilizando placas de 96 poços, explorando três grupos experimentais: i) controle negativo – sem ZnP, no escuro; ii) grupos escuro – ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ou ZnTM-2-PyP⁴⁺ sem irradiação; e iii) grupos tratados – células submetidas à incubação com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ou ZnTM-2-PyP⁴⁺, seguida de exposição subsequente à luz.

As soluções de ZnPs foram diluídas em tampão fosfato salino (PBS, do inglês “*phosphate buffered saline*”) para atingir as concentrações de ZnP $3 \mu\text{mol L}^{-1}$, $5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. Em cada poço dos experimentos na microplaca foram adicionados $100 \mu\text{L}$ de uma das soluções diluídas de ZnPs, e $100 \mu\text{L}$ de uma suspensão de *C. albicans* a 1×10^7 UFC/mL em PBS, resultando em um volume final de $200 \mu\text{L}$. Assim, considerando a diluição com a suspensão de microrganismo, as concentrações finais de ZnPs nos experimentos foram de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Para o grupo controle sem ZnP, a solução de ZnP foi substituída por $100 \mu\text{L}$ de PBS.

As suspensões de leveduras foram submetidas à pré-incubação com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e ZnTM-2-PyP⁴⁺ por 10 min no escuro, seguido por irradiação durante 3 min com LED azul (comprimento de onda $410 \pm 20 \text{ nm}$ LEDbox, Biolambda), irradiância de $24,1 \text{ mW/cm}^2$ e dose de luz de $4,3 \text{ J/cm}^2$ (Fig. 32). Para o grupo controle negativo (sem ZnP e sem irradiação) e para os grupos escuro (com ZnP e sem irradiação), o tempo de pré-incubação de 10 min no escuro foi seguido por mais 3 min no escuro, totalizando 13 min de experimento no escuro.

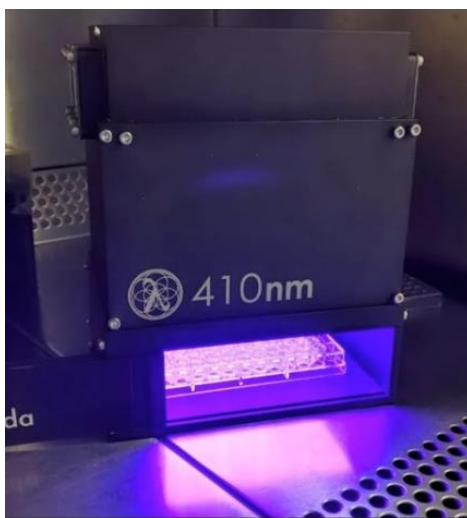


Figura 32 - Fonte de luz LED azul ($410 \pm 20 \text{ nm}$, LEDbox, Biolambda) empregada para a realização da inativação fotodinâmica.

Após a realização da PDI, diluições seriadas foram realizadas em placa de microtitulação de 96 poços. Os grupos controle (sem ZnP e sem irradiação) e os grupos escuro (com ZnP e sem irradiação) foram diluídos até um fator final de 320, enquanto os grupos tratados (com ZnP e com irradiação) alcançaram um fator final de 80. A primeira diluição consistiu na transferência de $20 \mu\text{L}$ dos poços tratados para um novo poço com $180 \mu\text{L}$ de PBS, resultando em $200 \mu\text{L}$ e um fator de diluição de 10. Nas diluições

subsequentes, 100 μL da diluição anterior eram transferidos para um novo poço com 100 μL de PBS, resultando em um fator de diluição de 20. Este processo foi repetido até alcançar a diluição final (320 para os grupos controle e escuro e 80 para os grupos tratados) relativo à suspensão inicial, conforme ilustrado na Figura 33.

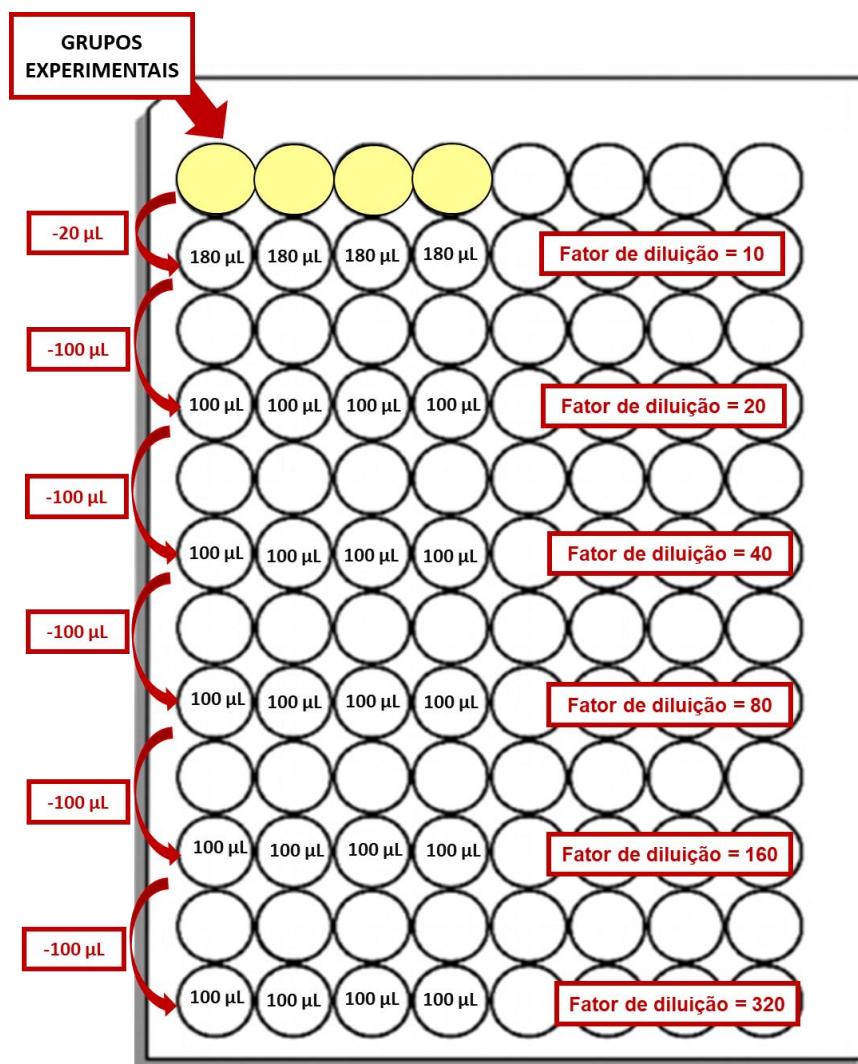


Figura 33 - Esquema representativo da diluição seriada.

A avaliação do impacto da PDI nas leveduras de *C. albicans* seguiu o protocolo de contagem de UFC/mL descrito por JETT *et al.*, 1997. Após a realização das diluições seriadas, os grupos controle e escuro alcançaram um fator de diluição final de 320, enquanto os grupos tratados alcançaram um fator de diluição final de 80. Em seguida, 10 μL das diluições foram inoculados em placas de Petri contendo meio ágar Sabouraud Dextrose, assegurando que as gotas não se misturassem durante o processo de inoculação (Fig. 34). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A quantificação das unidades

formadoras de colônias foi realizada, levando em consideração o fator de diluição da amostra. Os resultados foram expressos em UFC/mL($\log_{10}$). Para atender aos critérios de precisão estatística, cada diluição foi semeada em triplicata e as UFCs foram contadas apenas em placas que apresentaram até 30 colônias visíveis.

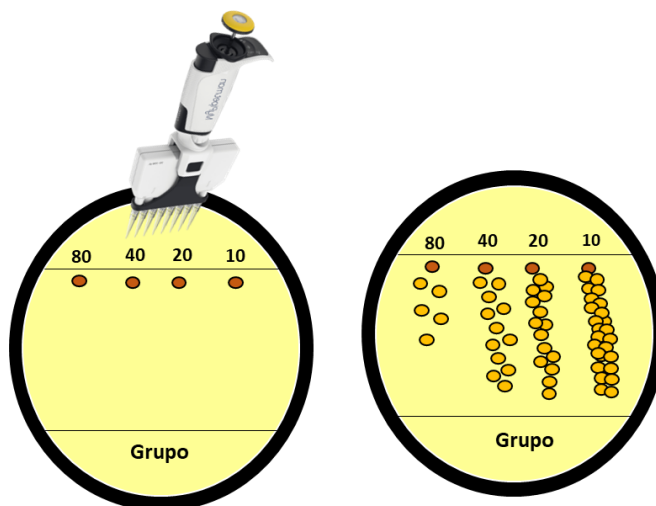


Figura 34 - Representação esquemática da contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL) para os diferentes fatores de diluição (10, 20, 40 e 80) utilizados na diluição seriada dos grupos experimentais.

4.8.1 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad 7. O número de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) por tipo de fotossensibilizador foi analisado estatisticamente usando a análise de variância de um fator (ANOVA). Além disso, foi realizada uma análise post-hoc de Tukey para identificar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais. Resultados com valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proposta desse trabalho envolveu a síntese da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (onde, A = 2-piridila e B = *O*-metilvanilina), bem como sua aplicação na PDI de *C. albicans*. O desenho estrutural do tipo [ZnA₃B]³⁺ se baseou nas propriedades fotoquímicas conhecidas das ZnPs do tipo [ZnA₄]⁴⁺ à base de *meso*-tetraquis(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatozinco(II), que apesar de serem bons candidatos a fotossensibilizadores, não possibilitam o controle independente de cargas e lipofilia/volume em sua estrutura.

5.1 Síntese e caracterização da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂VanTri-2-PyP)

Em um procedimento geral, a vanilina foi condensada com pirrol e 2-piridinacarboxaldeído em ácido acético, sob aquecimento a 100°C por um período de 1 hora. Esse método foi uma modificação da técnica convencional usada para sintetizar *meso*-tetraarilporfirinas. (ADLER; LONGO; SHERGALIS, 1964). O isolamento inicial da porfirina desejada, na sua forma impura, foi realizada por meio de uma combinação de técnicas de precipitação de *N*-piridilporfirinas em meio aquoso (HAMBRIGHT *et al.*, 1985). Este procedimento foi seguido por etapas de extração sólido-líquido, precipitação seletiva de impurezas e cromatografia em coluna.

A condensação do pirrol com a mistura dos dois aldeídos tem o potencial de gerar uma variedade de até seis *meso*-tetraarilporfirinas distintas, incluindo as porfirinas do tipo A₄, A₃B, *cis*-A₂B₂, *trans*-A₂B₂, AB₃ e B₄ (**Fig. 35**). Nesse contexto, os termos A e B designam, respectivamente, os grupos 2-piridil e vanilina.

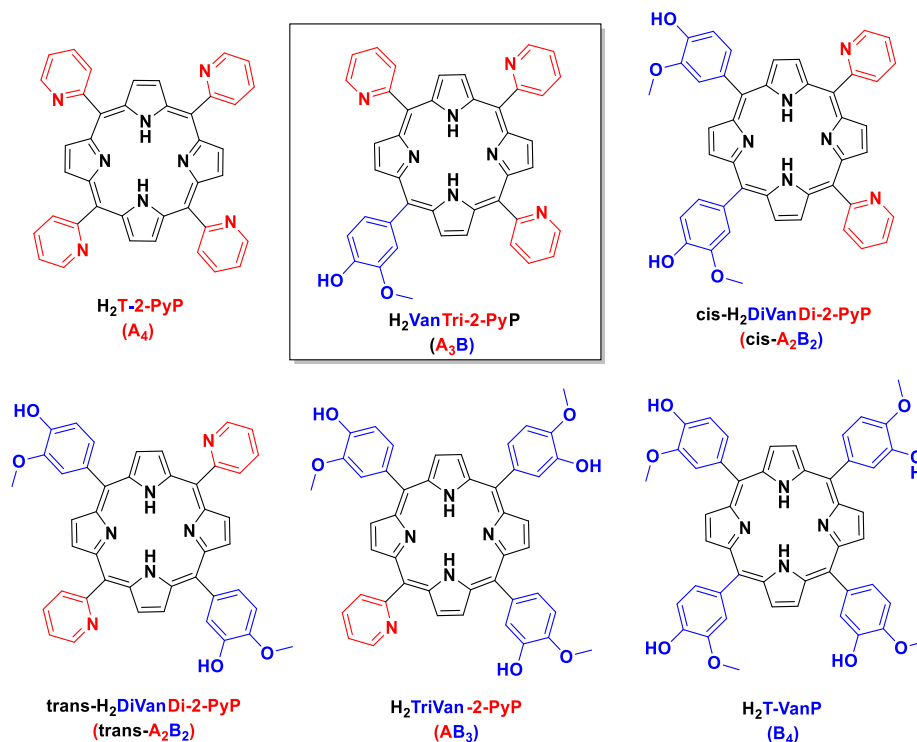


Figura 35 - Ilustração dos possíveis produtos obtidos a partir da condensação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e vanilina, com destaque para a porfirina A₃B de interesse, representada pela fórmula H₂VanTri-2-PyP.

A escolha da proporção estequiométrica 3:1 entre os aldeídos foi feita com base em resultados reportados anteriormente (SARMENTO-NETO, 2016). Esta proporção é ideal para se obter o produto de interesse H₂VanTri-2-PyP com maior rendimento.

Após a reação ter sido concluída e o sistema ter sido resfriado até atingir a temperatura ambiente, os procedimentos de purificação foram iniciados. Diferentemente das *meso*-tetrafenilporfirinas (TPPs), as *N*-piridilporfirinas não precipitam diretamente do meio reacional ácido. Isso ocorre devido à protonação dos grupos piridilas, o que as torna solúveis em meio ácido (HAMBRIGHT *et al.*, 1985). Essa característica dificulta o isolamento das *N*-piridilporfirinas e exige uma estratégia de purificação diferente daquela utilizada para as TPPs (SARMENTO-NETO, 2021).

A purificação da porfirina iniciou-se com a diluição do meio reacional (em ácido acético) com água, resultando em uma solução com pH ~2. Em seguida, o pH da solução foi ajustada para 3,2 com adição de solução de NaOH (1 mol. L⁻¹). O ajuste do pH, levou à formação de um precipitado escuro, denominado “porfirina impura” – contendo, como revelado por análise por CCD-SiO₂, mistura de porfirinas do tipo A₄, A₃B e A₂B₂, juntamente com “polipirróis” (misturas de polímeros indefinidos de pirrol e aldeídos condensados). A filtração e lavagem da “porfirina impura” com solução de NaHCO₃ (0,1 mol L⁻¹) removeu resquícios de ácido acético, que poderiam atrapalhar as etapas posteriores de purificação. A seguir, a secagem do filtrado é crucial garantir que o sólido esteja completamente seco para as etapas posteriores de purificação.

A purificação da H₂VanTri-2-PyP foi continuada por meio de extração sólido-líquido utilizando alíquotas de clorofórmio, que solubilizam as porfirinas com maior seletividade em relação aos polipirróis. As fases clorofórmio foram filtradas e submetidas à análise por CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN 1:1 v/v) para verificar a presença de porfirina em cada uma delas, com o intuito de evitar a coleta de alíquotas que apresentassem uma quantidade significativa de polipirrol. Esse procedimento resultou em uma diminuição considerável das impurezas nas frações de porfirinas extraídas pelo clorofórmio. Em seguida, o clorofórmio foi evaporado e o sólido obtido foi seco em estufa.

Este extrato, rico em porfirinas, foi então submetido à precipitação seletiva de impurezas (polipirróis) ajustando-se a polaridade do meio com a adição de acetato de etila e *n*-hexano, resultando em uma mistura ternária CHCl₃:AcOEt:*n*-hexano (4:4:3 v/v/v). Neste procedimento é importante destacar que os solventes CHCl₃, AcOEt e *n*-hexano devem ser adicionados nesta ordem; a adição de *n*-hexano é acompanhada pela formação

de um precipitado escuro de impurezas, enriquecendo o sobrenadante em porfirinas (SARMENTO-NETO, 2021).

Essa etapa de purificação parcial da mistura de porfirinas revelou-se eficaz, resultando em um material com pouco teor de polipirrol. Esse processo facilita significativamente as purificações finais por cromatografia em coluna (SARMENTO-NETO, 2016, 2021).

Os materiais resultantes das etapas prévias constituem uma combinação de porfirinas e impurezas persistentes. Durante a cromatografia em eluente $\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$ 1:1 v/v, os componentes seguem uma ordem crescente de R_f : (i) polipirrol ($R_f \sim 0$), (ii) porfirina $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ ($R_f = 0,33$), (iii) porfirina $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ ($R_f = 0,53$), (iv) impurezas de cor marrom não identificadas e (v) porfirinas A_2B_2 ($R_f = 0,67$ e $0,73$) (**Fig. 36**).



Figura 36 - Placa de CCD-SiO_2 (eluente: $\text{CHCl}_3\text{:MeCN}$ 1:1 v/v) obtida após as etapas de purificação prévias através de extração sólido-líquido e precipitação seletiva de impurezas. Marcações com * indicam as manchas fluorescentes quando observadas sob luz UV de comprimento de onda longo (~ 365 nm).

A purificação final e isolamento da porfirina de interesse $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ ocorreu em duas etapas de cromatografia em coluna. Na primeira etapa cromatográfica em coluna de SiO_2 utilizou-se o eluente $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$ (10:1 v/v) de modo isocrático. O processo de eluição e separação das porfirinas ao longo da coluna/frações foi monitorado pela forte fluorescência vermelha, característica das porfirinas, emitida após excitação com caneta laser de comprimento de onda 405 ± 10 nm. A confirmação da presença de porfirinas nas frações foi feita por análises adicionais utilizando CCD-SiO_2 e UV-vis. Assim, esta primeira coluna eliminou em quase a totalidade o polipirrol, levando à coleta de frações de interesse contendo praticamente apenas porfirinas (**Fig. 37**).



Figura 37 - Placa de CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN 1:1 v/v) das frações combinadas ricas em porfirinas, obtidas após a coluna de SiO₂ eluída com CHCl₃:MeOH (10:1 v/v). Observar que praticamente não há material no ponto de aplicação (R_f ~0) correspondendo a polipirróis. Marcações com * indicam as manchas fluorescentes quando observadas sob luz UV de comprimento de onda longo (~365 nm).

Na segunda etapa da cromatografia em coluna de SiO₂, adotou-se o eluente CHCl₃:MeCN (1:1, v/v) conforme BUENO-JANICE *et al.*, 2015. Esta segunda coluna cromatográfica permitiu a eluição inicial de duas possíveis porfirinas A₂B₂ (R_f = 0,67 e 0,73), seguida pela H₂VanTri-2-PyP (R_f = 0,53). Após a coleta da H₂VanTri-2-PyP, o eluente CHCl₃/MeOH (2:1, v/v) foi empregado para coletar a H₂T-2-PyP da coluna mais rapidamente (porfirina no tipo A₄). O rendimento isolado da H₂VanTri-2-PyP foi 2% (~25 mg por batelada). A Tabela 2 apresenta os valores de R_f para as porfirinas neutras relevantes neste trabalho.

Tabela 2 - Dados comparativos dos fatores de retenção (R_f) em CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 1:1, v/v) das porfirinas neutras relevantes nesse trabalho.

Porfirinas	R _f
H ₂ VanTri-2-PyP	0,53
H ₂ T-2-PyP	0,33

5.1.1 Caracterizações da porfirina neutra H₂VanTri-2-PyP

As caracterizações do composto isolado foram conduzidas utilizando cromatografia em camada delgada (CCD-SiO₂), espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-Vis e RMN de ¹H. Os espectros de UV-vis da H₂VanTri-2-PyP, registrados em acetona, revelaram uma banda Soret, em 415 nm, e quatro bandas Q de menor intensidade (**Tabela 3**) (**Fig. 38**) (SARMENTO-NETO, 2021). Esses resultados são típicos da maioria das porfirinas base-livres, como na porfirina de referência H₂T-2-PyP (**Tabela 3**) (**Fig. 38**) (SARI *et al.*, 1990).

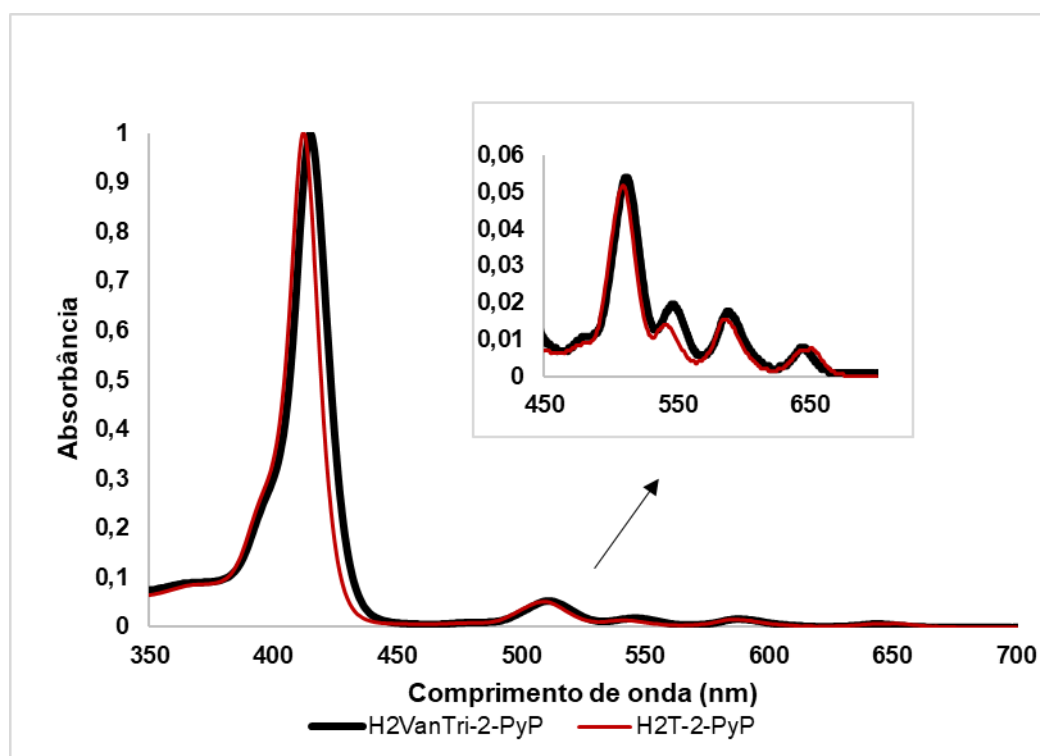


Figura 38 - Espectro de absorção UV-vis normalizado da H₂VanTri-2PyP e H₂T-2-PyP, registrados em acetona. No destaque, a região das bandas Q.

Tabela 3 – Porfirinas neutras e máximos de absorção UV-vis (λ_{max}) obtidos em acetona.

Porfirinas	λ_{max} /nm
H ₂ VanTri-2-PyP	415 (Soret) 511, 545, 588, 644
H ₂ T-2-PyP	413 (Soret), 509, 540, 586, 650

5.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio 2-il)porfirina (H₂MVanTriM-2-PyPCL₃)

A H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ foi obtida *via* alquilação simultânea dos grupos *N*-piridilas e *O*-vanilina da H₂VanTri-2-PyP com MeOTs em DMF a 70°C, sendo necessário o emprego de K₂CO₃ para ionização do grupo OH fenólico da vanilina. A temperatura de 70 °C foi escolhida para minimizar a formação de produtos indesejados. A formação destes produtos na presença de K₂CO₃ em DMF e temperaturas elevadas pode estar associada à ausência de uma atmosfera inerte no meio reacional e à possível oxidação do fenol (vanilina) (MILGRON *et al.*, 1996; CHALEIX *et al.*, 2009).

O tempo de síntese da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ foi diminuído neste trabalho em relação à rota originalmente desenvolvida no nosso grupo (SARMENTO-NETO, 2016).

Foram realizadas adaptações na proporção molar dos reagentes, ajustando a relação de MeOTs:porfirina para 150:1 e de K₂CO₃:porfirina para 10:1. Em contraste, Sarmento Neto (2016) empregou uma proporção de 100:1 para MeOTs:porfirina e 2,5:1 para K₂CO₃:porfirina em sua síntese original. Esses ajustes resultaram em uma otimização significativa no tempo de síntese, reduzindo-o de 17 horas para 8 horas.

Na ausência de K₂CO₃, a metilação do grupo fenol não ocorre, levando à formação da porfirina catiônica análoga H₂VanTriM-2-PyP³⁺ (SARMENTO-NETO, 2016), diferindo da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ apenas no grupo vanilina/*O*-metilvanilina (**Fig. 39**).

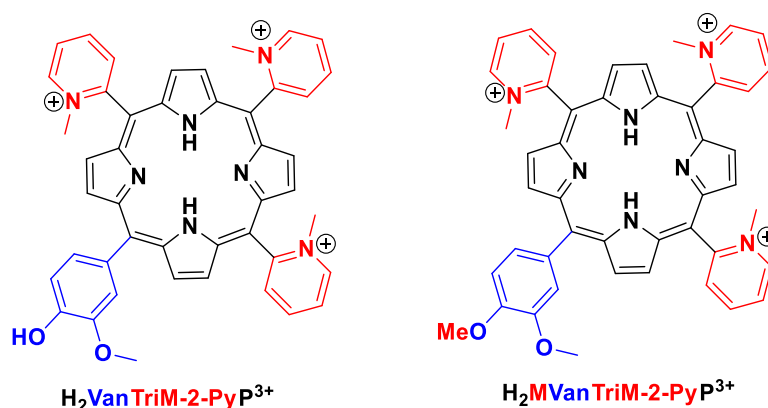


Figura 39 - Porfirinas do tipo [A₃B]³⁺ que diferem apenas no grupo vanilina/*O*-metilvanilina: H₂VanTriM-2-PyP³⁺ (à esquerda) e H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (à direita).

Para confirmar a metilação simultânea dos grupos vanilina e piridilas da H₂VanTri-2-PyP em meio básico, foram conduzidas análises *via* CCD-SiO₂ e espectroscopia UV-Vis. A análise por CCD-SiO₂ utilizando o eluente KNO₃(sat.)/H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v) não foi capaz de diferenciar as porfirinas H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ e H₂VanTriM-2-PyP³⁺, ambas com R_f = 0,25. Diante da similaridade estrutural entre as moléculas, foi utilizado o eluente NaOH(aq) (1 mol L⁻¹):KNO₃(sat.):MeCN (1:1:2, v/v/v), como estratégia para gerar diferenciação de cargas entre as porfirinas. A ionização do grupo OH na vanilina da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ com o eluente básico pode diminuir a carga global da porfirina de +3 para +2 (**Fig. 40**), enquanto a H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ permanece com carga global +3 (SARMENTO-NETO, 2016).

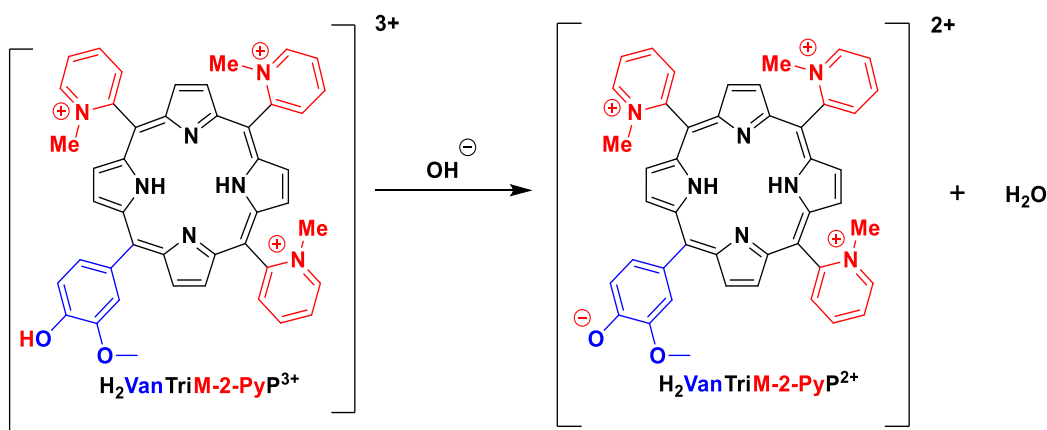


Figura 40 - Desprotonação da hidroxila fenólica da vanilina da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$.

Analogamente, observa-se que a substituição de um grupo 2-*N*-piridila da porfirina catiônica $\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$ do tipo $[\text{A}_4]^{4+}$ por *O*-metilvanilina na porfirina $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ do tipo $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$ diminui a carga total de $+4$ para $+3$, elevando a lipofilia da porfirina $[\text{A}_3\text{B}]^{3+}$ em comparação à $\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$ (**Fig. 41**). Este impacto da redução da carga total do complexo sobre o aumento de R_f cromatográfico (CCD- SiO_2) também foi reportado para complexos de Mn(II)-porfirinas do tipo $[\text{Mn}^{\text{II}}\text{A}_4]^{4+}$ versus Mn(III)-porfirinas do tipo $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{A}_4]^{5+}$ (SPASOJEVIC *et al.*, 2011). Essa diferença de carga nos sistemas $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$, $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e $\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$ em meio básico possibilitou a eficiente diferenciação dessas porfirinas por CCD- SiO_2 , proporcionando valores de R_f distintos (**Tabela 4**).

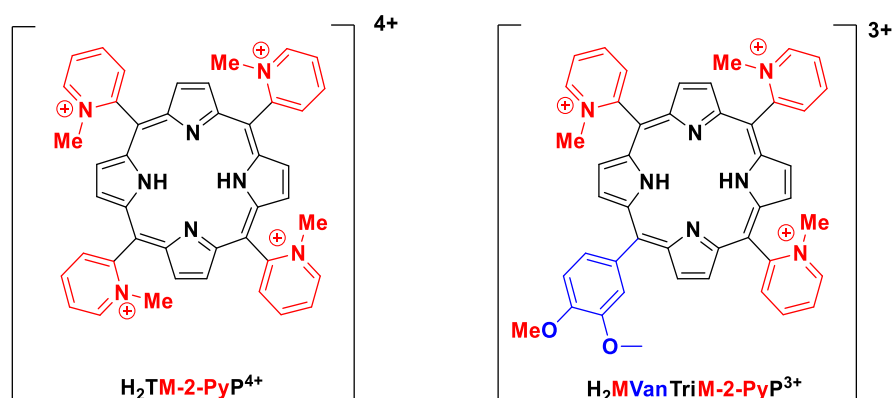


Figura 41 - Substituição de um grupo 2-*N*-piridila por *O*-metilvanilina reduz a carga total de $+4$ para $+3$, aumentando a lipofilia da porfirina $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ em comparação com $\text{H}_2\text{TM-2-PyP}^{4+}$.

Tabela 4 - Dados comparativos de CCD-SiO₂ das porfirinas catiônicas [A₃B]³⁺ e [A₄]⁴⁺ relevantes neste trabalho.

Porfirinas	R_f	
	KNO ₃ (sat.)/H ₂ O/MeCN 1:1:8 (v/v/v)	NaOH(aq) (1 mol L ⁻¹):KNO ₃ (sat.):MeCN (1:1:2, v/v/v)
H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺	0,25	0,60
H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	0,25	0,46
H ₂ TM-2-PyP ⁴⁺	0,11	0,13

O valor de R_f para a base-livre H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ no eluente KNO₃(sat.)/H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v) determinado no presente estudo foi R_f = 0,25, sendo consideravelmente diferente daquele relatado por Sarmento Neto (2021) como sendo R_f = 0,47. Essa diferença pode estar associada ao fato de que Sarmento Neto não utilizava placas de sílica comerciais, o que pode ter influenciado nas condições de separação cromatográfica. É importante destacar que o resultado reportado no presente estudo foi reprodutível em diversas análises, confirmando a discrepância com o valor anteriormente apresentado por Sarmento Neto (2021).

O acompanhamento do progresso da reação também foi realizado por espectroscopia UV-vis. O espectro registrado em água não permitiu a confirmação da alquilação do grupo vanilina e obtenção da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺. Similarmente à análise CCD-SiO₂, os espectros de ambas as porfirinas H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ foram idênticos em H₂O (**Fig.42**), sendo necessário, para diferenciação entre reagente e produto, o ajuste do pH do solvente do espectro para valores mais básicos.

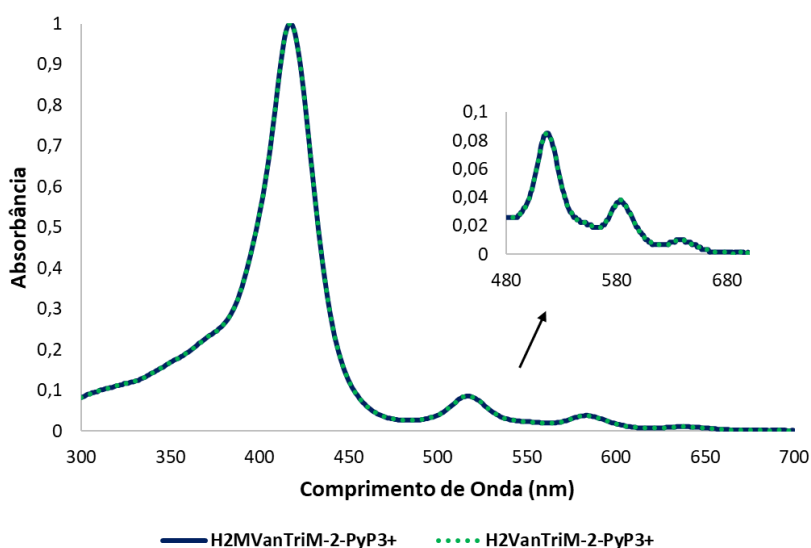


Figura 42 - Espectros UV-vis normalizados da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ registrados em H₂O. A expansão compreende à região das bandas Q.

A necessidade de ajuste do pH se justifica pelo fato de que, em meio básico, compostos com hidroxila fenólica (Van-OH), como a $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$, sofrem ionização e se convertem em fenolatos (Van-O^-). Essa conversão pode levar à formação de uma espécie com carga negativa (Van-O^-) e deslocalização eletrônica pelo efeito de ressonância, resultando em alterações nas bandas do espectro UV-vis (SARMENTO-NETO, 2021). Assim, as análises UV-vis foram realizadas ao longo da reação em tampão borato pH 9,3 (solução de B_4O_7^- 0,1 mol L^{-1}) (**Fig. 43**) confirmando os resultados obtidos por Sarmiento Neto (2021).

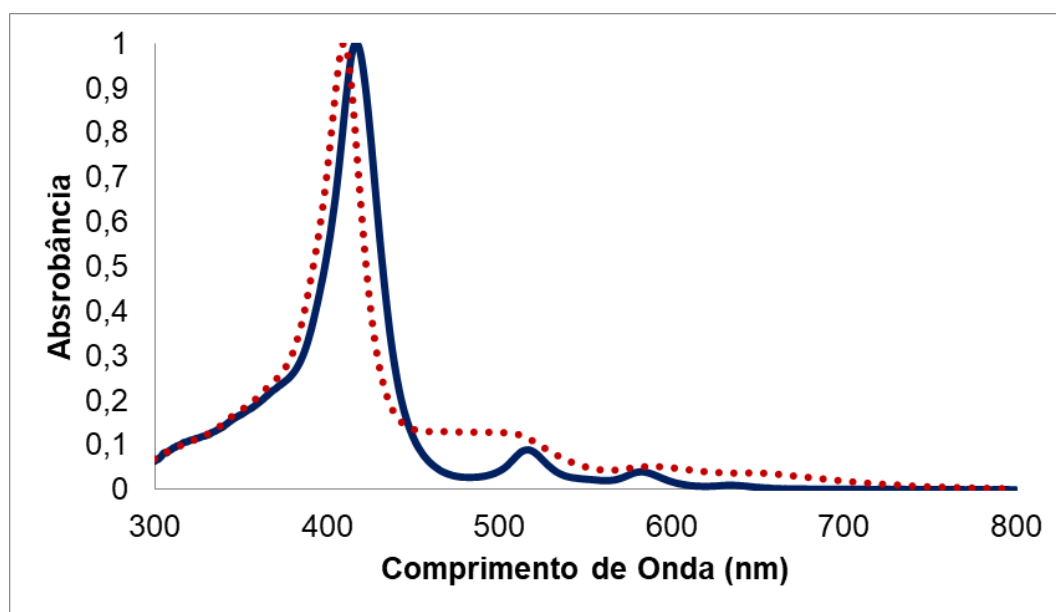


Figura 43 – Espectros UV-vis normalizados em tampão borato pH 9,3 da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (pontilhado vermelho) e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (linha azul).

A $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ em meio básico apresentou uma mudança significativa em seu espectro, associada à ionização do grupo vanilina ao respectivo fenolato (**Fig. 43**, **Tabela 5**). Em contraste, a $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ não apresentou alterações espectrais significativas em qualquer dos meios, o que corrobora a ausência da hidroxila livre no grupo vanilina nesta porfirina (**Fig. 43**, **Tabela 5**).

Tabela 5 - Porfirinas catiônicas e máximos de absorção UV-vis (λ_{max}) obtidos em água e em tampão borato pH 9,3 (solução de B_4O_7^- 0,1 mol L^{-1})

Porfirinas	Solvente	λ_{max} /nm
$\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$	H_2O	417 (Soret), 517, 583, 636
	Tampão borato	414 (Soret), 516, 584
$\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$	H_2O	417 (Soret), 517, 583, 635
	Tampão borato	417 (Soret), 517, 583, 636

A alquilação dos grupos 2-piridilas da porfirina de interesse leva à formação de compostos que exibem o fenômeno de atropoisomerismo, onde o impedimento estérico entre as metilas dos 3 grupos 2-*N*-metilpiridínio e os hidrogênios β -pirrólicos restringe a rotação livre do grupo 2-*N*-metilpiridínio. Isso resulta na adoção de uma geometria aproximadamente perpendicular ao plano do anel porfirínico (IAMAMOTO; ANTONION SERRA; MARINA IDEMORI, 1994; SARMENTO NETO, 2021). Consequentemente, a porfirina catiônica sintetizada neste estudo foi obtida como uma mistura dos atropoisômeros $\alpha\alpha\alpha$, $\alpha\beta\alpha$ e $\alpha\alpha\beta$ (**Fig. 44**). Esses atropoisômeros diferem na posição relativa das metilas dos grupos 2-*N*-metilpiridínio em relação ao plano do anel porfirínico, com uma distribuição estatística prevista de 1:1:2 para $\alpha\alpha\alpha$: $\alpha\beta\alpha$: $\alpha\alpha\beta$ (SARMENTO NETO, 2021).

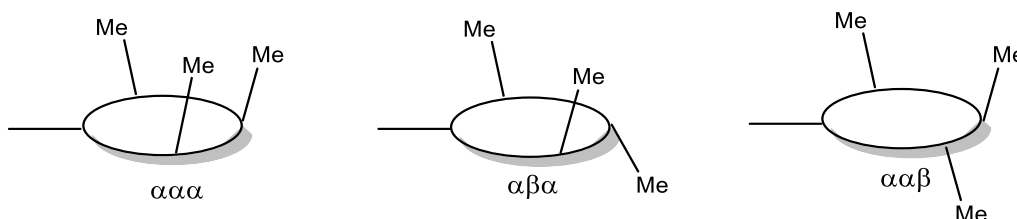


Figura 44 - Ilustração esquemática da mistura de atropoisômeros de $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$. Os grupos 2-*N*-metilpiridínio, indicados como "Me", estão restritos em sua rotação, adotando posições acima (α) ou abaixo (β) do plano do anel porfirínico. Por outro lado, o grupo *O*-metilvanilina, sem substituinte orto, é representado por um traço devido à sua rotação livre. **Fonte:** Adaptado de Sarmento-Neto, 2021.

Nenhuma tentativa foi feita neste estudo para separar os diferentes atropoisômeros da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$. Nas 2-*N*-alquilpiridínioporfirinas $[A_4]^{4+}$ mencionadas na literatura, a situação é similar, sendo isoladas e utilizadas como misturas de atropoisômeros (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002).

Para isolar a $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$, a mistura reacional foi inicialmente tratada com Et_2O para remover o solvente DMF e o excesso de MeOTs. Em seguida, a porfirina catiônica $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ foi purificada por metátese $OTs^-/PF_6^-/Cl^-$, um método bem estabelecido para a obtenção de *N*-alquilpiridilporfirinas na forma de Cl^- (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998).

A síntese da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ foi bem-sucedida em escala de 5 mg, com rendimento de 83%. A caracterização por CCD-SiO₂, UV-vis e RMN de ¹H confirmou a identidade da porfirina catiônica. Entretanto, ao ampliar a escala para 10 mg, mantendo a relação de MeOTs:porfirina em 150:1 e de K₂CO₃:porfirina em 10:1, não se obteve sucesso na síntese da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$. Observou-se a metilação dos grupos

piridilas da H₂VanTri-2-PyP, enquanto a metilação do grupo fenol não ocorreu, levando à formação da porfirina catiônica análoga H₂VanTriM-2-PyP³⁺.

5.2.1 Caracterizações da porfirina catiônica H₂MVanTriM-2-PyP³⁺

Os espectros de UV-vis da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ isolada foram medidos em água, e são caracterizados por uma banda Soret em 417 nm e três bandas Q (517, 583 e 635 nm) (Tabela 6) (Fig. 45). Em compostos do tipo [A₃B]³⁺, contrastando com compostos simétricos do tipo [A₄]⁴⁺, observa-se o alargamento da banda Soret e uma diminuição no número de bandas Q, com a banda em torno de 545 nm desaparecendo ou apresentando uma intensidade reduzida relativo aos dados da H₂TM-2-PyP⁴⁺ tipo [A₄]⁴⁺ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002). Os dados espectroscópicos de UV-vis obtidos estão em consonância com os reportados por Sarmento-Neto (2021).

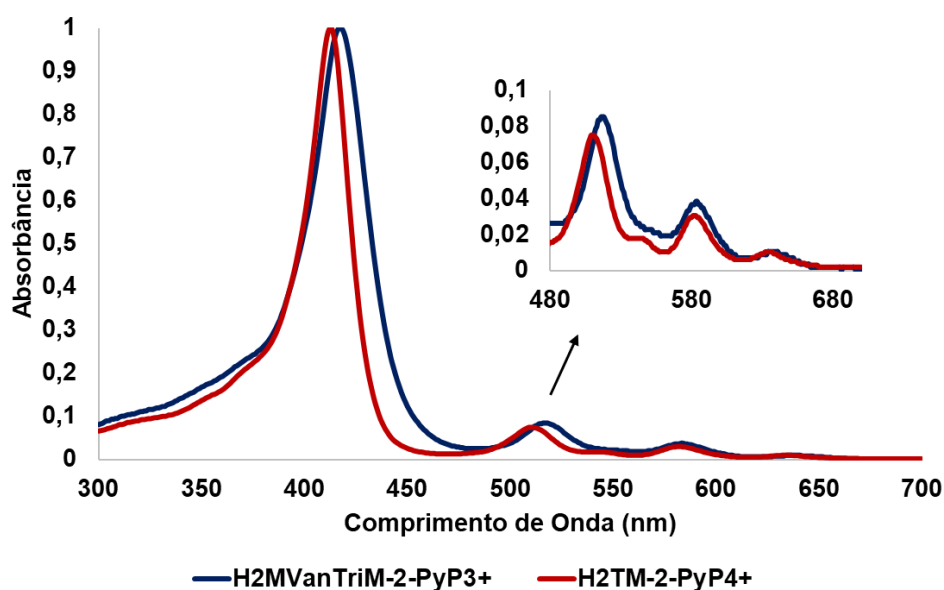


Figura 45 - Espectros de absorção UV-vis normalizados da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ e da H₂TM-2-PyP⁴⁺, em solução aquosa, com destaque para a região das bandas Q.

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

5.3.1 Reações em microescala para a síntese da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ pela Rota 1 e pela Rota 2

Na metodologia apresentada, foram descritas duas rotas (Rota 1 e Rota 2) para síntese da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em microescala (2 mg de porfirina). A reação consistiu

na metalação da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ com acetato de zinco (II) diidratado. Para ambas as Rotas 1 e 2, foi empregada uma relação molar de acetato de zinco(II):porfirina de 10:1. Na Rota 1, a reação foi realizada a uma temperatura de 80°C , utilizando água deionizada como solvente, enquanto na Rota 2, a reação foi realizada à temperatura ambiente em uma solução aquosa de NaOH (pH~12) (esquemático anteriormente na **Fig. 27**).

Os resultados obtidos em microescala para ambas as rotas foram semelhantes, com um tempo de reação de 25min. Os espectros UV-vis obtidos para as duas rotas (**Fig. 46**) revelou que o produto da reação apresentou bandas de absorção características de Zn(II)-porfirina ($\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$), com uma banda Soret em 428 nm e duas bandas β e α , em 558 e 590 nm, respectivamente.

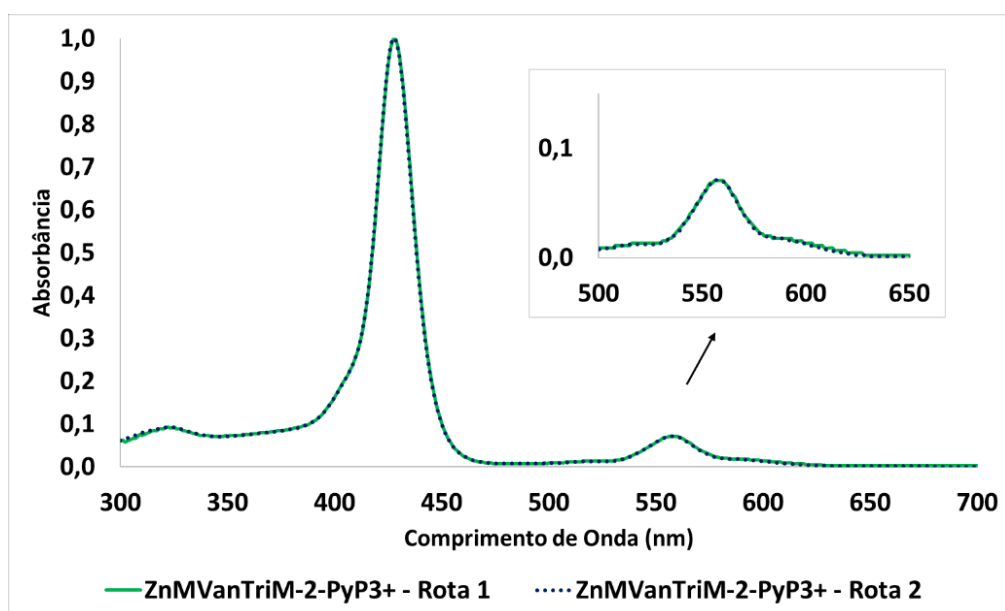


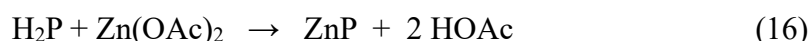
Figura 46 - Representação dos espectros UV-vis normalizados da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ via rota 1 (linha verde) e via rota 2 (linha pontilhada vermelha), em solução aquosa. A ampliação enfatiza a região das bandas de menor energia.

A análise por CCD- SiO_2 utilizando o eluente $\text{KNO}_3(\text{sat.})/\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ na proporção 1:1:8 (v/v/v) revelou que o produto da reação foi um composto com $R_f = 0,30$, o que está em concordância com o valor reportado por Samento Neto (2021).

5.3.2 Reação de obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ em escala preparativa pela Rota 2

O processo de obtenção da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ levou cerca de 25 min, representando uma redução no tempo de reação em comparação com a síntese descrita

por Sarmento Neto (2021), que demandava 3 h (SARMENTO-NETO, 2021). Essa redução no tempo de reação foi alcançada através da utilização de um sistema mais diluído, com uma concentração inicial de $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ de 2 mmol L^{-1} , em contraste com os 12 mmol L^{-1} empregados na síntese original (SARMENTO-NETO, 2021). Este efeito pode, provavelmente, estar relacionado ao fato de que o uso de sistemas mais concentrados aumenta a competição entre H^+ e Zn^{2+} pelos nitrogênios básicos porfirínicos, e prejudicando, conseqüentemente, o avanço e completude da reação (eq. 16).



Durante o curso da reação, as análises por CCD- SiO_2 ($\text{KNO}_3(\text{sat.})/\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ 1:1:8 v/v/v) indicaram o desaparecimento da mancha fluorescente correspondente à base-livre $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($R_f=0,25$) e a formação de uma outra mancha fluorescente correspondente à $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($R_f=0,30$) (Fig. 47).



Figura 47 - Placa de CCD- SiO_2 $\text{KNO}_3(\text{sat.})/\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ (1:1:8 v/v/v), onde H_2P refere-se à $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($R_f = 0,25$), enquanto ZnP representa a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($R_f = 0,30$).

A purificação e isolamento da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ envolveu duas etapas de metátese ($\text{OAc}^-/\text{PF}_6^-$ e $\text{PF}_6^-/\text{Cl}^-$). No início do processo, o produto $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ passou por uma filtração utilizando um funil de placa sinterizada para remover o excesso de óxidos e hidróxidos de $\text{Zn}(\text{II})$. O sobrenadante resultante foi submetido à adição de NH_4PF_6 , o que resultou na precipitação da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ na forma do sal de PF_6^- em meio aquoso. Posteriormente, para realizar a metátese $\text{PF}_6^-/\text{Cl}^-$, utilizando Aliquat 336, a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ precisou ser seca *overnight* em estufa a 60°C , a fim de evitar a presença excessiva de água/umidade que poderiam prejudicar a precipitação da

ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ na forma do sal de cloreto em acetona. O sólido final foi armazenado em dessecador.

5.3.3 Caracterizações da porfirina catiônica ZnMVanTriM-2-PyP³⁺

A reação de metalação com zinco(II) resultou em uma pronunciada alteração nos espectros UV-Vis em solução aquosa. A metalação da H₂MVanTriM-2-PyPCL₃ para formar o complexo ZnMVanTriM-2-PyPCL₃ foi acompanhada por um deslocamento de 11 nm da banda Soret de 417 nm para 428 nm, respectivamente (**Fig. 48**). Além disso, a formação de metaloporfirinas resulta em uma diminuição do número de bandas do visível. Esse efeito de alteração no número de bandas é atribuído ao aumento da simetria local do macrociclo, passando de *D*_{2h} na base-livre para *D*_{4h} na metaloporfirina (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1995). Essa alteração na simetria tem como consequência a redução dos níveis de transição eletrônica, resultando em uma diminuição no número de bandas observadas no espectro visível, conforme demonstrado na Tabela 6.

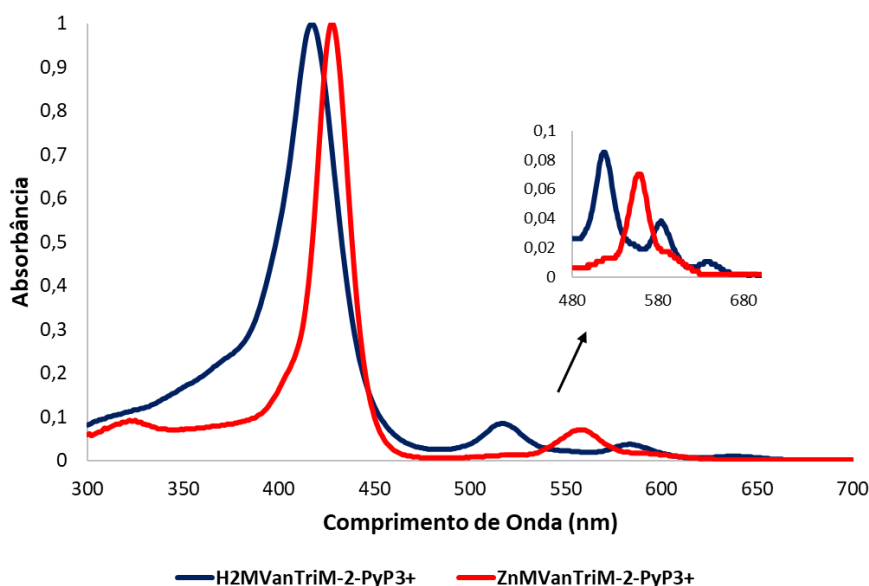


Figura 48 - Representação dos espectros UV-vis normalizados da porfirina não metalada H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (linha azul) e da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (linha vermelha) em solução aquosa. A ampliação enfatiza a região das bandas de menor energia.

Tabela 6 - Dados de espectroscopia de absorção UV-vis e fatores de retenção cromatográfico (R_f) em CCD-SiO₂ para a H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ e a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺.

Porfirinas	λ_{max} /nm	R _f
H ₂ MVanTri-2-PyP ³⁺	417 (Soret), 517, 583, 635 ^a	0,25 ^b
ZnMVanTri-2-PyP ³⁺	428 (Soret), 558, 590 ^a	0,30 ^b

^a Solvente H₂O. ^b Eluente KNO₃(sat.) /H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v).

A ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ apresenta um ligeiro deslocamento para o vermelho na banda Soret (428 nm) em comparação com a Zn-porfirina ZnTM-2-PyP⁴⁺ (Soret = 425 nm) (**Fig. 49**). Esse deslocamento ocorre devido ao aumento do caráter eletrodoador da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺, resultante da substituição de um grupo eletroretirador 2-*N*-metilpiridínio por um grupo *O*-metilvanilina (SARMENTO-NETO, 2021).

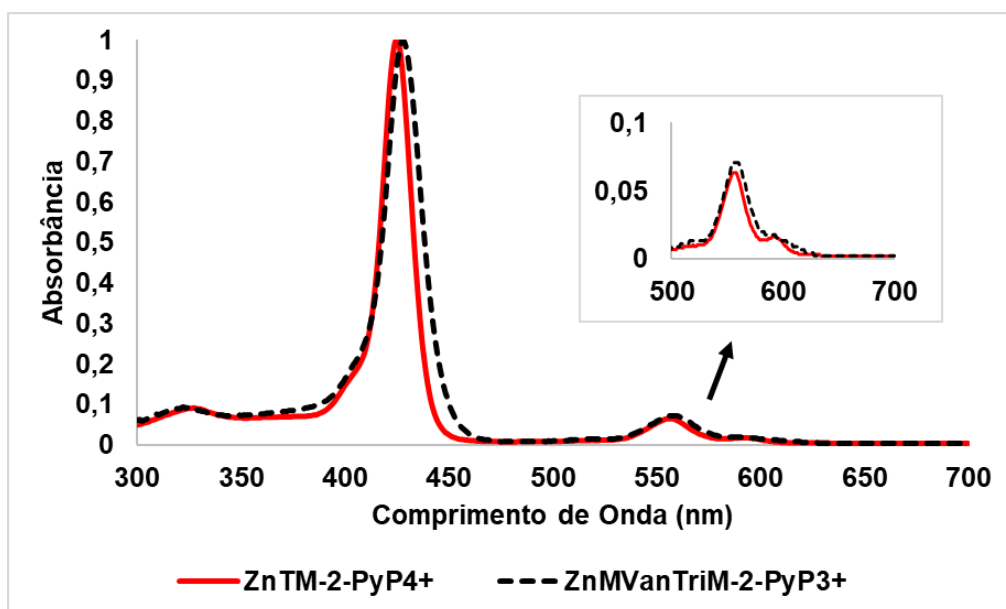
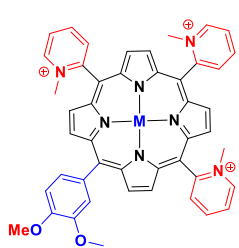


Figura 49 - Espectros UV-vis normalizados da ZnTM-2-PyP⁴⁺ (linha vermelha) e da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (linha preta) registrados em H₂O. A expansão corresponde à região das bandas de menor energia.

Os espectros de RMN de ¹H das porfirinas H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foram registrados em d⁶ – DMSO (**Tabela 7**).

Tabela 7 - Dados dos espectros de RMN de ¹H com os respectivos deslocamentos químicos δ (ppm) das porfirinas H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP³⁺.

Porfirina / Solvente	β-pirrols	2-Py	Ph(Van)	NH-pirrol	<i>m</i> -MeO e <i>p</i> -MeO (Van)
 H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (M = 2H⁺) d⁶-DMSO (200 MHz)	9,27-9,10 (8H, β*)	9,73 (3H, b/b') 9,10-8,70 (9H)	7,95-7,35 (3H)	-2,85 (s, a*)	3,91 (s, 3H, z) 4,07 (s, 3H, i*)
ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (M = Zn²⁺) d⁶-DMSO (500 MHz)	9,05-8,95 (8H)	9,59 (3H) 8,84-8,62 (9H)	7,86-7,20	ausente	3,92 (s, 3H) 4,06 (t, 2H)

Devido à mistura de atropoisômeros, os espectros de RMN de ^1H das porfirinas $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ são complexos, com sinais sobrepostos em algumas regiões, dificultando as atribuições inequívocas para todos os sinais. Foram observadas diferenças pequenas nos deslocamentos atribuídos aos hidrogênios β -pirrólicos, grupos 2-*N*-metilpiridínio e vanilina. Em contrapartida, diferenças significativas foram observadas em relação à incorporação do Zn(II) ($\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+} \rightarrow \text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$) (**Fig. 50**). Os espectros de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ e da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, com as regiões ampliadas, estão disponíveis no Apêndice (**Pág. 97**).

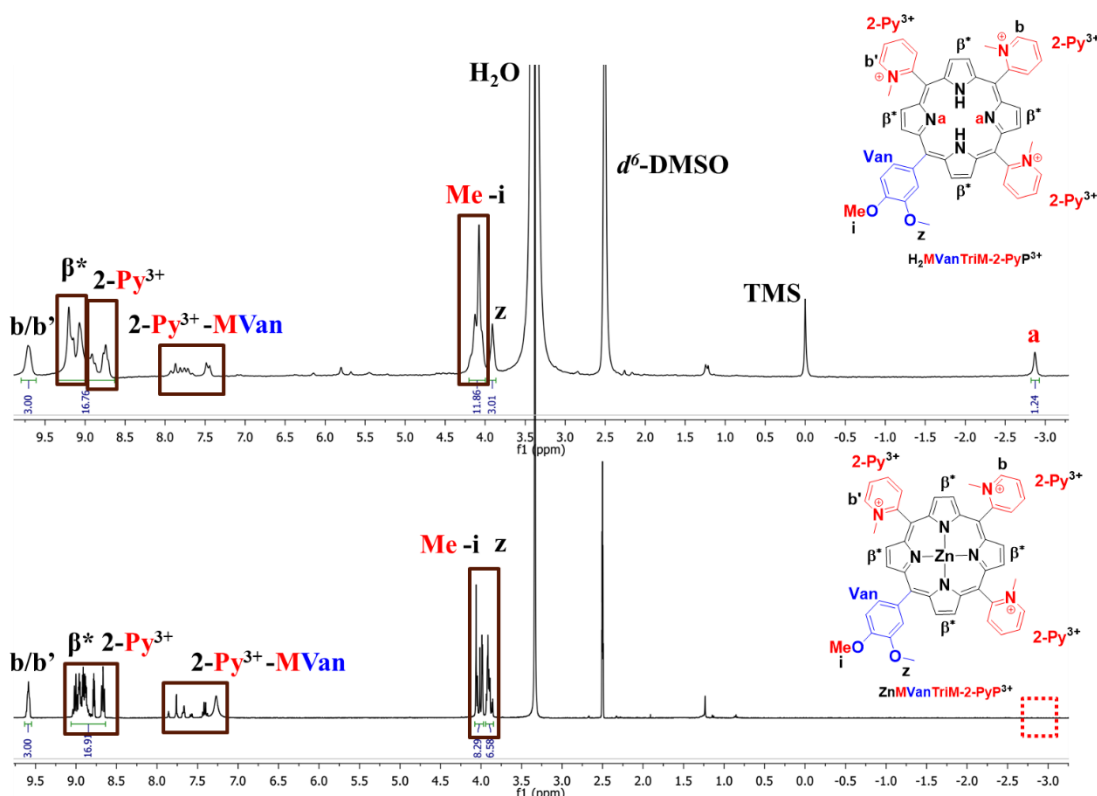


Figura 50 - Espectros de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (200 MHz; d^6 -DMSO) e da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (500 MHz; d^6 -DMSO). β^* = β -pirrólicos; 2- Py^{3+} /Me = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio; b/b' = posições 6 do 2- Py^{3+} das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.

Os hidrogênios NH-pirrólicos correspondem a um singlete em $-2,85$ ppm para a $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**a**, **Fig. 50**), bastante blindado pela corrente π do anel porfirínico. Para a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ocorre um desaparecimento desse sinal, o que é uma evidência da perda dos hidrogênios N-*H* pirrólicos e da coordenação do íon metálico Zn(II) ao ligante porfirinato (**Fig. 50**).

Para a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, o singlete em $3,92$ ppm atribuído ao *m*-MeO do grupo vanilina (**z**; **Fig. 50**) e o singlete em $4,06$ ppm atribuído ao *p*-MeO do grupo

vanilina (**i**; **Fig. 50**), respectivamente. Para a $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$, os sinais associados aos hidrogênios β -pirrólicos se sobrepuseram, devido à uma mistura de atropoisômeros, originando um conjunto complexo de sinais na região entre 9,27-9,10 ppm (β^* ; **Fig. 50**). No caso da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, ocorre um deslocamento dos sinais na faixa de 9,05-8,95 ppm (β^* ; **Fig. 50**). Os sinais dos hidrogênios aromáticos *meso*-arilas (2-*N*-metilpiridínio e metilvanilina) da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ aparecem na região entre 7,20 e 9,73 ppm (**Fig. 50**). No entanto, a maioria desses sinais é difícil de observar devido à presença de atropoisômeros. Os hidrogênios aromáticos do grupo vanilina da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ estão presentes na região entre 7,35 e 7,95 ppm (**Fig. 50**). Na $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, os sinais dos hidrogênios aromáticos *meso*-arilas e do grupo vanilina aparecem em 9,59 (**b/b**) e 7,86 ppm, respectivamente (**Fig 50**).

O espectro de massa por ionização por electrospray (ESI-MS) para a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ foi obtido (**Fig. 51**). A adição de ácido heptafluorobutírico (HFBA) no preparo da amostra para análise por ESI-MS produziu pares iônicos entre os cátions porfirínicos ZnP^{3+} e o ânion HFBA^- estáveis sob condições de ESI-MS e reduziu a sobreposição de picos (REBOUÇAS; SPASOJEVIĆ; BATINIĆ-HABERLE, 2008). A Tabela 8 apresenta as atribuições de picos para os espectros de ESI-MS. O pico ESI-MS em m/z 498,49 corresponde ao par iônico $[\text{ZnP}^{3+} + \text{HFBA}^-]^{2+}/2$, enquanto o pico em m/z 262,07 corresponde ao íon molecular $[\text{ZnMVanTriM-2-PyP}]^{3+}/3$ (**Tabela 8**). A ausência de picos associados a espécies parcialmente alquiladas e não metaladas indica inequivocamente a pureza da amostra.

Tabela 8 - Atribuições do espectro de ESI-MS da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ em $\text{H}_2\text{O-MeCN}$ (1:1, v/v; contendo 0,1%, v/v de HFBA)

Atribuição	m/z , Experimental (Calculado)
$[\text{ZnP}^{3+} - 2\text{H} + \text{HFBA}^-]^{2+}/2$	498,49 (499,63)
$[\text{ZnP}^{3+} - 3\text{H}]^{3+}/3$	261,39 (261,41)

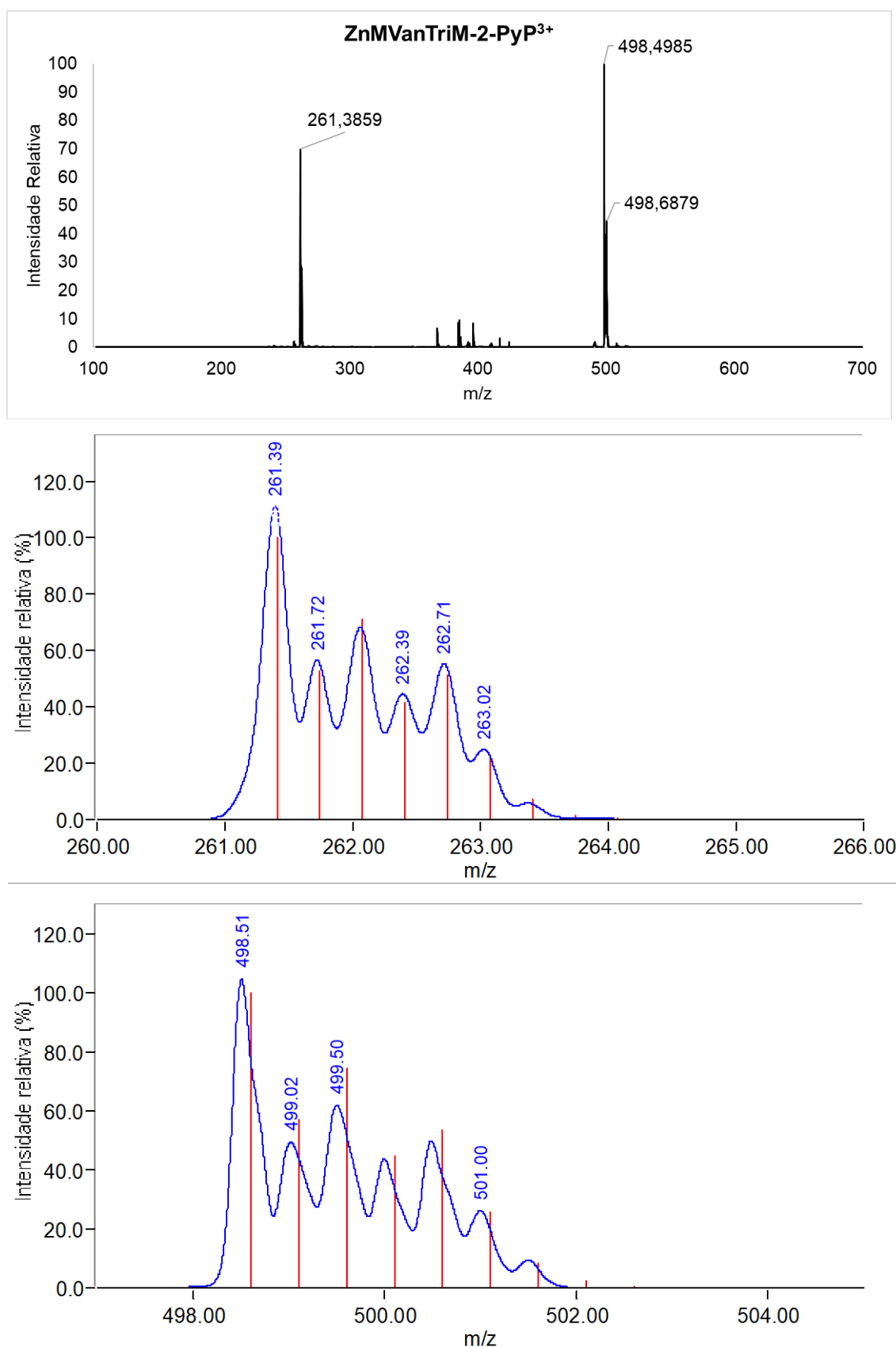


Figura 51 - Espectro de ESI-MS da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em H₂O-MeCN (1:1, v/v; contendo 0,1%, v/v de ácido heptafluorobutírico) (superior) e simulação da distribuição isotópica dos *clusters* de picos em torno de m/z 261,39 (meio, espécie $[\text{ZnP}^{3+} - 3\text{H}]^{3+/3}$) e 498,51 (inferior, espécie $[\text{ZnP}^{3+} - 2\text{H} + \text{HFBA}^-]^{2+/2}$), com sobreposição dos dados experimentais, em azul, e das simulações isotópicas, em vermelho. As simulações isotópicas foram realizadas no programa Molecular Weight Calculator.

Os espectros de emissão e excitação da ZnTM-2-PyP^{4+} e $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ são apresentados na Figura 52. Os perfis de emissão da ZnTM-2-PyP^{4+} e $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ foram registrados no intervalo espectral de 550 a 750 nm. Para a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, a excitação ocorreu a 428 nm, enquanto para a ZnTM-2-PyP^{4+} foi a 425 nm, ambos correspondendo aos máximos da banda Soret em seus respectivos espectros de absorção. O espectro de emissão da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ revelou duas bandas intensas na região do vermelho, em 620 e 660 nm. Este padrão é semelhante ao observado para a ZnTM-2-PyP^{4+} , que apresentou duas bandas intensas na mesma região, em 600 e 655 nm (**Fig. 52-A**).

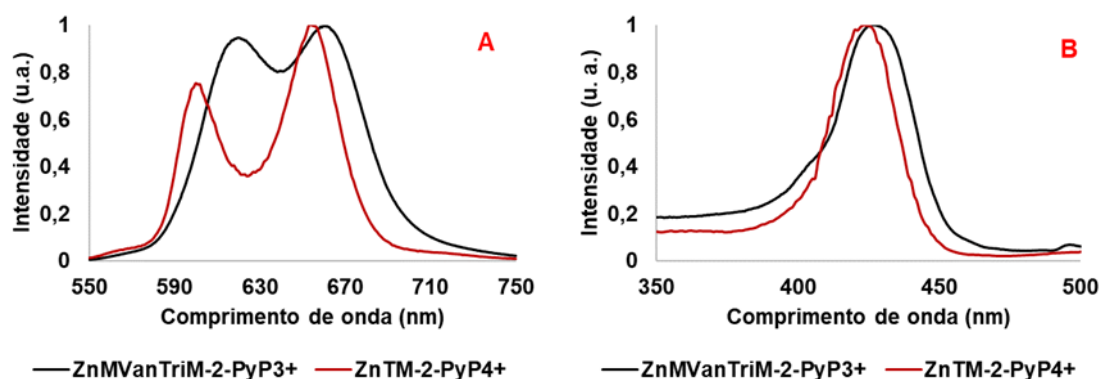


Figura 52 - Espectros normalizados de fluorescência da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ em água. (A) Espectros de emissão da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($\lambda_{\text{excitação}} = 428 \text{ nm}$) e da ZnTM-2-PyP^{4+} ($\lambda_{\text{excitação}} = 425 \text{ nm}$); (B) espectros de excitação da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($\lambda_{\text{emissão}} = 660 \text{ nm}$) e da ZnTM-2-PyP^{4+} ($\lambda_{\text{emissão}} = 655 \text{ nm}$).

Para os perfis de excitação, registrados entre 350 e 500 nm com emissão a 660 nm para a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, foi identificado um pico em 428 nm, enquanto para a ZnTM-2-PyP^{4+} , com emissão em 655 nm, observou-se um pico em 425 nm. Ambos os picos correspondem à banda Soret das Zn(II) -porfirinas. O pico em 428 nm é equivalente à banda Soret da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$, enquanto o pico em 425 nm é equivalente à banda Soret da ZnTM-2-PyP^{4+} (**Fig. 52-B**).

5.3.4 Determinação da absorvidade molar (ϵ) da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$

Conforme discutido na seção 2.3.3, as Zn(II) -porfirinas têm sido amplamente utilizadas como fotossensibilizadores na inativação fotodinâmica microbiana (SOUZA *et al.*, 2021b). Para que um fotossensibilizador seja considerado adequado para um processo do Tipo I ou Tipo II, é necessário que ele atenda a diversos critérios, conforme detalhado na seção 2.3.2, tais como alta pureza, estabilidade, baixa toxicidade no escuro e facilidade de excreção do corpo para evitar fototoxicidade pós-tratamento. Além desses critérios,

destaca-se a importância da solubilidade em soluções aquosas (ÖMEROĞLU; DURMUŞ, 2023), um aspecto crucial, pois as concentrações desses fotossensibilizadores geralmente são determinadas por meio da absorção eletrônica na região do UV-vis. Portanto, foi essencial determinar a absorvidade molar (ϵ) da ZnP em meio aquoso para possibilitar a rápida determinação espectrofotométrica da concentração deste composto nas soluções estoque e de trabalho dos ensaios de fotoinativação.

Embora todas as análises descritas neste trabalho indiquem um alto grau de pureza da ZnMVanTriM-2-PyPCl₃ isolada, os sais de metaloporfirinas catiônicas são tipicamente isolados no estado sólido na forma de hidratos, cuja composição em água pode variar de batelada em batelada e segundo as condições de secagem e armazenamento (PINTO *et al.*, 2013). Assim, a análise espectrofotométrica para determinação da absorvidade molar (ϵ) da ZnMVanTriM-2-PyPCl₃ precisou ser precedida por uma análise termogravimétrica, para se estabelecer a formulação do sólido isolado, em particular a quantidade de águas de hidratação.

A determinação da absorvidade molar assistida por termogravimetria foi realizada usando uma amostra anidra de ZnP obtida por tratamento térmico durante uma análise térmica TG/DTA na faixa de 30 – 130 °C, conforme método descrito por Maia (2023). A perda de água de hidratação que a metaloporfirina sofreu nesse processo foi associada a um evento endotérmico no intervalo de 30-130 °C. A perda de massa de 12% é consistente com a formulação ZnMVanTriM-2-PyPCl₃·7H₂O (**Fig. 53**).

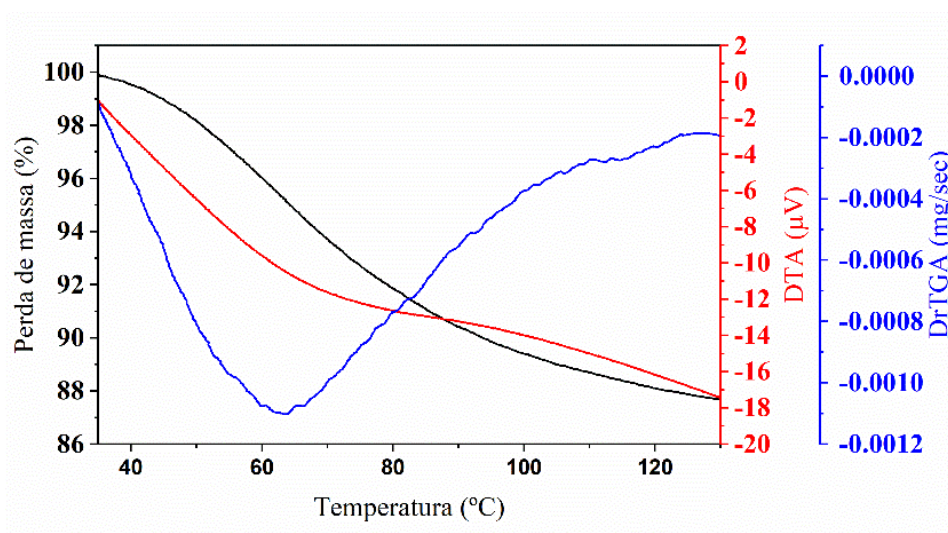


Figura 53 - Curvas TG, DTG e DTA para ZnMVanTriM-2-PyPCl₃·7H₂O sob atmosfera dinâmica de N₂ a uma razão de aquecimento de 10 °C/min.

Após remoção termogravimétrica da água, a formulação global da amostra sólida passa de $\text{ZnMVanTriM-2-PyPCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ para a forma anidra $\text{ZnMVanTriM-2-PyPCl}_3$, cuja massa é registrada na termobalança, permitindo a determinação precisa da quantidade de matéria no sólido. A transferência quantitativa deste material para um balão volumétrico possibilitou a preparação de uma solução estoque com uma concentração analítica de $1,33 \text{ mmol L}^{-1}$. A absorvidade molar (ϵ) foi medida espectrofotométrica em água a partir de diluições desta solução estoque.

A Figura 54 apresenta a determinação do ϵ para a banda Soret da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ em 428 nm, a partir de um gráfico típico de absorvância vs. concentração de ZnP , onde o coeficiente angular representa o valor de ϵ . Assim, a absorvidade molar da Soret da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ($\lambda_{\text{máx}} = 428 \text{ nm}$) é $198.534 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\log \epsilon_{428\text{nm}} = 5,30$) (**Fig. 54**). Para efeito de comparação, a absorvidade molar da banda Soret da ZnTM-2-PyP^{4+} em água é de ordem de grandeza semelhante, $\epsilon_{425\text{nm}} = 324.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\log \epsilon_{428\text{nm}} = 5,51$) (BENOV *et al.*, 2002). O menor valor de absorvidade molar para a $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ relativo à ZnTM-2-PyP^{4+} é comparável com dados para derivados à base do isômero ZnTM-4-PyP^{4+} (SOUZA *et al.*, 2021b) e consistente com o alargamento da banda Soret registrado para porfirinas do tipo A_3B comparado com as correspondentes A_4 (**Fig. 49**).

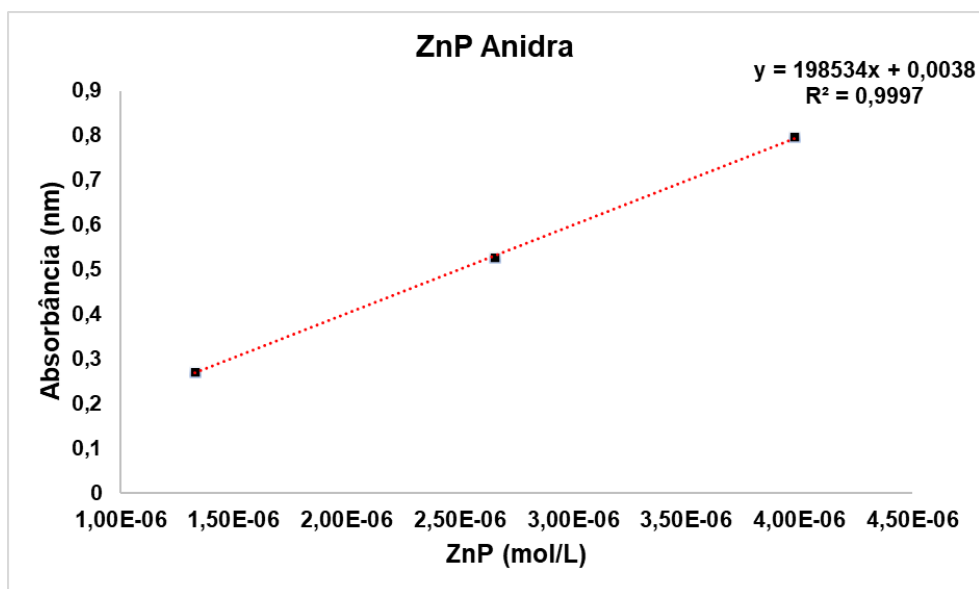


Figura 54 - Gráfico típico de Abs vs $[\text{ZnP}]$ de uma amostra anidra para a determinação da absorvidade molar.

5.4 Lipofilia da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺: avaliação cromatográfica por CCD-SiO₂ e determinação do coeficiente de partição em *n*-octanol/água (log P_{ow})

O coeficiente de partição *n*-octanol/água (logP_{ow}) é uma medida fundamental da afinidade de um composto por ambientes lipofílicos (JOHN *et al.*, 2015). A lipofilia, por sua vez, reflete a tendência de um composto em interagir com ambientes lipofílicos e é crucial para prever uma variedade de parâmetros *in vitro* e *in vivo*, incluindo permeabilidade, solubilidade, distribuição tecidual, absorção e metabolismo (REICHEL; LIENAU, 2015). Além disso, o log P_{ow} é frequentemente utilizado como uma estimativa para a tendência de bioacumulação de agentes tóxicos em organismos (JOHN *et al.*, 2015).

Thomas e colaboradores (2015) observaram uma relação linear entre o valor de R_f e o log P_{ow}, assim como uma correlação entre R_f e o número de carbonos na cadeia alquílica das Zn-porfirinas do tipo [ZnA₄]⁴⁺ (THOMAS *et al.*, 2015). A Tabela 9 apresenta os valores comparativos de R_f e log P_{ow} entre as Zn(II) porfirinas relevantes para este trabalho.

Tabela 9 - Dados comparativos de logP_{ow} e dos fatores de retenção cromatográficos (R_f) em KNO₃(sat)/H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v) da ZnPs relevantes para este trabalho.

Zn(II)-porfirinas	R_f	logP_{ow}
ZnMVanTriM-2-PyP³⁺	0,30	-3,63
ZnTM-2-PyP ⁴⁺	0,13 ^a	-9,3 ^c
ZnTE-2-PyP ⁴⁺	0,21 ^a	-8,71 ^c
ZnTnBu-2-PyP ⁴⁺	0,38 ^a	-6,38 ^d
ZnTnHex-2-PyP ⁴⁺	0,48 ^b	- 3,59 ^e
ZnTnOct-2-PyP ⁴⁺	0,59 ^b	-1,90 ^d

^a(ODEH *et al.*, 2014), ^b(THOMAS *et al.*, 2015), ^c Valor estimado com base na equação da reta da correlação entre logP_{ow} vs nC das ZnPs ($y = 1,2145x - 11,14$) (THOMAS *et al.*, 2015), ^d Valor estimado com base na equação da reta da correlação entre logP_{ow} vs R_f ($y = 0.0552x + 0.6948$) (THOMAS *et al.*, 2015). ^e Valor medido experimentalmente.

A ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ apresentou um valor de R_f significativamente maior do que o seu protótipo estrutural ZnTM-2-PyP⁴⁺ em KNO₃(sat)/H₂O/MeCN 1:1:8 (v/v/v) (Tabela 9). Essa diferença demonstra o impacto considerável da substituição de um grupo catiônico 2-*N*-metilpiridínio por um grupo neutro metilvanilina na lipofilia da ZnP. Além disso, no sistema [ZnA₄]⁴⁺, foram necessários quatro grupos *N*-*n*-butila no complexo ZnTnBu-2-PyP⁴⁺ para alcançar um valor de R_f superior ao da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (Tabela 9). Esses resultados sugerem que na ausência dos valores de log P_{ow}, os valores

de R_f podem servir como indicadores razoáveis de lipofilia nesses sistemas, corroborando com estudos anteriores (ODEH *et al.*, 2014; THOMAS *et al.*, 2015).

No presente estudo, os coeficientes foram inicialmente obtidos em *n*-butanol/água ($\log P_{BW}$), onde as porfirinas catiônicas são mais solúveis (ENGELMANN *et al.*, 2007c; KOS *et al.*, 2009) e posteriormente convertidos para $\log P_{ow}$. A ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ apresentou valor de $\log P_{ow}$ -3,63, indicando uma lipofilia consideravelmente maior que aquela da ZnTM-2-PyP⁴⁺, cujo valor de $\log P_{ow}$ foi estimado em -9,3 (ODEH *et al.*, 2014; THOMAS *et al.*, 2015) (**Tabela 9**). É importante destacar que, ao contrário da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ que possui lipofilia adequada para medida direta, a lipofilia da ZnTM-2-PyP⁴⁺ é tão baixo que o valor de $\log P_{ow}$ reportado para esta Zn-porfirina do tipo [ZnA₄]⁴⁺ é estimado indiretamente, a partir de uma correlação entre o valor de $\log P_{ow}$ e o fator de retenção cromatográfico R_f . Essa diferença de lipofilia revelado pelos valores de $\log P_{ow}$ sugere um impacto substancial associado à da substituição do grupo 2-*N*-metilpiridínio da ZnTM-2-PyP⁴⁺ por um grupo *O*-metilvanilina neutro resultando na ZnMVanTriM-2-PyP³⁺. Esta modulação na lipofilia a partir da modificação estrutural proposta pode ter implicações relevantes em aplicações biológicas.

Em termos de $\log P_{ow}$, a lipofilia da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺, com um valor de -3,63, está posicionada entre a lipofilia da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ ($\log P_{ow}$ -3,59) e da ZnTnOct-2-PyP⁴⁺ ($\log P_{ow}$ -1,90) (**Tabela 9**) (THOMAS *et al.*, 2015). O valor de -3,59 para a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foi obtido experimentalmente e é consistente com o valor reportado na literatura para esta ZnP (THOMAS *et al.*, 2015). Nesse sentido, o uso de compostos menos volumosos, como a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺, em sistemas biológicos surge como uma alternativa promissora para substituir complexos mais volumosos de lipofilia similar, como a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺. Essa substituição pode levar à redução do impedimento estéreo nos processos de internalização celular das ZnP, o que, por sua vez, pode resultar em melhor acúmulo e biodistribuição (SARMENTO-NETO, 2021).

Neste estudo, explorou-se a aplicabilidade biológica das porfirinas ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e ZnTM-2-PyP⁴⁺ na fotoinativação de *C. albicans*. Os resultados obtidos serão discutidos na próxima seção.

5.5 Inativação fotodinâmica de leveduras de *Candida albicans* utilizando ZnTM-2-PyP⁴⁺ e ZnMVanTriM-2-PyP³⁺

Os resultados indicam que a incubação das leveduras de *C. albicans* com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e ZnTM-2-PyP⁴⁺, ambas a uma concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, não resultou em citotoxicidade para *C. albicans* (ATCC 90028) no escuro (**Fig. 55**). De maneira semelhante, Viana *et al.* (2015) não observaram efeito antimicrobiano em *C. albicans* (ATCC 10231) quando uma concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do composto análogo ZnTE-2-PyP⁴⁺ foi aplicado na ausência de irradiação (VIANA *et al.*, 2015).

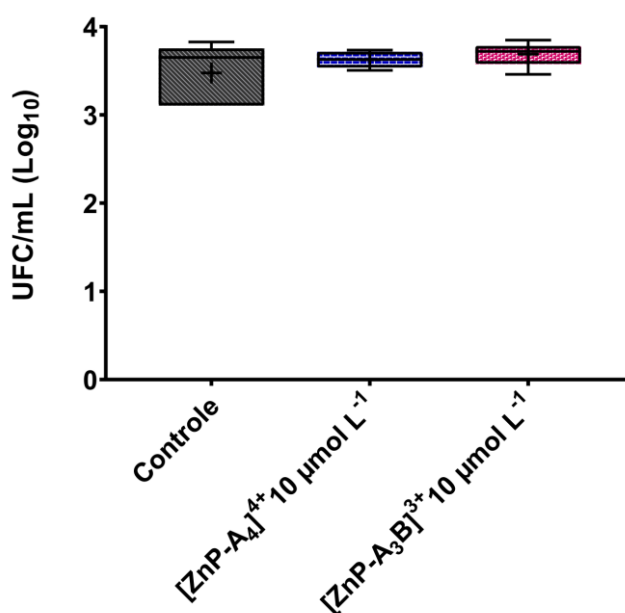


Figura 55 - Box plots representando a resposta das leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) após incubação com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ([ZnP-A₃B]³⁺) e ZnTM-2-PyP⁴⁺ ([ZnP-A₄]⁴⁺), por 13 min no escuro (controle de toxicidade no escuro). Dados correspondem a dois experimentos em triplicata.

Conforme apresentado na Figura 55, foi observado que a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (2,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$), demonstrou eficácia na erradicação das leveduras ($p < 0,05$). Enquanto a ZnTM-2-PyP⁴⁺, sob as mesmas condições de concentração e irradiação, não apresentou efeito sobre as leveduras de *C. albicans* ($p > 0,05$). Além disso, conforme observado por Raposo *et al.*, 2023, a exposição à luz isoladamente (4,3 J/cm^2) não exerce efeito significativo sobre as leveduras de *C. albicans*.

A análise de variância (ANOVA) de um fator indicou inibição significativa para os tratamentos com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ (2,5 e 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e ZnTM-2-PyP⁴⁺ (5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) na PDI ($p < 0,05$) (**Fig. 56**). A análise post-hoc revelou que não foram observadas diferenças significativas entre os resultados dos grupos ZnMVanTriM-2-

PyP³⁺ e ZnTM-2-PyP⁴⁺, quando testados a 1,5 µmol L⁻¹ (Fig. 56), sugerindo que, nesta concentração específica, ambas ZnPs não apresentam efeito inibitório nas células de *C. albicans* ($p > 0,05$). Por outro lado, ao se analisar a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em concentrações de 2,5 µmol L⁻¹ e 5,0 µmol L⁻¹, observou-se que ambas apresentaram eficácia similar na letalidade das leveduras (Fig. 56), indicando ausência de diferença significativa ($p > 0,05$).

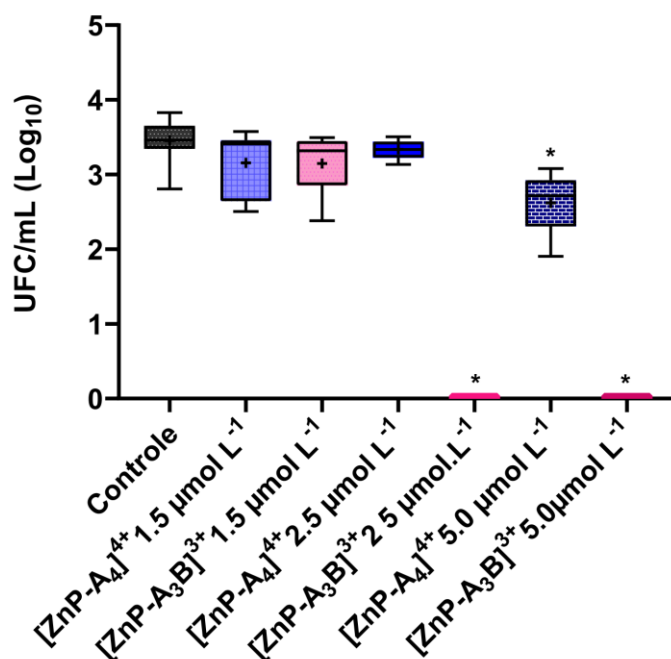


Figura 56 - Box plots representando a resposta das leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) após inativação fotodinâmica com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ([ZnP-A₃B]³⁺) e ZnTM-2-PyP⁴⁺ ([ZnP-A₄]⁴⁺) ambas a 1,5 µmol L⁻¹, 2,5 µmol L⁻¹ e 5 µmol L⁻¹ com PIT de 10 min e dose de luz de 4,3 J/cm². O gráfico também ilustra a proliferação das leveduras sem exposição à irradiação e sem tratamento com ZnP (Controle). Dados relativos a três experimentos em triplicata, * $p < 0,05$ em relação ao controle.

A diferença observada na inativação fotodinâmica mediada por ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e ZnTM-2-PyP⁴⁺ pode ser atribuída às suas características estruturais distintas. A ZnP do tipo [ZnP-A₃B]³⁺ (ZnMVanTriM-2-PyP³⁺), com sua estrutura química específica e maior lipofilia ($\log P_{ow} = -3,63$), demonstra uma eficiência superior na fotoinativação de *C. albicans* em comparação com a [ZnP-A₄]⁴⁺ (ZnTM-2-PyP⁴⁺) ($\log P_{ow} = -9,3$, conforme Thomas *et al.*, 2015). A notável diferença nos valores de $\log P_{ow}$ entre ambas ZnPs pode ser atribuída à substituição de um grupo catiônico 2-*N*-metilpiridínio por um grupo neutro *O*-metilvanilina.

No ponto de vista *in vivo*, as propriedades mais anfífilas da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em comparação com a ZnTM-2-PyP⁴⁺ podem proporcionar, muito provavelmente, uma maior interação da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ com a parede celular e membrana

plasmática da *C. albicans*, que são carregadas negativamente, mas também possuem porções de baixa polaridade (RUIZ-HERRERA *et al.*, 2006). Essas características contribuem possivelmente para uma maior capacidade de captação celular da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em comparação com a ZnTM-2-PyP⁴⁺, que é mais hidrofílica.

Com a provável maior captação da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ pelas células, supõe-se que haja uma maior formação das espécies excitadas após a excitação pela luz, que ao entrarem em contato com o oxigênio, podem gerar mais espécies reativas de oxigênio e/ou oxigênio singleto via as reações do Tipo I e/ou Tipo II. Por outro lado, a menor captação da ZnTM-2-PyP⁴⁺ pelas células resulta em uma menor interação com o oxigênio e, conseqüentemente, pode haver uma menor oxidação de componentes celulares (ENGELMANN *et al.*, 2007b). Assim, a eficiência superior da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ no efeito fotodinâmico antimicrobiano pode estar associada à sua maior capacidade de captação nas células de *C. albicans* em comparação com a ZnTM-2-PyP⁴⁺, devido à sua estrutura molecular mais favorável.

Por outro lado, Souza *et al.* (2022) utilizaram a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ para investigar a fotoinativação de *C. albicans* (ATCC 90028), empregando os mesmos parâmetros de tempo de pré-incubação e irradiação descritos neste estudo. Foi observado que houve erradicação completa em uma concentração de 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Fig. 57) (SOUZA *et al.*, 2022). No entanto, ao testar a ZnMVanTri-2-PyP³⁺ sob as mesmas condições de concentração e irradiação, não foi observado efeito sobre as leveduras de *C. albicans* (Fig. 57).

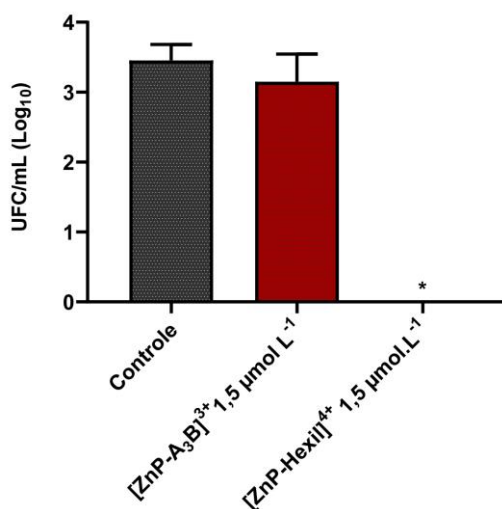


Figura 57 - Gráfico de barras representando a resposta das leveduras de *C. albicans* (ATCC 90028) após inativação fotodinâmica com ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ ([ZnP-A₃B]³⁺) e ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ ([ZnP-Hexil]⁴⁺) com PIT de 10 min e dose de luz de 4,3 J/cm². O dado reportado para ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ foi extraído de Souza *et al.* (2022). O gráfico também ilustra a proliferação das leveduras sem exposição à irradiação e sem tratamento com ZnP (Controle). *p < 0,05 em relação ao controle.

Assim, torna-se necessário investigar outros possíveis efeitos, pois, embora a lipofilia da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ seja muito similar à da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ (com valores de log P_{ow} -3,63 e -3,59, respectivamente), é relevante destacar que a ZnTnHex-2-PyP⁴⁺ possui uma carga global de +4, enquanto a ZnMVanTri-2-PyP³⁺ possui carga de +3. Essa diferença de carga pode estar influenciando em uma maior interação eletrostática com a parede celular e membrana plasmática da *C. albicans*.

Entretanto, a quantificação destas ZnPs no sistema em questão não foi ainda realizada, pois depende do desenvolvimento de um método analítico de quantificação de ZnPs neste tipo de matriz biológica. Estudos neste sentido estão em andamento no nosso grupo da UFPB (DOS SANTOS, BUENO-JANICE, REBOUÇAS, não publicado).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 CONCLUSÕES

A obtenção da porfirina H₂VanTri-2-PyP envolveu um processo de purificação e isolamento a partir de uma mistura de produtos porfirínicos. Esse processo incluiu etapas como extração líquido-líquido, precipitação para remover impurezas e cromatografia. A alquilação dos grupos 2-piridila e vanilina para formar a H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ foi realizada por meio de alquilação da H₂VanTri-2-PyP com MeOTs em DMF a 70°C por 8 horas, utilizando K₂CO₃ para ionizar o grupo OH fenólico. A metalação da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ para formar o complexo ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi realizada através de duas rotas distintas. Uma delas envolveu o uso de água a 80°C, enquanto a outra empregou hidróxido de sódio em temperatura ambiente. Notavelmente, ambas as abordagens foram concluídas em um curto período de tempo, apenas 25 minutos. A ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi caracterizada utilizando técnicas como cromatografia em camada delgada em sílica (CCD-SiO₂), UV-vis, RMN de ¹H, espectrometria de massas (ESI-MS) e espectroscopia de fluorescência.

A metaloporfirina ZnMVanTriM-2-PyP³⁺, contendo apenas metilas como substituintes alquilantes, apresentou lipofilia significativamente maior que as Zn-porfirinas simétricas do tipo [ZnA₄]⁴⁺ com cadeias alquílicas variando de Me a *n*Bu. O valor de log P_{ow} da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi comparável àquele da ZnTnHex-2-PyP⁴⁺.

A comparação entre a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ e seu correspondente estrutural ZnTM-2-PyP⁴⁺ na inativação fotodinâmica de *C. albicans* revelou que a maior lipofilia da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ foi crucial para sua maior eficácia na PDI. A lipofilia pode ter

facilitado a interação da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ com a superfície celular da levedura, e provavelmente aumentando a captação celular e a produção de espécies reativas de oxigênio. Estes resultados indicam que a ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ é um candidato promissor para aplicações futuras na inativação fotodinâmica de microrganismos patogênicos e como protótipo para o desenvolvimento de uma nova classe de fotossensibilizadores à base de Zn(II)-porfirinas do tipo [ZnA₃B]³⁺.

6.2 PERSPECTIVAS

As perspectivas para continuação dos estudos envolvendo porfirinas do tipo [ZnA₃B]³⁺ como fotossensibilizadores promissores incluem:

- Caracterizar a porfirina ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ por análise elementar (CHN) e avaliar sua estabilidade térmica e à hidrólise.
- Complementar os estudos das propriedades fotofísicas da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺, incluindo: determinação de rendimento quântico de fluorescência, rendimento quântico de geração de oxigênio singleto e geração de espécies reativas de oxigênio.
- Realizar medida de *uptake* da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ em modelos experimentais celulares incluindo microrganismos e células de mamíferos.
- Avaliar a atividade da ZnMVanTriM-2-PyP³⁺ como fotossensibilizador na inativação de outros microrganismos patogênicos e verificar o efeito PDT em células de mamíferos (como modelos de células de hospedeiros) para avaliação de seletividade.
- Ampliar a investigação para incluir outras [ZnA₃B]³⁺ que contenham grupos *O*-alquilvanilina mais lipofílicos, comparando-as entre si e com as [ZnA₄]⁴⁺ que possuem cadeias alquílicas semelhantes já descritas na literatura.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSE, H.; HAMBLIN, M. R. New photosensitizers for photodynamic therapy. **Biochemical Journal**, v. 473, n. 4, p. 347–364, 15 fev. 2016.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; GOLDMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSAKOFF, L. A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 32, n. 2, p. 476–476, 1 fev. 1967.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; KAMPAS, F.; KIM, J. On the preparation of metalloporphyrins. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 32, n. 7, p. 2443–2445, jul. 1970.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; SHERGALIS, William. Mechanistic Investigations of Porphyrin Syntheses. I. Preliminary Studies on *ms* -Tetraphenylporphin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, n. 15, p. 3145–3149, 1 ago. 1964.
- ADLER, A. D.; SKLAR, L.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; FINARELLI, M. G. A mechanistic study of the synthesis of *meso* -tetraphenylporphin. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 5, n. 5, p. 669–678, 23 out. 1968.
- AFSHINNEKOO, E.; BHATTACHARYA, C.; BURGUETE-GARCÍA, A.; CASTRO-NALLAR, E.; DENG, Y.; DESNUES, C.; DIAS-NETO, E.; ELHAIK, E.; IRAOLA, G.; JANG, S.; ŁABAJ, P. P.; MASON, C. E.; NAGARAJAN, N.; POULSEN, M.; PRITHIVIRAJ, B.; SIAM, R.; SHI, T.; SUZUKI, H.; WERNER, J.; ZAMBRANO, M. M.; BHATTACHARYYA, M. COVID-19 drug practices risk antimicrobial resistance evolution. **The Lancet Microbe**, v. 2, n. 4, p. e135–e136, abr. 2021.
- AL-ASMARI, F.; MEREDDY, R.; SULTANBAWA, Y. A novel photosensitization treatment for the inactivation of fungal spores and cells mediated by curcumin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 173, p. 301–306, ago. 2017.
- ALENEZI, K.; TOVMASYAN, A.; BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L. T. Optimizing Zn porphyrin-based photosensitizers for efficient antibacterial photodynamic therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 17, p. 154–159, mar. 2017.
- ALVARADO, D. R.; ARGYROPOULOS, D. S.; SCHOLLE, F.; PEDDINTI, B. S. T.; GHILADI, R. A. A facile strategy for photoactive nanocellulose-based antimicrobial materials. **Green Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 3424–3435, 2019.
- ALVES, E.; ESTEVES, A. C.; CORREIA, A.; CUNHA, Â.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; ALMEIDA, A. Protein profiles of *Escherichia coli* and *Staphylococcus warneri* are altered by photosensitization with cationic porphyrins. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 14, n. 6, p. 1169–1178, 1 jun. 2015.

AMORIM, C. F.; IGLESIAS, B. A.; PINHEIRO, T. R.; LACERDA, L. E.; SOKOLONSKI, A. R.; PEDREIRA, B. O.; MOREIRA, K. S.; BURGO, T. A. L.; MEYER, R.; AZEVEDO, V.; PORTELA, R. W. Photodynamic inactivation of different *Candida* species and inhibition of biofilm formation induced by water-soluble porphyrins. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 42, p. 103343, jun. 2023.

AWAD, M. M.; TOVMASYAN, A.; CRAIK, J. D.; BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L. T. Important cellular targets for antimicrobial photodynamic therapy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 17, p. 7679–7688, 24 set. 2016.

BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L.; SPASOJEVIC, I.; FRIDOVICH, I. The Ortho Effect Makes Manganese(III)Meso-Tetrakis(N-Methylpyridinium-2-yl)Porphyrin a Powerful and Potentially Useful Superoxide Dismutase Mimic. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 38, p. 24521–24528, set. 1998.

BATINIĆ-HABERLE, I.; LIOCHEV, S. I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. A Potent Superoxide Dismutase Mimic: Manganese β -Octabromo-meso-tetrakis-(N-methylpyridinium- 4-yl) Porphyrin. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 343, n. 2, p. 225–233, jul. 1997.

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, n. 18, p. 4011–4022, 1 set. 1999.

BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; STEVENS, Robert. D.; HAMBRIGHT, P.; FRIDOVICH, I. Manganese(III) meso-tetrakis(ortho-N-alkylpyridyl)porphyrins. Synthesis, characterization, and catalysis of $O_2^{\cdot-}$ dismutation. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 13, p. 2689, 2002.

BENOVA, L. Photodynamic Therapy: Current Status and Future Directions. **Medical Principles and Practice**, v. 24, n. Suppl. 1, p. 14–28, 2015.

BENOVA, L.; BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. Isomeric N-alkylpyridylporphyrins and their Zn(II) complexes: inactive as SOD mimics but powerful photosensitizers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 402, n. 2, p. 159–165, jun. 2002.

BERLINGIERI, G.; ALVARES, C. M. A.; SERRANO, R. V.; PALMA, L. F.; CAMPOS, L. Phototherapies for COVID-19-associated opportunistic oral infections. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 37, p. 102678, mar. 2022.

BERNATCHEZ, S. F. Reducing antimicrobial resistance by practicing better infection prevention and control. **American Journal of Infection Control**, v. 51, n. 9, p. 1063–1066, set. 2023.

BLAIR, J. M. A.; WEBBER, M. A.; BAYLAY, A. J.; OGBOLU, D. O.; PIDDOCK, L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42–51, 1 jan. 2015.

BOSCENCU, R.; SOCOTEANU, R. P.; MANDA, G.; RADULEA, N.; ANASTASESCU, M.; GAMA, A.; MACHADO, I. F.; FERREIRA, L. F. V. New A3B porphyrins as potential candidates for theranostic. Synthesis and photochemical behaviour. **Dyes and Pigments**, v. 160, p. 410–417, jan. 2019.

BRANDÃO, M. G. S. A.; XIMENES, M. A. M.; SOUSA, D. F. de; VERAS, V. S.; BARROS, L. M.; RABEH, S. A. N.; COSTA, I. G.; ARAÚJO, T. M. de. Photodynamic therapy for infected foot ulcers in people with diabetes mellitus: a systematic review. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 141, n. 6, 2023.

BUENO-JANICE, J. C.; SARMENTO-NETO, J. F.; BARRETO, C.; FRAGOSO, W. D.; MARTÍNEZ, C. R.; REBOUÇAS, J. S. **Estabilidade de uma porfirina do tipo A 3 B (A = 2-N-piridil; B = vanilina acetilada) de interesse para o desenho de mímicos de SOD.** [s.l: s.n.].

CABRAL, B. N.; MILANI, J. L. S.; MEIRELES, A. M.; MARTINS, D. C. da S.; RIBEIRO, S. L. da S.; REBOUÇAS, J. S.; DONNICI, C. L.; DAS CHAGAS, R. P. Mn($\text{C}_{55}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_2$)-porphyrin catalysts for the cycloaddition of CO_2 with epoxides at atmospheric pressure: effects of Lewis acidity and ligand structure. **New Journal of Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1934–1943, 2021.

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 4, p. 279–293, dez. 2004.

CHALEIX, V.; COULEAUD, P.; SOL, V.; ZERROUKI, R.; ALVES, S.; KRAUSZ, P. Microwave-assisted expeditious O-alkylation of *meso*-hydroxyphenylporphyrins. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 13, n. 08n09, p. 888–892, 8 ago. 2009.

CHANG, J.-E.; OAK, C.-H.; SUNG, N.; JHEON, S. The potential application of photodynamic therapy in drug-resistant tuberculosis. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 150, p. 60–65, set. 2015.

CHANG, T.; FIUMARA, N.; WEINSTEIN, L. GENITAL HERPES: TREATMENT WITH METHYLENE BLUE AND LIGHT EXPOSURE. **International Journal of Dermatology**, v. 14, n. 1, p. 69–71, 5 jan. 1975.

CHEN, S.; HU, J.; LU, L.; WU, L.; LIANG, Z.; TANG, J.; HOU, H.; LIANG, S.; YANG, J. Iron porphyrin-TiO₂ modulated peroxymonosulfate activation for efficient degradation of 2,4,6-trichlorophenol with high-valent iron-oxo species. **Chemosphere**, v. 309, p. 136744, dez. 2022.

CHISSOV, V. I.; SOKOLOV, V. V.; FILONENKO, E. V.; MENENKOV, V. D.; ZHARKOVA, N. N.; KOZLOV, D. N.; POLIVANOV, I. N.; PROKHOROV, A. M.; PYKHOV, R. L.; SMIRNOV, V. V. [Clinical fluorescent diagnosis of tumors using photosensitizer photogem]. **Khirurgiia**, n. 5, p. 37–41, 1995.

COLLANDER, R.; LINDHOLM, M.; HAUG, C. M.; STENE, J.; SÖRENSEN, N. A. The Partition of Organic Compounds Between Higher Alcohols and Water. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 5, p. 774–780, 1951.

COOK, L. P.; BREWER, G.; WONG-NG, W. Structural Aspects of Porphyrins for Functional Materials Applications. **Crystals**, v. 7, n. 7, p. 223, 15 jul. 2017.

CORREIA, J. H.; RODRIGUES, J. A.; PIMENTA, S.; DONG, T.; YANG, Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1332, 25 ago. 2021.

DĄBROWSKI, J. M. Reactive Oxygen Species in Photodynamic Therapy: Mechanisms of Their Generation and Potentiation. *Em*: [s.l: s.n.]p. 343–394.

DAVID DOLPHIN. **The Porphyrins, Vol. 1: Structure and Synthesis, Part A - Hardcover**. 1. ed. San Diego, CA, USA: Academic Press, 1978. v. 11–663 p.

DE MELO, W. C.; AVCI, P.; DE OLIVEIRA, M. N.; GUPTA, A.; VECCHIO, D.; SADASIVAM, M.; CHANDRAN, R.; HUANG, Y.-Y.; YIN, R.; PERUSSI, L. R.; TEGOS, G. P.; PERUSSI, J. R.; DAI, T.; HAMBLIN, M. R. Photodynamic inactivation of biofilm: taking a lightly colored approach to stubborn infection. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 11, n. 7, p. 669–693, 10 jul. 2013.

DE SORDI, L.; BUTT, M. A.; PYE, H.; KOHOUTOVA, D.; MOSSE, C. A.; YAHIOGLU, G.; STAMATI, I.; DEONARAIN, M.; BATTAH, S.; READY, D.; ALLAN, E.; MULLANY, P.; LOVAT, L. B. Development of Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) for *Clostridium difficile*. **PLOS ONE**, v. 10, n. 8, p. e0135039, 27 ago. 2015.

DE SOUZA DA FONSECA, A.; DE PAOLI, F.; MENCALHA, A. L. Photodynamic therapy for treatment of infected burns. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 38, p. 102831, jun. 2022.

DHASARATHAN, P.; ALSALHI, M. S.; DEVANESAN, S.; SUBBIAH, J.; RANJITSINGH, A. J. A.; BINSALAH, M.; ALFURAYDI, A. A. Drug resistance in *Candida albicans* isolates and related changes in the structural domain of Mdr1 protein. **Journal of Infection and Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1848–1853, dez. 2021.

ENGELMANN, F. M.; MAYER, I.; GABRIELLI, D. S.; TOMA, H. E.; KOWALTOWSKI, A. J.; ARAKI, K.; BAPTISTA, M. S. Interaction of cationic meso-

porphyrins with liposomes, mitochondria and erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 39, n. 2, p. 175, 14 abr. 2007a.

ENGELMANN, F. M.; MAYER, I.; GABRIELLI, D. S.; TOMA, H. E.; KOWALTOWSKI, A. J.; ARAKI, K.; BAPTISTA, M. S. Interaction of cationic meso-porphyrins with liposomes, mitochondria and erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 39, n. 2, p. 175, 14 abr. 2007b.

ENGELMANN, F.; ROCHA, S.; TOMA, H.; ARAKI, K.; BAPTISTA, M. Determination of n-octanol/water partition and membrane binding of cationic porphyrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1–2, p. 12–18, 1 fev. 2007c.

ESPITIA-ALMEIDA, F.; DÍAZ-URIBE, C.; VALLEJO, W.; GÓMEZ-CAMARGO, D.; ROMERO BOHÓRQUEZ, A. R. In Vitro Anti-Leishmanial Effect of Metallic Meso-Substituted Porphyrin Derivatives against *Leishmania braziliensis* and *Leishmania panamensis* Promastigotes Properties. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1887, 19 abr. 2020.

EZZEDDINE, R.; AL-BANAW, A.; TOVMASYAN, A.; CRAIK, J. D.; BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L. T. Effect of Molecular Characteristics on Cellular Uptake, Subcellular Localization, and Phototoxicity of Zn(II) N-Alkylpyridylporphyrins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 51, p. 36579–36588, dez. 2013.

FARINHA, A. S. F.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S. (E)-3-(meso-Octamethylcalix[4]pyrrol-2-yl)propenal: a versatile precursor for calix[4]pyrrole-based chromogenic anion sensors. **Tetrahedron Letters**, v. 51, n. 16, p. 2184–2187, abr. 2010.

FERREIRA, G.; CARVALHO, C.; NAKAGAKI, S. Studies of the Catalytic Activity of Iron (III) Porphyrins for the Protection of Carbonyl Groups in Homogeneous Media. **Catalysts**, v. 9, n. 4, p. 334, 4 abr. 2019.

FIEL, R. J.; HOWARD, J. C.; MARK, E. H.; GUPTA, N. D. Interaction of DNA with a porphyrin ligand: evidence for intercalation. **Nucleic Acids Research**, v. 6, n. 9, p. 3093–3118, 1979.

FISHER, M. C.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; BERMAN, J.; BICANIC, T.; BIGNELL, E. M.; BOWYER, P.; BROMLEY, M.; BRÜGGEMANN, R.; GARBER, G.; CORNELLY, O. A.; GURR, Sarah. J.; HARRISON, T. S.; KUIJPER, E.; RHODES, J.; SHEPPARD, D. C.; WARRIS, A.; WHITE, P. L.; XU, J.; ZWAAN, B.; VERWEIJ, P. E. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 9, p. 557–571, 29 set. 2022.

FU, Q.; SUN, X.; ZHANG, T.; PEI, J.; LI, Y.; LI, Q.; ZHANG, S.; WATERHOUSE, G. I. N.; LI, H.; AI, S. Porphyrin-based covalent organic polymers with customizable photoresponses for photodynamic inactivation of bacteria. **Science of The Total Environment**, v. 906, p. 167475, jan. 2024.

GARCIA-RUBIO, R.; DE OLIVEIRA, H. C.; RIVERA, J.; TREVIJANO-CONTADOR, N. The Fungal Cell Wall: Candida, Cryptococcus, and Aspergillus Species. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 9 jan. 2020.

GERALDES, C. F. G. C.; CASTRO, M. M. C. A.; PETERS, J. A. Mn(III) porphyrins as potential MRI contrast agents for diagnosis and MRI-guided therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 445, p. 214069, out. 2021.

GOLD, M. H.; MOIIN, A. Treatment of Verrucae Vulgaris and Molluscum Contagiosum with Photodynamic Therapy. **Dermatologic Clinics**, v. 25, n. 1, p. 75–80, jan. 2007.

GOMPERTS, B. D.; KRAMER, Ij. M.; TATHAM, P. E. R. Activation of the Innate immune System: The Toll-like Receptor 4 and Signalling through Ubiquitylation. *Em: Signal Transduction*. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 451–482.

GONSALVES, A. M. d'A R.; VAREJÃO, J. M. T. B.; PEREIRA, M. M. Some new aspects related to the synthesis of *meso*-substituted porphyrins. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 635–640, 6 abr. 1991.

GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 62, n. 21, p. 7512–7515, 1 out. 1997.

GOW, N. A.; HUBE, B. Importance of the Candida albicans cell wall during commensalism and infection. **Current Opinion in Microbiology**, v. 15, n. 4, p. 406–412, ago. 2012.

GUAN, Z.; CHAI, X.; YU, S.; HU, H.; JIANG, Y.; MENG, Q.; WU, Q. Synthesis, Molecular Docking, and Biological Evaluation of Novel Triazole Derivatives as Antifungal Agents. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 76, n. 6, p. 496–504, 25 dez. 2010.

HAMBLIN, M. R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 33, p. 67–73, out. 2016.

HAMBRIGHT, P.; ADEYEMO, A.; SHAMIM, A.; LEMELLE, S.; LAVALLEE, D. K.; MILLER, D.; WHITE, A. [[4,4',4''-Porphyrin-5,10,15, 20-Tetrayltetrakis(1-Methylpyridiniumato)(2-)]- Indium(III) Pentaperchlorate. *Em: [s.l: s.n.]p.* 55–59.

HIGUCHI, N.; HAYASHI, J.; FUJITA, M.; IWAMURA, Y.; SASAKI, Y.; GOTO, R.; OHNO, T.; NISHIDA, E.; YAMAMOTO, G.; KIKUCHI, T.; MITANI, A.; FUKUDA, M. Photodynamic Inactivation of an Endodontic Bacteria Using Diode Laser and Indocyanine Green-Loaded Nanosphere. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8384, 4 ago. 2021.

HO, P.; LEE, S.; KAM, C.; ZHU, J.; SHAN, G.; HONG, Y.; WONG, W.; CHEN, S. Fluorescence Imaging and Photodynamic Inactivation of Bacteria Based on Cationic Cyclometalated Iridium(III) Complexes with Aggregation-Induced Emission Properties. **Advanced Healthcare Materials**, v. 10, n. 24, 23 dez. 2021.

IAMAMOTO, Y.; ANTONION SERRA, O.; MARINA IDEMORI, Y. Iron(III) porphyrins atropisomers as catalysts for cyclohexane hydroxylations. A biomimetical system. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 54, n. 1, p. 55–66, abr. 1994.

JANAS, K.; BONIEWSKA-BERNACKA, E.; DYRDA, G.; SŁOTA, R. Porphyrin and phthalocyanine photosensitizers designed for targeted photodynamic therapy of colorectal cancer. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 30, p. 115926, jan. 2021.

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

JETT, B. D.; HATTER, K. L.; HUYCKE, M. M.; GILMORE, M. S. Simplified Agar Plate Method for Quantifying Viable Bacteria. **BioTechniques**, v. 23, n. 4, p. 648–650, out. 1997.

JIANG, J.; GUO, S.; WANG, X.; XU, L.; LI, Q.; ZHANG, X. Theoretical investigation of the structural and spectroscopic properties of expanded metalloporphyrin complexes. **Royal Society Open Science**, v. 6, n. 1, p. 181199, 23 jan. 2019.

JOHN, H.; BALSZUWEIT, F.; KEHE, K.; WOREK, F.; THIERMANN, H. Toxicokinetic Aspects of Nerve Agents and Vesicants. *Em*: **Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 817–856.

JOSEFSEN, L. B.; BOYLE, R. W. Unique Diagnostic and Therapeutic Roles of Porphyrins and Phthalocyanines in Photodynamic Therapy, Imaging and Theranostics. **Theranostics**, v. 2, n. 9, p. 916–966, 2012.

JUROW, M.; SCHUCKMAN, A. E.; BATTEAS, J. D.; DRAIN, C. M. Porphyrins as molecular electronic components of functional devices. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, n. 19–20, p. 2297–2310, out. 2010.

KAÇMAZ, B.; KESKE, Ş.; SIŞMAN, U.; ATEŞ, S. T.; GÜLDAN, M.; BEŞLI, Y.; PALAOĞLU, E.; ÇAKAR, N.; ERGÖNÜL, Ö. COVID-19 associated bacterial infections in intensive care unit: a case control study. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 13345, 16 ago. 2023.

KADISH, K. M.; HAN, B. C.; FRANZEN, M. M.; ARAULLO-MCADAMS, C. Syntheses and spectroscopic characterization of (T(p-Me₂N)F₄PP)H₂ and (T(p-Me₂N)F₄PP)M where T(p-Me₂N)F₄PP = the dianion of meso-tetrakis(o,o,m,m-

tetrafluoro-p-(dimethylamino)phenyl)porphyrin and M = cobalt(II), copper(II), or nickel(II). Structures of (T(p-Me₂N)F₄PP)Co and meso-tetrakis(pentafluorophenyl)porphinatocobalt(II), (TF₅PP)Co. **Journal of the American Chemical Society**, v. 112, n. 23, p. 8364–8368, 1 nov. 1990.

KALYANASUNDARAM, K. Photochemistry of water-soluble porphyrins: comparative study of isomeric tetrapyrrolyl- and tetrakis(N-methylpyridiniumyl)porphyrins. **Inorganic Chemistry**, v. 23, n. 16, p. 2453–2459, 1 ago. 1984.

KARL KADISH; KEVIN M. SMITH; ROGER GUILARD. **The Porphyrin Handbook**. 1. ed. San Diego, CA, USA: Academic Press, 1999. v. 11–405 p.

KARRER, S.; SZEIMIES, R. M.; ABELS, C.; WLOTZKE, U.; STOLZ, W.; LANDTHALER, M. Epidermodysplasia verruciformis treated using topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy. **British Journal of Dermatology**, v. 140, n. 5, p. 935–938, 24 maio 1999.

KEHRER, J. P. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. **Toxicology**, v. 149, n. 1, p. 43–50, ago. 2000.

KHARKWAL, G. B.; SHARMA, S. K.; HUANG, Y.-Y.; DAI, T.; HAMBLIN, M. R. Photodynamic therapy for infections: Clinical applications. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 43, n. 7, p. 755–767, set. 2011.

KOS, I.; REBOUÇAS, J. S.; DEFREITAS-SILVA, G.; SALVEMINI, D.; VUJASKOVIC, Z.; DEWHIRST, M. W.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. Lipophilicity of potent porphyrin-based antioxidants: Comparison of ortho and meta isomers of Mn(III) N-alkylpyridylporphyrins. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 1, p. 72–78, jul. 2009.

KOU, J.; DOU, D.; YANG, L. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications. **Oncotarget**, v. 8, n. 46, p. 81591–81603, 6 out. 2017.

KUBRAK, T. P.; KOŁODZIEJ, P.; SAWICKI, J.; MAZUR, A.; KOZIOROWSKA, K.; AEBISHER, D. Some Natural Photosensitizers and Their Medicinal Properties for Use in Photodynamic Therapy. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1192, 10 fev. 2022.

KWIATKOWSKI, S.; KNAP, B.; PRZYSTUPSKI, D.; SACZKO, J.; KĘDZIERSKA, E.; KNAP-CZOP, K.; KOTLIŃSKA, J.; MICHEL, O.; KOTOWSKI, K.; KULBACKA, J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1098–1107, out. 2018a.

KWIATKOWSKI, S.; KNAP, B.; PRZYSTUPSKI, D.; SACZKO, J.; KĘDZIERSKA, E.; KNAP-CZOP, K.; KOTLIŃSKA, J.; MICHEL, O.; KOTOWSKI, K.; KULBACKA, J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1098–1107, out. 2018b.

LADOMENOU, K.; NATALI, M.; IENGO, E.; CHARALAMPIDIS, G.; SCANDOLA, F.; COUTSOLELOS, A. G. Photochemical hydrogen generation with porphyrin-based systems. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 304–305, p. 38–54, dez. 2015.

LAVALLEE, D. K. Kinetics and mechanisms of metalloporphyrin reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 61, p. 55–96, jan. 1985.

LEBEDEVA, N. Sh.; YURINA, E. S.; LEBEDEV, M. A.; KISELEV, A. N.; SYRBU, S. A.; GUBAREV, Yu. A. Spectral Characterization of Complexes of Tetra- and Tricationic Porphyrins with DNA Duplex. **Macroheterocycles**, v. 14, n. 4, p. 342–347, 2021.

LEDWABA, M. M.; MAGAELA, N. B.; NDLOVU, K. S.; MACK, J.; NYOKONG, T.; MANAGA, M. Photophysical and in vitro photoinactivation of Escherichia coli using cationic 5,10,15,20-tetra(pyridin-3-yl) porphyrin and Zn(II) derivative conjugated to graphene quantum dots. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 40, p. 103127, dez. 2022.

LI, A.; FANG, R.; MAO, X.; SUN, Q. Photodynamic therapy in the treatment of rosacea: A systematic review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 38, p. 102875, jun. 2022a.

LI, W.; ZHANG, J.; GAO, Z.; QI, J.; DING, D. Advancing biomedical applications via manipulating intersystem crossing. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 471, p. 214754, nov. 2022b.

LIEDER, A.; KHAN, M. K.; LIPPERT, B. M. Photodynamic therapy for recurrent respiratory papillomatosis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 5 jun. 2014.

LIMA, E.; REIS, L. V. Photodynamic Therapy: From the Basics to the Current Progress of N-Heterocyclic-Bearing Dyes as Effective Photosensitizers. **Molecules**, v. 28, n. 13, p. 5092, 29 jun. 2023.

LINDSEY, J. S. The Synthesis of Meso-Substituted Porphyrins. *Em*: [s.l: s.n.]p. 49–86.

LINDSEY, J. S.; HSU, H. C.; SCHREIMAN, I. C. Synthesis of tetraphenylporphyrins under very mild conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 27, n. 41, p. 4969–4970, jan. 1986.

LINDSEY, J. S.; MACCRUM, K. A.; TYHONAS, J. S.; CHUANG, Y. Y. Investigation of a Synthesis of meso-Porphyrins Employing High Concentration Conditions and an Electron Transport Chain for Aerobic Oxidation. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 579–587, 1 fev. 1994.

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. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 827–836, 1 mar. 1987.

LOURENÇO, L. M. O.; BEIRÃO, S.; MELO, A.; FERNANDES, R.; TOMÉ, J. P. C. Thioglycerol-porphyrin, -chlorin, and -phthalocyanine derivatives for photodynamic therapy of UM-UC-3 bladder cancer cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 442, p. 114768, ago. 2023.

LV, S.; FU, X.; YUE, Z.; ZHANG, H.; ZHOU, G.; LIU, H.; ZHANG, F. Photodynamic therapy and CO2 fractional laser combination therapy for verruca vulgaris caused by Koebner phenomenon — Two case reports. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 45, p. 103946, fev. 2024.

MACDONALD, I. J.; DOUGHERTY, T. J. Basic principles of photodynamic therapy. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 05, n. 02, p. 105–129, 17 fev. 2001.

MAGNANO SAN LIO, R.; FAVARA, G.; MAUGERI, A.; BARCHITTA, M.; AGODI, A. How Antimicrobial Resistance Is Linked to Climate Change: An Overview of Two Intertwined Global Challenges. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 3, p. 1681, 17 jan. 2023.

MAIA, C. G. de C. **Desenvolvimento de Mn-Porfirinas à base de Nalquilpiridilporfirinas e N-alquilquinolilporfirinas como candidatos a agentes terapêuticos redox-ativos**. 2023. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2023.

MERCHAT, M.; BERTOLINI, G.; GIACOMINI, P.; VILLANEUVA, A.; JORI, G. Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of gram-positive and gram-negative bacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 32, n. 3, p. 153–157, fev. 1996a.

MERCHAT, M.; SPIKES, J. D.; BERTOLONI, G.; JORI, G. Studies on the mechanism of bacteria photosensitization by meso-substituted cationic porphyrins. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 35, n. 3, p. 149–157, set. 1996b.

MICHAEL, C. A.; DOMINEY-HOWES, D.; LABBATE, M. The Antimicrobial Resistance Crisis: Causes, Consequences, and Management. **Frontiers in Public Health**, v. 2, 16 set. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE; DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA DAS DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR) [recurso eletrônico]**. 1. ed. [s.l: s.n.]1–24 p.

MOGHNIE, S.; TOVMASYAN, A.; CRAIK, J.; BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L. Cationic amphiphilic Zn-porphyrin with high antifungal photodynamic potency. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 16, n. 11, p. 1709–1716, 27 nov. 2017.

MUEHLER, D.; BRANDL, E.; HILLER, K.-A.; CIEPLIK, F.; MAISCH, T. Membrane damage as mechanism of photodynamic inactivation using Methylene blue and TMPyP

in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 21, n. 2, p. 209–220, 21 fev. 2022.

NAGATA, J. Y.; HIOKA, N.; KIMURA, E.; BATISTELA, V. R.; TERADA, R. S. S.; GRACIANO, A. X.; BAESSO, M. L.; HAYACIBARA, M. F. Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: Evaluation of the photosensitizers used and light source properties. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 9, n. 2, p. 122–131, jun. 2012.

NAKAGAKI, S.; FERREIRA, G.; UCOSKI, G.; DIAS DE FREITAS CASTRO, K. Chemical Reactions Catalyzed by Metalloporphyrin-Based Metal-Organic Frameworks. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 7279–7308, 21 jun. 2013.

NI, J.; WANG, Y.; ZHANG, H.; SUN, J. Z.; TANG, B. Z. Aggregation-Induced Generation of Reactive Oxygen Species: Mechanism and Photosensitizer Construction. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 268, 7 jan. 2021.

NOVAIRA, M.; CORMICK, M. P.; DURANTINI, E. N. Spectroscopic and time-resolved fluorescence emission properties of a cationic and an anionic porphyrin in biomimetic media and *Candida albicans* cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 246, p. 67–74, out. 2012.

ODEH, A. M.; CRAIK, J. D.; EZZEDDINE, R.; TOVMASYAN, A.; BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L. T. Targeting Mitochondria by Zn(II)N-Alkylpyridylporphyrins: The Impact of Compound Sub-Mitochondrial Partition on Cell Respiration and Overall Photodynamic Efficacy. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. e108238, 24 set. 2014.

ÖMEROĞLU, İ.; DURMUŞ, M. Water-soluble phthalocyanine photosensitizers for photodynamic therapy. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 47, n. 5, p. 837–863, 31 out. 2023.

OMS. **WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance**. [s.l.: s.n.].

ORMOND, A.; FREEMAN, H. Dye Sensitizers for Photodynamic Therapy. **Materials**, v. 6, n. 3, p. 817–840, 6 mar. 2013.

OSZAJCA, M.; BRINDELL, M.; ORZEŁ, Ł.; DĄBROWSKI, J. M.; ŚPIEWAK, K.; ŁABUZ, P.; PACIA, M.; STOCHEL-GAUDYN, A.; MACYK, W.; VAN ELDIK, R.; STOCHEL, G. Mechanistic studies on versatile metal-assisted hydrogen peroxide activation processes for biomedical and environmental incentives. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 327–328, p. 143–165, nov. 2016.

OWENS, J. W.; O'CONNOR, C. J. Comparison of the electronic and vibrational spectra of complexes of protoporphyrin-IX, hemeoctapeptide, and heme proteins. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 84, p. 1–45, mar. 1988.

- P: HEMMERICH. **Structure and Bonding**. 1. ed. Berlim: Springer, 1970. v. 71–203 p.
- PARUMS, D. V. Editorial: The World Health Organization (WHO) Fungal Priority Pathogens List in Response to Emerging Fungal Pathogens During the COVID-19 Pandemic. **Medical Science Monitor**, v. 28, 1 dez. 2022.
- PAVANI, C.; IAMAMOTO, Y.; BAPTISTA, M. S. Mechanism and Efficiency of Cell Death of Type II Photosensitizers: Effect of Zinc Chelation [†]. **Photochemistry and Photobiology**, v. 88, n. 4, p. 774–781, 24 jul. 2012.
- PEREIRA, M. M.; MONTEIRO, C. J. P.; PEIXOTO, A. F. Meso-Substituted Porphyrin Synthesis from Monopyrrole: An Overview. *Em*: ORAZIO A. ATTANASI, D. S. **Targets in Heterocyclic Systems: Chemistry and Properties**. 1. ed. Itália: Italian Society of Chemistry, 2008. p. 258–278.
- PINTO, V. H. A.; CARVALHODA-SILVA, D.; SANTOS, J. L. M. S.; WEITNER, T.; FONSECA, M. G.; YOSHIDA, M. I.; IDEMORI, Y. M.; BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S. Thermal stability of the prototypical Mn porphyrin-based superoxide dismutase mimic and potent oxidative-stress redox modulator Mn(III) meso-tetrakis(N-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin chloride, MnTE-2-PyP5⁺. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 73, p. 29–34, jan. 2013.
- PINTO, V. H. A.; REBOUÇAS, J. S.; UCOSKI, G. M.; DE FARIA, E. H.; FERREIRA, B. F.; SILVA SAN GIL, R. A.; NAKAGAKI, S. Mn porphyrins immobilized on non-modified and chloropropyl-functionalized mesoporous silica SBA-15 as catalysts for cyclohexane oxidation. **Applied Catalysis A: General**, v. 526, p. 9–20, set. 2016.
- PODDUTOORI, P. K. Main-group porphyrins in artificial photosynthesis. *Em*: **Photosynthesis**. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 165–195.
- PRZYGODA, M.; BARTUSIK-AEBISHER, D.; DYNAROWICZ, K.; CIEŚLAR, G.; KAWCZYK-KRUPKA, A.; AEBISHER, D. Cellular Mechanisms of Singlet Oxygen in Photodynamic Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16890, 29 nov. 2023.
- PUCELIK, B.; DĄBROWSKI, J. M. Photodynamic inactivation (PDI) as a promising alternative to current pharmaceuticals for the treatment of resistant microorganisms. *Em*: [s.l.: s.n.]p. 65–108.
- QIAO, J.; LI, R.; DING, Y.; FANG, H. Photodynamic Therapy in the Treatment of Superficial Mycoses: An Evidence-based Evaluation. **Mycopathologia**, v. 170, n. 5, p. 339–343, 5 nov. 2010.
- RAPOSO, B. L.; SOUZA, S. O.; SANTANA, G. S.; LIMA, M. T. A.; SARMENTO-NETO, J. F.; REBOUCAS, J. S.; PEREIRA, G.; SANTOS, B. S.; CABRAL FILHO, P. E.; RIBEIRO, M. S.; FONTES, A. A Novel Strategy Based on Zn(II) Porphyrins and

Silver Nanoparticles to Photoinactivate *Candida albicans*. **International Journal of Nanomedicine**, v. 18, p. 3007–3020, 2023a.

RAPOSO, B. L.; SOUZA, S. O.; SANTANA, G. S.; LIMA, M. T.; SARMENTO-NETO, J. F.; REBOUCAS, J. S.; PEREIRA, G.; SANTOS, B. S.; CABRAL FILHO, P. E.; RIBEIRO, M. S.; FONTES, A. A Novel Strategy Based on Zn(II) Porphyrins and Silver Nanoparticles to Photoinactivate *Candida albicans*. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 18, p. 3007–3020, jun. 2023b.

REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. Quality of potent Mn porphyrin-based SOD mimics and peroxynitrite scavengers for pre-clinical mechanistic/therapeutic purposes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 3, p. 1046–1049, nov. 2008.

REGIEL-FUTYRA, A.; DĄBROWSKI, J. M.; MAZURYK, O.; ŚPIEWAK, K.; KYZIOŁ, A.; PUCELIK, B.; BRINDELL, M.; STOCHEL, G. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 351, p. 76–117, nov. 2017.

REHMAN, S. A parallel and silent emerging pandemic: Antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic. **Journal of Infection and Public Health**, v. 16, n. 4, p. 611–617, abr. 2023.

REICHEL, A.; LIENAU, P. Pharmacokinetics in Drug Discovery: An Exposure-Centred Approach to Optimising and Predicting Drug Efficacy and Safety. *Em: [s.l: s.n.]p.* 235–260.

RICCHELLI, F.; FRANCHI, L.; MIOTTO, G.; BORSETTO, L.; GOBBO, S.; NIKOLOV, P.; BOMMER, J. C.; REDDI, E. Meso-substituted tetra-cationic porphyrins photosensitize the death of human fibrosarcoma cells via lysosomal targeting. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n. 2, p. 306–319, fev. 2005.

ROBRES, P.; ASPIROZ, C.; REZUSTA, A.; GILABERTE, Y. Usefulness of Photodynamic Therapy in the Management of Onychomycosis. **Actas Dermato-Sifiliográficas (English Edition)**, v. 106, n. 10, p. 795–805, dez. 2015.

ROTHEMUND, P. FORMATION OF PORPHYRINS FROM PYRROLE AND ALDEHYDES. **Journal of the American Chemical Society**, v. 57, n. 10, p. 2010–2011, 1 out. 1935.

ROTHEMUND, Paul. Porphyrin Studies. III. ¹ The Structure of the Porphine ² Ring System. **Journal of the American Chemical Society**, v. 61, n. 10, p. 2912–2915, 1 out. 1939.

RUIZ-HERRERA, J.; VICTORIA ELORZA, M.; VALENTĂN, E.; SENTANDREU, R. Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. **FEMS Yeast Research**, v. 6, n. 1, p. 14–29, jan. 2006.

SAI, D. L.; LEE, J.; NGUYEN, D. L.; KIM, Y.-P. Tailoring photosensitive ROS for advanced photodynamic therapy. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 53, n. 4, p. 495–504, 8 abr. 2021.

SALAM, Md. A.; AL-AMIN, Md. Y.; SALAM, M. T.; PAWAR, J. S.; AKHTER, N.; RABAAN, A. A.; ALQUMBER, M. A. A. Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. **Healthcare**, v. 11, n. 13, p. 1946, 5 jul. 2023.

SANTAMARINA, S. C.; HEREDIA, D. A.; DURANTINI, A. M.; DURANTINI, E. N. Porphyrin Polymers Bearing N,N'-Ethylene Crosslinkers as Photosensitizers against Bacteria. **Polymers**, v. 14, n. 22, p. 4936, 15 nov. 2022.

SARI, M. A.; BATTIONI, J. P.; DUPRE, D.; MANSUY, D.; LE PECQ, J. B. Interaction of cationic porphyrins with DNA: importance of the number and position of the charges and minimum structural requirements for intercalation. **Biochemistry**, v. 29, n. 17, p. 4205–4215, 1 maio 1990.

SARMENTO NETO, J. F. **Síntese de complexos de Mn(III) à base de porfirinas tricatiônicas do Tipo A3B (A = 2-N-metilpiridínio; B = 3-metoxi- 4-hidroxifenil ou 3,4-dimetoxifenil) como potenciais mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD)**. 2016. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

SARMENTO NETO, J. F. **Desenvolvimento de mímicos das enzimas superóxido dismutases (SOD) e fotossensibilizadores à base de metaloporfirinas hidrossolúveis do tipo [A3B]3+ ou [A4] 4+ (A = 2-N-alkilpiridínio; B = vanilina ou O-alkilvanilina)**. 2021. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021.

SEEGER, M. G.; IGLESIAS, B. A.; VOGEL, F. S. F.; CARGNELUTTI, J. F. Antibiofilm action using water-soluble tetra-cationic porphyrin and antibacterial photodynamic therapy against *Moraxella* spp. from cattle. **Microbial Pathogenesis**, v. 178, p. 106081, maio 2023.

SEILER, P. Interconversion of lipophilicities from hydrocarbon/water systems into the octanol/water system. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 5, p. 473–479, 1974.

SENGUPTA, D.; RAI, M.; HOQUE MAZUMDAR, Z.; SHARMA, D.; MALABIKA SINGHA, K.; PANDEY, P.; GAUR, R. Two cationic meso-thiophenium porphyrins and their zinc-complexes as anti-HIV-1 and antibacterial agents under non-photodynamic therapy (PDT) conditions. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 65, p. 128699, jun. 2022.

SHARMA, S.; BARMAN, P.; JOSHI, S.; PREET, S.; SAINI, A. Multidrug resistance crisis during COVID-19 pandemic: Role of anti-microbial peptides as next-generation therapeutics. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 211, p. 112303, mar. 2022.

SHARMAN, W. M.; ALLEN, C. M.; VAN LIER, J. E. Role of activated oxygen species in photodynamic therapy. *Em*: [s.l: s.n.]p. 376–400.

SHATILA, F.; TIEMAN, G. M. O.; MUSOLINO, S. F.; WULFF, J. E.; BUCKLEY, H. L. Antimicrobial Photodynamic Inactivation of Planktonic and Biofilm Cells by Covalently Immobilized Porphyrin on Polyethylene Terephthalate Surface. **SSRN Electronic Journal**, 2022.

SILVEIRA-ALVES JR, E.; BEZERRA, F. C.; GUERRA, R. A.; ZUFELATO, N.; MARTINS, C. S.; DESORDI, J. C.; CAIRES, A. R. L.; BAKUZIS, A. F.; GONÇALVES, P. J. Coupling of cationic porphyrins on manganese ferrite nanoparticles: A potential multifunctional nanostructure for theranostics applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 438, p. 114551, abr. 2023.

SIMPLICIO, F. I.; MAIONCHI, F.; HIOKA, N. Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 801–807, set. 2002.

SINGH, G.; CHANDRA, S. Unravelling the structural-property relations of porphyrinoids with respect to photo- and electro-chemical activities. **Electrochemical Science Advances**, v. 3, n. 1, 12 fev. 2023.

SOUZA, S. O.; RAPOSO, B. L.; SARMENTO-NETO, J. F.; REBOUÇAS, J. S.; MACÊDO, D. P. C.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; SANTOS, B. S.; FREITAS, A. Z.; CABRAL FILHO, P. E.; RIBEIRO, M. S.; FONTES, A. Photoinactivation of Yeast and Biofilm Communities of *Candida albicans* Mediated by ZnTnHex-2-PyP4⁺ Porphyrin. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 6, p. 556, 25 maio 2022.

SOUZA, T. H. S.; ANDRADE, C. G.; CABRAL, F. V.; SARMENTO-NETO, J. F.; REBOUÇAS, J. S.; SANTOS, B. S.; RIBEIRO, M. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; FONTES, A. Efficient photodynamic inactivation of *Leishmania* parasites mediated by lipophilic water-soluble Zn(II) porphyrin ZnTnHex-2-PyP4⁺. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1865, n. 7, p. 129897, jul. 2021a.

SOUZA, T. H. S.; SARMENTO-NETO, J. F.; SOUZA, S. O.; RAPOSO, B. L.; SILVA, B. P.; BORGES, C. P. F.; SANTOS, B. S.; CABRAL FILHO, P. E.; REBOUÇAS, J. S.; FONTES, A. Advances on antimicrobial photodynamic inactivation mediated by Zn(II) porphyrins. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 49, p. 100454, dez. 2021b.

SPASOJEVIC, I.; KOS, I.; BENOVIĆ, L. T.; RAJIC, Z.; FELS, D.; DEDEUĞD, C.; YE, X.; VUJASKOVIC, Z.; REBOUCAS, J. S.; LEONG, K. W.; DEWHIRST, M. W.;

BATINIC-HABERLE, I. Bioavailability of metalloporphyrin-based SOD mimics is greatly influenced by a single charge residing on a Mn site. **Free Radical Research**, v. 45, n. 2, p. 188–200, 13 fev. 2011.

STEEGHS, L. Outer membrane composition of a lipopolysaccharide-deficient *Neisseria meningitidis* mutant. **The EMBO Journal**, v. 20, n. 24, p. 6937–6945, 17 dez. 2001.

STYLLI, S. S.; HOWES, M.; MACGREGOR, L.; RAJENDRA, P.; KAYE, A. H. Photodynamic therapy of brain tumours: evaluation of porphyrin uptake versus clinical outcome. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 11, n. 6, p. 584–596, ago. 2004.

SUN, Y.; OGAWA, R.; XIAO, B.; FENG, Y.; WU, Y.; CHEN, L.; GAO, X.; CHEN, H. Antimicrobial photodynamic therapy in skin wound healing: A systematic review of animal studies. **International Wound Journal**, v. 17, n. 2, p. 285–299, 14 abr. 2020.

SZENTMÁRY, N.; GOEBELS, S.; BISCHOFF, M.; SEITZ, B. Photodynamische Therapie bei infektiöser Keratitis. **Der Ophthalmologe**, v. 109, n. 2, p. 165–170, 19 fev. 2012.

TANAKA, T.; OSUKA, A. Chemistry of *meso*-Aryl-Substituted Expanded Porphyrins: Aromaticity and Molecular Twist. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 4, p. 2584–2640, 22 fev. 2017.

TAPIERO, H.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57, n. 9, p. 399–411, nov. 2003.

TAYAR, N. El; TSAI, R.-S.; TESTA, B.; CARRUPT, P.-A.; LEO, A. Partitioning of Solutes in Different Solvent Systems: The Contribution of Hydrogen-Bonding Capacity and Polarity. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 6, p. 590–598, jun. 1991.

TEBO, A.; HERRERO, C.; AUKAULOO, A. Porphyrins and Metalloporphyrins as Components in Artificial Photosynthesis Research. *Em*: [s.l: s.n.]p. 195–237.

THOMAS, M.; CRAIK, J. D.; TOVMASYAN, A.; BATINIC-HABERLE, I.; BENOVA, L. T. Amphiphilic cationic Zn-porphyrins with high photodynamic antimicrobial activity. **Future Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 709–724, maio 2015.

TIAN, J.; HUANG, B.; NAWAZ, M. H.; ZHANG, W. Recent advances of multi-dimensional porphyrin-based functional materials in photodynamic therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 420, p. 213410, out. 2020.

TITA, S. P. S.; PERUSSI, J. R. The effect of porphyrins on normal and transformed mouse cell lines in the presence of visible light. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 10, p. 1331–1336, out. 2001.

UCOSKI, G. M.; PINTO, V. H. A.; DEFREITAS-SILVA, G.; REBOUÇAS, J. S.; MAZZARO, I.; NUNES, F. S.; NAKAGAKI, S. Magnetic HMS silica as a Support to

Immobilization of Catalysts Based on Cationic Manganese Porphyrins. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 13, p. 3703–3715, 2 maio 2017.

VANREPELEN, G.; WUYTS, J.; VAN DIJCK, P.; VANDECRUYS, P. Sources of Antifungal Drugs. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 2, p. 171, 28 jan. 2023.

VIANA, O. S.; RIBEIRO, M. S.; RODAS, A. C. D.; REBOUÇAS, J. S.; FONTES, A.; 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, n. 5, p. 8893–8912, 2015.

VITAL-FUJII, D. G.; BAPTISTA, M. S. Progress in the photodynamic therapy treatment of Leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 54, n. 12, 2021.

WAINWRIGHT, M.; MAISCH, T.; NONELL, S.; PLAETZER, K.; ALMEIDA, A.; TEGOS, G. P.; HAMBLIN, M. R. Photoantimicrobials—are we afraid of the light? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. e49–e55, fev. 2017.

WAN, F.; WU, L.; CHEN, X.; ZHANG, Y.; JIANG, L. Research progress on manganese complexes as contrast agents for magnetic resonance imaging. **Polyhedron**, v. 242, p. 116489, set. 2023.

WANG, D.; PAN, H.; YAN, Y.; ZHANG, F. Rose bengal-mediated photodynamic inactivation against periodontopathogens in vitro. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 34, p. 102250, jun. 2021a.

WANG, Y.; GUO, X.; ZHOU, S.; WANG, L.; FANG, Y.; XING, L.; ZHAO, Y.; ZHANG, L.; QIU, H.; ZENG, J.; GU, Y. Selective photodynamic inactivation of Helicobacter pylori by a cationic benzylidene cyclopentanone photosensitizer - an in vitro and ex vivo study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 223, p. 112287, out. 2021b.

WARSZYŃSKA, M.; REPETOWSKI, P.; DĄBROWSKI, J. M. Photodynamic therapy combined with immunotherapy: Recent advances and future research directions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 495, p. 215350, nov. 2023.

WENLONG, H.; QIUNAN, Y.; WENHAO, C.; YUMO, L.; TINGTING, Z.; HONG, R. The combination of photodynamic therapy and fractional CO2 laser for mycobacterium marinum infection. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 35, p. 102391, set. 2021.

WIJESEKERA, T. P.; DOLPHIN, D. ChemInform Abstract: Synthetic Aspects of Porphyrin and Metalloporphyrin Chemistry. **ChemInform**, v. 26, n. 34, 22 ago. 1995.

WU, L.; FENG, L.; REN, J.; QU, X. Electrochemical detection of dopamine using porphyrin-functionalized graphene. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 34, n. 1, p. 57–62, abr. 2012.

WU, X.; HU, Y. Photodynamic Therapy for the Treatment of Fungal Infections. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 15, p. 3251–3266, jun. 2022.

YANG, F.; XU, M.; CHEN, X.; LUO, Y. Spotlight on porphyrins: Classifications, mechanisms and medical applications. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 164, p. 114933, ago. 2023.

YANG, M.; DENG, J.; GUO, D.; ZHANG, J.; YANG, L.; WU, F. A folate-conjugated platinum porphyrin complex as a new cancer-targeting photosensitizer for photodynamic therapy. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 17, n. 21, p. 5367–5374, 2019.

YANG, M.-Y.; CHANG, K.-C.; CHEN, L.-Y.; HU, A. Low-dose blue light irradiation enhances the antimicrobial activities of curcumin against *Propionibacterium acnes*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 189, p. 21–28, dez. 2018.

YOSHIDA, T.; SAEKI, T.; OHASHI, S.; OKUDAIRA, T.; LEE, M.; YOSHIDA, H.; MARUOKA, H.; ITO, H.; FUNASAKA, S.; KATO, H. CLINICAL STUDY OF PHOTODYNAMIC THERAPY FOR LARYNGEAL CANCER. **Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho**, v. 98, n. 5, p. 795- 804, 1995.

YU, S.; HOU, Y.; JIN, Q.; ZHU, L.; CHEN, S. Biomimetic chlorophyll derivatives-based photocatalytic fabric for highly efficient O₂ production via CO₂ and H₂O photoreaction. **Chemical Engineering Journal**, v. 472, p. 145103, set. 2023.

ZHANG, C.; YANG, J.; HARA, K.; ISHII, R.; ZHANG, H.; ITOI, T.; IZUMI, Y. Anchoring and reactivation of single-site Co–porphyrin over TiO₂ for the efficient photocatalytic CO₂ reduction. **Journal of Catalysis**, v. 413, p. 588–602, set. 2022.

ZHOU, Y.; LIANG, X.; DAI, Z. Porphyrin-loaded nanoparticles for cancer theranostics. **Nanoscale**, v. 8, n. 25, p. 12394–12405, 2016.

ZIGANSHYNA, S.; SZCZEPANKIEWICZ, G.; KUEHNERT, M.; SCHULZE, A.; LIEBERT, U. G.; PIETSCH, C.; EULENBURG, V.; WERDEHAUSEN, R. Photodynamic Inactivation of SARS-CoV-2 Infectivity and Antiviral Treatment Effects In Vitro. **Viruses**, v. 14, n. 6, p. 1301, 14 jun. 2022.

ZOLTAN, T.; VARGAS, F.; LÓPEZ, V.; CHÁVEZ, V.; RIVAS, C.; RAMÍREZ, Á. H. Influence of charge and metal coordination of meso-substituted porphyrins on bacterial photoinactivation. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 135, p. 747–756, jan. 2015.

APÊNDICE

Espectros de RMN de ^1H da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (200 MHz; $d^6\text{-DMSO}$) e da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (500 MHz; $d^6\text{-DMSO}$).

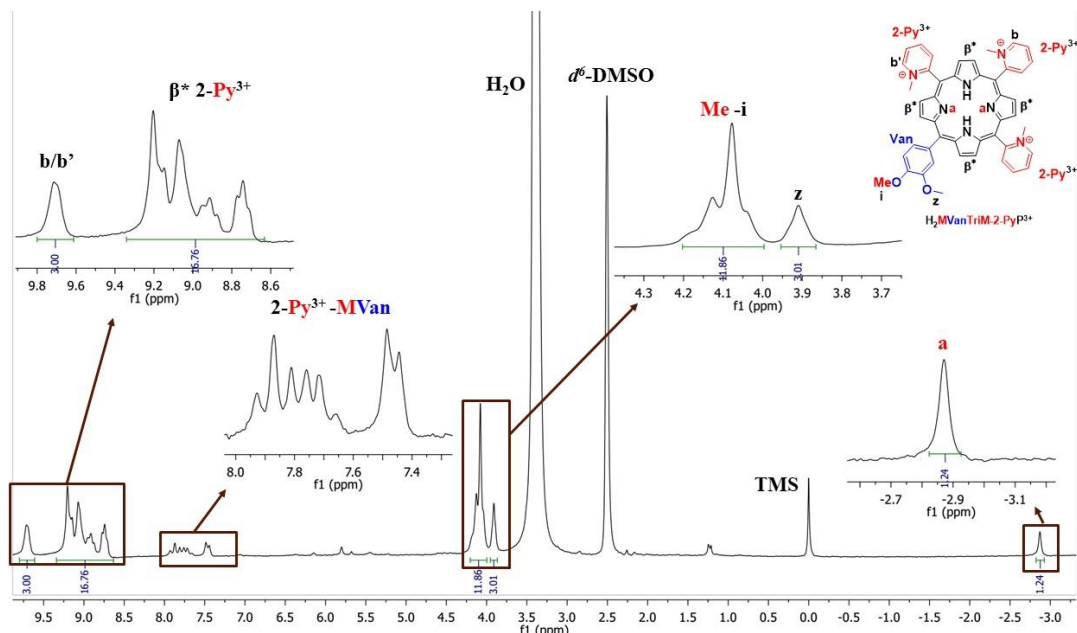


Figura A.1 - Espectro de RMN de ^1H 200 MHz da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ registrado em $d^6\text{-DMSO}$. As regiões expandidas compreendem a β^* = β -pirrólicos; $2\text{-Py}^{3+}/\text{Me}$ = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio; b/b' = posições 6 do 2-Py^{3+} das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.

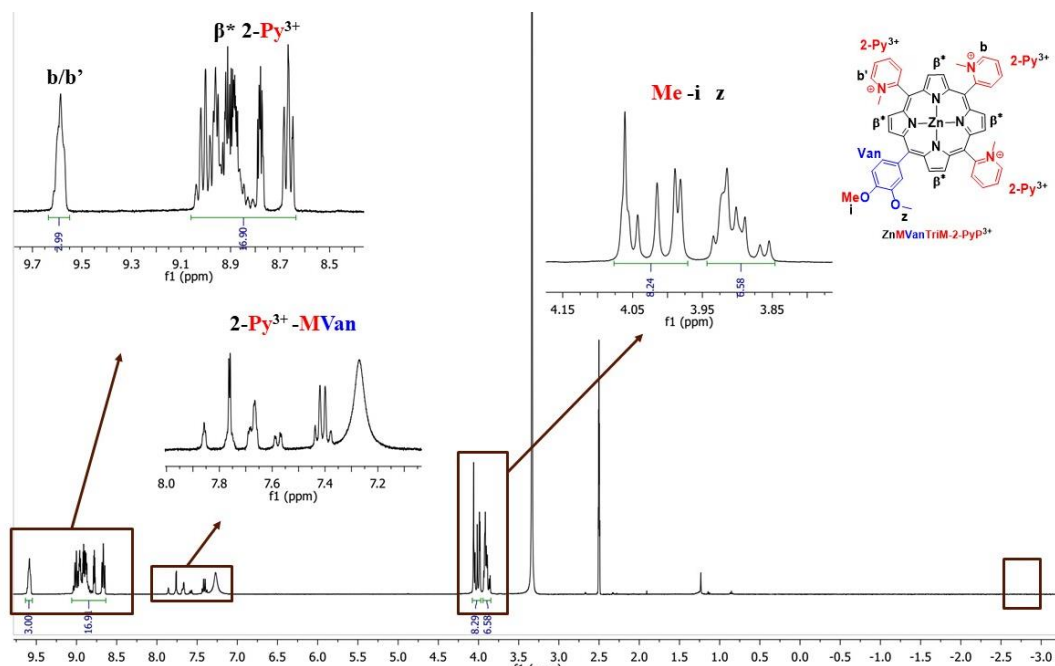


Figura A.2 - Espectros de RMN de ^1H 500 MHz da $\text{ZnMVanTriM-2-PyP}^{3+}$ registrado em $d^6\text{-DMSO}$. As regiões expandidas compreendem a β^* = β -pirrólicos; $2\text{-Py}^{3+}/\text{Me}$ = sinais misturados dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-metilpiridínio; b/b' = posições 6 do 2-Py^{3+} das porfirinas; Van = sinais arila do grupo vanilina.