



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

Dissertação de Mestrado

**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)**

José Ferreira Sarmiento Neto

João Pessoa – PB – Brasil

Setembro/2016



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

Dissertação de Mestrado

**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)**

José Ferreira Sarmiento Neto*

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

* Bolsista CAPES

João Pessoa – PB – Brasil

Setembro/2016

S246s Sarmiento Neto, José Ferreira.
Síntese de complexos de Mn(III) à base de porfirinas
tricatiônicas do Tipo A_3B (A = 2-*N*-metilpiridínio; B = 3-metoxi-
4-hidroxifenil ou 3,4-dimetoxifenil) como potenciais mímicos
das enzimas superóxido dismutases (SOD) / José Ferreira
Sarmiento Neto.- João Pessoa, 2016.
108f. : il.

Orientador: Júlio Santos Rebouças
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN

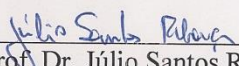
1. Química inorgânica. 2. Porfirinas de baixa simetria.
3. Estresse oxidativo. 4. Enzimas superóxido dismutase.

UFPB/BC

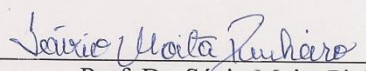
CDU: 546(043)

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).

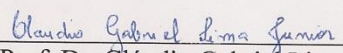
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno José Ferreira Sarmiento Neto e aprovada pela banca examinadora em 15 de setembro de 2016.



Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Sávio Moita Pinheiro
Examinador



Prof. Dr. Cláudio Gabriel Lima Júnior
Examinador

Epígrafe

**“Torne a realização dos
seus sonhos tão gigante
quanto o monte Everest.”**
Autor desconhecido

Agradecimentos

Primeiramente, quero agradecer a todas as pessoas amigas e preciosas que estão presentes na minha vida.

Aos meus pais Fátima e Francisco, à minha vó/mãe Auxiliadora e meu irmão Francisco Sá pelo amor incondicional. Aos meus outros familiares importantes, como meu tio Paulo.

Ao meu orientador Júlio Santos Rebouças, por ser uma pessoa extremamente inteligente e competente. Obrigado pela paciência, confiança e atenção ao longo desses dois anos de mestrado (seis anos de orientação).

À minha namorada Barbara, por todo amor, amizade, paciência, incentivo e companheirismo durante todo o mestrado.

À eterna amizade de Márcio e Caline. À irmandade/amizade de Jacqueline e Clarissa. À dona Margarida.

Aos meus amigos e colegas do DQ-UFPB: Paulo, Dariston, Victor Hugo, André, Cristiano, Gabi, Karla, Macgyver, Caio, Annaires, Geórgia, Elaine, Yolanda, Katharinne, Gilvan, Handerson, Carol, Iran, Israel, Marília Gabriela, Jandeilson, Berg, João Marcos, Rafael, Rômulo, Heberton, Evandro, Joaldo pela amizade, conselhos, conversas e principalmente pelos momentos de descontração compartilhados.

Aos professores Cláudio, Sávio, Ercules, Fernando e Juliana pela disponibilidade e contribuições na avaliação das bancas de pré-defesa e defesa de mestrado.

Aos técnicos da Central Analítica-UFPB, Evandro e Alecssandro, pela aquisição dos espectros de RMN de hidrogênio.

À Legião Urbana, System of a Down, Zé Ramalho, Kiss, Led Zeppelin, Alice in Chains, Pearl Jam, Paralamas do Sucesso, Capital Inicial, Geraldo Azevedo e muitas outras bandas e artistas, pela inspiração em momentos complicados.

À Rede de Cooperação Acadêmica em Porfirinas Aplicadas a Problemas Químicos, Biológicos, Medicinais e Ambientais (REPORFIRINA).

À PPGQ-UFPB, PRPG-UFPB, ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro concedido.

À CAPES pela bolsa concedida.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho acabei esquecendo pela correria de entrega deste trabalho.

Sumário

Resumo	i
Abstract	ii
Abreviaturas e Siglas	iii
Lista de figuras	v
Lista de tabelas	x
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Porfirinas e Metaloporfirinas: Aspectos gerais	1
1.2 Síntese de porfirinas meso-substituídas	2
1.2.1 Método de Rothemund	2
1.2.2 Método de Adler-Longo e adaptações	3
1.2.3 Método de Lindsey e adaptações	4
1.3 Mn-porfirinas como moduladores do estresse oxidativo	6
1.3.1 Estresse oxidativo e as enzimas superóxido dismutases	6
1.3.2 Mn-porfirinas como mímicos das enzimas SOD	7
1.3.3 Atividade Superóxido Dismutase de Mn-porfirinas	9
1.3.4 Modelo da Ataxia-Telangiectasia	12
1.4 Design de porfirinas de baixa simetria do tipo A₃B derivadas das 2-N-piridilporfirinas	14
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 METODOLOGIA	20
3.1 Reagentes e solventes	20
3.2 Análises e Equipamentos	21
3.2.1 Cromatografia de camada delgada (CCD)	21
3.2.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis	21
3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H	21
3.2.4 Análises termogravimétricas	21
3.2.5 Voltametria Cíclica	22
3.3 Síntese de porfirinas neutras de baixa simetria	22
3.3.1 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H ₂ VanTri-2-PyP) (1)	22
3.3.1.1 Reações exploratórias em microescala	22

3.3.1.2 Reações em escala preparativa	24
3.3.2 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H ₂ MVanTri-2-PyP) (2)	25
3.4 Obtenção das porfirinas catiônicas	26
3.4.1 Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirina (H ₂ VanTriM-2-PyPCL ₃) (3)	26
3.4.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirina (H ₂ MVanTriM-2-PyPCL ₃) (4)	28
3.4.2.1 Obtenção da H ₂ MVanTriM-2-PyPCL ₃ pela Rota 1	28
3.4.2.2 Obtenção da H ₂ MVanTriM-2-PyPCL ₃ pela Rota 2	29
3.5 Síntese dos complexos de Mn(III)	29
3.5.1 Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirinatomanganês(III) (MnVanTri-2-PyPCL) (5)	29
3.5.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirinatomanganês(III) (MnMVanTri-2-PyPCL) (6)	31
3.5.3 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnVanTriM-2-PyPCL ₄) (7)	31
3.5.4 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnMVanTriM-2-PyPCL ₄) (8)	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Porphirinas neutras de baixa simetria	34
4.1.1 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H ₂ VanTri-2-PyP) (1)	34
4.1.1.1 Reações exploratórias em microescala	34
4.1.1.2 Reações em escala preparativa	38
4.1.2 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H ₂ MVanTri-2-PyP) (2)	42
4.2 Obtenção das porfirinas catiônicas H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (3) e H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (4)	45
4.3 Síntese dos complexos de Mn(III)	56
4.4.1 Complexos de Mn derivados das porfirinas neutras: MnVanTri-2-PyPCL (5) e MnMVanTri-2-PyPCL (6)	58
4.4.2 Complexos de Mn derivados das porfirinas catiônicas: MnVanTri-2-PyPCL ₄ (7) e MnMVanTri-2-PyPCL ₄ (8)	61

4.4 Voltametria cíclica	67
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
5.1 Conclusões	71
5.2 Perspectivas	72
REFERÊNCIAS	73
Apêndice A -Espectros eletrônicos UV-vis comparativos das porfirinas do tipo A ₃ B	82
Apêndice B - Espectros de RMN de ¹ H das porfirinas de bases livres neutras do tipo A ₃ B	84
Apêndice C - Espectros de RMN de ¹ H das porfirinas de bases livres catiônicas do tipo A ₃ B	87

RESUMO

O ânion radical superóxido constitui uma das espécies reativas de oxigênio intimamente relacionada a estados fisiopatológicos associados ao estresse oxidativo. Os níveis fisiológicos do superóxido são controlados *in vivo* pelas enzimas Superóxido Dismutases (SOD). Mn-porfirinas pentacatiônicas derivadas das 2-*N*-alquilpiridilporfirinas têm se destacado como mímicos potentes das enzimas SOD e, por sua vez, potentes moduladores redox de estresse oxidativo. A eficiência *in vivo* destes compostos está relacionada à atividade catalítica intrínseca, à lipofilicidade, à biodisponibilidade e à toxicidade. No presente estudo, descreve-se a síntese de 2 porfirinas neutras de baixa simetria do tipo A₃B (A = 2-piridil, B = 3-metoxi-4-hidroxifenil ou 3,4-dimetoxifenil), a metilação destes compostos para obtenção de porfirinas tricatiônicas e a preparação das Mn(III) porfirinas tetracatiônicas correspondentes; ao todo são descritos 8 compostos inéditos: 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂VanTri-2-PyP), 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂MVanTri-2-PyP), cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina (H₂VanTriM-2-PyPCL₃), cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina (H₂MVanTriM-2-PyPCL₃), cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirinatomanganês(III) (MnVanTri-2-PyPCL), cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirinatomanganês(III) (MnMVanTri-2-PyPCL), cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnVanTriM-2-PyPCL₄) e cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnMVanTriM-2-PyPCL₄). As propriedades espectroscópicas, eletroquímicas e de lipofilicidade de todos os compostos foram comparadas com os derivados das 2-*N*-piridilporfirinas análogas do tipo A₄. Os complexos monocatiônicos MnVanTri-2-PyP⁺ e MnMVanTri-2-PyP⁺ apresentam potenciais de redução Mn(III)/Mn(II) muito baixos para catalisarem a dismutação do superóxido, enquanto os complexos tetracatiônicos MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ apresentaram potenciais apropriados para o desenvolvimento de mímicos SOD com base nas relações estrutura-atividade reportadas para sistemas correlatos. A lipofilicidade da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ sugere que os compostos têm biodisponibilidade promissora para testes *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Mn-porfirinas, porfirinas tipo A₃B; mímicos de SOD

ABSTRACT

The superoxide anion is among the reactive oxygen species closely related to physiopathological states associated with oxidative stress. The physiological superoxide levels are controlled in vivo by the superoxide dismutase enzymes (SOD). Pentacationic Mn porphyrins derived from 2-*N*-alkylpyridylporphyrins have been explored as potent SOD mimics and efficient redox modulators of oxidative stress. The in vivo efficiency of these compounds is related with their intrinsic catalytic activity, lipophilicity, bioavailability, and toxicity. The present study describes the synthesis of two A₃B-type neutral porphyrins of low symmetry (A = 2-pyridyl, B = 3-methoxy-4-hydroxyphenyl or 3,4-dimethoxyphenyl), the methylation of these compounds to yield tricationic porphyrins and the preparation of the corresponding tetracationic Mn(III) porphyrins; overall, 8 new compounds are described: 5-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-10,15,20-tris(2-pyridyl)porphyrin (H₂VanTri-2-PyP), 5-(3,4-dimethoxyphenyl)-10,15,20-tris(2-pyridyl)porphyrin (H₂MVanTri-2-PyP), 5-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-10,15,20-tris(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphyrin chloride (H₂VanTriM-2-PyPCL₃), 5-(3,4-dimethoxyphenyl)-10,15,20-tris(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphyrin chloride (H₂MVanTriM-2-PyPCL₃), 5-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-10,15,20-tris(2-pyridyl)porphinatomanganese(III) (MnVanTri-2-PyPCL), 5-(3,4-dimethoxyphenyl)-10,15,20-tris(2-pyridyl)porphinatomanganese(III) chloride (MnMVanTri-2-PyPCL), 5-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-10,15,20-tris(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphinatomanganese(III) chloride (MnVanTriM-2-PyPCL₄) and 5-(3,4-dimethoxyphenyl)-10,15,20-tris(*N*-methylpyridinium-2-yl)porphinatomanganese(III) chloride (MnMVanTriM-2-PyPCL₄). The spectroscopic, electrochemical properties and lipophilicity of all compounds were compared with A₄-type 2-*N*-pyridyl porphyrin analogues. The monocationic compounds MnVanTri-2-PyP⁺ and MnMVanTri-2-PyP⁺ showed too low Mn(III)/Mn(II) reduction potential incompatible with superoxide dismuting activity, whereas the tetracationic complexes MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ and MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ showed potential values suitable for the development these compounds as SOD mimics based on structure-activity relationships reported for analogous systems. The lipophilicity of MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ and da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ suggests promising bioavailability for in vitro and in vivo testing.

Keywords: Mn porphyrins, A₃B-type porphyrins, SOD mimics

Lista de Abreviaturas e Siglas

Van	Vanilina
MVan	Metil-vanilina/veratradeído
2-Py	2-Piridila
M	metil
SiO ₂	Sílica gel/óxido de silício
CCD	Cromatografia de camada delgada
Al ₂ O ₃	Alumina/óxido de alumínio
TG	Termogravimetria
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
H ₂ P	Porfirina base livre
MeOTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de metila (ou tosilato de metila)
MnPs	Mn-porfirinas ou Mn(III)-porfirinas
MeCN	Acetonitrila
CHCl ₃	Clorofórmio
AcOEt	Acetato de etila
MeOH	Metanol
SOD	Superóxido dismutase
UV-vis	Ultravioleta-Visível
H ₂ T-2-PyP	<i>meso</i> -tetraquis(2- <i>N</i> -piridil)porfirina
MnT-2-PyP ⁺	<i>meso</i> -tetraquis(2- <i>N</i> -piridil) porfirinatomangânês(III)

MnTM-2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridinio-2-il)porfinatomanganês(III)
MnTE-2-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -etilpiridinio-2-il)porfinatomanganês(III)
MnTM-3-PyP ⁵⁺	<i>meso</i> -tetraquis(<i>N</i> -metilpiridinio-3-il)porfinatomanganês(III)

Lista de figuras

- Figura 1.1** - Representação do núcleo central estrutural de uma porfirina (esquerda) e uma metaloporfirina (direita), sendo indicada uma das 4 posições *meso* e uma das 8 posições β -pirrólicas. _____ 1
- Figura 1.2** - Representação da síntese de porfirinas pelo Método de Rothmund: condensação de aldeído e pirrol em piridina (onde R = grupos alquila ou arila). _____ 2
- Figura 1.3** - Produtos que podem ser formados através da condensação de pirrol e uma mistura equimolar de dois aldeídos A e B. A distribuição dos produtos A₄ a B₄ depende da natureza/reatividade dos aldeídos A e B, das relações estequiométricas e condições gerais de reação. _____ 3
- Figura 1.4** - Representação da síntese de porfirinas pelo Método de Gonsalves: condensação de aldeído e pirrol a porfirinogênio e oxidação subsequente à porfirina através do nitrobenzeno (onde R = grupos alquila ou arila). _____ 4
- Figura 1.5** - Representação das duas principais etapas na síntese de porfirinas pelo Método de Lindsey: condensação de aldeído e pirrol a porfirinogênio e oxidação subsequente à porfirina. _____ 5
- Figura 1.6** - Mecanismo de dismutação do superóxido catalisado pelas enzimas SOD. _____ 6
- Figura 1.7** - Mn-porfirinas que têm se destacado como mímicos SOD. À esquerda os isômeros MnTalquil-2-PyP⁵⁺ e à direita os isômeros MnTalquil-3-PyP⁵⁺. _____ 8
- Figura 1.8** - Representação da mistura de isômeros rotacionais das Mn(III) 2-N-alquilpiridínioporfirinas. O atropoisômero $\alpha\alpha\alpha\beta$ é ilustrado acima. Adaptado de SPASOJEVIĆ *et al.* (2002). _____ 9
- Figura 1.9** - Mecanismos de dismutação do superóxido catalisado por Mn-porfirinas (MnP). _____ 9
- Figura 1.10** – Atração eletrostática ao ânion superóxido exercida por Mn-porfirinas catiônicas (a). Repulsão eletrostática exercida por porfirinas aniônicas (b). _____ 10
- Figura 1.11** - Compostos presentes na mistura comercial vendida como “MnTM-2-PyPCl₅” e testada no modelo celular experimental de Ataxia-Telangiectasia (REBOUÇAS *et al.*, 2008d; POLLARD *et al.*, 2009), onde A = grupo 2-N-metilpiridínio e B = grupo 2-piridil. _____ 13

Figura 1.12 – Proposta da obtenção de uma Mn-porfirina parcialmente alquilada através de uma síntese sequencial cujo reagente inicial seria a H ₂ T-2-PyP e o produto final a MnPyTriM-2-PyP ⁴⁺ .	15
Figura 1.13 – Proposta inicial de uma porfirina de baixa simetria para derivatização, complexação e futuros testes biológicos em modelos SOD.	16
Figura 1.14 – Produtos possíveis de serem obtidos a partir da condensação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e benzaldeído. Em destaque, a porfirina de interesse na proposta de design descartada da H ₂ PhTri-2-PyP.	17
Figura 1.15 – Design interessante de precursores de uma nova classe de porfirinas que pode ser testada como mímicos SOD.	18
Figura 2.1 - Novos compostos porfirínicos de baixa simetria do tipo A ₃ B de interesse para este trabalho.	19
Figura 3.1 - Esquema de síntese da porfirina H ₂ VanTri-2-PyP (1) a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído (verde) e vanilina (azul).	23
Figura 3.2 - Esquema de síntese da porfirina H ₂ VanTri-2-PyP (2) a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído (verde) e metil-vanilina (azul).	25
Figura 3.3 – Esquema da obtenção porfirina catiônica de baixa simetria H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (3) via alquilação com tosilato de metila da porfirina precursora (1) .	27
Figura 3.4 - Obtenção da H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ por duas rotas: 1) via alquilação da porfirina (2) , 2) alquilação em meio básico da porfirina (1) .	28
Figura 3.5 - Esquema de síntese da manganês-porfirina monocatiônica MnVanTri-2-PyP ⁺ (5) .	30
Figura 3.6 - Esquema de síntese da manganês-porfirina monocatiônica MnMVanTri-2-PyP ⁺ (6) .	31
Figura 3.7 - Esquema geral de síntese da manganês-porfirina tetracatiônica MnVanTriM-2-PyPCL ₄ (7) .	32
Figura 3.8 - Esquema geral de síntese da manganês-porfirina tetracatiônica MnMVanTriM-2-PyPCL ₄ (8) .	33
Figura 4.1 - Esquema de obtenção da porfirina (1) e subprodutos nas reações realizadas em relação estequiométrica dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina.	35
Figura 4.2 - Comportamento ácido-base da H ₂ T-2-PyP, também aplicável às porfirinas bases livres de interesse neste trabalho.	36

Figura 4.3 – Espectros comparativos registrados em acetona da H ₂ T-2-PyP (linha azul) e H ₂ VanTri-2PyP (1) (pontilhado vermelho). A expansão corresponde à região das bandas Q de cada porfirina.	39
Figura 4.4 – Espectro de RMN de ¹ H 500 MHz em <i>d</i> ⁶ -DMSO da H ₂ VanTri-2-PyP (1) , com destaque para as atribuições dos hidrogênios internos NH hidrogênios metílicos do grupo metoxila da vanilina. A região expandida compreende aos deslocamentos do OH da vanilina e dos hidrogênios aromáticos dos grupos vanilina, 2-piridila e β-pirrólicos, cujas atribuições serão detalhadas na Fig. 4.5.	40
Figura 4.5 - Espectro RMN de ¹ H das regiões correspondentes aos átomos de hidrogênio do grupo fenil e 2-piridil da H ₂ VanTri-2-PyP (1) .	41
Figura 4.6 - Esquema de obtenção da porfirina (2) e subprodutos nas reações realizadas em relação estequiométrica dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e metil-vanilina.	42
Figura 4.7 - Espectro UV-vis da H ₂ VanTri-2PyP (1) (linha amarela) e H ₂ MVanTri-2-PyP (pontilhado preto) em acetona. A expansão compreende as bandas Q.	44
Figura 4.8 - Espectro de RMN de ¹ H de 200 MHz da H ₂ MVanTri-2-PyP (2) registrado em <i>d</i> ⁶ -DMSO. A expansão compreende à região dos hidrogênios aromáticos: β-pirrólicos (preto), piridilas (verde), metil-vanilina (azul).	45
Figura 4.9 – Esquema geral de obtenção das porfirinas catiônicas de baixa simetria. Em destaque, obtenção da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (3) via alquilação com tosilato de metila. Obtenção da H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (4) por duas rotas: 1) mesmas condições da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ , 2) alquilação em meio básico.	46
Figura 4.10 – Desprotonação da hidroxila fenólica ácida da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ através da ação de base.	48
Figura 4.11 – TGA, DTG, DTA da H ₂ VanTriM-2-PyPCL ₃ .6H ₂ O (3) .	49
Figura 4.12 - TGA, DTG, DTA da H ₂ MVanTriM-2-PyPCL ₃ .3H ₂ O (4) .	49
Figura 4.13 – Espectros UV-vis normalizados da H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (3) registrados em tampão fosfato pH 7,8 (linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado azul).	51
Figura 4.14 – Espectros UV-vis normalizados da H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (4) registrados em tampão fosfato pH 7,8 (linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado preto).	52
Figura 4.15 – Representação esquemática da mistura de atropoisômeros das porfirinas catiônicas H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (3) e H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (4) . R ¹ = grupos 2-N-metilpiridínio; R ² = grupos 3-metoxi-4-hidroxifenil ou 3,4-dimetoxifenil. O grupo R ² , por não conter substituinte <i>orto</i> , possui livre rotação.	53

Figura 4.16 – Espectros comparativos de RMN de ^1H 500 MHz das regiões correspondentes aos grupos metila da porfirina neutra $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ e das porfirinas catiônicas $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (3) e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (4) . O grupo Me em vermelho correspondente aos metilas ligados ao grupo piridila na mistura de atropoisômeros presentes nas porfirinas catiônicas.	54
Figura 4.17 - Espectros comparativos de RMN de ^1H 500 MHz da região entre 7,00 ppm e 10,00 ppm. Onde a-a' (hidrogênios das posições 3 do piridila da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (1)), a* (hidrogênios das posições 3 do 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas); Py (demais deslocamentos dos hidrogênios piridila da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$), Py* = sinais misturados dos demais hidrogênios piridínio das porfirinas catiônicas); β^* = hidrogênios <i>beta</i> das porfirinas catiônicas, Van* = sinais misturados do grupo vanilina da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (3) , MVan* = sinais misturados do grupo veratril da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (4)	55
Figura 4.18 – Esquema geral de síntese das manganês-porfirinas monocatiônicas.	57
Figura 4.19 - Esquema geral de síntese das manganês-porfirinas tetracatiônicas.	57
Figura 4.20 - TGA, DTG, DTA da $\text{MnVanTri-2-PyP}\cdot\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (5) .	59
Figura 4.21 - TGA, DTG, DTA da $\text{MnVanTri-2-PyP}\cdot\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (6) .	59
Figura 4.22 - Espectros UV-vis normalizados da MnT-2-PyP^+ (linha azul), MnVanTri-2-PyP^+ (5) (linha preta) e MnMVanTri-2-PyP^+ (6) (pontilhado amarelo) e da registrados em água.	60
Figura 4.23 - TGA, DTG, DTA da $\text{MnVanTriM-2-PyP}\cdot\text{Cl}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (7) .	63
Figura 4.24 - TGA, DTG, DTA da $\text{MnMVanTriM-2-PyP}\cdot\text{Cl}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (8) .	63
Figura 4.25 - Espectros UV-vis normalizados registrados em água da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (3) (linha verde), $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (4) (pontilhado vermelho), $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (7) (linha azul) e $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (8) (pontilhado preto).	64
Figura 4.26 - Espectros UV-vis normalizados da MnTM-2-PyP^{5+} (linha azul), $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (7) (linha preta) e $\text{MnMVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (8) (pontilhado amarelo) e da registrados em água.	65
Figura 4.27 - Espectros UV-vis normalizados da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (7) registrados em tampão fosfato pH 7,8 (linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado azul).	66
Figura 4.28 - Espectros UV-vis normalizados da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (8) em tampão fosfato pH 7,8 (linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado azul).	66
Figura 4.29 - Voltamogramas cíclicos das Mn-porfirinas monocatiônicas e do padrão MnTM-2-PyP^{5+} obtidos em (9:1) metanol/tampão tris (0,05 mol L ⁻¹ , pH = 7,8, 0,1 mol	

L^{-1} de NaCl), $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MnTM-2-PyP⁵⁺ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,5 a -0,1 V (para as Mn-porfirinas monocatiônicas) e de -0,08 a 0,25 (para a MnTM-2-PyP⁵⁺) vs. Ag⁰/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . _____ 68

Figura 4.30 - Voltamogramas cíclicos das Mn-porfirinas tetracatiônicas e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ obtidos em $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH = 7,8), $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl, $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MnTM-2-PyP⁵⁺ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,35 a 0,25 V vs. Ag⁰/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . _____ 69

Figura A.1 – Espectros UV-vis da H₂VanTriM-2PyP³⁺ registrados em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (linha verde) e HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ H₂MVanTri-2-PyP (pontilhado roxo) registrado em HCl. A expansão compreende as bandas Q. _____ 82

Figura A.2 – Espectros UV-vis da H₂VanTriM-2PyP³⁺ registrados em HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (linha verde) e 1 mol L^{-1}). A expansão compreende as bandas Q. _____ 82

Figura A.3 – Espectro UV-vis dos resíduos da TGA/DTA coletados 120°C MnVanTriM-2PyP³⁺ (linha verde) e H₂MVanTri-2-PyP (pontilhado preto) em H₂O. _ 83

Figura B.1 - Espectro de RMN de ¹H de 200 MHz da H₂VanTri-2-PyP registrado em CDCl₃. _____ 84

Figura B.2 - Espectro de RMN de ¹H de 200 MHz da H₂MVanTri-2-PyP registrado em CDCl₃. _____ 85

Apêndice B.3 - Espectro de RMN ¹H 200 MHz da H₂VanTri-2-PyP em *d*⁶-DMSO + D₂O. _____ 85

Apêndice B.4 - Espectro de RMN ¹H 200 MHz da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ em *d*⁶-DMSO + D₂O. _____ 86

Apêndice C.1 - Espectro de RMN de ¹H 200 MHz da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ registrado em *d*⁶-DMSO. Expansão A= grupos β-pirrólicos e 2-*N*-metilpiridil, B = grupo veratril (MVan), C = mistura de sinais dos metilas (em vermelho) dos grupos 2-*N*-metilpiridil (atropoisomeria) e *para* OCH₃ do veratril; *meta* OCH₃ (azul). _____ 87

Figura C.2 - Espectro de RMN de ¹H 500 MHz da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ registrado em *d*⁶-DMSO. _____ 88

Figura C.3 - Espectro de RMN de ¹H 500 MHz da H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ registrado em *d*⁶-DMSO. _____ 88

Lista de tabelas

Tabela 4.1 – Dados comparativos dos fatores de retenção (R_f) em CCD-SiO ₂ entre as porfirinas bases livres neutras relevantes neste trabalho. _____	43
Tabela 4.2 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis (em acetona) para amostras de interesse para este estudo. _____	44
Tabela 4.3 – Dados comparativos de CCD-SiO ₂ das porfirinas catiônicas relevantes para este trabalho. _____	48
Tabela 4.4 - Dados espectroscópicos das porfirinas catiônicas (registrados em água) relevância neste trabalho. _____	50
Tabela 4.5 – Medidas comparativas da largura à meia altura da banda Soret (espectro registrado em água) das porfirinas catiônicas deste trabalho e porfirina simétrica H ₂ TE-2-PyP ⁴⁺ . _____	50
Tabela 4.6 - Fatores de retenção das MnPs não-alquiladas em dois diferentes eluentes: KNO _{3(sat.)} /H ₂ O/MeCN 1:1:8 v/v/v (CCD-SiO ₂) e CHCl ₃ /MeOH 10:1 v/v (CCD-Al ₂ O ₃). _____	59
Tabela 4.7 – Dados comparativos de espectroscopia eletrônica UV-vis das Mn-porfirinas não-alquiladas registrados em água. _____	61
Tabela 4.8 – Dados comparativos dos fatores de retenção das Mn-porfirinas catiônicas deste trabalho. _____	62
Tabela 4.9 – Dados espectroscópicos das porfirinas de baixa simetria deste trabalho medidos em água. _____	64
Tabela 4.10 - Medidas da largura da banda à meia altura das porfirinas deste trabalho em comparação a porfirinas da literatura. _____	65
Tabela 4.11 - Potenciais medidos na mistura metanol/tampão tris aquoso na proporção 9:1. _____	67
Tabela 4.12 - Potenciais medidos em tampão fosfato 0,05 mol L ⁻¹ (pH 7,8). _____	69

1 INTRODUÇÃO

1.1 Porfirinas e Metaloporfirinas: Aspectos gerais

As porfirinas e metaloporfirinas compreendem uma classe de compostos macrocíclicos presentes em todas as formas de vida, sendo denominadas “pigmentos da vida” (MILGROM, 1997). Elas são constituídas por quatro pirróis ligados nas posições α -pirrólicas por átomos de carbono sp^2 , formando um sistema altamente conjugado, que pode acomodar, *via* coordenação aos quatro átomos de nitrogênio centrais, um íon metálico, resultando em um composto de coordenação denominado metaloporfirina (Fig. 1.1) (FALK, 1964; SMITH, 1975).

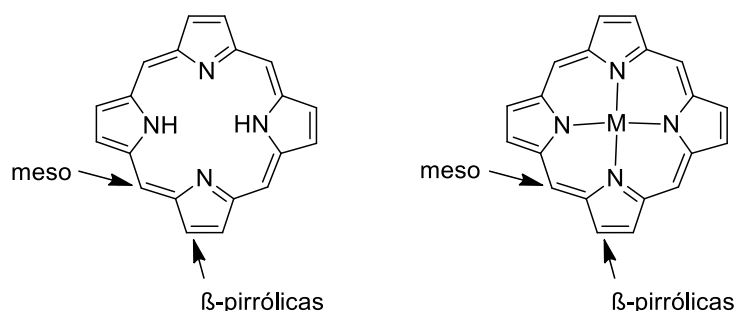


Figura 1.1 - Representação do núcleo central estrutural de uma porfirina (esquerda) e uma metaloporfirina (direita), sendo indicada uma das 4 posições *meso* e uma das 8 posições β -pirrólicas.

A enorme diversidade estrutural e eletrônica das porfirinas e dos seus respectivos complexos metálicos tem contribuído significativamente para várias aplicações em medicina e biologia (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010; TOVMASYAN *et al.*, 2014; BENOVA, 2012; CALZAVARA-PINTON, *et al.*, 2012; MOURAVIEV, *et al.*, 2012) nanotecnologia (VIANA *et al.*, 2015; ELEMANS *et al.*, 2006; SÁFAR *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2016) e catálise (MEUNIER, 1992; MANSUY, 2007; NAKAGAKI *et al.*, 2014; PINTO *et al.*, 2016). Do ponto de vista biológico, as metaloporfirinas naturais mais comuns nos seres humanos e em muitos outros seres vivos são as porfirinas de ferro derivadas da protoporfirina IX, conhecidas como grupo heme. Este grupo está presente na hemoglobina (atuando como carreador de oxigênio), mioglobina (armazenamento de oxigênio), citocromos *a*, *b* e *c* (transporte de elétrons) e algumas enzimas como catalase, peroxidase e citocromos P450 (responsáveis por reações de oxidação de biomoléculas endógenas e metabolismo de xenobióticos) (BONNET, 1979; MANSUY; BITTONI, 2000; TRAYLOR, 1981). A *via* metabólica de síntese da Fe(III) protoporfirina IX em muitos dos organismos parte do Succinil-CoA do Ciclo de Krebs e

requer várias etapas biossintéticas citoplásmicas e mitocondriais até chegar ao grupo heme (NELSON *et al.*, 2005).

1.2 Síntese de porfirinas meso-substituídas

As porfirinas de origem natural são normalmente substituídas nas posições β -pirrólicas. Contudo, devido à enorme dificuldade de síntese destes compostos *via* modificação prévia do pirrol, as porfirinas obtidas por rotas sintéticas mais simples contêm substituintes nas posições *meso*. Destacam-se na literatura duas rotas gerais de síntese de porfirinas *meso*-substituídas: 1) síntese *via* condensação de pirrol e aldeído(s) apropriado(s), ciclização e oxidação, ocorrendo em um único processo reacional; e 2) síntese em dois processos reacionais distintos, na qual os passos de condensação e ciclização ocorrem em uma primeira etapa e o passo de oxidação acontece *in situ* em uma segunda etapa.

1.2.1 Método de Rothemund

Em 1936, Rothemund descreveu pela primeira vez a síntese de porfirinas empregando uma reação de condensação de pirrol e aldeído, em atmosfera inerte, usando piridina como solvente. Ao variar o aldeído, foram obtidos diversos compostos porfirínicos, com diferentes substituintes nas posições *meso*, todos com rendimentos bastante baixos, exceto quando foi usado o benzaldeído, que deu origem à *meso*-tetrafenilporfirina (H₂TPP) com rendimentos em torno de 10 % (Fig. 1.2). A obtenção de tetralquilporfirinas por esta rota é desfavorável. Foi observada nestas condições de Rothemund também que a formação da porfirina é acompanhada por contaminação com a correspondente clorina, que é uma porfirina reduzida em uma das posições β -pirrólicas (ARONOFF *et al.*, 1943; CALVIN *et al.*, 1943).



Figura 1.2 - Representação da síntese de porfirinas pelo Método de Rothemund: condensação de aldeído e pirrol em piridina (onde R = grupos alquila ou arila).

1.2.2 Método de Adler-Longo e adaptações

Em 1964, Adler, Longo e colaboradores (ADLER *et al.*, 1964; 1967; 1968) introduziram melhorias no processo de síntese das *meso*-tetrarilporfirinas ao efetuarem a condensação de pirrol e aldeído em ácido acético ou propiônico, em substituição à piridina, e em meio aeróbio. Esta estratégia permitiu a obtenção da H₂TPP em menos de 1 h, com a purificação facilitada pela cristalização direta da porfirina no meio reacional e rendimentos isolados em torno de 20 %. Apesar de ser o método mais empregado e/ou modificado desde então para a síntese de porfirinas, não permite preparar, com rendimentos mais favoráveis (10-20 %), *meso*-tetraarilporfirinas di-substituídas nas posições *orto* dos grupos fenila, nem *meso*-tetraalquilporfirinas de forma reprodutível (LINDSEY, 2000; PEREIRA, 2010). Contaminação com as respectivas clorinas pode ser eliminada por oxidação dos isolados brutos de cristalização por quinonas de alto potencial oxidativo como 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) ou 2,3,5,6-tetracloro-1,4-benzoquinona (*p*-cloranil) (DOLPHIN *et al.*, 1974; BARNETT *et al.*, 1975; GROVES *et al.*, 1983). A metodologia de Adler permite a condensação de misturas de dois aldeídos aromáticos A e B com pirrol, levando à formação de *meso*-tetraarilporfirinas mistas de baixa simetria do tipo A₃B, *cis*-A₂B₂ ou *trans*-A₂B₂, como exposto na Fig. 1.3.

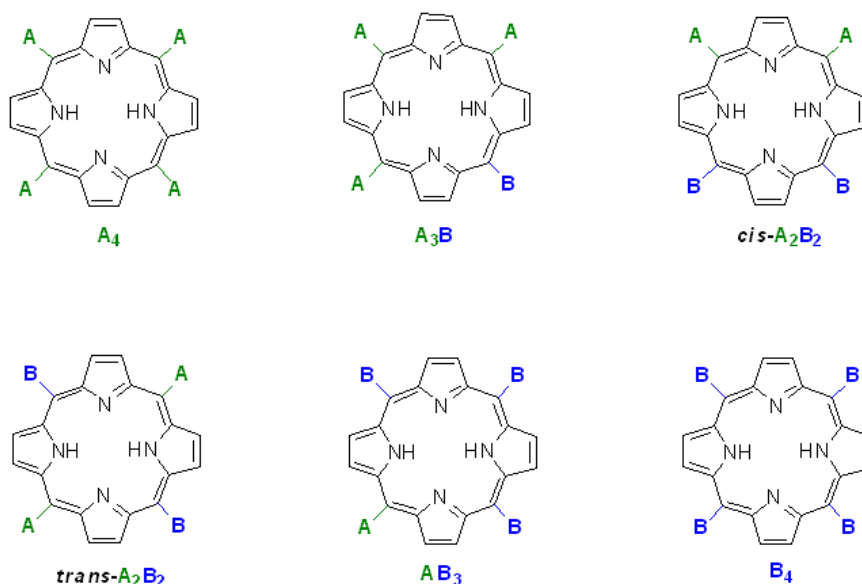


Figura 1.3 - Produtos que podem ser formados através da condensação de pirrol e uma mistura equimolar de dois aldeídos A e B. A distribuição dos produtos A₄ a B₄ depende da natureza/reactividade dos aldeídos A e B, das relações estequiométricas e condições gerais de reação.

Três décadas após a publicação de Adler e colaboradores (ADLER *et al.*, 1964), Gonsalves e pesquisadores (GONSALVES *et al.*, 1991) modificaram o método de Adler-Longo e otimizaram a síntese de uma série de *meso*-tetraarilporfirinas derivadas da H₂TPP. O método de Gonsalves, como ficou conhecido, consiste na reação de pirrol com um aldeído (ou uma mistura de aldeídos) a uma temperatura de 130 °C durante 1 hora, utilizando como solvente uma mistura de ácido acético:nitrobenzeno na proporção 7:3 v/v (Fig. 1.4). Na maioria dos casos em que este método é utilizado, a porfirina não possui grupos polares ou protonáveis em meio ácido e cristaliza diretamente no meio reacional após adição de metanol. A mistura de reação contendo nitrobenzeno em ambiente aeróbio, a temperaturas superiores a 120 °C é capaz de oxidar os intermediários de reação (incluindo clorinas) a porfirinas, diminuindo as contaminações. Os rendimentos do método de Gonsalves não diferem de forma significativa daqueles dos métodos de Alder e Longo (Adler *et al.*, 1964), exceto para os sistemas em que otimizações foram efetuadas, como a *meso*-tetra(*p*-nitrofenil)porfirina e *meso*-(*p*-metoxifenil)porfirina (GONSALVES *et al.*, 1991).

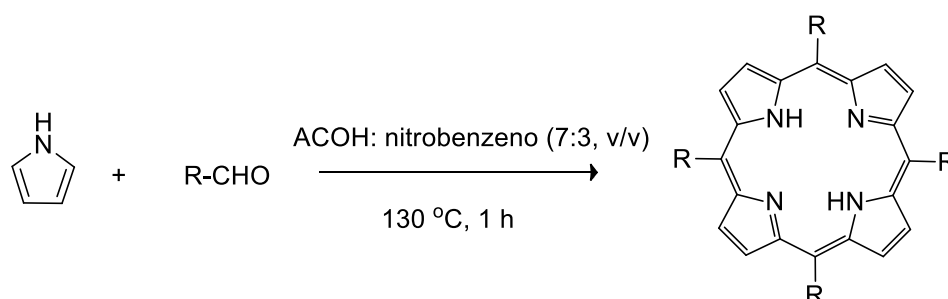


Figura 1.4 - Representação da síntese de porfirinas pelo Método de Gonsalves: condensação de aldeído e pirrol a porfirinogênio e oxidação subsequente à porfirina através do nitrobenzeno (onde R = grupos alquila ou arila).

1.2.3 Método de Lindsey e adaptações

O método de Lindsey é considerado um marco histórico na síntese de porfirinas *meso*-substituídas, em particular aquelas contendo anéis arilas *orto* di-substituídas. O método consiste na condensação anaeróbia de pirrol e aldeído em diclorometano ou clorofórmio, catalisada por trifluoreto de boro (BF₃) ou ácido trifluoroacético (TFA), para formação de porfirinogênio, que é, então, oxidado *in situ* à respectiva porfirina por DDQ (2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona) ou *p*-cloranil em uma segunda etapa (LINDSEY *et al.*, 1987) (Fig. 1.5). Este método tem sido utilizado na síntese de vários

tipos de porfirinas *meso*-arilsubstituídas simétricas e não-simétricas e algumas *meso*-tetraalquilporfirinas (LINDSEY, 2000).

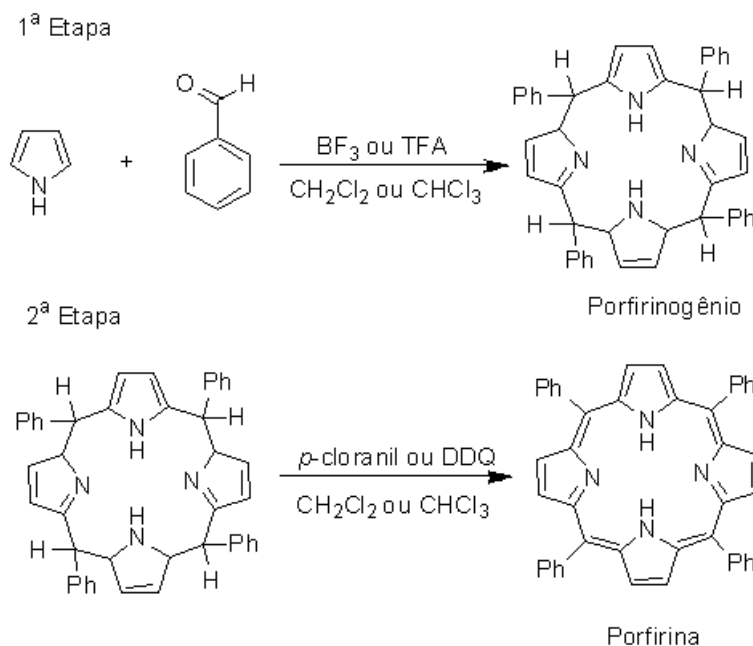


Figura 1.5 - Representação das duas principais etapas na síntese de porfirinas pelo Método de Lindsey: condensação de aldeído e pirrol a porfirinogênio e oxidação subsequente à porfirimina.

Apesar do amplo leque de possibilidades, o método de Lindsey possui algumas desvantagens para a aplicação em larga escala e escala industrial, principalmente pela utilização de quinonas como agentes oxidantes, a necessidade de grandes diluições na primeira etapa de síntese do porfirinogênio e o emprego de processos de purificação essencialmente cromatográficos. Na tentativa de eliminar as quinonas como agente oxidante do porfirinogênio, a utilização de peróxido de hidrogênio foi sugerida como alternativa (JOHNSTONE *et al.*, 1996; SERRA *et al.*, 2008). O uso de aldeídos contendo grupos básicos, como 2-, 3- ou 4-piridinacarboxaldeído, que podem desativar o catalisador ácido, representa também uma grande limitação do método de Lindsey. Assim, a síntese de *N*-piridilporfirinas pelo método de Lindsey não é alcançada (LINDSEY, 2000), enquanto a síntese de H₂TPP por este método pode ser efetuada com rendimentos de 40 – 50 %.

1.3 Mn-porfirinas como moduladores do estresse oxidativo

1.3.1 Estresse oxidativo e as enzimas superóxido dismutases

O estresse oxidativo é uma condição biológica de desequilíbrio redox caracterizado pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO/ERN; em inglês, “reactive oxygen/nitrogen species”, ROS/RNS). Dentre as ERO/ERN comumente associadas ao estresse oxidativo, encontram-se o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), óxido nítrico ($\cdot NO$), peroxinitrito ($ONOO^-$; aduto formado pela reação de $O_2^{\bullet-}$ e $\cdot NO$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), dióxido de nitrogênio (NO_2) e o radical hidroxila ($HO\cdot$).

Estas espécies reativas podem ter papel benéfico no organismo quando presentes de maneira controlada fisiologicamente, por exemplo: no metabolismo energético da maioria dos seres vivos (cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa, responsáveis pela respiração celular), no processo de defesa do organismo contra agentes infecciosos (como bactérias, fungos, parasitas ou vírus) e durante a transcrição de genes para divisão e/ou crescimento celular (SLATER, 1984; HALLIWELL, 1987).

O acúmulo de ERO/ERN em excesso ou a remediação inapropriada pelos sistemas antioxidantes celulares podem levar à oxidação de proteínas e carboidratos, peroxidação de lipídeos e danos ao DNA (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1985). Existem várias patologias ou estados fisiopatológicos relacionados ao estresse oxidativo em seres humanos, entre as quais podem ser citadas: processos de isquemia/reperfusão, alguns tipos de câncer (incluindo processos de metástase), esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, acidente vascular cerebral, diabetes, etc (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010). Em muitas dessas patologias ou estados patológicos, as enzimas superóxido dismutases (SOD), uma defesa celular eficaz no controle direto do $O_2^{\bullet-}$ e indireto (via remoção de superóxido) de outras ERO/ERN, estão inativadas ou em baixa expressão. As enzimas SOD catalisam o desproporcionamento dos íons radicais superóxidos a oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em um processo catalítico redox de duas etapas de transferência de 1 elétron (Fig. 1.6). O H_2O_2 formado pode ser eliminado biologicamente por reações de oxirredução catalisadas por peroxidases ou pelo desproporcionado a O_2 e água pelas enzimas catalases.

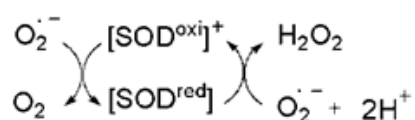


Figura 1.6 - Mecanismo de dismutação do superóxido catalisado pelas enzimas SOD.

O sítio ativo das enzimas SOD contém um metal de transição redox ativo, a saber: $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$, $\text{Mn}^{2+}/\text{Mn}^{3+}$, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ou $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ (na Cu,ZnSOD o Zn tem função estrutural) coordenado por resíduos de aminoácidos da cadeia proteica. Há quatro enzimas SOD caracterizadas até então: Cu,ZnSOD (SOD1 e SOD3), MnSOD (SOD2), FeSOD e NiSOD. Apesar de todos os seres vivos possuírem enzimas SOD para regulação dos níveis celulares de superóxido, essas metaloenzimas distribuem-se de maneira diferente entre os vários organismos vivos e sua sublocalização celular também é diferenciada. Nos seres humanos e animais superiores, em geral, encontram-se apenas duas isoformas: a Cu,ZnSOD presente no citosol (SOD1) ou no espaço extracelular (SOD3) e a MnSOD (SOD2) presente na matriz mitocondrial. A FeSOD é comumente encontrada em microrganismos e plantas (cloroplastos), enquanto a isoforma NiSOD é relativamente rara, sendo encontrada em procariontes (MICHELSON *et al.*, 1977).

1.3.2 Mn-porfirinas como mímicos das enzimas SOD

Estudos envolvendo Mn-porfirinas mostraram que elas podem atuar como potentes mímicos de SOD *in vitro* e *in vivo* (FAULKNER *et al.*, 1994; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010; RAJIĆ *et al.*, 2012; TOVMASYAN *et al.*, 2014). Estes estudos foram realizados em modelos celulares, como *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae* SOD-deficientes (TOVMASYAN *et al.*, 2014) e em animais superiores, como ratos, camundongos, coelhos e macacos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2011). As Mn-porfirinas se mostraram capazes de minimizar os efeitos nocivos de danos causados por radiação (ação radioprotetora), inibir os tumores (via ação antiangiogênica ou pró-oxidante), aumentar a eficácia da radioterapia e hipertermia no tratamento de câncer (ação sinérgica) e de proteger órgãos e tecidos em transplantes e/ou processos de isquemia/reperfusão (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010; TOVMASYAN *et al.*, 2015). As Mn-porfirinas que mais se destacaram como mímicos SOD em modelos biológicos foram aquelas derivadas das 2-N-alkilpiridínioporfirina (aquil = Me, Et, n-Hex, ButOEt) e de seus isômeros de posição 3-N-alkilpiridínioporfirina (Fig. 1.7).

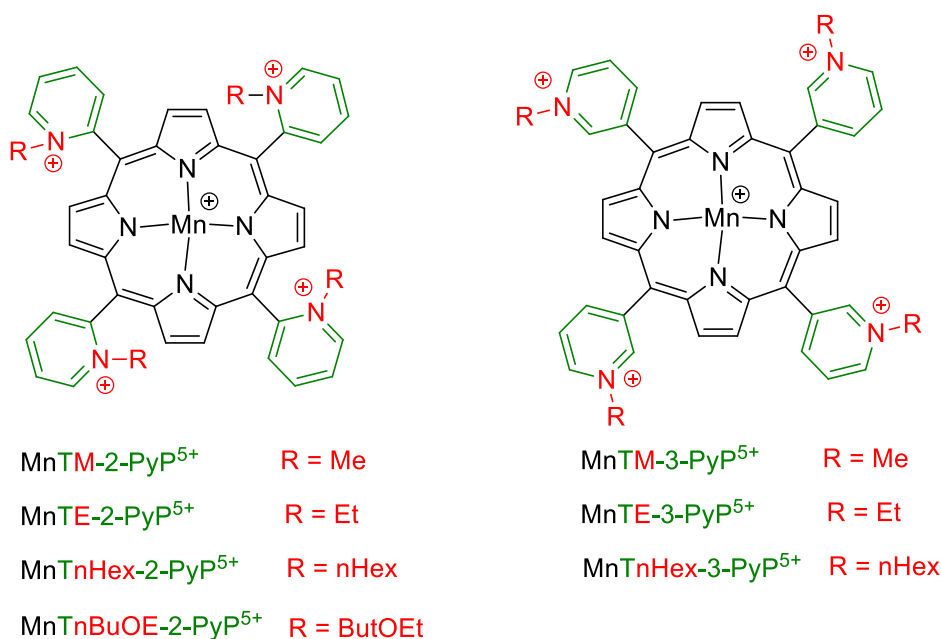


Figura 1.7 - Mn-porfirinas que têm se destacado como mímicos de enzimas SOD. À esquerda os isômeros MnTalquil-2-PyP⁵⁺ e à direita os isômeros MnTalquil-3-PyP⁵⁺.

Os grupos 2-*N*-alquilpiridínio de todas as porfirinas catiônicas (e de seus compostos de coordenação) não possuem rotação livre com relação ao plano porfirínico, devido à repulsão estérea entre o substituinte *N*-alquil e as posições β-pirrólicas da porfirina, dando origem a atropoisômeros (ou isômeros de rotação). Nas *meso*-tetraarilporfirinas é possível serem formados 4 atropoisômeros (Fig. 1.8), a depender da distribuição relativa dos grupos *orto*-arila em relação ao plano da porfirina, a saber, os isômeros αααα, αααβ, ααββ e αβαβ, onde o termo α denota ao grupo *N*-alquila posicionado acima do plano da porfirina e o β, abaixo do plano (GOTTWALD *et al.*, 1969; IAMAMOTO *et al.*, 1994; MIZUTANI *et al.*, 1998). Apesar da barreira de rotação ser muito elevada, o que previne a interconversão dos isômeros à temperatura ambiente mesmo quando alquil é o grupo metila (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002), os compostos são geralmente utilizados como uma mistura de atropoisômeros devido à dificuldade de separação cromatográfica dos isômeros tanto nas porfirinas base livre (tetracatiônicas) ou Mn-porfirinas (pentacatiônicas). Normalmente os compostos são isolados como uma mistura de atropoisômeros cuja distribuição estatística αααα:αααβ:ααββ:αβαβ é de 1:4:2:1. No caso da Mn(III) *meso*-tetraquis(*N*-etilpiridínio-2-il)porfirina (MnTE-2-PyP⁵⁺), por exemplo, esta relação estatística é mantida em frações subcelulares (mitocôndrias de coração de camundongo) após

administração sistêmica intraperitoneal (i.p.) da mistura de atropoisômeros, indicando que não há biodistribuição celular preferencial de nenhum dos quatro atropoisômeros da mistura (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2007).

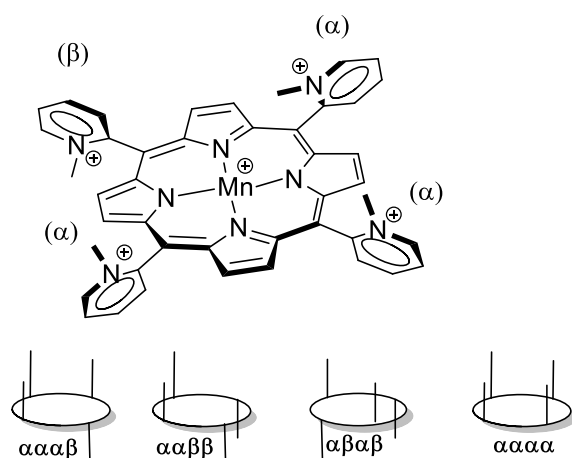


Figura 1.8 – Representação da mistura de isômeros rotacionais das Mn(III) 2-N-alkilpiridínioporfirinas. O atropoisômero $\alpha\alpha\alpha\beta$ é ilustrado acima. Adaptado de SPASOJEVIĆ *et al.* (2002).

1.3.3 Atividade Superóxido Dismutase de Mn-porfirinas

De modo análogo às enzimas SOD, as Mn-porfirinas catalisam a dismutação do $O_2^{\cdot-}$ em duas etapas: i) *via* oxidação de uma molécula de $O_2^{\cdot-}$ a O_2 ; e ii) redução de outra molécula de $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 (Fig. 1.9), em um processo redox no qual o estado de oxidação do Mn se alterna entre +2 e +3.

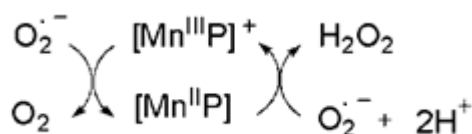


Figura 1.9 - Mecanismos de dismutação do superóxido catalisado por Mn-porfirinas (MnP).

Embora as enzimas SOD não apresentem o macrociclo porfirínico como grupo prostético, verificou-se que Mn-porfirinas sintéticas podem ser desenvolvidas como modelos biomiméticos funcionais das enzimas SOD (REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b; 2008c; DEFREITAS-SILVA, 2008). De fato, a atividade catalítica SOD desses complexos pode ser ajustada a partir do desenho do ligante porfirínico de modo a se obter atividades muito próximas àquelas das enzimas SOD (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1997; DEFREITAS-SILVA *et al.*, 2008; REBOUÇAS *et al.*, 2008a). A atividade

SOD das Mn-porfirinas pode ser medida em termos da constante de velocidade de dismutação do superóxido ($\log k_{\text{cat}}$). O valor de $\log k_{\text{cat}} \sim 9$ para as enzimas SOD indicam que a natureza otimizou evolutivamente o desenho dos sistemas enzimáticos de tal forma que a dismutação fosse controlada por difusão (ELBERLY *et al.*, 1996; VANCE *et al.*, 1998; GOLDSTEIN *et al.*, 2006). A modulação do $\log k_{\text{cat}}$ depende de diversos fatores, como o potencial de redução do metal e natureza dos grupos substituintes das porfirinas. A introdução de grupos receptores de elétrons às Mn-porfirinas permite a modulação do potencial de redução das Mn-porfirinas (MnPs) para valores semelhantes àqueles das enzimas SOD (+300 mV vs. NHE), contribuindo para o design de mímicos potentes de SOD (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 2011). A alquilação dos grupos piridilas das 2-*N*-piridilporfirinas com grupos etilas ou *n*-hexilas, por exemplo, resulta nos complexos MnTE-2-PyP⁵⁺ e MnTnHex-2-PyP⁵⁺ (Fig. 1.7) com potencial de redução perto do ótimo (BATINIĆ-HARBELE *et al.*, 2010; 2011).

Além de fatores termodinâmicos associados à modulação do potencial de redução para valores ótimos, as enzimas SOD também possuem estrutura com resíduos de aminoácidos catiônicos ao longo de um canal proteico que guiam o ânion superóxido eletrostaticamente ao metal redox (MICHELSON *et al.*, 1977; YU *et al.*, 1994). Assim, a presença de cargas positivas próximas ao centro metálico nos mímicos de SOD é também importante ao direcionar o ânion superóxido para o centro ativo *via* facilitação eletrostática (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a). No caso dos compostos derivados das Mn(III) 2-*N*-piridilporfirinas, a alquilação proporciona um aumento da carga positiva na vizinhança do sítio ativo redox (Mn), o que favorece a aproximação do ânion superóxido por facilitação eletrostática (Fig. 1.10), diferentemente do que ocorre com porfirinas aniônicas, pelas quais o superóxido sofre repulsão (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b).

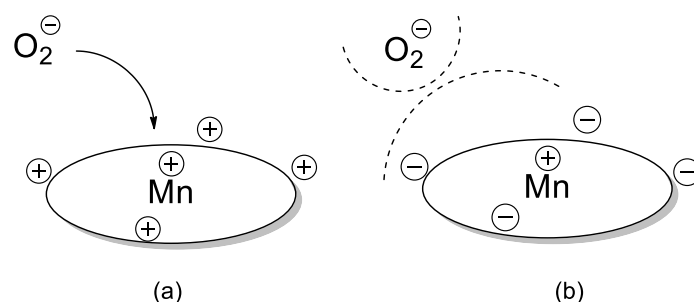


Figura 1.10 – Atracção eletrostática ao ânion superóxido exercida por Mn-porfirinas catiônicas (a). Repulsão eletrostática exercida por porfirinas aniônicas (b).

A combinação de um potencial adequado (próximo ao da enzima SOD) e a facilitação eletrostática fazem com que as Mn(III)-2-*N*-alquilpiridínioporfirinas, tais como a MnTE-2-PyP⁵⁺ e a MnTnHex-2-PyP⁵⁺, apresentem atividades catalíticas SOD tipicamente na faixa de log k_{cat} 7,48 – 7,79, próximas às das enzimas SOD (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b; 2008c).

Embora a MnTE-2-PyP⁵⁺ e a MnTnHex-2-PyP⁵⁺ tenham aproximadamente as mesmas atividades SOD intrínsecas, a maior lipofilicidade da MnTnHex-2-PyP⁵⁺ tem permitido o uso *in vivo* de doses de 30 a 100 vezes menores que as doses da MnTE-2-PyP⁵⁺. Apesar da introdução de cadeias hexilas resultar em uma Mn-porfirina mais volumosa (MnTnHex-2-PyP⁵⁺) que os derivados contendo os grupos etilas (MnTE-2-PyP⁵⁺), a lipofilicidade da MnTnHex-2-PyP⁵⁺ (solúvel tanto em água quanto em querosene) facilitou sua biodistribuição e acúmulo nas células e tecidos (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010; AITKEN *et al.*, 2013). A melhor eficácia *in vivo* é, então, associada a uma maior concentração intracelular do catalisador (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2009a).

Um estudo sistemático do impacto dos substituintes *meso*-arilas na lipofilicidade de Mn(III) *N*-alquilpiridínioporfirinas mostrou que os isômeros 3-alquilpiridínio (MnTE-3-PyP⁵⁺ e MnTnHex-3-PyP⁵⁺), embora sejam uma ordem de magnitude menos ativos cataliticamente, são uma ordem de magnitude mais lipofílicos que os análogos 2-alquilpiridínio. A maior lipofilicidade dos isômeros 3-alquilpiridínio se traduziu em um maior acúmulo celular, em ensaios *in vivo* em *E. coli*, que compensou a menor atividade catalítica intrínseca e resultou numa eficiência biológica semelhante aos isômeros 2-alquilpiridínio (KOS *et al.*, 2009a; 2009b). Um dos problemas dos compostos, tais como a MnTnHex-2-PyP⁵⁺, que contêm substituintes alquílicos longos é o aumento da toxicidade associado ao aumento do caráter surfactante. Por isso, uma estratégia bem sucedida para redução da toxicidade foi a inclusão de átomos de oxigênio nas cadeias alquílicas, como é caso da MnTnBuOE-2-PyP⁵⁺ (Fig. 1.7), que é um mímico SOD potente *in vivo* e *in vivo* (RAJIĆ *et al.*, 2012; TOVMASYAN *et al.*, 2015).

Embora o desenvolvimento das Mn-porfirinas como mímicos de SOD tenha se apresentado como um caminho adequado para o desenho de moduladores redox potentes de estresse oxidativo, deve-se destacar que as Mn-porfirinas com elevada atividade SOD não são seletivas para esta ERO, sendo também catalisadores potentes para a decomposição de outras espécies reativas regularmente associadas com o

estabelecimento e/ou manutenção de condições de estresse oxidativo, como a ERN peroxinitrito, ONOO^- (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2009a; 2009b). Apesar dessa falta de seletividade, o que limita o uso de Mn-porfirinas como sonda mecanística específica, a associação de atividade potente tanto para ERO quanto para ERN faz desses compostos candidatos a fármacos redox-ativos de interesse para controle *in vivo* de condições de estresse oxidativo. De fato, Mn-porfirinas, tais como: a MnTE-2-PyP^{5+} e a $\text{MnTnBuOE-2-PyP}^{5+}$ encontram-se atualmente em testes clínicos (fases I e/ou I/II) em humanos no Canadá e EUA (TOVMASYAN *e at.*, 2015).

1.3.4 Modelo da Ataxia-Telangiectasia

Dentre os vários modelos experimentais em que as Mn-porfirinas foram testadas como moduladores redox de estresse oxidativo, o modelo celular da ataxia-telangiectasia (A-T) apresentou resultados intrigantes (POLLARD *et al.*, 2009). A ataxia-telangiectasia é uma patologia genética na qual os indivíduos acometidos apresentam várias complicações clínicas sendo as mais marcantes a sensibilidade à radiação, limitação na coordenação física e a pré-disposição a desenvolver câncer (BODER, 1985). No modelo experimental celular de A-T foram testados 11 compostos de 4 classes distintas (Mn-porfirinas catiônicas e aniônicas, Mn-salens, aminas policíclicas de Mn e um sal de Mn) como agentes radioprotetores, tendo duas Mn-porfirinas catiônicas se destacado (POLLARD *et al.*, 2009). Foi observado que, enquanto as porfirinas hidrofílicas MnTM-2-PyP^{5+} e MnTE-2-PyP^{5+} não apresentaram atividade radioprotetora a culturas de linfoblastóides de indivíduos com Ataxia-Telangiectasia, o homólogo lipofílico $\text{MnTnHex-2-PyP}^{5+}$ mostrou-se excepcionalmente ativo (POLLARD *et al.*, 2009), em concordância com dados prévios sobre o impacto significativo da lipofilicidade no desenvolvimento de moduladores redox eficientes para distúrbios do sistema nervoso central (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2009b). Incidentalmente foi testada neste estudo de A-T, uma mistura comercial vendida como “ MnTM-2-PyP^{5+} ”, mas que foi caracterizada (REBOUÇAS *et al.*, 2008d) como uma mistura de 6 compostos correlatos (sem considerar as misturas de atropoisômeros) contendo vários graus distintos de metilação (Fig. 1.11), onde a participação da Mn-porfirina pentacatiônica MnTM-2-PyP^{5+} de fato era minoritária e a espécie tetracatiônica do tipo A_3B ($\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$) era o componente principal da amostra (REBOUÇAS *et al.*, 2008d). Curiosamente, esta mistura comercial apresentou atividade radioprotetora no modelo de A-T. Uma vez que foi estabelecido de forma independente

que a MnTM-2-PyP⁵⁺ em si não é radioprotetora neste modelo de A-T, a eficiência da mistura comercial deve ser originária de uma das espécies parcialmente metiladas (POLLARD *et al.*, 2009).

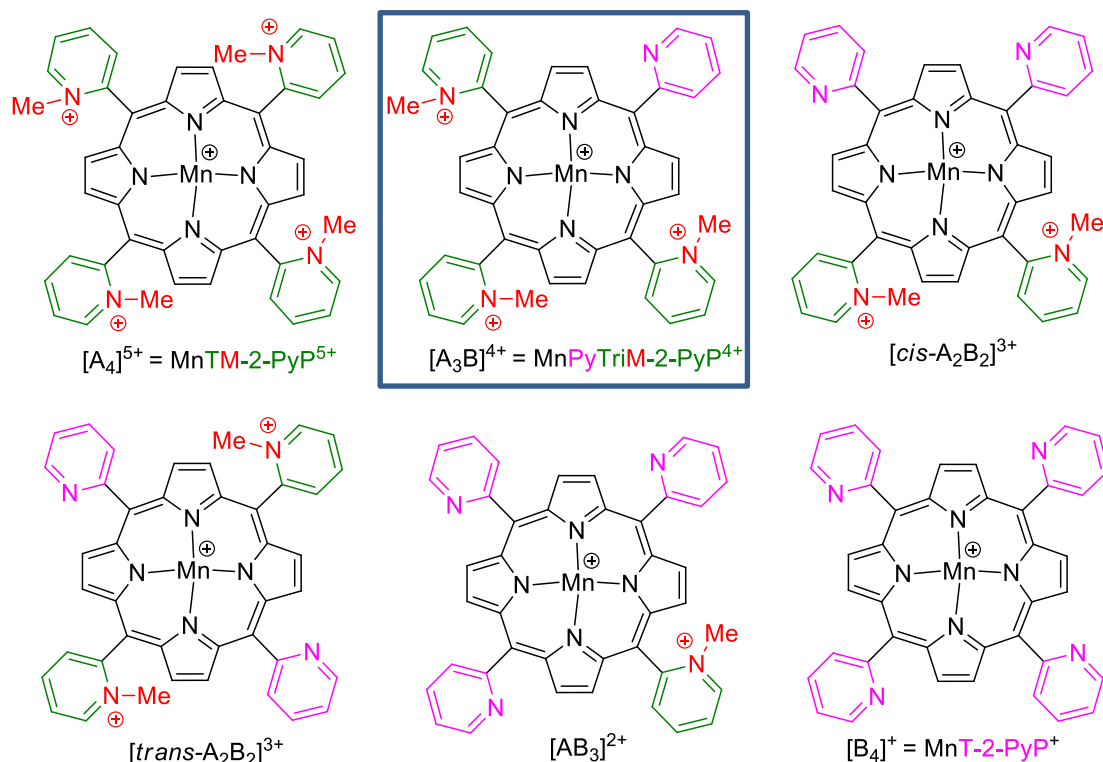


Figura 1.11 - Compostos presentes na mistura comercial vendida como “MnTM-2-PyPCL₅” e testada no modelo celular experimental de Ataxia-Telangiectasia (REBOUÇAS *et al.*, 2008d; POLLARD *et al.*, 2009), onde A = grupo 2-N-metilpiridínio e B = grupo 2-piridil. Em destaque a MnPyTriM-2-PyP, que é o componente majoritário da mistura comercial.

Apesar de os estudos não terem estabelecido qual dos componentes parcialmente alquilados da mistura comercial apresentou atividade radioproteção para linfoblastos de indivíduos com A-T (POLLARD *et al.*, 2009), sugere-se que a MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ (espécie [A₃B]⁴⁺, Fig. 1.11) seja, muito provavelmente, o componente ativo (ou o mais eficiente *in vitro*). Enquanto a Mn-porfirina sem grupos metila, MnT-2-PyP⁺ (espécie [B₄]⁺, Fig. 1.11) não possui atividade SOD (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003), as Mn-porfirinas mono e dimetiladas (espécie [AB₃]²⁺, *cis*-[A₂B₂]³⁺, e *trans*-[A₂B₂]³⁺; Fig. 1.11), além de apresentarem potencial de redução Mn(III)/Mn(II) muito baixo, incompatíveis com a dismutação catalítica de superóxido (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), possuem poucas cargas, diminuindo de forma

bastante significativa o efeito cinético associado à facilitação eletrostática (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2003; REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b; 2008c).

1.4 Design de porfirinas de baixa simetria do tipo A_3B derivadas das 2-N-piridilporfirinas

As Mn-porfirinas catiônicas derivadas das 2-N-piridilporfirinas têm se destacado como mímicos potentes das enzimas superóxido dismutases (SOD), catalisadores de decomposição de peroxinitrito, modeladores redox de estresse oxidativo e fármacos em potencial. A eficácia das Mn-porfirinas catiônicas em modelos animais de estresse oxidativo depende não apenas da atividade SOD intrínseca, mas também de lipofilicidade, biodisponibilidade, biodistribuição e toxicidade (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010). Os estudos com o modelo da Ataxia-Telangiectasia revelaram que uma mistura de derivados parcialmente alquilados da MnTM-2-PyP⁵⁺ apresentou resultados bastante significativos quando comparados àqueles obtidos com a uma amostra autêntica de MnTM-2-PyP⁵⁺ (POLLARD *et al.*, 2009), indicando que algum dos componentes parcialmente alquilados poderia estar tendo efeito biológico. Uma vez que a atividade catalítica SOD dos compostos é progressivamente reduzida com a diminuição do grau de alquilação (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), supõe-se que a espécie ativa na mistura seja uma porfirina tetracatiônica do tipo $[A_3B]$: MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ (Fig. 1.11), que era o componente principal da mistura comercializada como “MnTM-2-PyP⁵⁺” (REBOUÇAS *et al.*, 2008c); a menor atividade catalítica da MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ poderia ser compensada pela maior lipofilicidade, dada a menor carga total do sistema (SPASOJEVIC *et al.*, 2011), em analogia ao que se observou *in vivo* com os complexos de Mn(III) derivados dos isômeros 3-N-piridilporfirina (KOS *et al.*, 2009a, 2009b). Assim, a MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ se apresentou como inspiração viável para o design de uma nova classe de porfirinas.

A concepção inicial de design incluía a metilação controlada da H₂T-2-PyP para a formação e isolamento do derivado trialquilado H₂PyTriM-2-PyP³⁺ cuja metalação daria origem ao complexo MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ (Fig. 1.12), majoritário na mistura comercial de “MnTM-2-PyP⁴⁺”. A metilação controlada da H₂T-2-PyP exigiria uma otimização da concentração do agente metilante (tosilato de metila) no meio reacional e/ou controle do tempo de reação e temperatura. Entretanto, a obtenção seletiva de um composto trialquilado puro é improvável; esta estratégia, ao levar à formação de uma mistura de porfirinas catiônicas parcialmente metiladas, exigiria etapas de separação

cromatográfica bastante laboriosas, dispendiosas e complexas (REBOUÇAS *et al.*, 2008a): devido às cargas dessas porfirinas, o fator de retenção (R_f) da porfirina de interesse é muito baixo (REBOUÇAS *et al.*, 2008c), mesmo utilizando um eluente aquoso. Adicionalmente, o eluente $\text{KNO}_3(\text{aq, sat}): \text{H}_2\text{O}: \text{MeCN}$ (1:1:8, v/v/v) utilizado na separação (BATINIĆ-HABERLE, 1999; REBOUÇAS *et al.*, 2008a) contém uma quantidade muito grande de KNO_3 , que é difícil de ser separado das Mn-porfirinas catiônicas de interesse nas frações cromatográficas (REBOUÇAS *et al.*, 2008a).

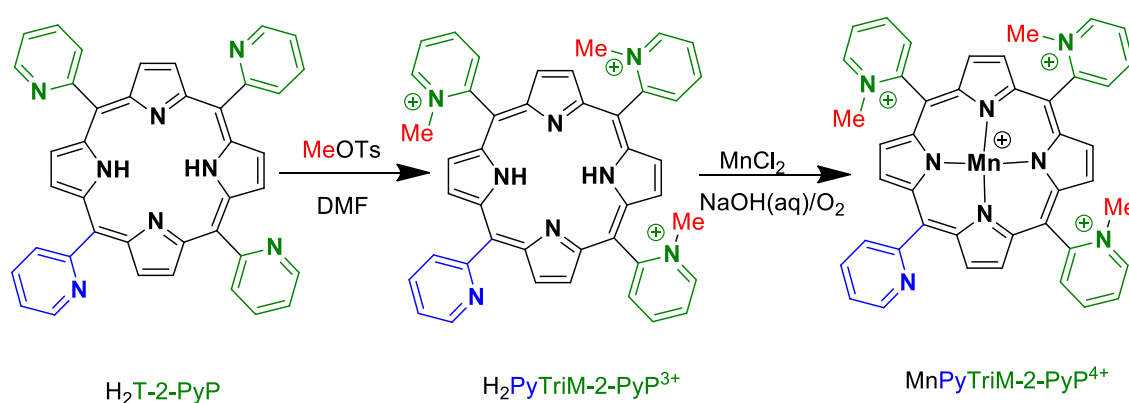


Figura 1.12 – Proposta da obtenção de uma Mn-porfirina parcialmente alquilada através de uma síntese sequencial cujo reagente inicial seria a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ e o produto final a $\text{MnPyTriM-2-PyP}^{4+}$.

Esta proposta inicial foi, portanto, substituída por um planejamento racional que minimizasse esses problemas de síntese e purificação e possibilitasse a obtenção reprodutível de quantidades apropriadas de Mn-porfirinas catiônicas do tipo A_3B para estudos futuros como mímicos de SOD. Considerando as relações empíricas de estrutura-propriedade desenvolvidas para os mímicos de SOD à base de Mn-porfirinas (REBOUÇAS *et al.*, 2008a; 2008b), era importante manter a presença dos 3 grupos 2-piridila (A) que, após metilação, manteriam (1) o efeito eletrorretirador adequado para ajuste do potencial de redução Mn(III)/Mn(II) e (2) a facilitação eletrostática conferida pelas cargas dos grupos 2-metilpirídínios distribuídas fora do plano porfirínico para atração eletrostática do ânion radical superóxido; e incluir um grupo neutro (B), não sujeito ao desenvolvimento de carga com a metilação.

A substituição de um dos grupos piridila da porfirina padrão $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ por um grupo fenila foi a primeira proposta de design racional, cujo resultado seria a obtenção de uma porfirina de baixa simetria com um grupo fenila e três grupos piridila,

denominada H₂PhTri-2-PyP (Fig. 1.13). Essa porfirina é obtida através da reação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e benzaldeído (SARI *et al.*, 1990). A derivatização desta porfirina com inserção de grupos alquila e metalação com manganês seria uma alternativa de aumento da lipofilicidade pela redução da carga total do composto final, resultando na Mn-porfirina tetracatiônica MnPhTriM-2-PyP⁴⁺, estruturalmente muito parecida com a MnPyTM-2-PyP⁴⁺.

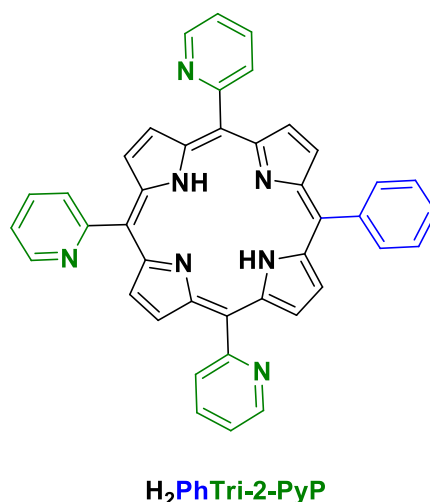


Figura 1.13 – Proposta inicial de uma porfirina de baixa simetria para derivatização, complexação e futuros testes biológicos em modelos SOD.

A condensação de pirrol com a mistura de dois aldeídos pode levar à formação de até seis produtos porfirínicos diferentes, dependendo da proporção utilizada de cada aldeído (Fig. 1.14). Apesar de este ser um problema intrínseco da preparação de porfirinas do tipo A₃B, a proposta envolvendo o uso de benzaldeído também não foi executada, pelo fato da mistura dos produtos porfirínicos com grupos fenila e piridila ser de difícil separação cromatográfica (SARI *et al.*, 1990), uma vez que o grupo fenila em porfirinas é cromatograficamente semelhante ao piridila, o que dificultaria o isolamento da porfirina de interesse H₂PhTri-2-PyP sendo necessário, possivelmente, cromatografia em camada delgada preparativa.

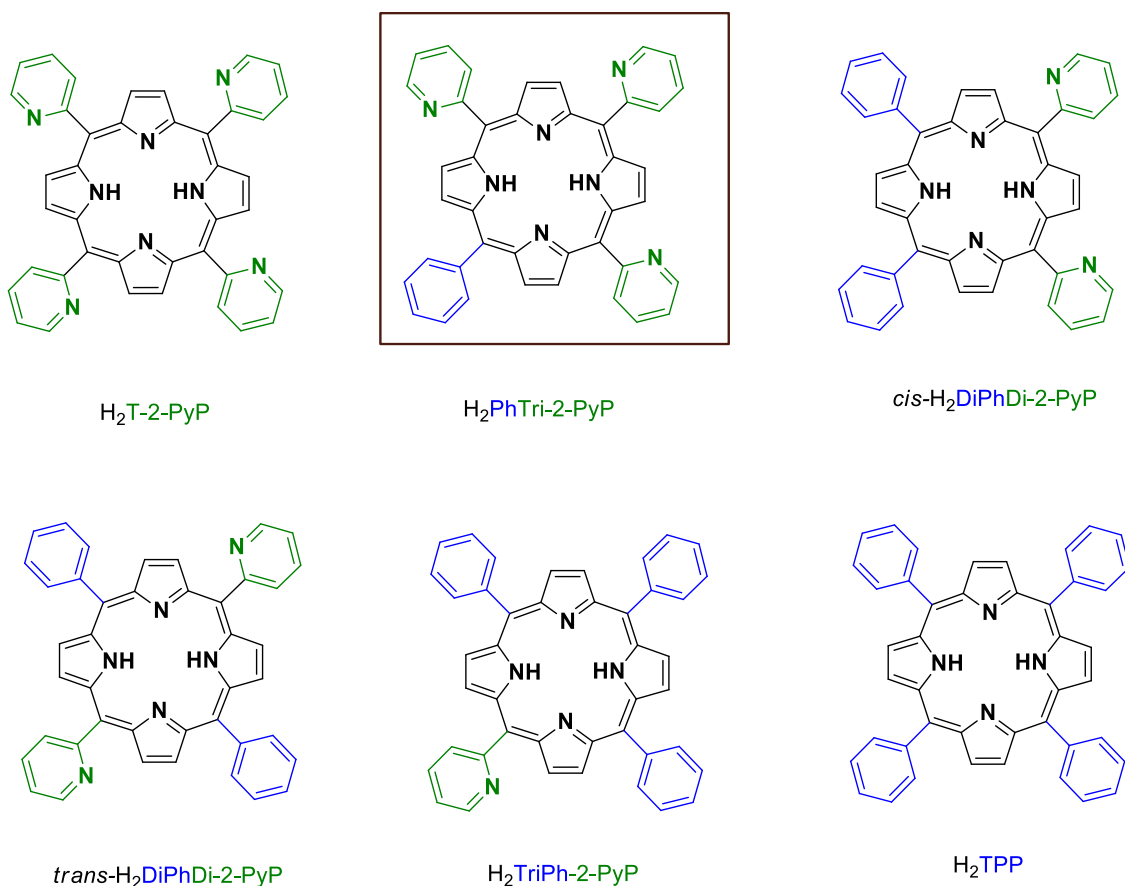


Figura 1.14 – Produtos possíveis de serem obtidos a partir da condensação de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído e benzaldeído. Em destaque, a porfirina de interesse na proposta de design descartada da $H_2PhTri-2-PyP$.

A escolha de um aldeído derivado do benzaldeído com substituintes que permitam modificações mais rápidas e simples se torna uma alternativa de design atraente. Para tal propósito, o aldeído escolhido como protótipo do design de novos mímicos em potencial das SOD foi o 3-metoxi-4-hidroxi-benzaldeído (vanilina). Dentre as vantagens do uso da vanilina em substituição ao benzaldeído, citam-se: (1) a presença de uma hidroxila que poderia ser o alvo de futura derivatização (por exemplo alquilação, esterificação, etc) e (2) a presença de grupos metoxila e hidroxila na vanilina faz o grupo ser estruturalmente muito diferente dos grupos piridila, o que facilita a separação cromatográfica de porfirinas resultantes da mistura de aldeídos. Além disso, a vanilina é um reagente de baixo custo, abundante na natureza, possui atividade terapêutica, baixa toxicidade e é utilizado na indústria alimentícia como flavorizante (principal constituinte da baunilha) (BRENES *et al.*, 1999). A modificação prévia da vanilina com um grupo metila, por exemplo, gera o veratraldeído, que também é um composto encontrado na natureza e de baixa toxicidade. As porfirinas resultantes da

condensação do pirrol com as misturas de 2-piridinacarboxaldeído e vanilina ou veratraldeído resultaria, respectivamente, nos compostos $H_2VanTri-2-PyP$ e $H_2MVanTri-2-PyP$ (Fig. 1.15), que, após metilação e metalação com Mn, resultaria nos complexos $MnVanTriM-2-PyP^{4+}$ e $MnMVanTriM-2-PyP^{4+}$, análogos à $MnPyTriM-2-PyP^{4+}$.

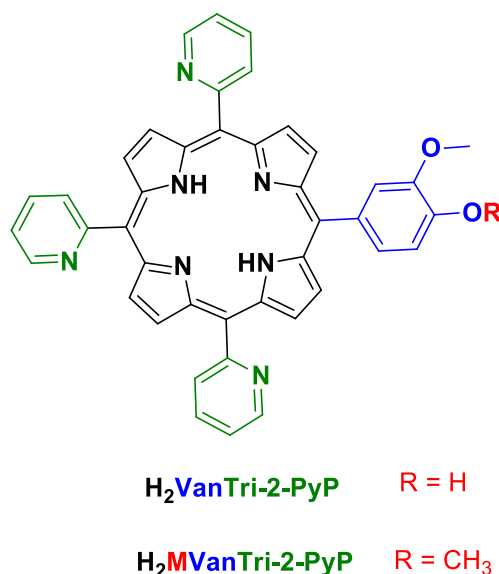


Figura 1.15 – Design interessante de precursores de uma nova classe de porfirinas que pode ser testada como mímico SOD.

Na síntese de porfirinas mistas, a escolha da relação molar entre os aldeídos é muito importante, uma vez que a condensação de pirrol e dois aldeídos em relação equimolar (4:2:2) pode levar a uma mistura de até seis produtos porfirínicos. O ajuste da relação molar dos aldeídos pode se constituir uma estratégia para diminuir a formação concomitante de todos os produtos e facilitar, assim, a separação cromatográfica. Como as porfirinas de interesse neste design apresentam 3 grupos 2-piridila e um grupo vanilina ou veratril (Fig. 1.14), o uso de excesso de 2-piridinacarboxaldeído em relação aos aldeídos vanilina ou veratraldeído foi investigado como alternativa para obtenção preferencial dos produtos porfirínicos do tipo A_4 e A_3B , onde A é o grupo 2-piridil e o B é o grupo derivado da vanilina ou veratraldeído.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo realizar a síntese e caracterização de uma nova classe de Mn-porfirinas catiônicas de baixa simetria do tipo $[A_3B]^{4+}$, utilizando a plataforma das 2-piridilporfirinas como guia para desenvolvimento de potenciais

mímicos SOD. Neste contexto, foi proposto explorar a condensação de pirrol com uma mistura de aldeídos buscando-se preparar os compostos de partida 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-(2-piridil)porfirina ($H_2VanTri-2-PyP$) e 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-(2-piridil)porfirina ($H_2MVanTri-2-PyP$) (Fig. 2.1) que, após derivatização via metilação e metalação, daria origem a Mn-porfirinas tetracatiônicas do tipo $[A_3B]^{4+}$ análogas à $MnPyTriM-2PyP^{4+}$ dos estudos dos modelos de Ataxia-Telangiectasia.

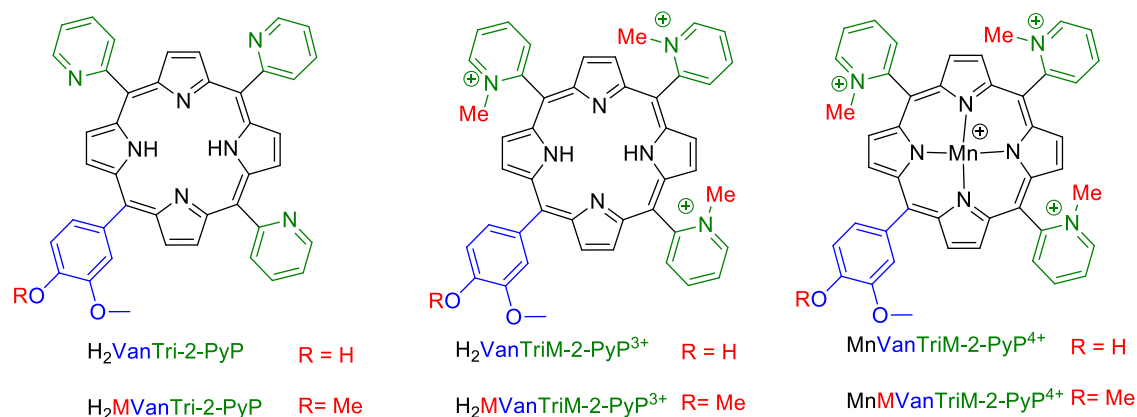


Figura 2.1 - Novos compostos porfirínicos de baixa simetria do tipo A_3B de interesse para este trabalho.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Realizar a síntese de porfirinas de baixa simetria contendo três grupos 2-piridila e um grupo vanilina ou veratril para obtenção das porfirinas $H_2VanTri-2-PyP$ e $H_2MVanTri-2-PyP$, respectivamente, a partir da condensação de pirrol e mistura de aldeídos adequada;
- ✓ Realizar reações de metilação dos grupos piridila, gerando porfirinas catiônicas;
- ✓ Efetuar metalação com manganês, obtendo-se Mn-porfirinas tetracatiônicas de baixa simetria do tipo $[A_3B]^{4+}$ análogas à $MnPyTriM-2PyP^{4+}$;
- ✓ Investigar parâmetros físico-químicos, tais como potencial de redução $Mn(III)/Mn(II)$ e lipofilicidade, que possibilitem estimar o potencial das Mn-porfirinas em estudo como possíveis mímicos SOD.

3 METODOLOGIA

3.1 Reagentes e solventes

Os seguintes reagentes e solventes foram usados conforme recebidos: sílica-gel de grau cromatográfico (60 Å, 70-230 mesh, Sigma-Aldrich), sílica-gel para cromatografia em camada delgada sem indicador de fluorescência (Merck), alumina neutra para cromatografia em camada delgada sem indicador de fluorescência (Merck), 2-piridinacarboxaldeído (Alfa Aesar), pirrol (Sigma-Aldrich), veratraldeído (Sigma-Aldrich), vanilina (Merck), cloreto de tosila (Aldrich), acetona (Tedia ou Química Moderna), acetonitrila (Tedia), clorofórmio (Tedia ou Química Moderna), iso-propanol (Dinâmica), *N,N*-dimetilformamida (DMF; Tedia), éter etílico (Tedia), metanol (Química Moderna ou Tedia), acetato de manganês(II) tetraidratado (Sigma-Aldrich), Aliquat[®] (cloreto de *N*-trioctilmetilamônio, Sigma-Aldrich), bicarbonato de sódio (Nuclear), carbonato de potássio (Vetec), cloreto de manganês (II) tetraidratado (Vetec), cloreto de sódio (Vetec), fosfato de sódio dibásico (Sigma-Aldrich), fosfato de sódio monobásico (Sigma-Aldrich), hexafluorofosfato de amônio (Sigma-Aldrich), hidróxido de sódio (Vetec), nitrato de potássio (Dinâmica).

O tosilato de metila foi sintetizado conforme adaptação do método de OIKAWA (1999), que consiste na reação de 60 mL metanol e 18 g de cloreto de tosila em 100 mL de CH₂Cl₂ (Química Moderna) contendo 9,5 mL de solução aquosa concentrada de NaOH (~10 mol L⁻¹). Os rendimentos obtidos foram em torno de 80-82 %.

A H₂T-2-PyP foi preparada através da condensação de 0,7 mL pirrol (10 mmol) e 0,950 mL de 2-piridinacarboxaldeído (10 mmol) em 100 mL ácido acético (solvente/catalisador) a 100 °C, utilizando uma adaptação do método de ADLER *et al.* (1964) e purificada segundo um procedimento descrito por Hambright e colaboradores (HAMBRIGHT *et al.* 1985). 50 mg da H₂T-2-PyP (0,08 mmol) foram submetidos à metalação com 158 mg Mn(AcO)₂ (0,8 mmol) em refluxo de clorofórmio/metanol (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994) e metilada com MeOTs usando procedimentos da literatura (REBOUÇAS *et al.*, 2002; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998). A porfirina MnTM-2-PyPCL₅ (rendimento global de 79 %) apresentou características cromatográficas, espectrais e eletroquímicas idênticas às descritas na literatura (REBOUÇAS *et al.*, 2008d).

A síntese da H₂VanP foi realizada a partir da condensação de 0,7 mL de pirrol (10 mmol) e 1,52 g de vanilina (10 mmol) em 100 mL ácido propiônico (solvente/catalisador) sob refluxo, em um procedimento adaptado do método de

ADLER *et al.* (1964). A porfirina bruta contendo quatro grupos vanilina, a *meso*-tetrakis-(3-metoxi-4-hidroxifenil) porfirina (H₂TVanP) foi precipitada com a adição de metanol. Após 30 min, a mistura foi filtrada a vácuo, a H₂VanP lavada com MeOH e seca em estufa a 65 °C durante duas horas. O rendimento isolado da H₂VanP foi cerca de 12 %.

3.2. Análises e Equipamentos

3.2.1 Cromatografia de camada delgada (CCD)

As análises por CCD foram realizadas em placas preparadas em lâminas de microscópio recobertas com sílica gel ou alumina neutra grau CCD (STAHL, 1969; TOUCHSTONE, 1978) ou placas cromatográficas comerciais de sílica-gel suportadas em alumínio (Sigma-Aldrich), sem indicador de fluorescência.

3.2.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis

Os espectros eletrônicos de absorção na região do UV-visível foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu (modelo UV-1800) com resolução de 1 nm, utilizando-se cubetas de quartzo ou vidro com 1 cm de caminho óptico. Foram utilizados solventes como acetona, água, tampão fosfato e borato nas medidas.

3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das porfirinas bases livres foram registrados em aparelho da marca VARIAN Mercury operando a 200 MHz ou 500 MHz. Tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão interno em todos os espectros. Local de aquisição dos espectros foi Núcleo da Central Analítica da UFPB (NUCAL-UFPB).

3.2.4 Análises termogravimétricas

As análises termogravimétricas e térmicas diferenciais simultâneas (TGA-DTA) utilizadas para determinação do grau de hidratação dos compostos isolados foram realizadas em um equipamento multiusuário Shimadzu DTG-60 do Programa de Pós-Graduação em Química da UFPB no Laboratório de Compostos de Coordenação de Química de Superfície (LCCQS). As medidas foram realizadas em cadinhos de alumina, sob atmosfera dinâmica de ar sintético (White Martins, O₂ aproximadamente 20%, N₂

aproximadamente 80 %) com fluxo de $110 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ e taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

As porfirinas submetidas às análises foram previamente secas em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 6 horas, seguido por secagem a vácuo e por último, colocadas *overnight* em dessacador.

3.2.5 Voltametria Cíclica

As medidas de voltametria cíclica foram realizadas utilizando um galvanostato/potenciostato Autolab PGSTAT 101 conectado a um microcomputador, gerenciado pelo software Nova 1.10, em uma célula eletroquímica composta por três eletrodos (um eletrodo de referência Ag/AgCl, um eletrodo de trabalho de carbono vítreo e um eletrodo auxiliar de platina). Os voltamogramas foram obtidos a partir de soluções de $5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ das Mn-porfirinas em (a) tampão fosfato ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,8) contendo NaCl ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) (REBOUÇAS, 2008d), ou (b) em solução metanol/tampão Tris salino (9:1, v/v) preparada a partir da mistura de metanol com tampão Tris ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,9) contendo NaCl ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$) (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2001; LAHAYE *et al.*, 2007). Os voltamogramas foram registrados sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, sendo as soluções na célula eletroquímicas previamente purgadas por 10 min com nitrogênio. A MnTM-2-PyP⁵⁺ foi utilizada como um padrão externo para todas as medidas. As medidas foram realizadas no Laboratório de Ensaio em Química Ambiental (LEQA).

3.3 Síntese de porfirinas neutras de baixa simetria

3.3.1 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (*H₂VanTri-2-PyP*) (**1**)

3.3.1.1 Reações exploratórias em microescala

Os procedimentos exploratórios das sínteses da *H₂VanTri-2-PyP* (**1**) (Fig. 3.1) em microescala foram adaptados do método de Adler e Longo (ALDER *et al.*, 1964) através da condensação de pirrol com os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina, utilizando as proporções relativas dos aldeídos 3:1, 6:1 e 9:1, mantendo-se a proporção aldeídos:pirrol fixa a 1:1. O solvente/catalisador utilizado foi o ácido acético. A purificação foi efetuada usando uma metodologia adaptada de HAMBRIGHT *et al.* (1985).

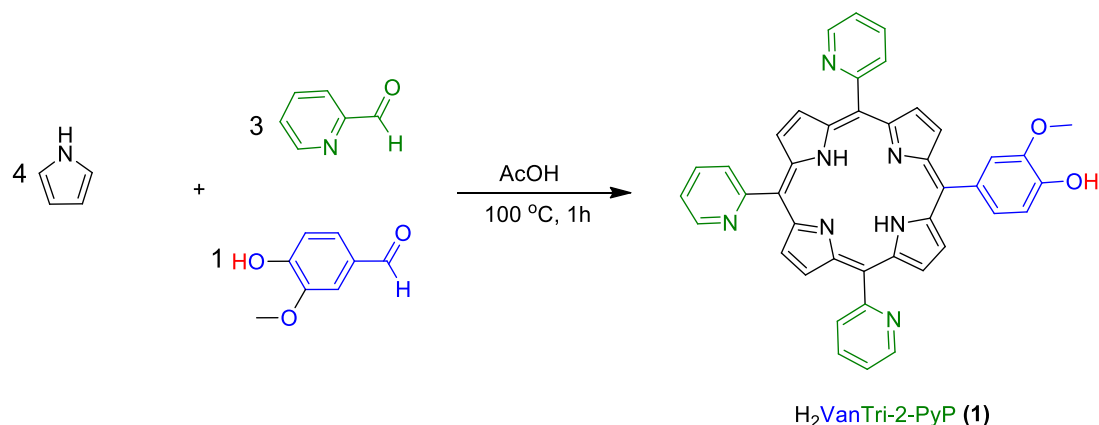


Figura 3.1 - Esquema de síntese da porfirina $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP (1)}$ a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído (verde) e vanilina (azul).

Para as reações nas condições estequiométricas com 2-piridinacarboxaldeído e vanilina na proporção 3:1, foram adicionados a um tubo de ensaio de 9 mL: 3 mL de ácido acético, 23 mg de vanilina (0,15 mmol), 43 μL de 2-piridinacarboxaldeído (0,45 mmol) e, por último, 42 μL de pirrol (0,6 mmol). Esse sistema foi agitado manualmente à temperatura ambiente por 2 minutos e rapidamente colocado em um banho de óleo estabilizado a 100 °C por 1 h. As reações nas proporções relativas dos aldeídos 6:1 e 9:1 foram feitas de maneira análoga, exceto que foram utilizados 49 μL de 2-piridinacarboxaldeído e 13 mg de vanilina para as reações na proporção 6:1, e 51 μL de 2-piridinacarboxaldeído e 9,1 mg de vanilina para as reações na proporção 9:1.

Após 1 hora de reação, o sistema foi resfriado rapidamente e a mistura da reação foi transferida para um béquer, ao qual se adicionaram 3 mL de água. A solução foi parcialmente neutralizada com solução aquosa de NaOH a 1 mol L^{-1} em quantidade suficiente (aprox. 4 mL) para se atingir pH 3,2 e levar à formação de um precipitado. O sistema foi centrifugado e o sobrenadante foi descartado. O sólido resultante foi ressuspenso em 3 mL de água e o sistema foi centrifugado, sendo este processo de lavagem do material repetido por cinco vezes. O sólido foi seco em estufa a 65 °C por 2 horas. O sólido foi então dissolvido em 1 mL CH_2Cl_2 e à solução foram adicionados, nesta ordem, 2 mL de acetato de etila e 2 mL de n-hexano. Após a formação de um precipitado escuro, o sistema foi centrifugado e o sobrenadante de cor avermelhada foi recolhido. O solvente do sobrenadante foi evaporado e o sólido resultante foi purificado por duas etapas cromatográficas em SiO_2 , usando uma pipeta Pasteur como coluna. A primeira coluna foi eluída com $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ na proporção 10:1, sendo as frações fluorescentes recolhidas e evaporadas. Este sólido resultante foi purificado em uma

segunda coluna utilizando a mistura CHCl_3 :MeCN na proporção 7:3 como eluente, sendo a porfirina de interesse (**1**) o segundo produto fluorescente a ser recolhido. Todas as frações foram analisadas por UV-vis e CCD-SiO₂.

3.3.1.2 Reações em escala preparativa

As condições de obtenção da porfirina (**1**) em escala preparativa foram adaptadas das condições em microescala, sendo utilizadas relações dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina na proporção 3:1 e 9:1.

Para as reações usando a relação estequiométrica de aldeídos (3:1) o procedimento é descrito a seguir. Um balão de fundo redondo contendo 40 mL de ácido acético foi aquecido em um banho de óleo até que a temperatura do ácido acético se estabilizasse a 100 °C. Então, 360 mg de vanilina (25 mmol) foram quantitativamente transferidos para o balão com o auxílio de ácido acético, perfazendo um volume total de solvente na reação de 50 mL. Após 5 minutos para reestabelecimento do equilíbrio térmico a 100 °C, foram adicionados 713 μL de 2-piridinacarboxaldeído (75 mmol) e, por último, foram adicionados lentamente 700 μL de pirrol (10 mmol). O progresso da reação foi monitorado por CCD-SiO₂ (CHCl_3 :MeOH, 9:1 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 1 hora de reação a 100 °C, a mistura de reação foi resfriada à temperatura ambiente e diluída com 100 mL de água. Procedeu-se, então, a neutralização parcial do meio com aprox. 80 mL de solução aquosa de NaOH até pH 3,2 (1 mol L⁻¹), quando se observou a formação de um precipitado escuro denominado “porfirina bruta”, que foi recolhido por filtração à vácuo, lavado com solução de NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ e água, e foi seco em estufa a 70 °C durante 2 horas. O sólido resultante foi dissolvido em CHCl_3 (20 mL) e a esta solução foram adicionados, nesta ordem, 20 mL de acetato de etila e 15 mL de hexano, resultando em uma mistura CHCl_3 :AcOEt:Hex (4:4:3, v/v/v) e levando à formação de um novo precipitado, o qual foi descartado por filtração. O sobrenadante violeta foi recolhido e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório. O sólido resultante foi purificado por duas etapas cromatográficas em coluna de sílica-gel. Na primeira, utilizou-se com o eluente CHCl_3 :MeOH 10:1 (v/v). As frações contendo porfirinas foram agrupadas e submetidas a uma segunda coluna em SiO₂, utilizando CHCl_3 :MeCN 1:1 (v/v) como eluente. A porfirina (**1**) foi o segundo produto porfirínico a eluir na segunda coluna. Massa isolada: 40-43 mg, (rendimento: 3 %).

A síntese da porfirina (**1**) utilizando a proporção relativa 9:1 dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina foi feita de maneira análoga à proporção 3:1 (acima), exceto que foram utilizados 863 µL de 2-piridinacarboxaldeído (9 mmol) e 152 mg de vanilina (~1 mmol). A purificação e o isolamento ocorreram também de maneira análoga. Massa isolada: 6-8 mg (rendimento: 1 %).

CCD-SiO₂ (CH₂Cl₂:MeCN, 1:1 v/v): R_f = 0,56.

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

RMN de ¹H (500 MHz; d⁶-DMSO; TMS): δ 9,54 (s, 1H, OH), 9,10 (d, 3H, ³J_{H3H4} = 4,1 Hz H³-piridil), 9,01 (s, 2H, Hβ-pirrol), 8,84 (s, 6H, Hβ-pirrol), 8,36 (d, 3H, ⁶J_{H6H5} = 7,4 Hz H⁶-piridil) 8,28 (t, 3H, ⁵J_{H5H6} = 7,2 Hz H⁵-piridil), 7,88 (m, 3H, H⁴-piridil), 7,82 (s, H²-fenil), 7,63 (d, 1H, ⁶J_{H6H5} = 8,0 Hz, H⁶-fenil), 7,24 (d, 1H, ⁵J_{H5H6} = 8,0 Hz, H⁵-fenil) 3,93 (s, 3H, *m*-H₃CO), -2,94 (s, 2H, N-H).

RMN de ¹H (200 MHz; CDCl₃; TMS): δ 9,14 (m, 3 H, H3-Py), 8,97-8,81 (m, 8H, Hβ-pirrólico), 3,92 (s, 3H, *m* H₃CO), -2,78 (s, 2H, N-H).

3.3.2 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂MVanTri-2-PyP) (**2**)

A H₂MVanTri-2-PyP (**2**) foi obtida a partir de uma relação estequiométrica de 2-piridinacarboxaldeído e metil-vanilina (veratraldeído) na proporção 3:1, de maneira análoga à H₂VanTri-2-PyP, exceto que foram usados 393 mg de veratraldeído (2,5 mmol) ao invés de vanilina (Fig. 3.2).

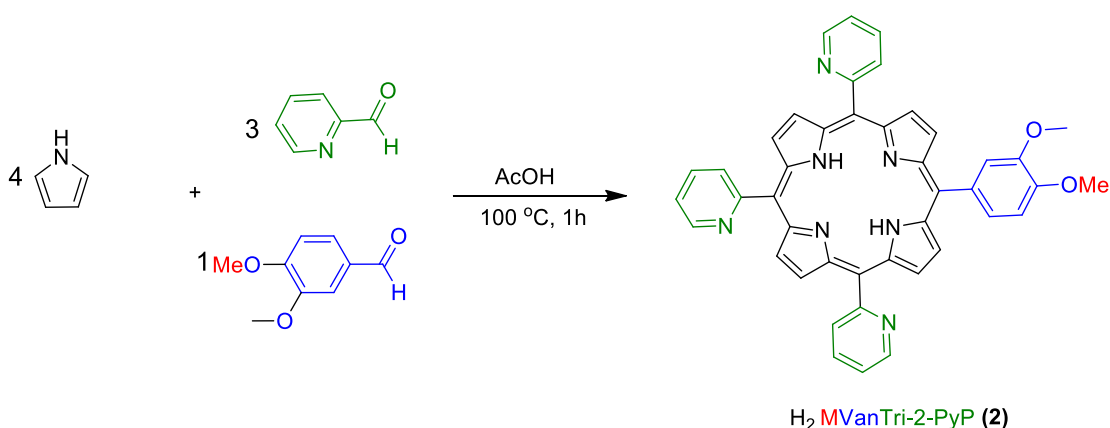


Figura 3.2 - Esquema de síntese da porfirina H₂VanTri-2-PyP (**2**) a partir de pirrol, 2-piridinacarboxaldeído (verde) e metil-vanilina (azul).

A purificação inicial da porfirina **(2)** foi feita de maneira semelhante à porfirina **(1)**, através da neutralização parcial do meio ácido com solução de NaOH (1 mol L⁻¹) para obtenção da “porfirina bruta” foi conduzida até pH 3,1. A “porfirina bruta” desta síntese foi totalmente solúvel em CHCl₃, diferentemente da “porfirina bruta” da reação da porfirina **(1)**, portanto, o passo seguinte à obtenção do sólido bruto foi a extração sólido-líquido com a mistura CHCl₃/AcOEt/*n*-Hexano na proporção 4:4:3 (v/v/v), a mesma da precipitação seletiva de impurezas nas reações da **(1)**. O sistema foi filtrado e o sobrenadante foi recolhido, evaporado e o sólido obtido submetido à duas etapas cromatográficas. Na primeira, utilizou-se com o eluente CHCl₃:MeOH 20:1 (v/v). As frações contendo porfirinas e um produto marrom não-porfirínico foram agrupadas, divididas em duas porções equivalentes e submetidas a duas colunas de SiO₂ em paralelo, utilizando CHCl₃:acetona 4:1 (v/v) como eluente. A porfirina **(2)** foi o segundo produto porfirínico a eluir em cada coluna. Massa isolada: 48-54 mg (rendimento: 3 %).

CCD-SiO₂ (CH₂Cl₂:MeCN, 1:1 v/v): R_f = 0,63.

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

RMN de ¹H (200 MHz; *d*⁶-DMSO; TMS): δ 9,09 (m, 3H, H³-piridil), 8,97 (d, 2H, Hβ-pirrólico) e 8,83 (m, 6H, Hβ-pirrol) 8,43-8,22 (m, 6H, H^{6,5}-piridil), 7,88 (m, 4H, H⁴-piridil + H²-fenil), 7,73 (d, 1H, H⁶-fenil), 7,39 (d, 1H, H⁵-fenil), 4,04 (s, 3H, *p*-H₃CO), 3,87 (s, 3H, *m*-H₃CO), -2,99 (s, 2H, N-H).

RMN de ¹H (200 MHz; CDCl₃; TMS): δ 9,15-9,13 (m, 3 H, H₃-Py), 8,97-8,95 (d, 2H, Hβ-pirrólico) e 8,87-8,81 (m, 6H, Hβ-pirrólico), 4,17 (s, 3H, *p* H₃CO), 3,99 (s, 3H, *m* H₃CO), -2,78 (s, 2H, N-H).

3.4 Obtenção das porfirinas catiônicas

3.4.1 Síntese da cloreto de 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina (H₂VanTriM-2-PyPCL₃) **(3)**

A H₂VanTriM-2-PyP³⁺ **(3)** foi obtida através da metilação seletiva da porfirina neutra H₂VanTri-2-PyP **(1)** (Fig. 3.3).

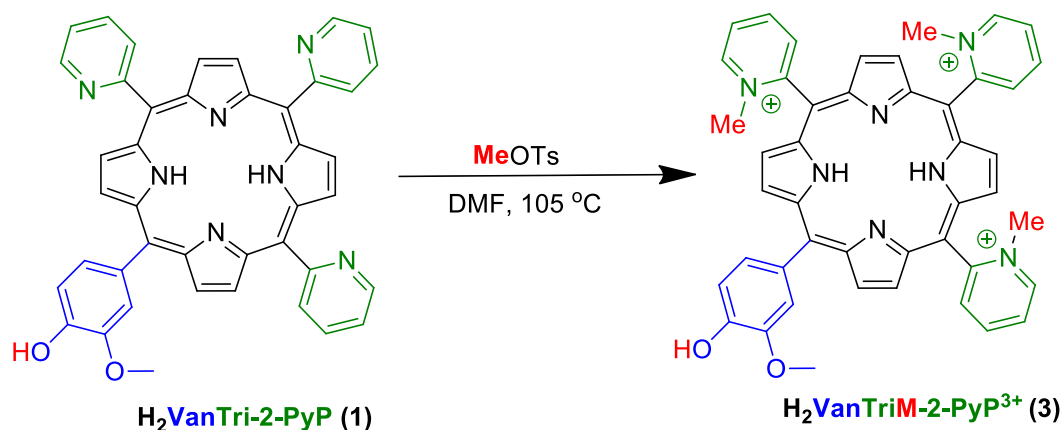


Figura 3.3 – Esquema da obtenção porfirina catiônica de baixa simetria $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) via alquilação com tosilato de metila da porfirina precursora (**1**).

A um balão de fundo redondo foram adicionados 29,1 mg de $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**) (0,044 mmol) e 2,9 mL de DMF. O sistema foi levado a um banho de óleo a 105 °C e, após 5 minutos, foram adicionados 1,32 mL (8,8 mmol) de tosilato de metila. O progresso da reação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 3 horas de reação a 105 °C, a mistura de reação foi resfriada e diluída com 5 mL de H₂O. O sistema foi submetido à extração com CHCl₃ (3 mL) por 10 vezes. A fase aquosa foi recolhida e a porfirina foi precipitada na forma de sal de PF₆[−] com adição gota a gota de uma solução aquosa de NH₄PF₆ (2 mol L^{−1}). O sólido foi filtrado, lavado com a mistura de Et₂O:iso-PrOH (9:1 v/v) e secado em estufa a 60 °C. O sólido foi, então, dissolvido em acetona e a porfirina foi precipitada na forma de sal de Cl[−] com adição gota a gota de Aliquat[®] (cloreto de *N*-trioctilmetilamônio). O sólido resultante foi lavado com acetona, secado em estufa a 60 °C por 2 horas e transferido para um dessecador. Massa da porfirina (**3**) isolada: 28,9 mg (rendimento: 81 %).

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

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

RMN de ¹H (500 MHz; *d*⁶-DMSO; TMS): δ 9,87 (s, 1H, OH), 9,73 (d largo, 3H, H³-Piridil), 9,27-9,10 (m, 6H, H β -pirrol), 9,10-9,01 (m, 5H, H⁶-piridil + H β -pirrol) 9,01-8,82 (m, 3H, H⁵-piridil) 8,74 (t, 3H, H⁴-piridil), 7,90-7,20 (m, H^{2,5,6}-fenil), 4,01-4,24 (m, 9H, Me-piridil), 3,93 (s, 3H, *m*-COCH₃), −2,83 (s, 2H, N-H).

3.4.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirina ($H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$) (**4**)

A $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) foi obtida por duas rotas distintas partindo-se da $H_2MVanTri-2-PyP$ (Rota 1) ou da $H_2VanTri-2-PyP$ (Rota 2) (Figura 3.4).

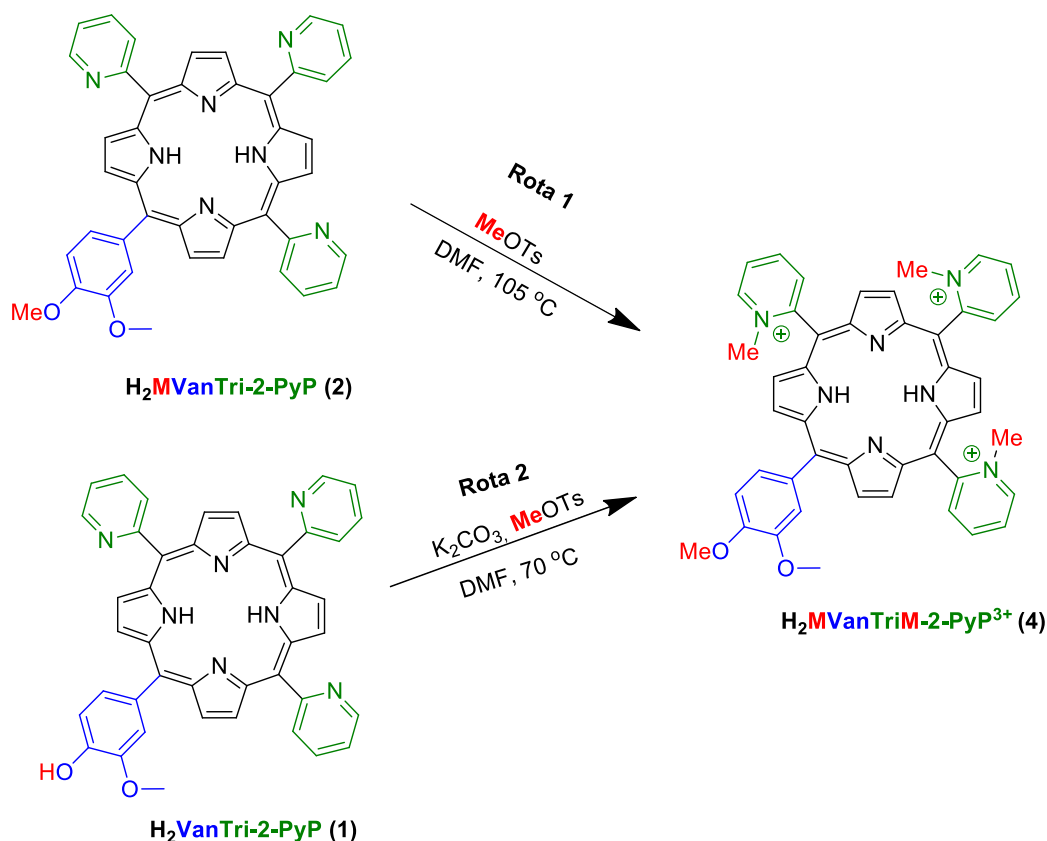


Figura 3.4 - Obtenção da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ por duas rotas: 1) via alquilação da porfirina (**2**), 2) alquilação em meio básico da porfirina (**1**).

3.4.2.1 Obtenção da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) pela Rota 1

Partindo-se da $H_2MVanTri-2-PyP$ (**2**), o procedimento de síntese e purificação da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) foi idêntico àquele da (**3**), exceto que foram utilizados 30,5 mg de $H_2MVanTri-2-PyP$ (**2**) (0,045 mmol), 509 μ L de tosilato de metila (3,4 mmol) e 3 mL de DMF. Massa da porfirina (**4**) isolada: 29,6 mg (rendimento: 80 %).

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

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

RMN de ^1H (500 MHz; d^6 -DMSO; TMS): δ 9,73 (d largo, 3H, H^3 -Piridil), 9,25-9,10 (m, 6H, H^β -pirrol), 9,10-9,01 (5H, H^6 -piridil + H^β -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).

3.4.2.2 Obtenção da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}$ (**4**) pela Rota 2

Partindo-se da porfirina $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**), a metilação simultânea dos grupos vanilina e piridilas foi efetuada usando um procedimento adaptado da síntese da porfirina (**3**), sendo utilizados 5 mg de $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (0,0075 mmol), 113,8 μL de tosilato de metila (0,75 mmol) e 2,7 mg de K_2CO_3 (0,019 mmol) em 0,5 mL de DMF; a temperatura utilizada na síntese foi de 70 $^\circ\text{C}$ (YANG, 2000). O progresso da reação foi monitorado por CCD- SiO_2 ($\text{KNO}_3(\text{sat})\text{:H}_2\text{O:MeCN}$, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 17 horas de reação a 70 $^\circ\text{C}$, a purificação da porfirina foi efetuada de modo idêntico àquele descrito para a porfirina (**3**). Massa da porfirina (**4**) isolada: 5,2 mg (rendimento: 83 %). Os dados de cromatografia em camada delgada e espectroscopia de absorção UV-vis foram idênticos àqueles descritos na Rota 1.

3.5 Síntese dos complexos de Mn(III)

3.5.1 Síntese da cloreto de 5-(3metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirinatomanganês(III) (MnVanTri-2-PyP) (**5**)

A MnVanTri-2-PyP (**5**) foi obtida pelo método do clorofórmio/metanol (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). A uma solução de 29 mg de $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**) (0,044 mmol) em 2 mL de clorofórmio sob refluxo e agitação magnética adicionaram-se 2 mL de uma solução metanólica de 115,7 mg de $\text{Mn}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,44 mmol) (Fig. 3.5).

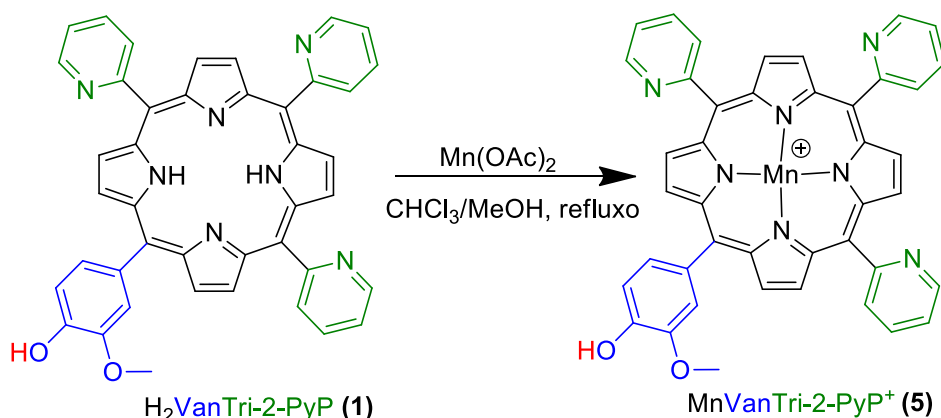


Figura 3.5 - Esquema de síntese da manganês-porfirina monocatiônica MnVanTri-2-PyP⁺ (**5**).

A reação foi monitorada por espectroscopia de absorção eletrônica na região do ultravioleta-visível e CCD-Al₂O₃ (CHCl₃:MeOH, 9:1 v/v). Após 12 h de refluxo, o solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o sólido resultante foi purificado por cromatografia em coluna de alumina neutra (atividade Brockman I, 2,0 cm x 10 cm) usando CHCl₃:MeOH (10:1, v/v) como eluente. A Mn-porfirina foi coletada como uma fração castanho-escuro após eluição de um produto de cor verde. A fração de interesse foi levada a um evaporador rotatório, o solvente eliminado e sólido resultante foi seco em estufa a 65 °C por 2 horas. O sólido resultante foi dissolvido em 40 mL de água quente (~90 °C). Após ajuste do pH da solução aquosa para 7,0 com ~4 µL de uma solução de NaOH(aq) (1 mol L⁻¹), foram adicionados lentamente 80 mL de uma solução de NaCl(aq) (2 mol L⁻¹), sendo observada a formação de um precipitado. A suspensão foi deixada em repouso ao abrigo da luz por 12 h para finalizar a precipitação da Mn-porfirina na forma cloreto. A suspensão foi filtrada, o sólido foi redissolvido em 40 mL de água quente (~90 °C) e a solução foi tratada novamente com NaCl. O sólido resultante da reprecipitação foi lavado com água e seco em estufa a 60 °C por 3 h. Posteriormente, o sólido foi solubilizado em uma mistura de CH₂Cl₂:MeOH (10:1 v/v). A solução foi filtrada em celite e o filtrado foi levado à secura em evaporador rotatório. O sólido resultante foi seco em estufa a 60 °C por 24 h, obtendo-se 26,6 mg da Mn-porfirina (**5**) (rendimento: 90 %).

CCD-Al₂O₃ (CHCl₃:MeOH, 10:1 v/v): R_f = 0,85.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,81.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε, L mol⁻¹ cm⁻¹): 220 (4,68), 376 (4,71), 398 (4,68), 465 (Soret; 5,02), 559 (4,08), 773 (3,30).

3.5.2 Síntese da cloreto de 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirinatomanganês(III) (MnMVanTri-2-PyPcl) (**6**)

A MnMVanTri-2-PyPcl (**6**) foi sintetizada de maneira idêntica à MnVanTri-2-PyPcl (**5**), exceto que foram utilizados 20 mg da porfirina (**2**) (0,0295 mmol) e 77,6 mg de Mn(OAc)₂·4H₂O (0,295 mmol) (Fig. 3.6).

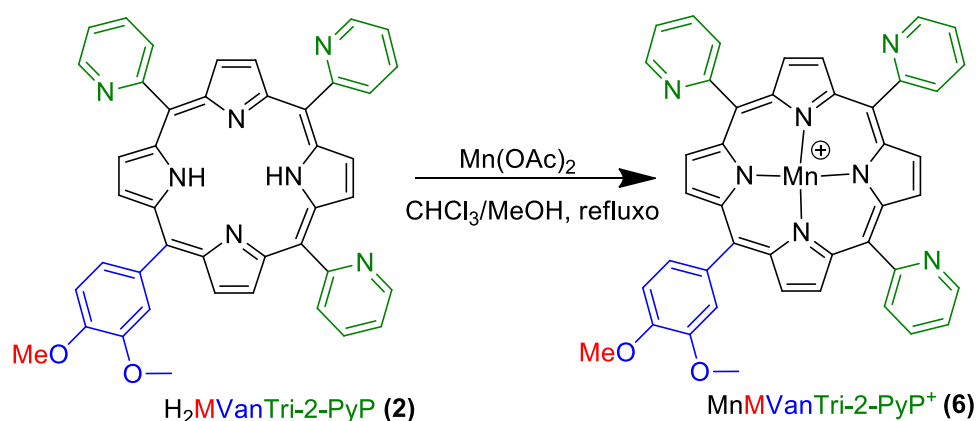


Figura 3.6 - Esquema de síntese da manganês-porfirina monocatiônica MnMVanTri-2-PyP⁺ (6).

A purificação ocorreu também de maneira análoga à Mn-porfirina (5), exceto que, na etapa de precipitação com NaCl, utilizou-se 80 mL de água quente para dissolução da Mn-porfirina e 80 mL de solução de NaCl (2 mol L⁻¹). Massa de MnMVanTri-2-PyP⁺ isolada: 20,4 mg (rendimento: 81 %).

CCD-Al₂O₃ (CHCl₃:MeOH, 10:1 v/v): R_f = 0,85.

CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v/v): R_f = 0,81.

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε, L mol⁻¹ cm⁻¹): 220 (4,66), 376 (4,68), 398 (4,66), 465 (Soret; 4,99), 559 (4,04), 773 (3,28).

3.5.3 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(N-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnVanTriM-2-PyPCL₄) (7)

A MnVanTriM-2-PyPCL₄ (7) foi sintetizada utilizando um procedimento adaptado da MnTM-2-PyPCL₅ (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998). Após se dissolver 19,2 mg de H₂VanTriM-2-PyPCL₃ (3) (0,0236 mmol) em 1 mL de água destilada, ajustou-se o pH da solução resultante para 12 com solução aquosa de NaOH e adicionaram-se 46,7 mg de MnCl₂·4H₂O (0,236 mmol) (Fig. 3.7).

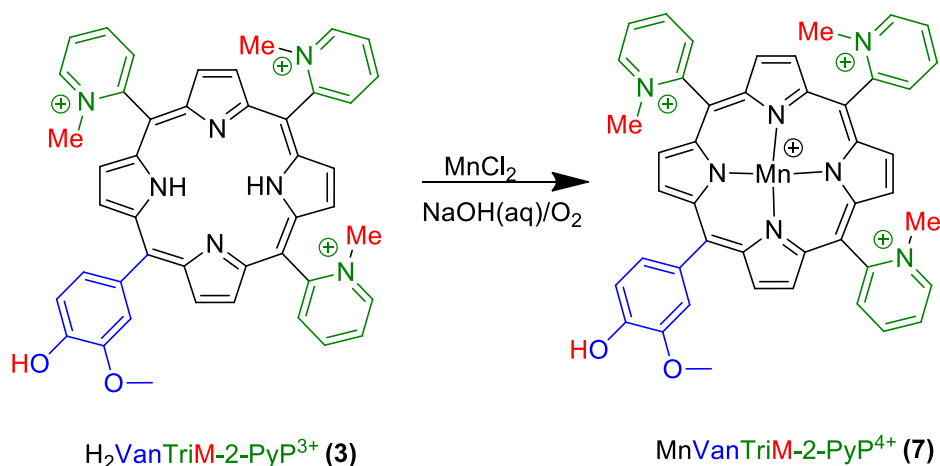


Figura 3.7 - Esquema geral de síntese da manganês-porfirina tetracatiônica MnVanTriM-2-PyPCL₄ (**7**).

O progresso da reação de metalação foi monitorado por CCD-SiO₂ (KNO₃(sat):H₂O:MeCN, 1:1:8 v/v) e espectroscopia de absorção UV-vis. Após 15 min à temperatura ambiente, o sistema foi aquecido a ~70 °C por 45 min para que a reação se completasse. O sistema foi resfriado para temperatura ambiente e a porfirina foi, então, precipitada na forma de sal de PF₆⁻ com adição gota a gota de uma solução aquosa de NH₄PF₆ (2 mol L⁻¹). O sólido foi filtrado, lavado com uma mistura de Et₂O:iso-PrOH (9:1 v/v) e secado em estufa a 60 °C. O sólido foi, então, dissolvido em acetona e a porfirina foi precipitada na forma de Cl⁻ com adição gota a gota de Aliquat[®]. O sólido resultante foi lavado com acetona, secado em estufa a 60 °C por 4 horas e transferido para um dessecador. Massa isolada da Mn-porfirina (**7**): 20,3 mg (rendimento: 95 %).

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

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε, L mol⁻¹ cm⁻¹): 262 (4,40), 369 (4,58), 459 (Soret; 4,91), 559 (4,00), 773 (3,16)

3.5.4 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(*N*-metilpiridínio-2-il)porfirinatomanganês(III) (MnMVanTriM-2-PyPCL₄) (**8**)

A MnMVanTriM-2-PyPCL₄ (**8**) foi sintetizada e purificada usando procedimento idêntico ao da MnVanTriM-2-PyPCL₄ (**7**), exceto que foram utilizados 29,6 mg de H₂MVanTriM-2-PyPCL₃ (0,036 mmol) e 142,4 mg de MnCl₂·4H₂O (0,72 mmol) (Fig. 3.8). Massa de MnMVanTriM-2-PyPCL₄ isolada: 30,1 mg (rendimento: 91 %).

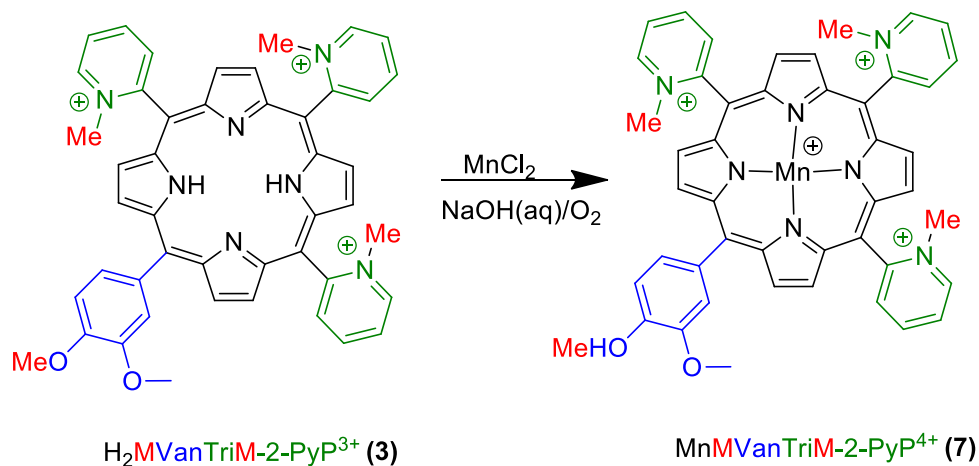


Figura 3.8 - Esquema geral de síntese da manganês-porfirina tetracatiônica MnMVanTriM-2-PyP₄ (8).

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

UV-vis (H₂O): λ_{max}/nm (log ε, L mol⁻¹ cm⁻¹): 220 (4,66), 376 (4,68), 398 (4,66), 465 (Soret; 4,99), 559 (4,04), 773 (3,28).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Porfirinas neutras de baixa simetria

4.1.1 Síntese da 5-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina ($H_2VanTri-2-PyP$)(1)

4.1.1.1 Reações exploratórias em microescala

Reações exploratórias em microescala foram feitas utilizando uma mistura dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina nas proporções 9:1, 6:1 e na proporção estequiométrica 3:1 para a obtenção da porfirina **(1)**. Os resultados mais favoráveis foram aplicados posteriormente em escala preparativa para a obtenção da $H_2VanTri-2-PyP$ **(1)** e posteriormente para a $H_2MVanTri-2-PyP$ **(2)**.

As reações de condensação de pirrol com os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina em microescala foram realizadas mantendo-se a relação estequiométrica (1:1) de pirrol e aldeídos, mas utilizando proporções relativas entre os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído:vanilina que variaram de 3:1 (relação estequiométrica para porfirinas A_3B ; Fig 4.1), 6:1 e 9:1. Obviamente, quanto maior a proporção de 2-piridinacarboxaldeído no sistema, maior a formação da porfirina simétrica (não desejada) $H_2T-2-PyP$. No entanto, o uso de relações não-estequiométricas, inibe a formação de compostos contendo mais de um grupo vanilina, o que diminui o número de espécies porfirínicas nas misturas; a simplificação da mistura poderia facilitar a separação cromatográfica posterior e eventualmente compensar a queda de rendimento na porfirina A_3B de interesse. Essa estratégia de uso de proporção de aldeídos distante da relação estequiométrica já foi usada anteriormente no preparo de porfirinas derivadas da *meso*-tetrafenilporfirina (H_2TPP) (MONICA *et al.*, 2001).

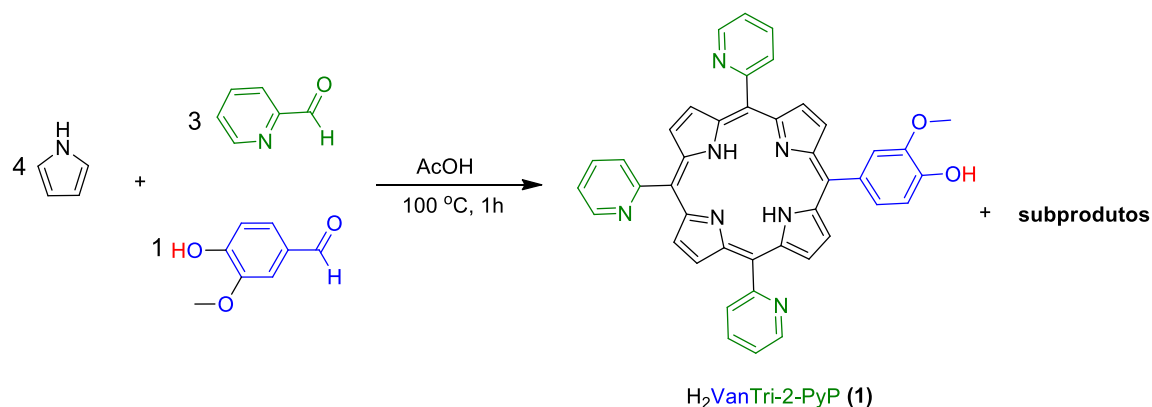


Figura 4.1 - Esquema de obtenção da porfirina **(1)** e subprodutos nas reações realizadas em relação estequiométrica dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina.

Os testes em microescala na proporção relativa de 2-piridinacarboxaldeído:vanilina de 3:1 e 6:1 resultaram numa mistura cujas análises por CCD-SiO₂ (CHCl₃:MeCN, 7:3 v/v) indicaram a presença de três manchas fluorescentes características de porfirinas bases-livres, sendo uma delas a H₂T-2-PyP. Já as reações na proporção de 2-piridinacarboxaldeído:vanilina 9:1 levaram a duas manchas fluorescentes, nas análises por CCD-SiO₂, correspondentes à H₂T-2-PyP e à porfirina de interesse **(1)** (Fig. 4.1). A presença de porfirinas foi comprovada pela fluorescência vermelha característica destes compostos quando visualizados sob lâmpada UV de comprimento de onda longo ~ 365 nm (STAHL *et al.*, 1969; TOUCHSTONE *et al.*, 1969; SARI *et al.*, 1990) e espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis. A identificação preliminar das manchas nas placas por CCD foi efetuada por meio da coeluição da mistura de reação com amostras autênticas de H₂T-2-PyP e com base no fator de retenção (*R_f*) de sistemas análogos de porfirinas de baixa simetria com os grupos fenila descritos na literatura (SARI *et al.*, 1990). Ausência de mancha correspondente à *meso*-tetrakis(3-metoxi-4-hidroxifenil)porfirina (H₂TVanP) nas placas CCD confirmou que a H₂TVanP não se formava na reação, mesmo na condição de maior concentração de vanilina (3:1).

A separação entre porfirinas contendo grupos piridilas e as demais impurezas (genericamente denominadas “polipirróis”, produtos majoritários nessas reações) *via* precipitação requer condições bastante diferenciadas das *meso*-tetrafenilporfirinas, uma vez que porfirinas contendo grupos fenil precipitam diretamente no meio reacional após adição de metanol. As porfirinas contendo os grupos 2-piridil estão na forma protonada

em meio ácido (Fig. 4.2) e permanecem solúveis no meio reacional (HAMBRIGHT *et al.*, 1985).

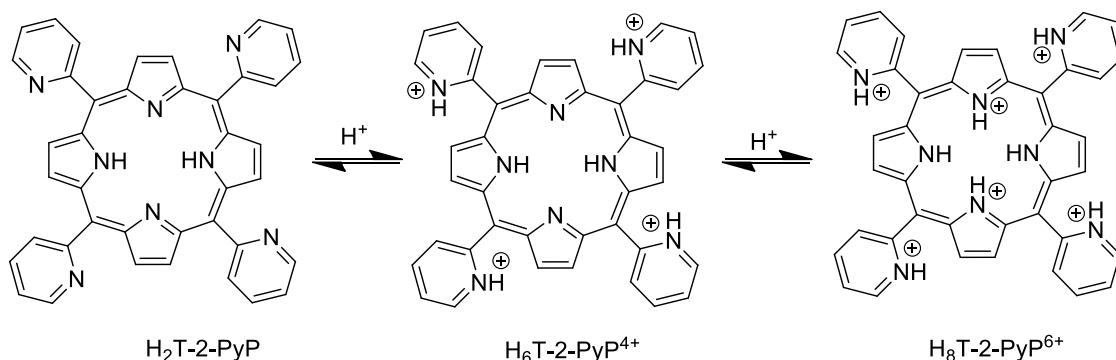


Figura 4.2 - Comportamento ácido-base da $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$, também aplicável às porfirinas bases livres de interesse neste trabalho.

A purificação das porfirinas formadas nas reações exploratórias foi efetuada usando-se um procedimento adaptado daquele empregado para *N*-piridilporfirinas simétricas (HAMBRIGHT *et al.*, 1985), que envolve o isolamento de uma amostra de “porfirina bruta” por precipitação em meio aquoso seguido de purificação por cromatografia em coluna. A adição de água ao meio ácido contendo *N*-piridilporfirinas seguida de ajuste do pH para ~ 3 resultou na precipitação das porfirinas, mas o sólido continha também parte de polipirróis insolúveis neste pH. Ao submeter este precipitado à extração sólido-líquido com clorofórmio, observou-se por CCD- SiO_2 (CHCl_3 :MeCN, 7:3 v/v) a ausência de porfirinas no sólido remanescente e um enriquecimento considerável de porfirinas na fase orgânica.

A precipitação seletiva de grande quantidade de polipirrol ainda presente na fase clorofórmio foi conseguida por meio do ajuste da polaridade do meio, com adição de acetato de etila e *n*-hexano de modo a se obter uma mistura CHCl_3 :AcOEt:*n*-hexano na proporção 4:4:3 v/v/v. Essa estratégia de precipitação seletiva de parte dos polipirróis não tem precedentes na literatura. A escolha do sistema ternário de solventes bem como a proporção relativa dos componentes foi otimizada para maximizar a eliminação de polipirróis sem precipitar as porfirinas de interesse. É importante ressaltar que o rendimento típico de *N*-piridilporfirinas nas reações de condensação de pirrol e aldeído raramente ultrapassa 10 %, sendo os polipirróis os 90 % restantes (produtos majoritários). Apesar de parecer uma inovação simples, esta etapa de precipitação seletiva mostrou-se bastante efetiva para obtenção de uma fração de porfirinas contendo

pouco polipirrol, facilitando consideravelmente as purificações cromatográficas subsequentes.

Ao se otimizar as condições cromatográficas de purificação por CCD-SiO₂, percebeu-se que a estratégia mais eficiente para escalonamento para cromatografia em coluna, considerando-se a facilidade de separação dos componentes de interesse e a rapidez de eluição, seria a realização de duas colunas cromatográficas. Na primeira, usou-se como eluente a mistura CHCl₃:MeOH (10:1 v/v), para eliminação dos polipirróis remanescentes ($R_f = 0 - 0,2$), sendo coletada a fração contendo a mistura de porfirinas ($R_f = 0,8$). Já na segunda coluna, usou-se como eluente a mistura CHCl₃:MeCN (7:3 v/v), para separação entre as porfirinas da mistura, incluindo a porfirina de interesse (**1**) ($R_f = 0,28$). Todo o processo cromatográfico de eluição das porfirinas foi acompanhado por lâmpada ultravioleta de comprimento de onda longo (~365 nm), sendo nítida a fluorescência característica das porfirinas. Apenas as frações fluorescentes continham porfirinas, o que foi corroborado por análises por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis. Nas reações com relação molar 9:1 entre os aldeídos, a porfirina (**1**) foi a primeira a ser eluída, seguida da H₂T-2-PyP. Já nas reações com proporções menores de vanilina, a saber, 2-piridinacarboxaldeído:vanilina 6:1 e 3:1, a H₂VanTri-2-PyP foi o segundo produto porfirínico a ser recolhido na coluna, antecedida por um composto porfirínico não identificado (possivelmente uma porfirina A₂B₂) e sucedida pela H₂T-2-PyP.

É importante destacar que os objetivos dessas reações exploratórias eram fornecer um guia para escalonamento da síntese. A quantidade de material recolhido não foi sequer suficiente para pesagem e determinação segura de rendimento, sendo a avaliação relativa de distribuição de produtos porfirínicos feita por inspeção visual da intensidade relativa das manchas nas placas CCD. A caracterização (tentativa) das porfirinas isoladas foi efetuada por comparação com dados de espectroscopia UV-vis e CCD-SiO₂ de amostras padrão de H₂T-2-PyP, H₂TVanP e dados da literatura para sistemas à base de benzaldeído (SARI *et al.*, 1990). Estas reações exploratórias foram, no entanto, essenciais para estabelecimento das condições de síntese e purificação em maior escala, que permitiram o isolamento e caracterização dos produtos de interesse.

Alternativamente às reações feitas pelo método de clássico de condensação de pirrol e aldeído em ácido carboxílico como solvente/catalisador (ADLER *et al.*, 1964), testes utilizando o método de Gonsalves (GONSALVES *et al.*, 1991) usando uma mistura de ácido acético:nitrobenzeno (7:3, v/v) indicaram a formação de porfirinas de

maneira análoga ao método clássico. Estudos com o método de Gonsalves foram, no entanto, descontinuados devido a grandes dificuldades na obtenção da amostra de “porfirina bruta” via ajuste de pH, uma vez que as porfirinas se mantiveram em solução, provavelmente solubilizadas no nitrobenzeno; isto implicaria etapas cromatográficas laboriosas para eliminação de todo o polipirrol gerado na reação. Uma situação semelhante, onde se preferiu o método de Adler-Longo às condições de Gonsalves, devido a dificuldades na purificação, foi reportada para a condensação de pirrol e veratraldeído (uma vanilina *O*-metilada) (REBOUÇAS, 2006).

4.1.1.2 Reações em escala preparativa

As reações de obtenção da porfirina **(1)** empregando a condensação de pirrol com os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e vanilina nas proporções relativas entre os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído:vanilina 3:1 (relação estequiométrica) e 9:1 foram escalonadas para uma quantidade de reagentes cerca de 17 vezes maior em relação às reações exploratórias em microescala. As condições de síntese e esquema geral de purificação foram semelhantes às reações em microescala, sendo necessários ajustes pontuais durante o escalonamento.

A coluna cromatográfica para isolamento da porfirina de interesse **(1)** utilizando a mistura eluente CHCl_3 :MeCN na proporção 7:3 (v/v), definida nos testes exploratórios, durou 12 horas na escala preparativa. Essa proporção de solventes foi, então, ajustada para CHCl_3 :MeCN 1:1 (v/v) após um estudo de modelagem de misturas feito pelo grupo, sendo o tempo de duração da coluna reduzido significativamente para 2-3 h (BUENO-JANICE *et al.*, 2015).

O rendimento isolado da porfirina de interesse **(1)** nas reações em proporção estequiométrica de aldeídos foi de aproximadamente 2% a 3% (40-45 mg por batelada).

Análises por CCD-SiO₂ utilizando como eluente a mistura CHCl_3 :MeCN (1:1, v/v) indicaram que a H₂VanTri-2-PyP tem o fator de retenção (R_f) 0,56 e a H₂T-2-PyP 0,30. Um maior valor do fator de retenção implica em maior lipofilicidade. Este resultado suporta a expectativa de que a introdução do grupo vanilina na estrutura da porfirina, em substituição a um dos grupos piridilas da H₂T2-PyP, resultaria em uma porfirina com maior lipofilicidade.

Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis da H₂VanTri-2-PyP registrados em acetona apresentaram a banda Soret na região de 400 nm e quatro bandas

Q na região do visível, tal como a maioria das porfirinas bases-livres (FUHRHOP; MAUZERALL, 1969; WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994). Os dados espectroscópicos de UV-vis são consistentes com aqueles apresentados para compostos análogos derivados de porfirinas simétricas, tais como H₂T-2-PyP e porfirinas de baixa simetria contendo misturas dos grupos piridil e fenil, como a H₂PhTri-2-PyP (SARI *et al.*, 1990). As menores energias das bandas Soret e Q da H₂VanTri-2-PyP em relação à porfirimina de referência H₂T-2-PyP são consistentes com o caráter eletroretirador ligeiramente menor que os grupos *meso* da H₂VanTri-2-PyP exercem sobre o anel porfirínico, em comparação com aqueles da H₂T-2-PyP de referência (Fig. 4.3).

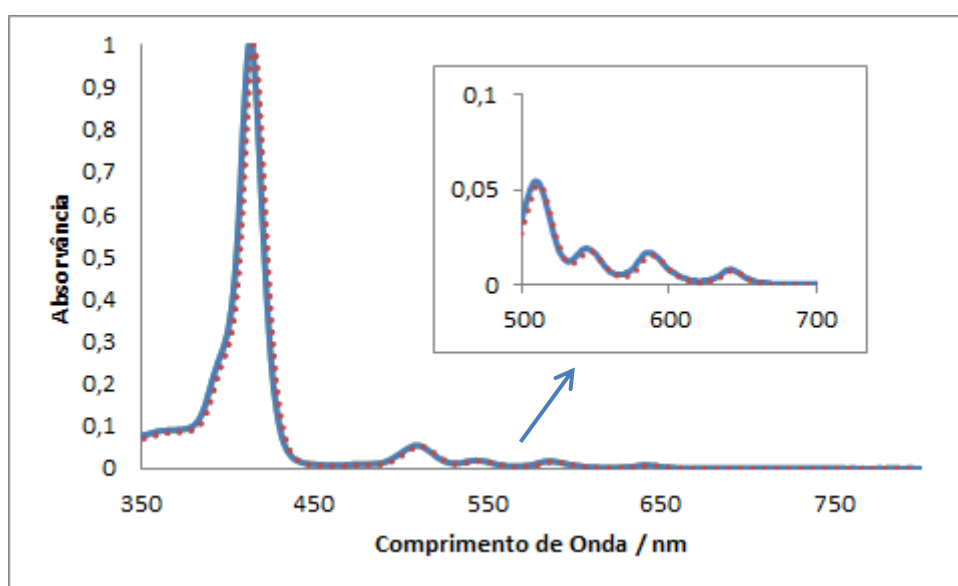


Figura 4.3 – Espectros comparativos registrados em acetona da H₂T-2-PyP (linha azul) e H₂VanTri-2PyP (**1**) (pontilhado vermelho). A expansão corresponde à região das bandas Q de cada porfirimina.

O espectro de RMN de ¹H da H₂VanTri-2-PyP (**1**) registrado em *d*⁶-DMSO apresentou um singlete próximo a -2,94 ppm na região correspondente aos hidrogênios NH pirrólicos internos da porfirimina, que são consideravelmente blindados devido à corrente π do anel porfirínico (LITTLE *et al.*, 1975; SARI *et al.*, 1990). A presença de um singlete em 3,93 ppm é atribuído aos hidrogênios metílicos do grupo metoxila da vanilina (Fig. 4.4). O hidrogênio fenólico da vanilina (OH), correspondente a um singlete em 9,54 ppm. As atribuições dos átomos de hidrogênio trocáveis NH e OH foram confirmadas pelo desaparecimento dos respectivos sinais com a adição de duas gotas de D₂O ao sistema (Apêndice B).

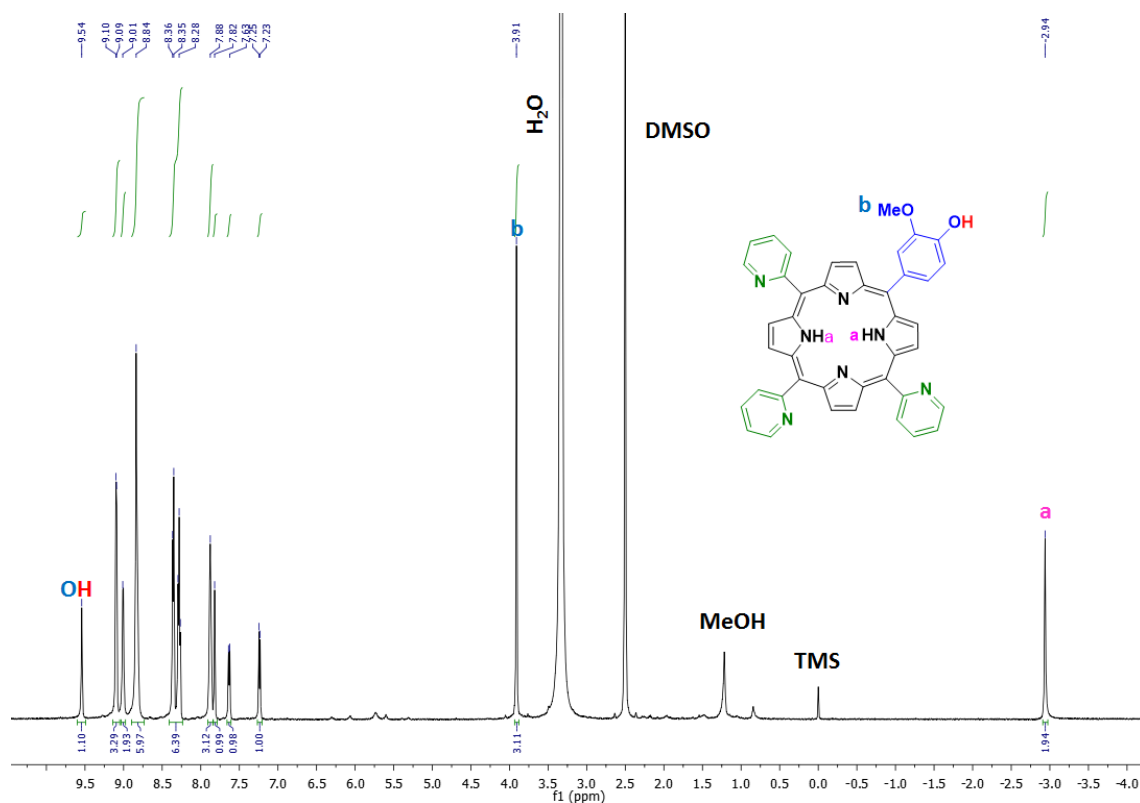


Figura 4.4 – Espectro de RMN de ¹H 500 MHz em d⁶-DMSO da H₂VanTri-2-PyP (**1**), com destaque para as atribuições dos hidrogênios internos NH hidrogênios metílicos do grupo metoxila da vanilina. A região expandida compreende aos deslocamentos do OH da vanilina e dos hidrogênios aromáticos dos grupos vanilina, 2-piridila e β-pirrólicos, cujas atribuições serão detalhadas na Fig. 4.5.

Os sinais correspondentes aos átomos de hidrogênio aromáticos estão presentes na região de 7,00 até 9,30 ppm.

A presença do grupo vanilina na H₂VanTri-2-PyP (**1**) é caracterizado por um singlete em 7,82 ppm atribuído ao hidrogênio **c** (posição 2 do grupo fenila), e por dois dubletos em 7,24 e 7,63 ppm (*J* = 8,0 Hz) que podem ser atribuídos aos hidrogênios **d** (posição 5) e hidrogênio **e** (posição 6 do fenila), respectivamente, que acoplam entre si. O sinal **d** é mais blindado que o **e**, devido ao primeiro estar *orto* ao grupo OH, que é um grupo doador de elétrons.

Os sinais dos hidrogênios dos anéis 2-piridila aparecem na região entre 7,85 e 9,15 ppm (Fig. 4.5). Devido à baixa simetria da molécula, existem dois grupos 2-piridil distintos: aqueles *cis* o grupo vanilina e aquele *trans* à vanilina. Os sinais desses dois grupos apareceram, no entanto sobrepostos nas mesmas regiões do espectro. Os hidrogênios *g/g'* (posição 4 do piridila) são os mais blindados (7,88 ppm), por

estarem na posição mais rica em densidade eletrônica no anel piridínico. Os átomos de hidrogênio f/f' estão presentes em 8,28 ppm e acoplam com os hidrogênios h/h' ($J = 7,20$ Hz), que estão presentes em 8,36 ppm (REBOUÇAS *et al.*, 2002) (Fig. 4.9). Os hidrogênios i/i' (posição 3 do piridila), que correspondem a um dubleto em 9,10 ppm, são os mais desblindados de cada grupo piridila, por estarem ligados ao carbono vizinho do nitrogênio (posição 2), que exerce efeito indutivo de forma mais pronunciada na posição 3 do anel piridila (SARI *et al.*, 1990).

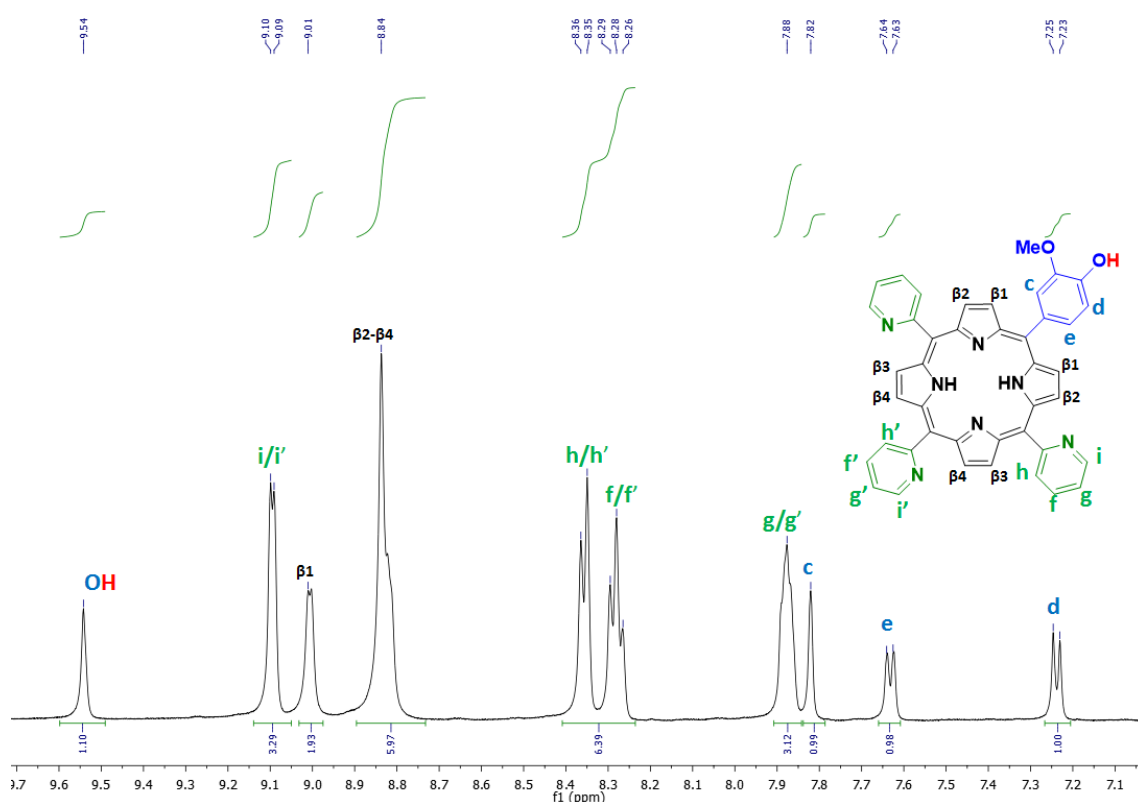


Figura 4.5 - Espectro RMN de ^1H das regiões correspondentes aos átomos de hidrogênio do grupo fenil e 2-piridil da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**).

Ao contrário do singlete típico dos hidrogênios β de porfirinas simétricas, como a $\text{H}_2\text{T-2-PyP}$ (KAMP; SMITH, 1996; REBOUÇAS *et al.*, 2002), espera-se um conjunto de 4 dubletos para os hidrogênios β -pirrólicos na $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**), em razão da baixa simetria desta porfirina. O sinal entre 8,98 e 9,04 ppm é correspondente aos dois hidrogênios β_1 , mais próximos do grupo vanilina, o que coincide com a região dos sinais dos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina simétrica H_2TVanP (NUTALAPATI, 2011), que contém quatro substituintes vanilina. Os demais sinais dos hidrogênios β_2 a β_4 , que correspondem aos hidrogênios mais próximos dos anéis piridila, aparecem

sobrepostos na região entre 8,78 e 8,90 ppm (β 2- β 4), que coincidem com a região dos hidrogênios β -pirrólicos da porfirina de referência H₂T-2-PyP (KAMP; SMITH, 1996; REBOUÇAS *et al.*, 2002)

4.2.2 Síntese da 5-(3,4-dimetoxifenil)-10,15,20-tris(2-piridil)porfirina (H₂MVanTri-2-PyP)(2)

A síntese da H₂MVanTri-2-PyP (**2**) foi realizada *via* condensação de pirrol e os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e veratradeído, usando proporção relativa entre os aldeídos 2-piridinacarboxaldeído:veratradeído de 3:1 (relação estequiométrica). O veratraldeído é um composto que pode ser obtido através da metilação do grupo OH *para* da vanilina (Fig. 4.6). Esperou-se que a metilação do grupo OH reduzisse a polaridade do grupo vanilina e aumentasse a lipofilicidade da porfirina H₂MVanTri-2-PyP em relação à H₂VanTri-2-PyP.

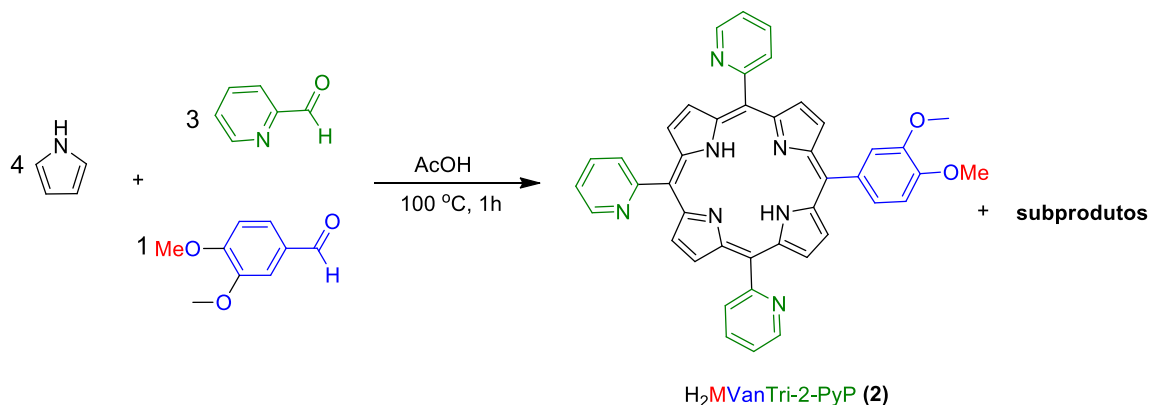


Figura 4.6 - Esquema de obtenção da porfirina (**2**) e subprodutos nas reações realizadas em relação estequiométrica dos aldeídos 2-piridinacarboxaldeído e metilvanilina.

O procedimento de síntese da porfirina (**2**) ocorreu de maneira análoga à porfirina (**1**), mas as etapas de purificação sofreram alguns ajustes. Após a obtenção da “porfirina bruta” via precipitação em meio aquoso, verificou-se a necessidade de substituir o solvente de extração sólido-líquido de CHCl₃ (empregado na (**1**)) por CHCl₃:AcOEt:*n*-Hexano na proporção 4:4:3 (v/v/v), para evitar a solubilização completa da “porfirina bruta” da (**2**) com CHCl₃. O uso da mistura ternária CHCl₃:AcOEt:*n*-Hexano (4:4:3, v/v/v) contribuiu para extração da mistura dos produtos porfirínicos e eliminação de grande parte das impurezas do sistema, que permaneceram na fase sólida.

A primeira etapa cromatográfica em coluna de SiO₂ para purificação das porfirinas do extrato em CHCl₃:AcOEt:*n*-Hexano (4:4:3, v/v/v), utilizando como eluente a mistura CHCl₃/MeOH 20:1, permitiu a separação efetiva entre a porfirina de interesse **(2)** e a H₂T-2-PyP, porém não levou à eliminação de sub-produtos de cor marrom (não-identificados) e de uma outra porfirina (provavelmente uma porfirina com dois grupos vanilina do tipo A₂B₂) que têm valores de R_f muito próximos ao da **(2)** no eluente empregado na coluna. Estes contaminantes podem ser facilmente detectados por CCD-SiO₂ usando a mistura CHCl₃:MeCN (1:1, v/v) como eluente. Testes de CCD-SiO₂ com diversos eluentes indicaram que o mais eficiente no processo de purificação final da porfirina **(2)** seria CHCl₃:acetona (4:1 v/v). Assim, o isolamento da porfirina de interesse **(2)** foi alcançado a partir de uma nova purificação cromatográfica em coluna de SiO₂, utilizando CHCl₃:acetona (4:1 v/v). A primeira fração fluorescente foi descartada (porfirina não identificada) e a segunda fração fluorescente, correspondente à porfirina de interesse, foi recolhida. Em algumas bateladas, foi necessário uma filtração rápida em SiO₂ utilizando CHCl₃:acetona (4:1 v/v) para eliminação completa do subproduto marrom. O rendimento isolado da porfirina **(2)** foi 3 % (48-54 mg por batelada).

A H₂MVanTri-2-PyP **(2)**, tal qual a H₂VanTri-2-PyP **(1)**, é um sólido roxo. Análises por CCD-SiO₂ feitas de maneira independente com as misturas CHCl₃:acetona (4:1, v/v) e CHCl₃:MeCN (1:1, v/v) como eluentes indicaram que a porfirina **(2)** apresenta R_f maior que a **(1)** e a H₂T-2-PyP. Este resultado suporta a expectativa de que a introdução do grupo veratril em substituição à vanilina, resultaria em uma porfirina com maior lipofilicidade (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Dados comparativos dos fatores de retenção (R_f) em CCD-SiO₂ entre as porfirinas bases livres neutras relevantes neste trabalho.

Porfirina	R _f	
	CHCl ₃ :MeCN (1:1, v/v)	CHCl ₃ :Acetona (4:1, v/v)
H ₂ T-2-PyP	0,30	0,12
H ₂ VanTri-2-PyP (1)	0,56	0,38
H ₂ MVanTri-2-PyP (2)	0,63	0,52

O espectro UV-vis da porfirina **(2)** (Fig. 4.7), registrado em acetona, é muito semelhante ao da **(1)** e a H₂PhTri-2-PyP (onde Ph = fenil), refletindo as semelhanças eletrônicas e estruturais entre essas porfirinas A₃B de baixa simetria (Tabela 4.2). O

perfil dos espectros guarda, por sua vez, também bastante similaridade com aquele da porfirimina correspondente de simetria A_4 , H_2T -2-PyP (Tabela 4.2).

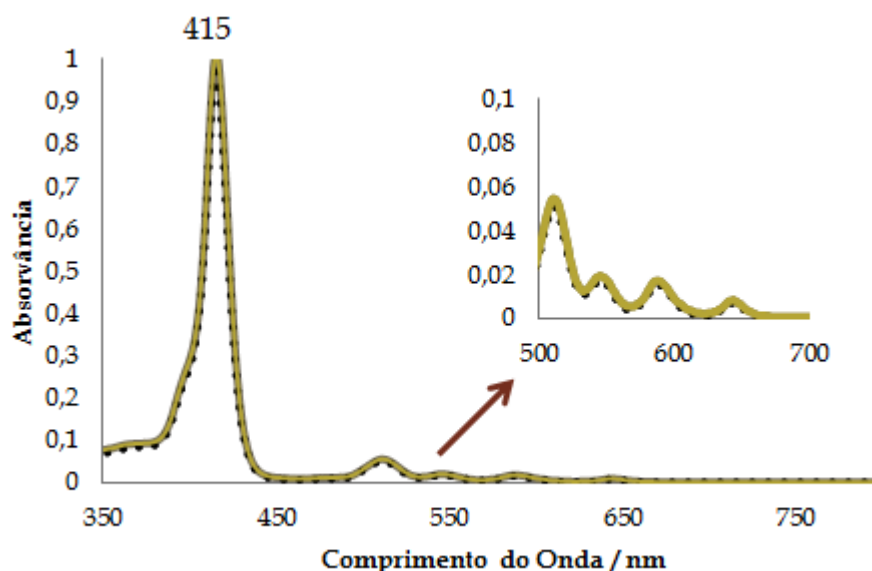


Figura 4.7 – Espectro UV-vis da $H_2VanTri$ -2-PyP (**1**) (linha amarela) e $H_2MVanTri$ -2-PyP (**2**) (pontilhado preto) em acetona. A expansão compreende as bandas Q.

Tabela 4.2 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis (em acetona) para amostras de interesse para este estudo.

Porfirinas	λ máx / nm
$H_2VanTri$ -2-PyP (1)	415 (Soret), 510, 545, 586, 644
$H_2MVanTri$ -2-PyP (2)	415 (Soret), 510, 545, 588, 644
H_2PhTri -2-PyP ^a	417 (Soret), 512, 545, 586, 642
H_2T -2-PyP	413 (Soret), 509, 540, 586, 650

^a Sari *et al.*, 1990

De um modo geral, o espectro de RMN de 1H da $H_2MVanTri$ -2-PyP (**2**) (Fig. 4.8), registrado em d^6 -DMSO, foi bastante semelhante àquele da $H_2VanTri$ -2-PyP (**1**) (Figs. 4.4 e 4.5). Os sinais correspondentes nos espectros das duas porfirinas apresentaram apenas pequenos deslocamentos e compartilharam multiplicidades semelhantes. A presença de um singlete em 4,17 ppm, correspondente aos hidrogênios $p-OCH_3$ do grupo veratril da $H_2MVanTri$ -2-PyP (**2**) é consistente com a ausência do singlete na região de 9,5 ppm associado ao sinal $p-OH$ do grupo vanilina da $H_2VanTri$ -2-PyP (**1**).

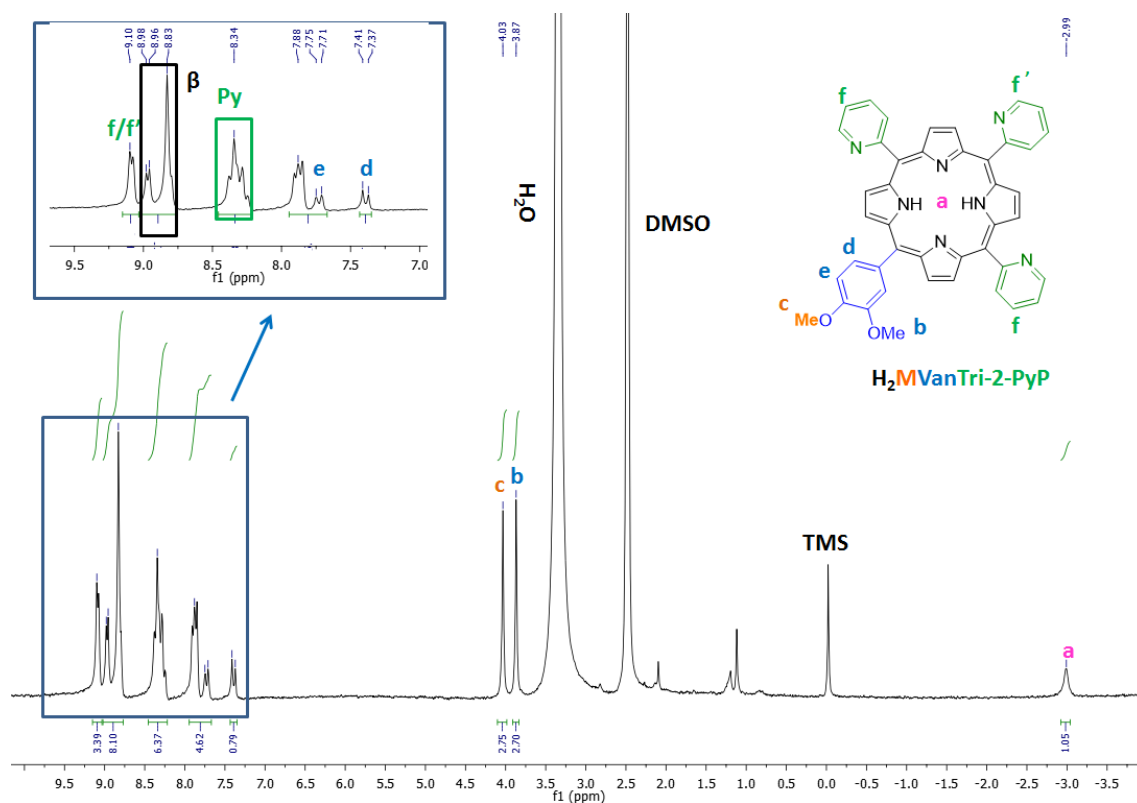


Figura 4.8 - Espectro de RMN de ^1H de 200 MHz da $\text{H}_2\text{MVanTri-2-PyP}$ (**2**) registrado em d^6 -DMSO. A expansão compreende à região dos hidrogênios aromáticos: β -pirrólicos (preto), piridilas (verde), metil-vanilina (azul).

4.3 Obtenção das porfirinas catiônicas $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**4**)

Reações de metilação das porfirinas bases livres neutras $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**) e $\text{H}_2\text{MVanTri-2-PyP}$ (**2**) com tosionato de metila em N,N -dimetilformamida (DMF) foram realizadas para obtenção de porfirinas catiônicas. A $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) foi obtida via metilação seletiva dos grupos piridila da (**1**) em DMF a 105°C , na ausência de uma base, para manter o grupo OH da vanilina inalterado (Fig. 4.9). Já a $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**4**) foi obtida por duas rotas distintas: 1) nas mesmas condições de obtenção da (**3**), isto é, reação com MeOTs em DMF a 105°C partindo-se, no entanto, da $\text{H}_2\text{MVanTri-2-PyP}$ (Rota 1, Fig. 4.9); ou 2) via alquilação da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ com MeOTs em DMF a 70°C na presença de K_2CO_3 (Rota 2, Fig. 4.9).

Na síntese da porfirina (**4**), a redução de temperatura de 105°C na Rota 1 para 70°C na Rota 2 foi necessária evitar a formação de um contaminante de cor marrom de difícil eliminação nas etapas de purificação. A formação de produtos indesejados na presença de K_2CO_3 em DMF à temperatura elevada pode estar associada à ausência de

uma atmosfera inerte no meio reacional (nitrogênio ou argônio) e possível oxidação do fenol (vanilina) (MILGROM *et al.*, 1996; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2005). Os produtos isolados por qualquer das Rotas (1 ou 2) foram idênticos cromatográfica e espectroscopicamente (dados abaixo).

O procedimento de isolamento das porfirinas catiônicas **(3)** e **(4)** foi idêntico e envolveu, inicialmente, a eliminação do solvente e excesso de MeOTs através de extração líquido-líquido com a mistura clorofórmio/água (fase aquosa). A porfirina catiônica, que permaneceu na fase aquosa por ser hidrofílica, teve a purificação final realizada *via* o processo de metátese OTs⁻/PF₆⁻/Cl⁻ típico de isolamento de *N*-alquilpiridilporfirinas na forma de sal de cloreto (BATINIC-HABERLE *et al.*, 1998).

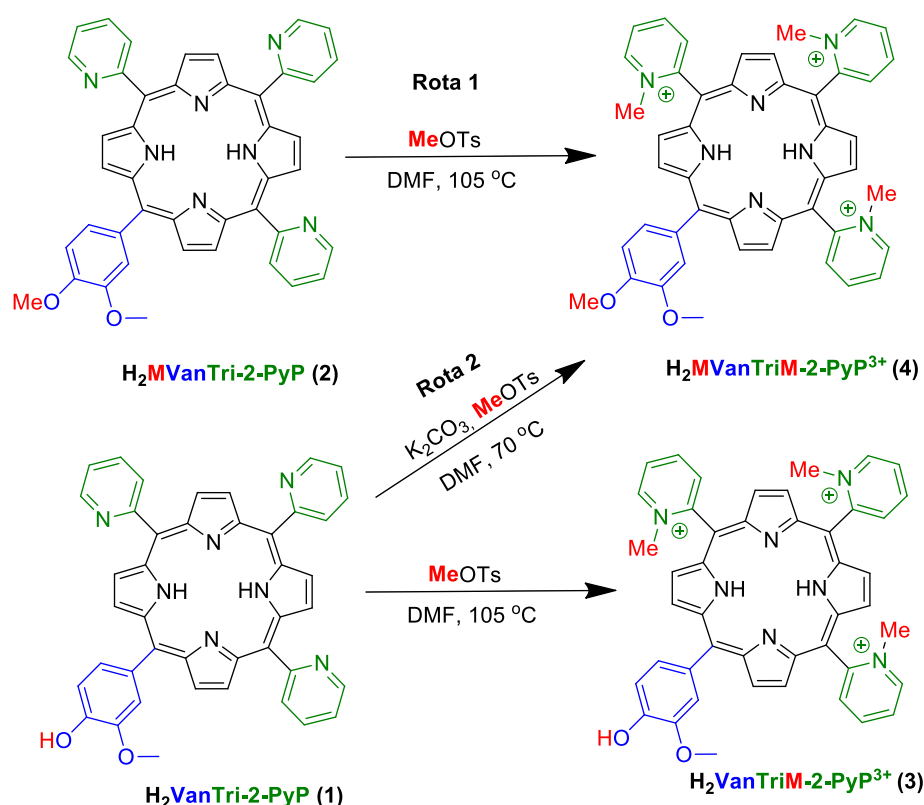


Figura 4.9 – Esquema geral de obtenção das porfirinas catiônicas de baixa simetria. Em destaque, obtenção da $H_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) *via* alquilação com tosilato de metila. Obtenção da $H_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**4**) por duas rotas: 1) mesmas condições da $H_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$, 2) alquilação em meio básico.

A etapa de metátese OTs⁻/PF₆⁻ resultou na precipitação das porfirinas catiônicas **(3)** e **(4)** na forma de sal de hexafluorofosfato. A lavagem dos sólidos com uma mistura

de éter etílico:álcool isopropílico foi adaptada da literatura (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998), sendo a proporção de éter:álcool ajustada de 1:1 para 9:1 (v/v), devido ao álcool isopropílico em maior concentração levar à dissolução das porfirinas. A metátese $\text{PF}_6^-/\text{Cl}^-$ foi efetuada em acetona usando o agente de troca iônica Aliquat[®] (cloreto de *N*-trioctilmetilamônio). Os processos de metátese foram repetidos para eliminar possíveis impurezas. O rendimento isolado da porfirina **(3)** foi 81 % e da **(4)** foi de 80 (rota 1) e 83 % (rota 2), respectivamente.

As porfirinas catiônicas resultantes de cada de síntese foram analisadas por CCD-SiO₂ utilizando, inicialmente, o eluente $\text{KNO}_3(\text{sat}):\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ na proporção 1:1:8 (v/v/v). As porfirinas tricatiônicas **(3)** e **(4)** (Rota 1 ou Rota 2) apresentaram valores de R_f maiores que a porfirina tetracatiônica de referência $\text{H}_2\text{TM}-2\text{-PyP}^{4+}$, indicando que a diminuição da carga total das porfirinas não-simétricas preparadas neste trabalho contribui efetivamente para o aumento da lipofilicidade, em comparação com o composto análogo simétrico tetracatiônico $\text{H}_2\text{TM}-2\text{-PyP}^{4+}$.

O fato das porfirinas **(3)** e **(4)** apresentarem ambas três cargas positivas e diferirem apenas em parte do grupo vanilina (OH **(3)** vs. CH₃ **(4)** na posição *para*) contribuiu para que a diferenciação destes compostos por CCD-SiO₂ utilizando $\text{KNO}_3(\text{sat}):\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ na proporção 1:1:8 (v/v/v) não fosse bem sucedida. A substituição da solução saturada de KNO_3 no eluente por uma solução de hidróxido de sódio explorou a possibilidade de ionização do grupo OH fenólico da **(3)** (Fig. 4.10), buscando diferenciá-la da **(4)**. Assim, uma mistura eluente que se mostrou efetiva na diferenciação das porfirinas tricatiônicas foi $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ (1 mol L⁻¹): $\text{H}_2\text{O}:\text{MeCN}$ na proporção de 1:1:2 v/v/v. Os valores de R_f comparativos com o eluente padrão $\text{H}_2\text{O}/\text{KNO}_3(\text{sat})/\text{MeCN}$ 1:1:8 (v/v/v) estão presentes na Tabela 4.3.

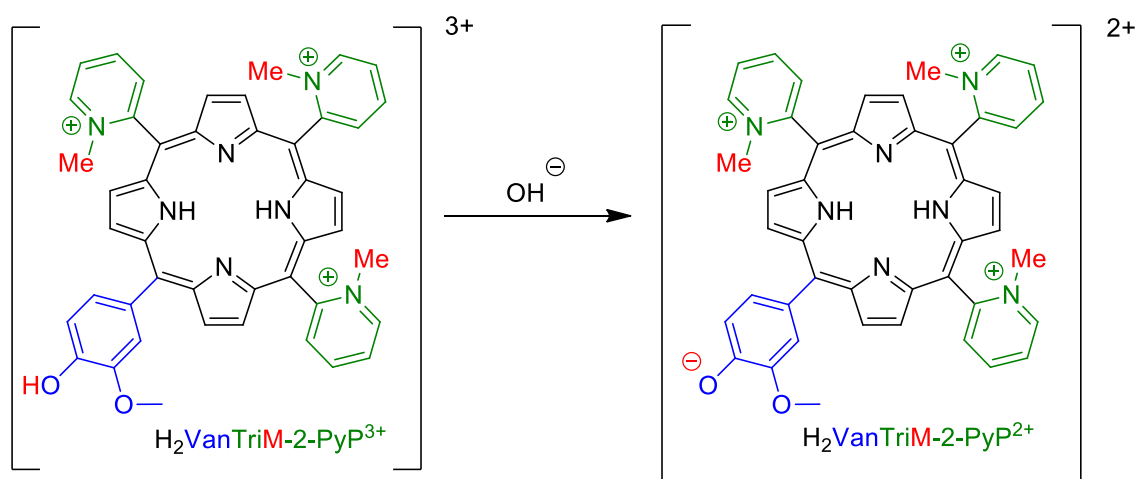


Figura 4.10 – Desprotonação da hidroxila fenólica ácida da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) através da ação de base.

Tabela 4.3 – Dados comparativos de CCD- SiO_2 das porfirinas catiônicas relevantes para este trabalho.

Porfirina	R_f	
	$\text{KNO}_3(\text{sat})/\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ 1:1:8 v/v/v	$\text{NaOH (1 mol L}^{-1}\text{)}/\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ 1:1:2 v/v/v
$\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$	0,47	0,65
$\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ ^a	0,47	0,58
$\text{H}_2\text{TM-2PyP}^{3+}$ ^b	0,08	—

^a Rota 1 ou Rota 2. ^b Dado da literatura (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998)

A porfirina (**3**), apesar de ser mais polar que a (**4**), apresentou valor de R_f maior ao se utilizar, como eluente da CCD- SiO_2 , a mistura de solventes $\text{NaOH (1 mol L}^{-1}\text{):H}_2\text{O:MeCN (1:1:2 v/v/v)}$. A explicação pode estar associada ao fato de o grupo OH da (**3**) poder se ionizar a fenolato diminuindo a carga global da porfirina de +3 para +2 (Fig. 4.11), enquanto que a carga global da (**4**) (que não possui grupo ácido) permanecer inalterada neste eluente. O efeito do aumento do R_f cromatográfico com a redução da carga global de porfirinas catiônicas é bem estabelecido na literatura (REBOUÇAS *et al.*, 2008d; SPASOJEVIC *et al.*, 2011).

Análises termogravimétricas TGA/DTA foram realizadas com o objetivo de se determinar o grau de hidratação das porfirinas e consequentemente a formulação dos sólidos isolados. Porphirinas e metaloporphirinas catiônicas isoladas de sistemas aquosos contém, invariavelmente, águas de hidratação (PINTO *et al.*, 2013). A perda de água de hidratação que as porfirinas bases livres catiônicas sofreram foi associada a um evento

endotérmico no intervalo de 29-138 °C, em uma faixa de temperatura bastante semelhante àquela reportada para a desidratação da porfirina tetracatiônica $\text{H}_2\text{TM}-4\text{-PyPCL}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (CARRADO *et al.*, 1992) e da Mn-porfirina pentacatiônica $\text{MnTE}-2\text{-PyPCL}_5 \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ (PINTO *et al.*, 2013). As perdas de massa de 11,7 % e 5,7 % para as porfirinas catônicas em estudo são consistentes, respectivamente, com as formulações $\text{H}_2\text{VanTriM}-2\text{-PyPCL}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (**3**) (Fig. 4.11) e $\text{H}_2\text{MVanTriM}-2\text{-PyPCL}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**4**) (Fig. 4.12) . O maior número de águas de hidratação na $\text{H}_2\text{VanTriM}-2\text{-PyP}^{3+}$ pode estar associada à presença do grupo polar OH fenólico da vanilina.

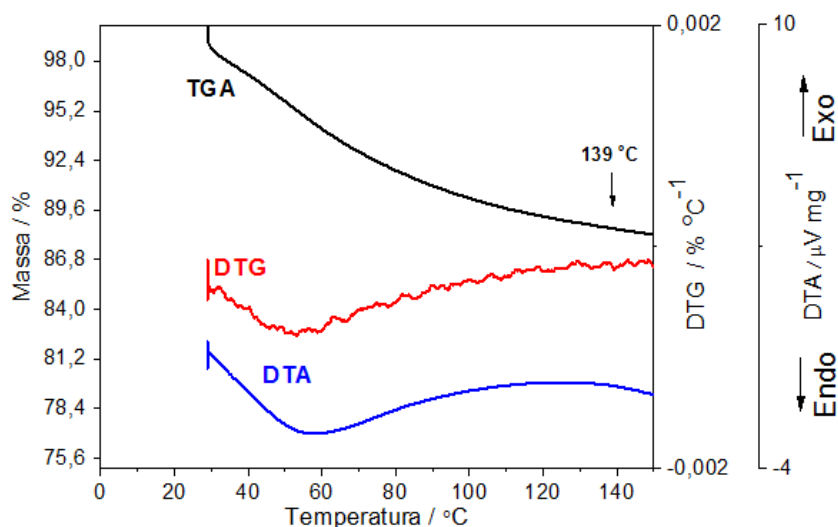


Figura 4.11 – TGA, DTG, DTA da $\text{H}_2\text{VanTriM}-2\text{-PyPCL}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (**3**).

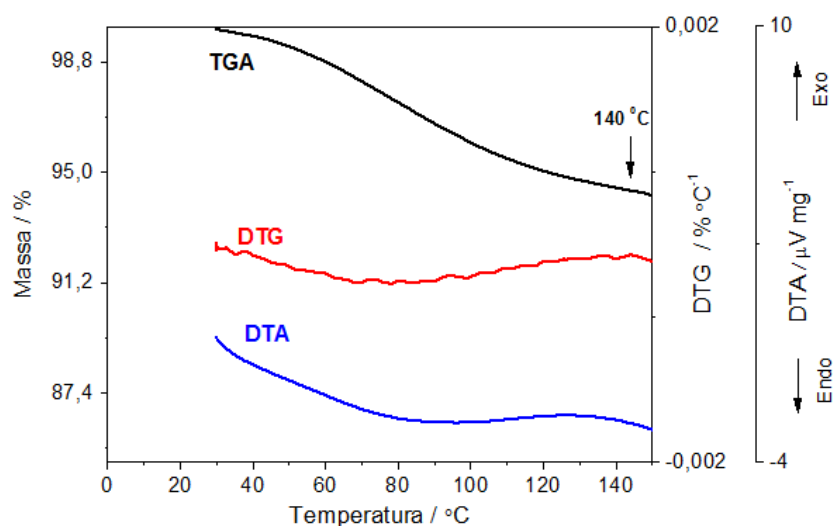


Figura 4.12 - TGA, DTG, DTA da $\text{H}_2\text{MVanTriM}-2\text{-PyPCL}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**4**).

Os espectros de absorção UV-vis das porfirinas **(3)** e **(4)** em H₂O foram praticamente sobreponíveis, o que é consistente com a elevada semelhança estrutural entre as porfirinas (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Dados espectroscópicos das porfirinas catiônicas (registrados em água) relevância neste trabalho.

Porfirinas	$\lambda_{\max}$ /nm (log ϵ /L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺ (3)	417 (5,29) , 517 (4,21), 583 (3,85), 636 (3,22)
H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺ (4)	417 (5,23) , 517 (4,17), 583 (3,83), 635 (3,29)
H ₂ PhTriM-2-PyP ^{3+a}	418 (5,40) , 517 (4,00), 580 (3,60), 640 (3,30)
H ₂ TM-2-PyP ^{4+ b}	413 (5,32) , 510 (4,13), 544 (3,49), 581 (3,72), 635 (3,13)

^a (SARI *et al.*, 1990), ^b (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002)

As porfirinas bases livres **(3)** e **(4)** apresentaram absortividades molares mais baixas que a porfirina simétrica de referência H₂TM-2-PyP⁴⁺ e a porfirina de baixa simetria H₂PhTriM-2-PyP (SARI *et al.*, 1990; BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002). A explicação deste fato pode ser sugerida analisando-se a largura da banda Soret das porfirinas catiônicas, as quais são bem mais largas do que as porfirinas com quatro grupos 2-*N*-metilpiridínio (Tabela 4.5). A baixa absortividade molar apresentada pelas porfirinas de baixa simetria H₂VanTriM-2-PyP³⁺ e H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ pode estar com a baixa amplitude e alargamento dos picos que geram a banda Soret r em relação a porfirinas de alta simetria como a H₂TM-2-PyP⁴⁺ e H₂TE-2-PyP⁴⁺ (que apresentam bandas mais finas).

Tabela 4.5 – Medidas comparativas da largura à meia altura da banda Soret (espectro registrado em água) das porfirinas catiônicas deste trabalho e porfirina simétrica H₂TE-2-PyP⁴⁺.

Porfirinas	log ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Largura à meia altura
H ₂ VanTriM-2-PyP ³⁺	5,29	36,0 nm
H ₂ MVanTriM-2-PyP ³⁺	5,23	36,4 nm
H ₂ TE-2-PyP ⁴⁺	5,33 ^a	28,9 nm

^a (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002)

De modo análogo às observações nas análises por CCD (pág. 48), foi necessário o ajuste do pH para se observar uma diferenciação nos espectros UV-vis das porfirinas **(3)** e **(4)**. Em um ambiente básico, um composto apresentando uma hidroxila fenólica

como a porfirina **(3)**, é ionizado a um fenolato que pode se estabilizar como uma espécie de reminescente de uma quinona conjugada ao anel porfirínico (grupo cromóforo), alterando as bandas do espectro UV-vis. Assim, as análises foram realizadas em tampão fosfato pH 7,8 ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$) e tampão borato pH 9,3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Enquanto os espectros registrados em tampão fosfato pH 7,8 foram idênticos àqueles registrados em água (Apêndice C), em tampão borato pH 9,3 foi observada uma mudança bastante significativa no espectro da **(3)** (Fig. 4.13), consistente com a contribuição de uma espécie tipo quinona associado ao grupo vanilina desprotonado (fenolato).

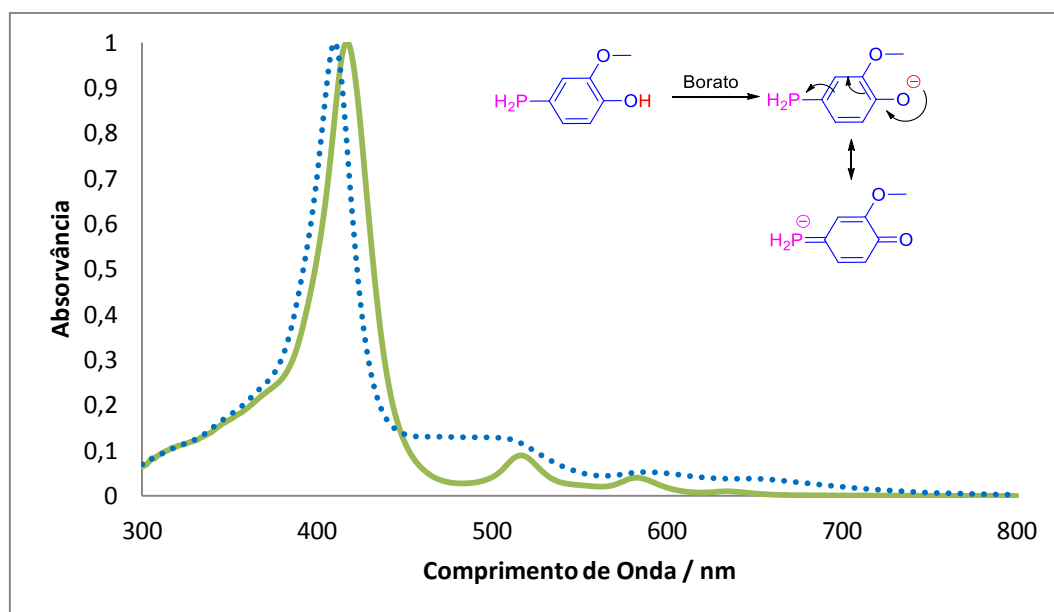


Figura 4.13 - Espectros UV-vis normalizados da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) registrados em tampão fosfato pH 7,8 (linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado azul).

Os espectros da porfirina **(4)** registrados em tampão borato pH 9,3 não apresentaram alteração significativa em relação aos espectros registrados em água ou tampão fosfato pH 7,8 (Fig. 4.14), o que é consistente com a ausência do grupo fenólico ácido nesta porfirina.

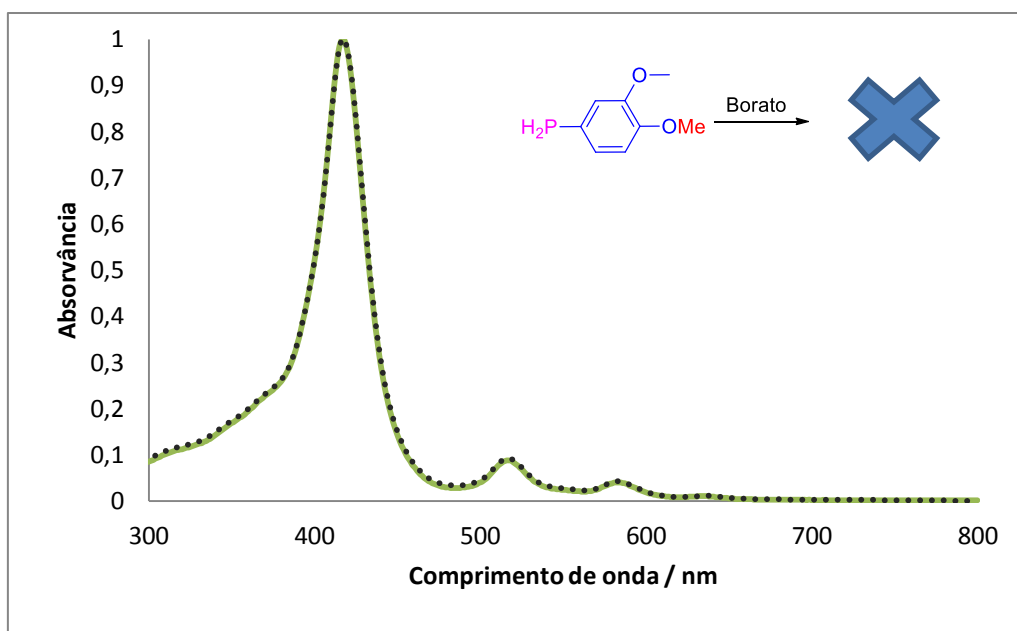


Figura 4.14 - Espectros UV-vis normalizados da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) registrados em tampão fosfato pH 7,8 (linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado preto).

Testes qualitativos de acidez feitos por UV-vis nas porfirinas (**3**) e (**4**) indicaram que os átomos de nitrogênio pirrólicos de ambas as porfirinas protonam em pH entre 0 e 1, fato comprovado pelo deslocamento da banda Soret para região de mais baixa energia e diminuição do número de bandas Q para dois (Apêndice A). A maior acidez dos átomos de hidrogênio internos das porfirinas quatro grupos piridila como a $H_2TM-2-PyP^{4+}$ e a $H_2TE-2-PyP^{4+}$, por exemplo, facilita a desprotonação, ionização dos nitrogênios em pH 12 e a inserção do manganês no anel porfirínico.

O espectros de RMN de 1H das porfirinas tricatiônicas $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**3**) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) foram registrados em d^6 -DMSO. Todas porfirinas catiônicas resultantes da alquilação de 2-*N*-piridilporfirinas apresentam o fenômeno de atropisomerismo, uma vez que o grupo 2-piridila alquilado não possui livre rotação em torno do plano do anel porfirínico (IAMAMOTO *et al.*, 1994; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007). Assim, ambas as porfirinas catiônicas preparadas neste trabalho foram isoladas como uma mistura de atropoisômeros, a saber $\alpha\alpha\alpha$, $\alpha\beta\alpha$ e $\alpha\alpha\beta$, cuja distribuição estatística é 1:1:2, respectivamente (Fig. 4.15). Por se tratar de uma mistura de isômeros rotacionais, os espectros de RMN de 1H das porfirinas $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**3**) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) são complexos, apresentando sinais sobrepostos em algumas regiões e dificultando bastante as atribuições inequívocas dos sinais às respectivas espécies (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007). Enquanto a separação por cromatografia

em coluna dos atropisômeros de 2-*N*-alquilpiridilporfirinas de cadeia longa são factíveis usando misturas de solventes orgânicos como eluente (IAMAMOTO *et al.*, 1994), a separação de 2-*N*-alquilpiridilporfirinas de cadeia curta, como metila, é reportada com o uso de solventes aquosos de alta salinidade em condições de HPLC preparativo (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002). Não se investiu qualquer esforço na tentativa de separação dos atropisômeros da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**3**) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) neste trabalho. Destaca-se que, à exceção do sistema contendo a cadeia longa $n-C_{14}H_{29}$ (miristila) (IAMAMOTO *et al.*, 1994), as 2-*N*-alquilpiridilporfirinas simétricas da literatura são também isoladas e utilizadas como misturas de atropisômeros (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2002; 2010; 2011), mesmo as amostras aprovadas para testes clínicos em humanos.

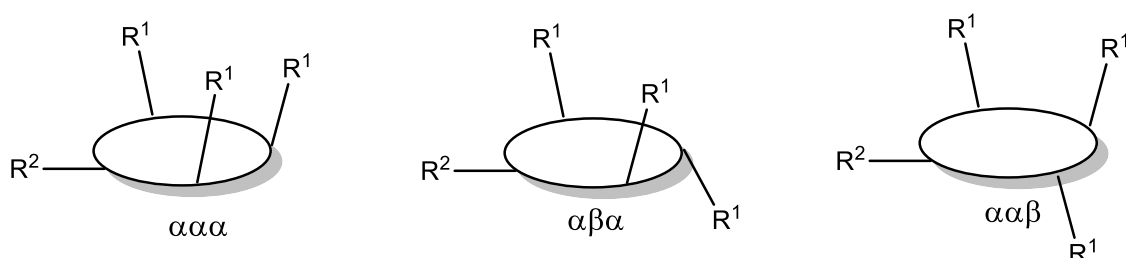


Figura 4.15 – Representação esquemática da mistura de atropisômeros das porfirinas catiônicas $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**3**) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**). R^1 = grupos 2-*N*-metilpiridínio; R^2 = grupos 3-metoxi-4-hidroxifenil ou 3,4-dimetoxifenil. O grupo R^2 , por não conter substituinte *orto*, possui livre rotação.

Analisando-se a região entre 3,5 e 4,2 ppm (Fig. 4.16), que corresponde aos hidrogênios dos grupos metilas presentes nas porfirinas, nota-se que o singlete em 3,91 ppm do grupo *meta*- OCH_3 da $H_2VanTri-2-PyP$ (**1**) sofreu uma pequena desblindagem nas porfirinas catiônicas para 3,93 ppm como resultado da alquilação dos grupos 2-piridila. O singlete em 4,09 ppm presente na $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ e ausente na $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo $O-CH_3$ *para* (REBOUÇAS, 2006; NUTAPATI, 2011). Entre 3,95 e 4,25 ppm, estão presentes os sinais correspondentes aos hidrogênios metílicos dos grupos 2-*N*-metilpiridil das porfirinas catiônicas, que são vários devido à mistura de atropoisômeros apresentada por essas moléculas (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2002; 2007).

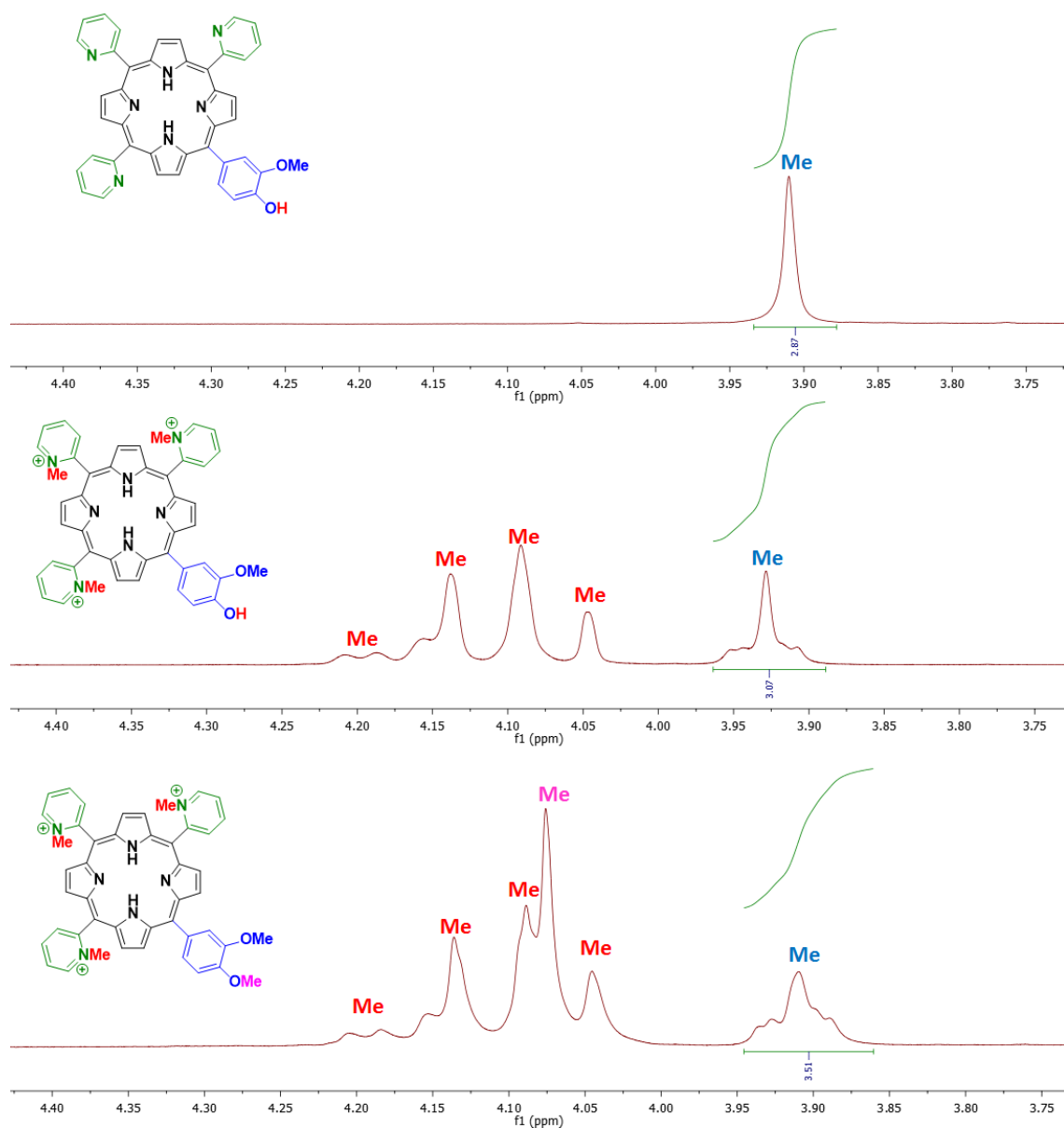


Figura 4.16 – Espectros comparativos de RMN de ^1H 500 MHz das regiões correspondentes aos grupos metila da porfirimina neutra $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ e das porfirinas catiônicas $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (3) e $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (4). O grupo Me em vermelho correspondente aos metilas ligados ao grupo piridila na mistura de atropoisômeros presentes nas porfirinas catiônicas.

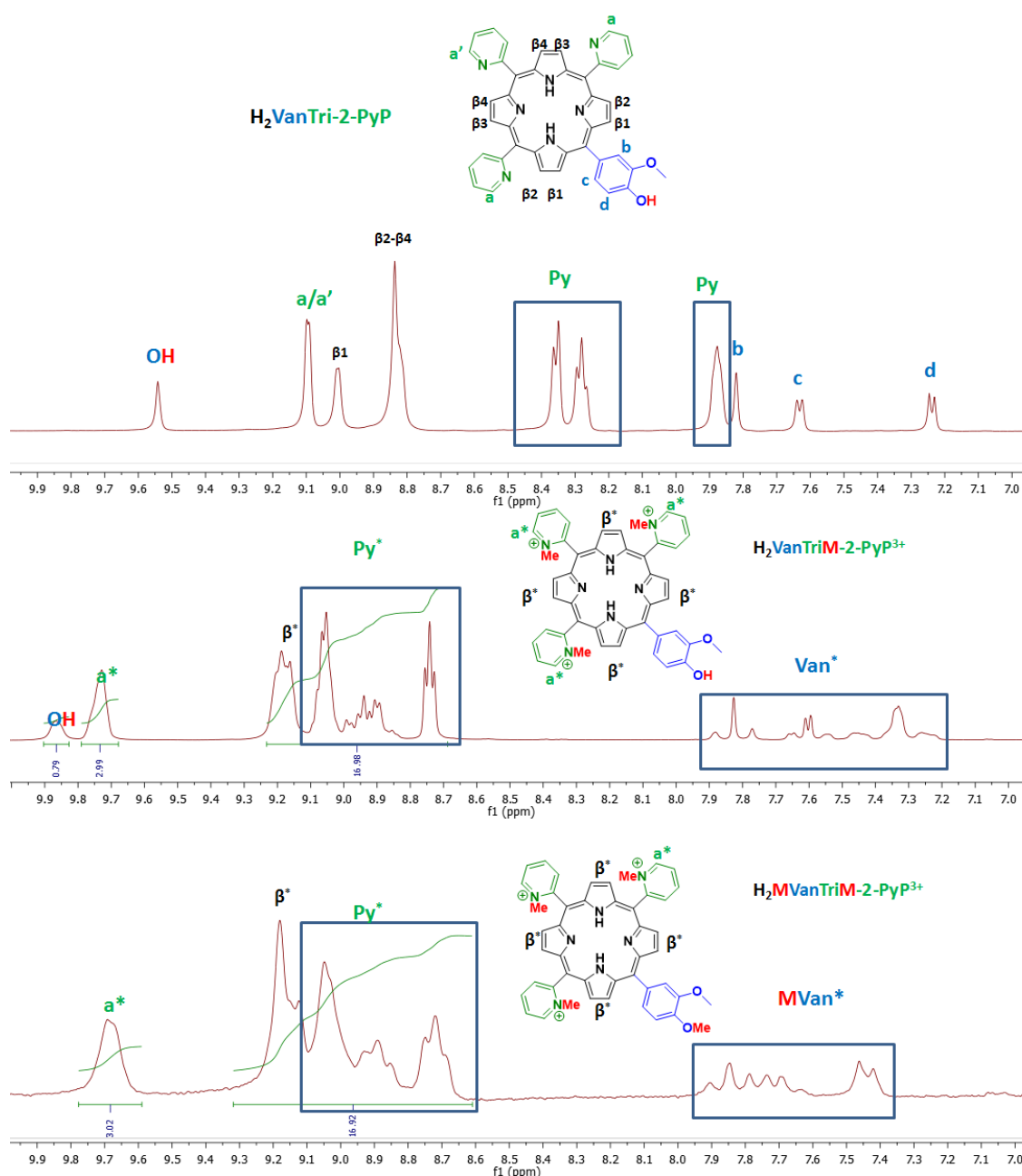


Figura 4.17 – Espectros comparativos de RMN de ^1H 500 MHz da região entre 7,00 ppm e 10,00 ppm, **a-a'** (hidrogênios das posições 3 do piridila da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ (**1**)), **a*** (hidrogênios das posições 3 do 2-metilpiridínio das porfirinas catiônicas); **Py** (demais deslocamentos dos hidrogênios piridila da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$), **Py*** = sinais misturados dos demais hidrogênios piridínio das porfirinas catiônicas); **β^*** = hidrogênios *beta* das porfirinas catiônicas, **Van*** = sinais misturados do grupo vanilina da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**), **MVan*** = sinais misturados do grupo metil-vanilina da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**4**).

Os átomos de hidrogênio internos (NH) e aromáticos das porfirinas catiônicas apresentaram sinais com maiores deslocamentos químicos em relação às porfirinas neutras em virtude da alquilação dos grupos 2-piridila.

O hidrogênio fenólico da vanilina (OH) presente na $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**3**) apresentou um deslocamento de 9,53 ppm da porfirina de partida $H_2VanTri-2-PyP$ (**1**) para 9,86 ppm em virtude da alquilação (Fig. 4.17), sofrendo da desblindagem resultante do efeito eletrorretirador do grupo 2-*N*-metilpiridil. Os átomos de hidrogênio do NH das porfirinas catiônicas deslocaram da região de -2,90 ppm para -2,80 ppm. As atribuições dos hidrogênios trocáveis NH e OH foram confirmadas pelo desaparecimento dos respectivos sinais com a adição de duas gotas de D_2O ao sistema (Apêndice C).

Os sinais dos hidrogênios aromáticos dos grupos vanilina e veratril, que estão presentes na região entre 7,20 ppm e 7,90 ppm, não puderam ser atribuídos de forma detalhada, porém eles foram identificados por estarem em uma região semelhante à da porfirina neutra $H_2VanTri-2-PyP$ (**1**).

As atribuições da maioria dos sinais dos átomos de hidrogênio dos grupos 2-*N*-metilpiridilas não foram possíveis em virtude da mistura de sinais resultantes da alquilação. O único sinal que pode ser atribuído com segurança é o dos hidrogênios da posição *a/a'*, que deslocaram da região de 9,10 ppm (porfirinas neutras) para 9,73 ppm (*a**) por sofrerem forte do grupo eletrorretirador (nitrogênio quaternário).

Os sinais dos átomos de hidrogênio β_2 , β_3 e β_4 -pirrólicos (originais das porfirinas neutras), mais próximos dos grupos piridila, aparentemente acabaram se sobrepondo com os hidrogênios β_1 , originando um novo grupo de sinais denominados genericamente β^* pois as neutras se tornaram mais desblindados por conta da proximidade com os grupos piridínio. Os espectros completos das porfirinas se encontram no Apêndice C.

4.4 Síntese dos complexos de Mn(III)

A metalação das porfirinas neutras $H_2VanTri-2-PyP$ (**1**) e $H_2MVanTri-2-PyP$ (**2**) (Fig. 4.13) foi realizada pelo método clássico do clorofórmio/metanol (WIJESEKERA; DOLPHIN, 1994) com acetato de manganês(II) (Fig. 4.18). Já as porfirinas tricatiônicas $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ (**3**) e $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ (**4**) foram metaladas com cloreto de manganês (II) (Fig. 4.19) em meio aquoso (pH 12), usando um método adaptado da literatura para *N*-alquilpiridilporfirinas (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1998). Destaca-se

que a metalação quantitativa das bases livres catônicas **(3)** e **(4)** exigiu aquecimento da solução a 70 °C por 45 min, enquanto a metalação da porfirina H₂TM-2-PyP⁴⁺ ocorre em ~15 min à temperatura ambiente (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999). Em todos os casos, a formação do complexo de Mn(III) é favorecida pela atmosfera aeróbia, uma vez que o complexo de Mn(II)-porfirina inicialmente formado é rapidamente oxidado *in situ* a Mn(III), resultando em uma metalação irreversível (BOUCHER, 1972).

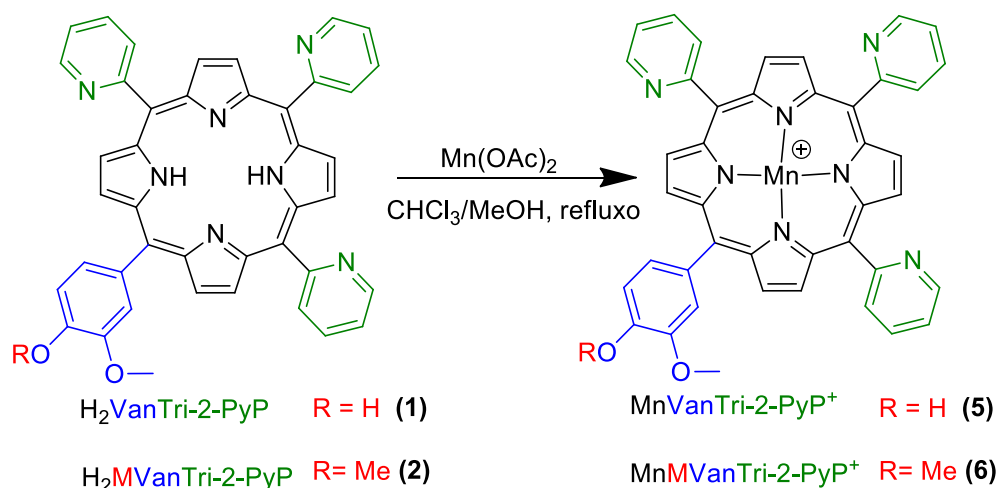


Figura 4.18 – Esquema geral de síntese das manganês-porfirinas monocatiônicas.

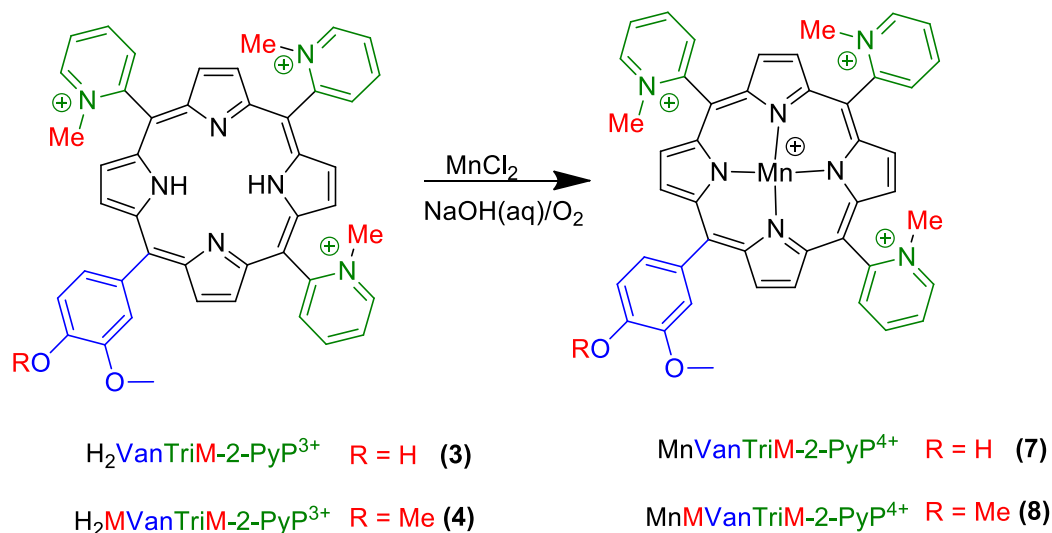


Figura 4.19 - Esquema geral de síntese das manganês-porfirinas tetracatiônicas.

As reações de metalação com Mn puderam ser facilmente monitoradas por espectroscopia UV-vis, devido a um deslocamento considerável (~30-40 nm) na banda

Soret para o vermelho e uma redução no número de bandas Q, associada ao aumento de simetria local das porfirinas de D_{2h} (base-livre) para D_{4h} (metaloporfirina). Análises por CCD indicaram o desaparecimento da base livre fluorescente de partida e o surgimento de uma nova mancha não-fluorescente associada à Mn(III)-porfirina.

4.4.1 Complexos de Mn derivados das porfirinas neutras: MnVanTri-2-PyPcl (5) e MnMVanTri-2-PyPcl (6)

As Mn-porfirinas monocatiônicas MnVanTri-2-PyP⁺ (5) e MnMVanTri-2-PyP⁺ (6), obtidas em sínteses independentes, foram purificadas por cromatografia em coluna de alumina neutra, usando CHCl₃:MeOH (10:1, v/v) como eluente com o objetivo de eliminar o acetato de manganês (II) e ácido acético (subproduto) do sistema.

A obtenção dos complexos na forma de sal de cloreto foi efetuada via precipitação da solução aquosa da MnP na presença de excesso de NaCl. As Mn-porfirinas (5) e (6) se mostraram menos solúveis em água quente (80-90 °C) do que a MnP simétrica correspondente *meso*-tetraquis(2-piridil)porfirinatomanganês(III), MnT-2-PyP⁺: enquanto é possível obter uma solução aquosa de MnT-2-PyP⁺ da ordem de 1,5 mg/mL (FALCÃO, 2016), para a dissolução total das Mn-porfirinas (5) e (6), a concentração da solução é da ordem de 0,38 mg/mL. A adição de NaCl 2 mol L⁻¹ à solução de Mn-porfirina resultou na precipitação das Mn-porfirinas na forma de sal de cloreto. Para eliminação de possíveis traços de NaCl do sistema, o sólido foi dissolvido em diclorometano e filtrado em Celite. A determinação do grau de hidratação dos produtos isolados foi realizada por análise termogravimétrica na faixa de 30 a 150 °C, sendo os sólidos formulados como MnVanTri-2-PyPcl·H₂O (5) (Fig. 4.20) e MnMVanTri-2-PyPcl·H₂O (6) (Fig.4.21), cujos rendimentos isolados foram de 90 e 81 %, respectivamente.

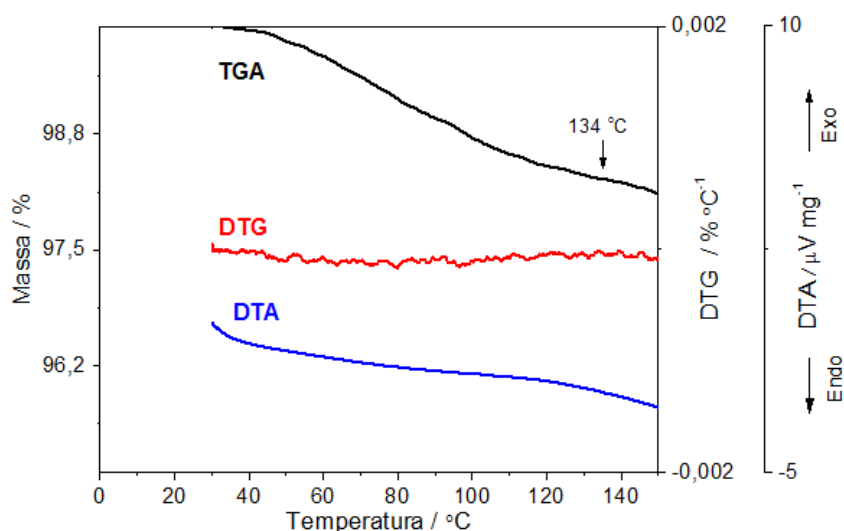


Figura 4.20 - TGA, DTG, DTA da MnVanTri-2-PyPCL.1H₂O.

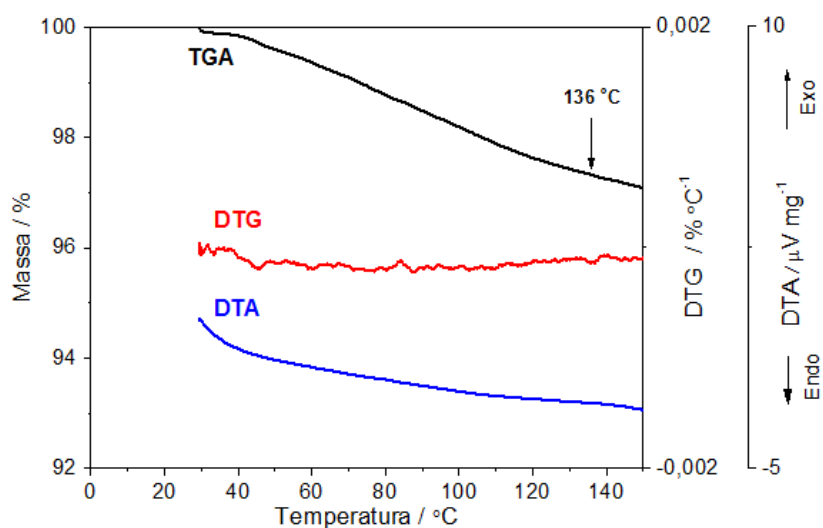


Figura 4.21 - TGA, DTG, DTA da MnVanTri-2-PyPCL.1H₂O.

Análises feitas por CCD-Al₂O₃ com o eluente CHCl₃:MeOH (10:1, v/v) e CCD-SiO₂ com o eluente KNO_{3(sat)}/H₂O/MeCN (1:1:8, v/v/v) indicaram que a formação das Mn-porfirinas compartilham de uma lipofilicidade maior que a MnT-2-PyP⁺ (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 – Fatores de retenção das MnPs não-alkiladas em dois diferentes eluentes: KNO_{3(sat)}/H₂O/MeCN 1:1:8 v/v/v (CCD-SiO₂) e CHCl₃/MeOH 10:1 v/v (CCD-Al₂O₃).

Porfirina	R _f	
	KNO _{3(sat)} /H ₂ O/MeCN 1:1:8 v/v/v	CHCl ₃ /MeOH 10:1 (v/v)
MnVanTri-2-PyP ⁺ (5)	0,85	—
MnMVanTri-2-PyP ⁺ (6)	0,85	0,81
MnT-2-PyP ⁺ ^a	0,80 ^a	0,81

^a (Pinto, 2013)

O espectro UV-vis da Mn-porfirina **(5)** é praticamente idêntico ao da **(6)**. Em ambos os casos, a caracterização do estado +3 do manganês é confirmada pela localização da banda Soret na região de 460-470 nm (BOUCHER, 1972; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2007). Os dados das Mn-porfirinas de baixa simetria MnVanTri-2-PyP⁺ e da MnMVanTri-2-PyP⁺ preparadas neste trabalho se assemelham àqueles da Mn-porfirina simétrica MnT-2-PyP⁺ (Fig. 4.22 e Tabela 4.7), exceto que há um ligeiro deslocamento para o vermelho, o que pode ser associado à substituição de um grupo piridila por um grupo doador de elétrons (vanilina ou veratril). Os valores da largura da banda à meia altura para a banda Soret da Mn-porfirinas **(5)** e **(6)** é de 19 nm, o que é semelhante àquele da MnT-2-PyP⁺ (18,0 nm).

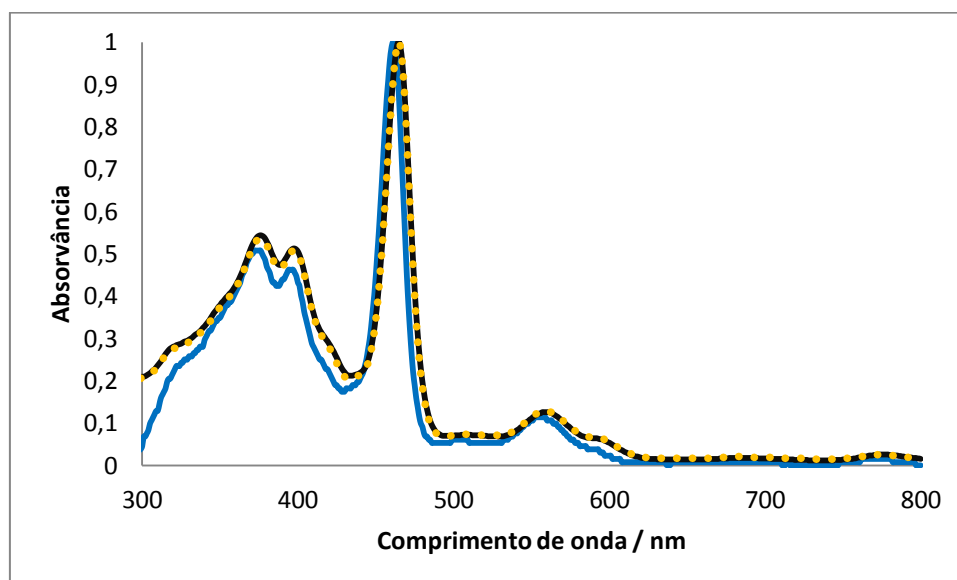


Figura 4.22 - Espectros UV-vis normalizados da MnT-2-PyP⁺ (linha azul), MnVanTri-2-PyP⁺ **(5)** (linha preta) e MnMVanTri-2-PyP⁺ **(6)** (pontilhado amarelo) e da registrados em água.

Tabela 4.7 – Dados comparativos de espectroscopia eletrônica UV-vis das Mn-porfirinas não-alkiladas registrados em água.

Porfirinas	$\lambda_{\max}$ /nm (log ϵ /L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
MnVanTri-2-PyP ⁺ (5)	376 (4,71), 398 (4,68), 465 (5,02) , 559 (4,08), 773 (3,30)
MnMVanTri-2-PyP ⁺ (6)	376 (4,68), 398 (4,66), 465 (4,99) , 559 (4,04), 773 (3,28)
MnT-2-PyP ⁺ ^a	375 (4,66), 397 (4,61), 462 (4,96)^a , 511 (3,65), 554 (3,95), 771 (3,13)

^a Dado da literatura (FALCÃO, 2016)

4.4.2 Complexos de Mn derivados das porfirinas catiônicas: MnVanTri-2-PyPCL₄ (**7**) e MnMVanTri-2-PyPCL₄ (**8**)

As Mn-porfirinas tetracatiônicas MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (**7**) e MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (**8**) foram purificadas por filtração simples para eliminação dos produtos de hidrólise do sal de Mn(II) seguido de precipitações via metátese Cl⁻/PF₆⁻/Cl⁻, conforme descrito para as bases livres catiônicas (**3**) e (**4**). As análises por CCD-SiO₂ das Mn-porfirinas (**7**) e da (**8**) utilizando o eluente KNO_{3(sat)}/H₂O/MeCN (1:1:8, v/v/v) indicaram a presença de apenas uma mancha para cada amostra.

A medida do R_f é um parâmetro de lipofilicidade observado nesses sistemas, podendo-se chegar a uma estimativa do log do coeficiente de partição octanol/água (log P_{ow}) a partir dele, pois existe uma relação entre R_f e logP_{ow}, na qual eles são diretamente proporcionais (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002; KOS *et al.*, 2009b; SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011). As Mn-porfirinas tetracatiônicas (**7**) e (**8**) possuem um valor estimado maior que a MnPyTriM-2-PyP⁴⁺ (proposta inicial de *design*: seção 1.4; modelo A-T: seção 1.3.4), e cerca de 2 ordens de magnitude maior do que a porfirina de referência MnTM-2-PyP⁵⁺. O valor estimado de logP_{ow} -5,85 indica que as MnPs possuem lipofilicidade intermediária entre a MnTnPr-2-PyP⁵⁺ e a MnTnBu-2-PyP⁵⁺ porfirinas meso.tetrapiridil-2-porfirinas tetralquiladas com os grupos *n*-propila e *n*-butila. As MnPs devido às cargas globais dos complexos serem menores (4+), conferindo um caráter mais lipofílico a estas novas moléculas (Tabela 4.8).

Tabela 4.8 - Dados comparativos dos fatores de retenção das Mn-porfirinas catiônicas deste trabalho.

Mn-porfirinas	R_f KNO _{3(sat)} /H ₂ O/MeCN 1:1:8	log P _{ow}
MnVanTriM-2-PyP ⁴⁺ (7)	0,1	-5,8 ^d
MnMVanTriM-2-PyP ⁴⁺ (8)	0,1	-5,8 ^d
MnPyTriM-2-PyP ⁴⁺	0,06 ^a	-6,1 ^d
MnTnBu-2-PyP ⁵⁺	0,2 ^b	-5,1 ^b
MnTnPr-2-PyP ⁵⁺	0,1 ^b	-6,1 ^b
MnTE-2-PyP ⁵⁺	0,06 ^b	-6,7 ^b
MnTM-2-PyP ⁵⁺	0,03 ^c	-7,9 ^c

^a (REBOUÇAS *et al.*, 2008d), ^b (SPASOJEVIĆ *et al.*, 2011), ^c (KOS *et al.*, 2009b) ^d Calculado a partir da relação $\log P_{ow} = 12,18 \times R_f - 7,43$ (KOS *et al.*, 2009b)

As 2-*N*-piridinínioporfirinas de manganês simétricas da literatura tais como a MnTM-2-PyP⁵⁺ e MnTE-2-PyP⁵⁺ são obtidas a 25 °C durante 15-20 min (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999). As condições mais brandas de metalação das porfirinas simétricas podem ser justificáveis devido à elevada acidez (pKa muito baixo) das bases livres precursoras H₂TM-2-PyP⁴⁺ e H₂TE-2-PyP⁴⁺, cujos nitrogênios pirrólicos não protonam em testes com HCl 1 mol L⁻¹ (pH 0).

A perda de água de hidratação que as Mn-porfirinas tetracatiônicas sofreram nas análises termogravimétricas foi associada a um evento endotérmico no intervalo de 29-132 °C para a MnVanTriM-2-PyPCL₄ (**7**) (Fig. 4.23) e 29-136 °C (Fig.4.24) para a MnMVanTri-2-PyPCL₄ (**8**), em uma faixa de temperatura bastante semelhante àquela reportada da Mn-porfirina pentacatiônica MnTE-2-PyPCL₅·11H₂O (PINTO *et al.*, 2013). As perdas de massa de 4,3 % e 3,4 % para as porfirinas catiônicas em estudo são consistentes, respectivamente, com as formulações MnVanTriM-2-PyPCL₄·2H₂O (**7**) (Fig. 4.23) e MnMVanTriM-2-PyPCL₄·2H₂O (**8**) (Fig. 4.24). Os resíduos intermediários das Mn-porfirinas (**7**) e (**8**) foram coletados a 120 °C sob condições dinâmicas e não sofreram modificações (Apêndice A). Análises por CCD-SiO₂ (KNO_{3(aq)}/H₂O/MeCN, 1:1:8, v/v/v) desses resíduos solubilizados em água indicaram a presença de apenas uma única mancha, que coeluiu com as amostras de MnPs submetidas à TGA/DTA. Os espectros UV-vis desses resíduos também apresentaram características indistinguíveis das amostras submetidas às análises termogravimétricas (Apêndice A). As porfirinas dessa série de baixa simetria, em geral, possuem menos águas de

hidratação em suas formulações que as porfirinas simétricas, por possuírem uma carga a menos.

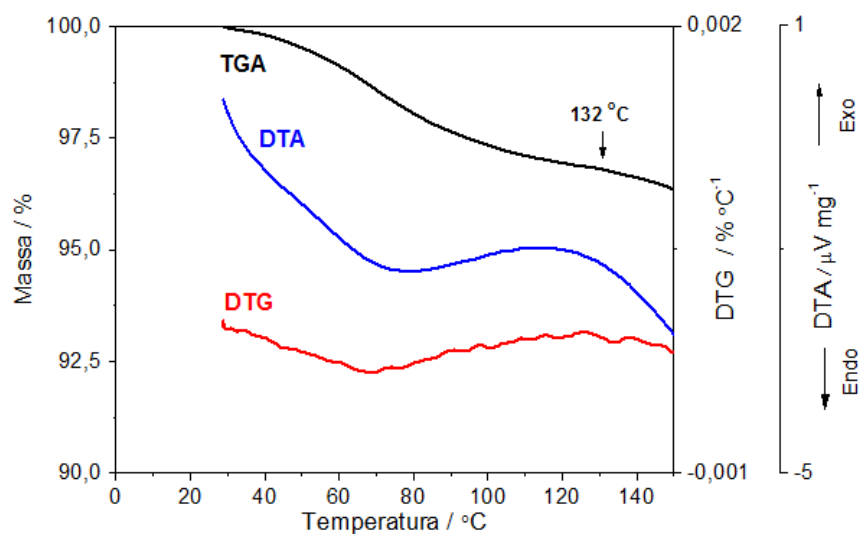


Figura 4.23 - TGA, DTG, DTA da MnVanTriM-2-PyPCL₄.2H₂O.

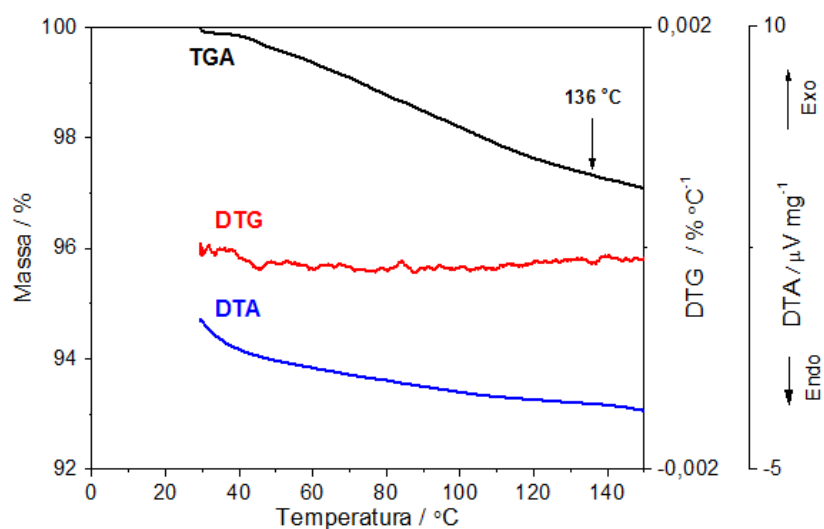


Figura 4.24 - TGA, DTG, DTA da MnMVanTriM-2-PyPCL₄.2H₂O.

Os espectros de UV-vis da MnVanTriM-2-PyPCL₄ e da MnMVanTriM-2-PyPCL₄ registrados em água são bastante semelhantes entre si (Fig. 4.25). O perfil geral do espectro e o grande deslocamento da banda Soret para regiões de mais baixa energia, em relação aos ligantes livres, é característico de Mn(III) 2-*N*-alquilpiridilporfirinas (BATINIC-HABERLE *et al.*, 2002).

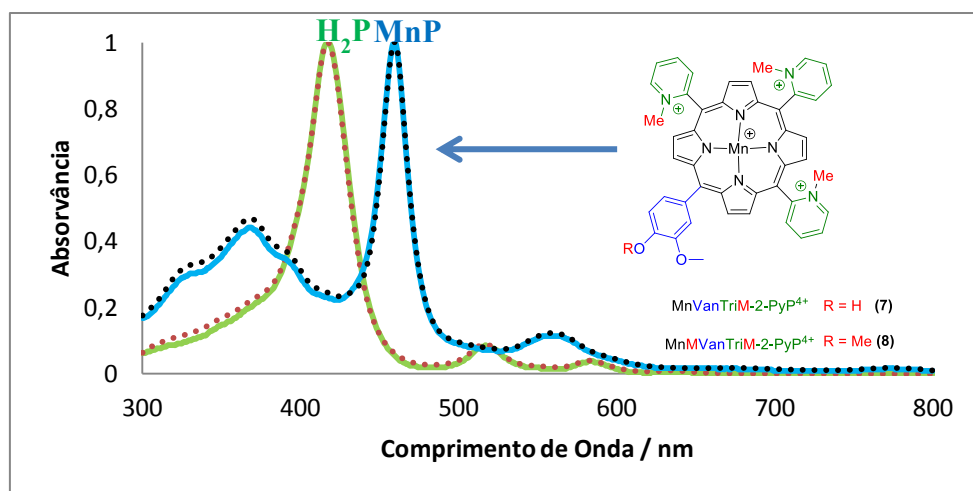


Figura 4.25 - Espectros UV-vis normalizados registrados em água da H₂VanTriM-2-PyP³⁺ (**3**) (linha verde), H₂MVanTriM-2-PyP³⁺ (**4**) (pontilhado vermelho), MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (**7**) (linha azul) e MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (**8**) (pontilhado preto).

A medida da absorvidade molar em água dos complexos de manganês tetracatiônicos MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ demonstrou que, assim como as bases livres precursoras, os valores apresentados foram mais baixos que aqueles da Mn-porfirina de referência MnTM-2-PyP⁵⁺ (Tabela 4.9).

Tabela 4.9 – Dados espectroscópicos das porfirinas de baixa simetria deste trabalho medidos em água.

Mn-porfirinas	$\lambda_{\max}$ /nm (log ϵ /L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
MnMVanTriM-2-PyP ⁴⁺	369 (4,40), 459 (4,79) , 559 (3,82), 772 (3,15)
MnVanTriM-2-PyP ⁴⁺	369 (4,58), 459 (4,91) , 559 (4,00), 773 (3,16)
MnTM-2-PyP ⁵⁺ ^a	364 (4,64), 411(4,27), 453 (5,11) , 499 (3,66), 556 (4,03), 782 (3,15)

^a (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002)

A medida da largura à média altura da banda Soret das Mn-porfirinas demonstrou que, tal qual as bases livres precursoras, as Mn-porfirinas tetracatiônicas possuem largura bem maior que a porfirina simétrica de referência MnTM-2-PyP⁵⁺ (Tabela 4.10 e Fig. 4.26).

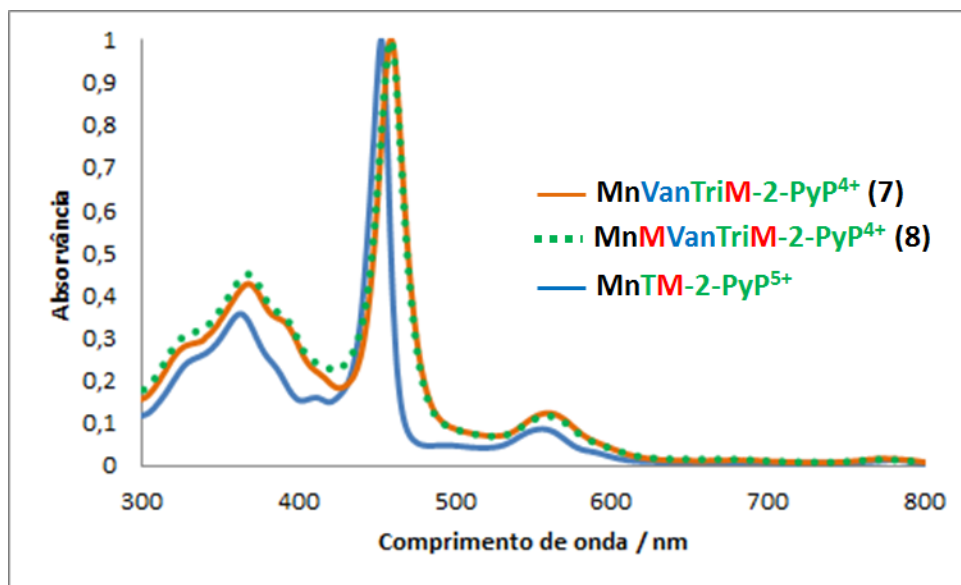


Figura 4.26 - Espectros UV-vis normalizados da MnTM-2-PyP⁵⁺ (linha azul), MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (7) (linha preta) e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ (8) (pontilhado amarelo) e da registrados em água.

Tabela 4.10 – Medidas da largura da banda à meia altura das porfirinas deste trabalho em comparação a porfirinas da literatura.

Porfirinas	$\log \epsilon/L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	Largura à meia altura (banda Soret)
MnVanTri-2-PyP ⁺	5,02	19,0 nm
MnMVanTri-2-PyP ⁺	4,98	19,0 nm
MnT-2-PyP ⁺	4,96 ^b	18,0 nm
MnVanTriM-2-PyP ⁴⁺	4,91	21,8 nm
MnMVanTriM-2-PyP ⁴⁺	4,79	22,9 nm
MnTM-2-PyP ⁵⁺	5,11 ^a	15,7 nm

^a (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2002); ^b(FALCÃO *et al.*, 2016)

Foi observado mais uma vez que porfirinas de bandas Soret mais largas têm tendência a terem absorvidades molares menores. A alquilação dos grupos 2-*N*-metilpiridil MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (7) e MnMVanTri-2-PyP⁴⁺ (8) pode estar envolvida de forma determinante para a quebra de simetria de maneira mais pronunciada das Mn-porfirinas tetracatiônicas.

As Mn-porfirinas foram submetidas a análises por UV-vis em tampão fosfato pH 7,8 (0,05 mol L⁻¹) e tampão borato pH 9,3. Foi observada em tampão borato pH 9 uma mudança bastante significativa no espectro da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (7) (Figura 4.26). O espectro da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ (8) não apresentou alteração significativa em

relação aos espectros registrados em água (Figura 4.27). Esses resultados são reminiscetes daqueles da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**3**) e $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ (**4**) (Seção 4.3).

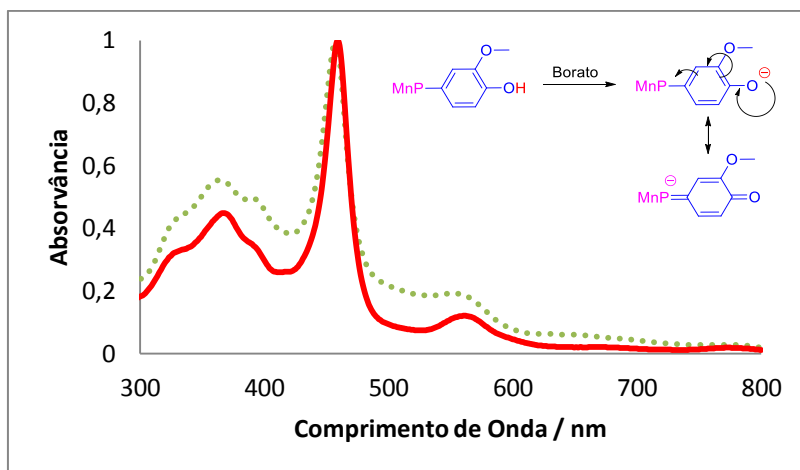


Figura 4.27 - Espectros UV-vis normalizados da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (**7**) registrados em tampão fosfato pH 7,8 (condições controladas; linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado azul).

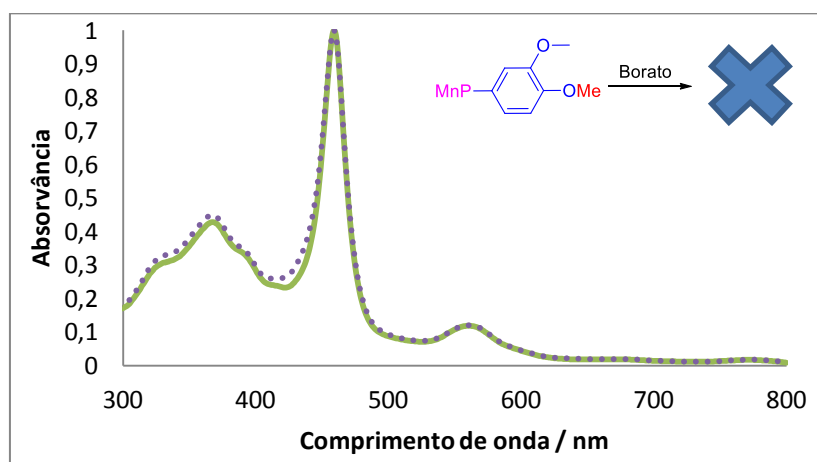


Figura 4.28 - Espectros UV-vis normalizados da $\text{MnVanTriM-2-PyP}^{4+}$ (**8**) em tampão fosfato pH 7,8 (condições controladas; linha verde) e tampão borato pH 9,3 (pontilhado azul).

4.5 Voltametria cíclica

Os potenciais de meia onda correspondentes às reações de oxirredução foram calculados como a média dos picos anódicos e catódicos das Mn-porfirinas e convertidos de $E_{1/2}$ versus Ag/AgCl para $E_{1/2}$ versus NHE (em inglês, *Normal Hygrogen Electrode*) (Tabela 4.11 e 4.12). As correntes correspondentes foram medidas em μA (microampère) e a porfina MnTM-2-PyP⁵⁺ utilizada como padrão externo. A conversão dos potenciais do eletrodo de referência Ag/AgCl para o de hidrogênio foi de 242 mV.

Os potenciais Mn^{III}/Mn^{II} de meia onda centrados nos valores do íon metálico ($E_{1/2}$) para a MnVanTri-2-PyP⁺ (**5**) e MnMVanTri-2-PyP⁺ (**6**) (-157 mV vs. NHE), medidos em mistura de metanol: tampão tris (pH 7,8) devido à sua baixa solubilidade dos compostos em sistema aquoso, são menos negativos do que as porfirinas simétricas com quatro grupos piridila MnT-2-PyP⁺ (-280 mV vs. NHE) e a com quatro grupos fenila MnTPP⁺ (-270 mV vs. NHE). Eles também mais próximos dos potenciais de Mn-porfirinas com grupos derivados de fenil nas posições *meso*, tais como 4-carboxifenil (MnTCPP³⁺; -190 mV vs. NHE) e pentafluorofenil MnTPFP⁺ (-120 mV vs. NHE). Os voltamogramas cíclicos das Mn-porfirinas monocatiônicas e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ estão exibidos na Figura 4.29.

Tabela 4.11 - Potenciais medidos na mistura metanol/tampão tris aquoso na proporção 9:1.

Porfirinas	E_{pc} (mV)	E_{pa} (mV)	$E_{1/2}$ (mV) vs Ag/AgCl	$E_{1/2}$ (mV) vs NHE
MnVanTri-2-PyP ⁺	-261	-327	-294	-157
MnMVanTri-2-PyP ⁺	-261	-327	-294	-157
MnTM-2-PyP ⁵⁺	113	52	83	220

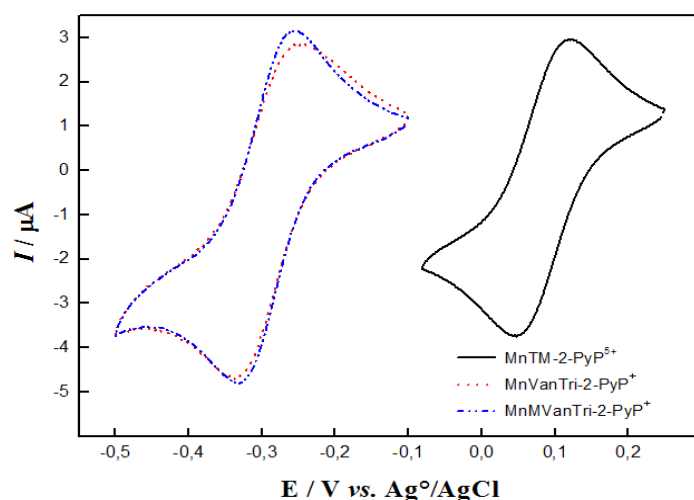


Figura 4.29 - Voltamogramas cíclicos das Mn-porfirinas monocatiônicas e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ obtidos em (9:1) metanol/tampão tris (0,05 mol L⁻¹, pH = 7,8, 0,1 mol L⁻¹ de NaCl), 5 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ de MnTM-2-PyP⁵⁺ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,5 a -0,1 V (para as Mn-porfirinas monocatiônicas) e de -0,08 a 0,25 (para a MnTM-2-PyP⁵⁺) vs. Ag°/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

Os potenciais Mn^{III}/Mn^{II} de meia onda centrados nos valores do íon metálico (E_{1/2}) para a MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ (109 mV vs NHE) e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ (115 mV vs NHE) foram inferiores em 111 mV e 105 mV comparados ao potencial da MnTM-2-PyP⁵⁺ (220 mV vs. NHE), além de serem próximos à porfirina tetracatiônica MnPhTri-2-PyP⁴⁺ (108 mV vs. NHE) (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 1999), o que é consistente com a carga global inferior dessas porfirinas de baixa simetria. Os potenciais de redução da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ **(7)** e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ **(8)** estão localizados entre os da MnTM-2-PyP⁵⁺ e do seu isômero 3-aquilpiridínio, MnTM-3-PyP⁵⁺ (+52 mV vs. NHE) (KOS *et al.*, 2009b). Os voltamogramas cíclicos das Mn-porfirinas tetracatiônicas e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ estão exibidos na Figura 4.30.

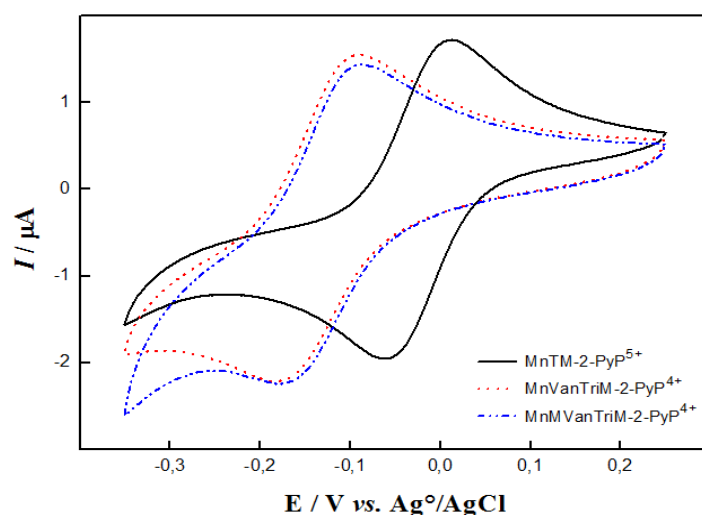


Figura 4.30 - Voltamogramas cíclicos das Mn-porfirinas tetracatiônicas e do padrão MnTM-2-PyP⁵⁺ obtidos em 0,05 mol L⁻¹ de tampão fosfato (pH = 7,8), 0,1 mol L⁻¹ de NaCl, 5 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ de MnTM-2-PyP⁵⁺ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,35 a 0,25 V vs. Ag⁰/AgCl a uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

A adição de um grupo CH₃ resultou em num aumento de lipofilicidade da MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ em relação à MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e aumento do potencial de redução (Tabela 4.12), corroborando com o efeito gerado pelo aumento da cadeia alquílica nas *N*-piridilporfirinas reportadas na literatura (BATINIĆ-HABERLE, 2002).

Tabela 4.12 - Potenciais medidos em tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ (pH 7,8).

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

O aumento do potencial de redução dessa nova série de Mn-porfirinas tetracatiônicas resultante da metilação dos grupos piridila foi menor do que a porfirina pentacatiônica padrão MnTM-2-PyP⁵⁺, devido à menor carga da MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ fato de serem adicionadas apenas quatro três cargas positivas às porfirinas com a adição de grupos alquila a porfirina, enquanto que as tetra-2-alquilpiridil recebem a adição de mais quatro cargas. Porém, este fato pode ser compensado pela maior lipofilicidade desse sistema de baixa simetria.

Todas as Mn-porfirinas analisadas apresentaram reversibilidade no processo de oxirredução do manganês. O baixo potencial de meia-onda das Mn-porfirinas não-alquiladas MnVanTri-2-PyP⁺ e MnMVanTri-2-PyP⁺ faz com que o uso delas como mímicos de SOD seja inviabilizado, contudo, a alquilação dos grupos piridila na MnVanTriM-2-PyP⁴⁺ e MnMVanTriM-2-PyP⁴⁺ desloca o potencial para uma faixa mais positiva que é apropriada para estas porfirinas realizarem as duas semirreações de dismutação do superóxido (BATINIĆ-HABERLE *et al.*, 2010).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 Conclusões

Nesta dissertação, foi desenvolvido o design de uma nova classe de porfirinas de baixa simetria do tipo A_3B que apresenta três grupos piridila e um vanilina ($H_2VanTri-2-PyP$) ou veratraldeído em substituição à vanilina ($H_2MVanTri-2-PyP$).

A síntese das porfirinas bases livres neutras de baixa simetria levou à formação de uma mistura de porfirinas que puderam ser separadas por combinação de técnicas como extração sólido-líquido, precipitação seletiva e cromatografia em coluna. O rendimento isolado foi em torno de 2-3%, sendo posteriormente caracterizadas por CCD-SiO₂, UV-vis e RMN de ¹H.

A alquilação da $H_2VanTri-2-PyP$ com tosilato de metila em DMF a 105 °C, gera a porfirina tricatiônica $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$, que apresenta o grupo OH fenólico da porfirina precursora preservado e apenas os grupos piridila são alquilados. A adição de K₂CO₃ à reação leva à alquilação de todos os grupos *meso* arila da $H_2VanTri-2-PyP$, resultando na $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$. A obtenção da $H_2MVanTriM-2-PyP^{3+}$ foi explorada *via* alquilação da $H_2MVanTri-2-PyP$ nas mesmas condições da alquilação da $H_2VanTri-2-PyP$. As caracterizações dessas porfirinas foram feitas por CCD-SiO₂, UV-vis e RMN de ¹H, onde foram confirmadas a presença OH da $H_2VanTriM-2-PyP^{3+}$ e a mistura de atropoisômeros presente nas duas porfirinas.

As Mn-porfirinas não-alkiladas $MnVanTri-2-PyP$ e $MnMVanTri-2-PyP$ foram sintetizadas com base na literatura, sendo obtidas de maneira bem simples. As Mn-porfirinas tetracatiônicas $MnVanTriM-2-PyP$ e $MnMVanTriM-2-PyP$ foram sintetizadas de um modo adaptado da literatura, através de aquecimento a 70 °C para metalacção quantitativa.

As absorvidades molares das porfirinas e Mn-porfirinas alquiladas apresentaram valores mais baixos que as porfirinas simétricas da literatura. Em contraponto, as Mn-porfirinas apresentaram absorvidade molar maior. A largura da banda Soret à meia altura foi um parâmetro importante para se interpretar esses resultados. Conclui-se que, quanto mais larga é a banda Soret, menor a absorvidade molar. Outro ponto importante a ser observado é que a alquilação dos grupos piridila parece contribuir mais para a quebra de simetria e diminuição da absorvidade molar do que a própria simetria das porfirinas precursoras $H_2VanTri-2-PyP$ e $H_2MVanTri-2-PyP$, visto que estas porfirinas apresentaram largura da banda Soret à meia altura de 16 nm, que é muito próxima à $H_2T-2-PyP$ (15 nm).

5.2 Perspectivas

As perspectivas envolvem a caracterização dos compostos por ESI-MS e ensaios biológicos. Pretende-se aumentar o substituinte R da posição *para* da vanilina, gerando derivados mais lipofílicos que as porfirinas desse trabalho, que depois serão enviados para estudos biológicos. Dentre eles, planejamento para o doutorado envolve:

- a) Sintetizar porfirinas de baixa e derivados metilados das porfirinas baixa simetria catiônicas 2-*N*-alquilporfirinas, $H_2RVanTriM-2-PyP^{3+}$ (R= n-Pr, i-Bu, n-Bu, n-Hex, n-Non);
- b) Preparar os complexos de Mn(III) derivados das porfirinas de baixa simetria.
- c) Determinar e correlacionar alguns parâmetros importantes para os estudos de mímicos de SOD à base de porfirinas, tais como: potencial de redução $Mn^{(III)}/Mn^{(II)}$ dos complexos, atividade SOD ($\log k_{cat}$) das Mn-porfirinas e lipofilicidade dos compostos (ligantes e complexos).
- d) Investigar a eficiência *in vivo* de Mn-porfirinas que possuem hidrocarbonetos lineares, ramificados ou cíclicos em suas estruturas para controle de lipofilicidade em modelos biológicos de estresse oxidativo, tais como linhagens selvagens e SOD-deficientes de *Escherichia coli* e *Saccharomyces cerevisiae*.
- e) Comparar os resultados obtidos com os da literatura dos complexos simétricos de Mn(III) do grupo 2-piridil.

REFERÊNCIAS

- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; SHERGALIS, W. **Mechanistic Investigations of Porphyrin Syntheses. I. Preliminary Studies on ms-Tetraphenylporphin.** *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 3145, 1964.
- ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; GODMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSKOFF, L. **A Simplified Synthesis for meso-Tetraphenylporphin.** *J. Org. Chem.*, 32, 476, 1967.
- ADLER, A. D.; SKLAR, L.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; FINARELLI, M. G. J. **A mechanistic study of the synthesis of meso-tetraphenylporphin,** *Heterocycl. Chem.*, 5, 669, 1968.
- AITKEN, J. B.; SHEARER, E. L.; GILES, N. M.; LAI, B.; VOGT, S.; REBOUCAS, J. S.; BATINIĆ-HABERLE, I.; LAY, P.A.; GILES, G. I. **Intracellular Targeting and Pharmacological Activity of the Superoxide Dismutase Mimics MnTE-2-PyP and MnTnHex-2-PyP Regulated by Their Porphyrin Ring Substituents.** *Inorg. Chem.*, 52, 4121, 2013.
- ARONOFF, S.; CALVIN, M. **The Porphyrin-like Products of the Reaction of Pyrrole with Benzaldehyde.** *J. Org. Chem.*, 8, 205, 1943.
- BARNETT, G. H.; HUDSON, M. F.; SMITH, K. M. **Concerning meso-tetraphenylporphyrin purification.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1, 1401, 1975.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; LIOCHEV, S. I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. **A potent superoxide dismutase mimic: manganese β -octabromo-meso-tetrakis-(N-methylpyridinium-4-yl)porphyrin.** *Arch. Biochem. Biophys.*, 343, 225, 1997.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; BENOVIĆ, L.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I. **The Ortho Effect Makes Manganese (III) Meso-Tetrakis-(N-Methylpyridinium-2-yl)Porphyrin a Powerful and Potentially Useful Superoxide Dismutase Mimic.** *J. Biol. Chem.*, 273, 24521-24528, 1998.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; HAMBRIGHT, P.; BENOVIĆ, L.; CRUMBLISS, A. L.; FRIDOVICH, I. **The Relationship Between Redox Potentials, Proton Dissociation Constants of Pyrrolic Nitrogen and *in vivo* and *in vitro* Superoxide Dismutase Activities of Manganese(III) and Iron(III) Cationic and Anionic Porphyrins.** *Inorg. Chem.*, 38, 4011-4022, 1999.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; STEVENS, R.D.; HAMBRIGHT, P.; FRIDOVICH, I. **Manganese (III) meso-tetrakis(ortho-N-alkylpyridyl)porphyrins. Synthesis, characterization, and catalysis of O_2^- dismutation.** *Dalton Trans.*, 13, 2689-2696, 2002.
- BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; STEVENS, R.D.; HAMBRIGHT, P.; NETA, P.; OKADO-MATSUMOTO, A.; FRIDOVICH, I. **New class of potent catalysts of O_2^- -dismutation. Mn(III) ortho-methoxyethylpyridyl- and di-ortho-methoxyethylimidazolylporphyrins.** *Dalton Trans*, 11, 1696-1702, 2004.

BATINIĆ-HABERLE, I.; NDENGELE, M. M.; CUZZOCREA, S.; REBOUCAS, J. S.; SPASOJEVIC, I.; SALVEMINI, D. **Lipophilicity is a critical parameter that dominates the efficacy of metalloporphyrins in blocking the development of morphine antinociceptive tolerance through peroxynitrite-mediated pathways.** *Free Radic. Biol Med.*, 46, 212-219, 2009a.

BATINIĆ-HARBELE, I.; CUZZOCREA, S.; REBOUCAS, J.S.; FERRER-SUETA, G.; MAZZON, E.; DIPAOLO, R.; RADI, R.; SPASOJEVIĆ, I.; BENOVA, L.; SALVEMINI, D. **Pure MnTBAP selectively scavenges peroxynitrite over superoxide: Comparison of pure and commercial MnTBAP samples to MnTE-2-PyP in two models of oxidative stress injury, an SOD-specific Escherichia coli model and carrageenan-induced pleurisy.** *Free Rad. Bio. Med.*, 46, 192-201, 2009b.

BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUCAS J.S.; SPASOJEVIĆ, I. **Superoxide Dismutase Mimics: Chemistry, Pharmacology and Therapeutic Potential.** *Antioxid. Redox Signal.*, 13, 877-918, 2010.

BATINIĆ-HABERLE, I.; RAJIC, Z.; TOVMASYAN, A.; REBOUCAS, J.S.; YE, X.; LEONG, K.W.; DEWHIRST, M.W.; VUJASKOVIC, Z.; BENOVA, L.; SPASOJEVIĆ, I. **Diverse functions of cationic Mn(III) N-substituted pyridylporphyrins, recognized as SOD mimics.** *Free Radic. Biol. Med.*, 51, 1035-1053, 2011a.

BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUCAS, J.S.; BENOVA, L.; SPASOJEVIĆ, I. **Chemistry, biology and medical effects of water soluble metalloporphyrins.** Em: KADISH, K.M.; SMITH, K. M.; GUILLARD, R., (Eds.); *Handbook of Porphyrin Science*. Singapore: World Scientific, 52, 291-393, 2011b.

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

BODER, E. **Ataxia-telangiectasia: Genetics, Neuropathology, and Immunology of a Degenerative Disease of Childhood.** Em: GATTI, R.A.; SWIFT, M. (Eds). New York: 1, 1985.

BONNET, R. **The Porphyrins.** Em: DOPHIN, D. (Ed.). New York: Academic Press, 1, 1979.

BOUCHER, L. I. **Manganese Porphyrin Chomplexes.** *Coord. Chem. Rev.*, 7, 289-239, 1972.

BRENES, M.; GARCÍA, A.; GARCÍA, P.; RIOS, J. J.; ANTONIO, G. **Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils.** *J. Agr. Food Chem.*, 47, 3535-3540, 1999.

BUENO-JANICE, J.C.; SARMENTO-NETO, J. F.; BARRETO, M. C.; FRAGOSO, W. D.; MARTÍNEZ, C. R.; REBOUCAS, J. S. **Estabilidade de uma porfirina do tipo A3B (A = 2-N-piridil; B = vanilina acetilada) de interesse para o desenho de mímicos de SOD.** 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia. São Paulo, 2015.

CALVIN, M.; BALL, R. H.; ARONOFF, S. **$\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -Tetraphenylchlorin**. *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 2259, 1943.

CALZAVARA-PINTON, P.; ROSSI, M. T.; SALA, R.; VENTURINI, M. **Photodynamic antifungal chemotherapy**. *Photochem Photobiol*, 88, 512-22, 2012.

CARRADO, K. A.; ANDERSON, K. B.; GRUTKOSKI, P. S. **Thermal analysis of porphyrin-clay complexes**. Em: BEIN, T. (Ed.), *Supramolecular Architecture*. Washington: Am. Chem. Soc., 499, 155-165, 1992.

COMMISSION ON THE NOMECLATURE OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, **Definitive Rules for the Nomenclature of Amino Acids, Steroids, Vitamins, and Carotenoids**. *J. Am. Chem. Soc.*, 82, 5581-5584, 1960.

DOLPHIN, D.; ROUSSEAU, K. A **Purification of meso-tetraphenyl-porphyrin**. *Tetrahedron*, 48, 4251, 1974.

ELEMANS, J. A. A. W.; VANHAMEREN, R.; NOLTE, R. J. M.; ROWAN, A. E. **Molecular Materials by Self-Assembly of Porphyrins, Phthalocyanines, and Perylenes**. *Adv. Mater.* 18, 1251–1266, 2006

ELLERBY, R. M.; CABELLI, D. E.; GRADEN, J. A.; VALENTINE, J. S. **Copper–Zinc Superoxide Dismutase: Why Not pH-Dependent?**. *J Am. Chem. Soc.*, 118, 6556-6561, 1996.

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

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

FAULKNER, K. M.; LIOCHEV, S. I.; FRIDOVICH, I. **Stable Mn(II) Porphyrins Mimic Superoxide Dismutase *in Vitro* and Substitute for It *in Vivo*** *J. Biol. Chem.* 269, 23471–23476, 1994.

FERRER-SUETA, G.; BATINIĆ-HABERLE, I.; SPASOJEVIĆ, I.; FRIDOVICH, I.; RADI, R. **Catalytic Scavenging of Peroxynitrite by Isomeric Mn(III) N-Methylpyridylporphyrins in the Presence of Reductants**. *Chem. Res. Toxicol.*, 12, 442-449, 1999.

FERRER-SUETA, G.; VITTURI D.; BATINIĆ-HABERLE, I.; FRIDOVICH, I.; GOLDSTEIN, S.; CZAPSKI, G; RADI, R. **Reactions of Manganese Porphyrins with Peroxynitrite and Carbonate Radical Anion**. *J. Biol. Chem.*, 278, 27432-27438, 2003.

GAUTER-FLECKENSTEIN, B.; REBOUCAS, J. S.; FLECKENSTEIN, K.; TOVMASYAN, A.; OWZAR, K.; JIANG, C.; BATINIĆ-HABERLE, I.; VUJASKOVIC, Z. **Robust rat pulmonary radioprotection by a lipophilic Mn N-alkylpyridylporphyrin, MnTnHex-2-PyP⁵⁺**. *Redox Biology*, 400-410, 2014.

GOLDSTEIN, S.; FRIDOVICH, I.; CZAPSKI, G. **Kinetic properties of Cu,Zn-superoxide dismutase as a function of metal content—Order restored.** *Free Radical Biol. Med.*, 41, 937-941, 2006.

GONSALVES, A. M. A. R.; VAREJÃO, J. M. T. B.; PEREIRA, M. M. **Some new aspects related to the synthesis of meso-substituted porphyrins.** *J. Heterocycl. Chem.*, 28, 635-640, 1991.

GOTTWALD, L. K.; ULLMAN, E. F. **Biphenyl-type atropisomerism as a probe for conformational rigidity of $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -tetraarylporphines.** *Tetrahedron*, 10, 3071-3074, 1969.

GRANCHO, J. C. P.; PEREIRA, M. M.; MIGUEL, M. G.; GONSALVES, A. M. A. R.; H. D. BURROWS, **Synthesis, Spectra and Photophysics of some Free Base Tetrafluoroalkyl and Tetrafluoroaryl Porphyrins with Potential Applications in Imaging.** *Photochem. Photobiol.*, 75, 249-256, 2002.

GRIMSDALE, A. C.; K. MÜLLEN. **The Chemistry of Organic Nanomaterials.** *Ang. Chem. Int. Ed.*, 44, 5592-5629, 2005.

GROVES, J. T.; NEMO, T. E. **Aliphatic hydroxylation catalyzed by iron porphyrin complexes.** *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 6243-6248, 1983.

HALLIWELL, B. **Oxidants and human disease: some new concepts.** *J. Faseb*, 1 ed., 358-364, 1987.

HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in Biology and Medicine.** Oxford: Clarendon Press, 543, 1989.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical Bio. Med.** Vol. 4. Oxford: Biosciences, 2007.

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

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

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

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

KALYANASUNDARAM, K. **Photochemistry of Water-Soluble Porphyrins: Comparative Study of Isomeric Tetrapyridyl- and Tetrakis (N-methylpyridiniumyl)porphyrins.** *Inorg. Chem.*, 23, 2453-2459, 1984.

KEPPY, N. K.; ALLEN, M. **Understanding Spectral Bandwidth and Resolution in the Regulated Laboratory.** *Thermo Fisher Scientific*, 2008.

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

KOS, I.; REBOUÇAS, J. S.; DEFREITAS-SILVA, G.; SALVEMINI, D.; VUJASKOVIĆ, Z.; DEWHRIST, M. W.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Lipophilicity of potent porphyrinbased antioxidants: Comparison of ortho and meta isomers of Mn(III) N-alkylpyridylporphyrins.** *Free Radic. Biol. Med.*, 47, 72-78, 2009b.

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

LEE, J.; HUNT, J. A.; GROVES, J. T. **Mechanisms of Iron Porphyrin Reactions with Peroxynitrite.** *J. Am. Chem. Soc.* 120, 7493-7501, 1998.

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

LINDSEY, J. S. **The Porphyrin Handbook.** Eds: KADISH, K. M.; SMITH, K. M.; GUILARD, R. (Eds.), San Diego: Academic Press, 1, 2000.

MANSUY, D.; BATTIONI, P. **Cytochrome P450 Model Systems, Sheldon R.A. (Ed.) Metalloporphyrins in Catalytic Oxydations.** Nova York: Marcel Dekker, 99-132, 1994.

MANSUY D, BATTIONI P. **Biochemistry and binding: activation of small molecules.** Eds: Kadish, K.M.; Smith, K.M.; Guillard, R. (Eds), *The porphyrin handbook.* New York: Academic Press, 4, 1-15, 2000.

MEUNIER, B. **Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage.** *Chem. Rev.*, 92, 1411-56, 1992.

MICHELSON, A. M.; MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. **Superoxide and superoxide dismutases.** New York: Academic Press. 568, 3, 1977.

MILGROM, L. R.; DEMPSEY, P. J. F.; YAHIOUGLU, G. *Tetrahedron*, 52, 9877, 1996.

MIZUTANI, T.; HORIGUCHI, T.; KOYAMA, H.; URATANI, I.; OGOSHI, H. **Molecular Recognition and Atropisomerization of [5,10,15,20-Tetrakis(1-pentyl-3-pyridinio)porphyrinato]zinc(II) in Water.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 71, 413-418, 1998.

MONICA, L. L.; MONTI, D.; MANCINI, G.; MONTALLI, M.; PRODI, L.; ZACCHERONI, N.; D'ARCANGELO, G.; PAOLESSE, R. **Synthesis, complexation properties and spectroscopic studies of the cation-induced conformational changes of some new oligooxaethylene-spacerd diporphyrin arrays.** *New J. Chem.* 25, 597-605, 2001.

MOURAVIEV, V.; VENKATRAMAN, T.N.; TOVMASYAN, A.; KIMURA, M.; TSIVIAN, M.; MOURAVIEVA, V.; POLASCIK, T. J.; WANG, H.; AMRHEIN, T.J.; BATINIC-HABERLE, I.; LASCOLA, C. **Mn porphyrins as novel molecular magnetic resonance imaging contrast agents.** *J. Endourol.*, 26, 1420-1424, 2012.

NAKAGAKI, S.; FERREIRA, G. K. B.; MARCALB, A. L.; CIUFFI, K. J. **Metalloporphyrins immobilized on silica and modified silica as catalysts in heterogeneous processes.** *Curr. Org. Synth.*;11, 67-88, 2014.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 4ª edição, W. H. Freeman, 2005.

NUTLAPATI, V. **Porphyrin based hybrid materials: photophysical, structural investigation and applications as optical materials and HCl gas sensors.** 2011, 197f, Tese (Doutorado em Química). **Pondicherry University**, 2011.

PANDEY, S. K.; GRYSHUK, A. L.; GRAHAM, A.; OHKUBO, K.; FUKUZUMI, S.; DOBHALL, M. P.; ZHENG, G.; OU, Z.; ZHAN, R.; KADISH, K. M.; OSEROFF, A.; RAMAPRASAD, S.; PANDEY, R. K. **Fluorinated photosensitizers: synthesis, photophysical, electrochemical, intracellular localization, in vitro photosensitizing efficacy and determination of tumor-uptake by ¹⁹F in vivo NMR spectroscopy.** *Tetrahedron*, 59, 10059-10073, 2003.

PEREIRA, M. M.; MONTEIRO, C. J. P.; PEIXOTO, A. F. **Targets in Heterocyclic Systems.** Em: ATTANASI, O. A.; SPINELLI, D. (Eds), Società Chimica Italiana. Itália: 12, 2010.

PINTO, V. H. A. **Mn(III)-porfirinas como catalisadores biomiméticos: Estabilidade térmica e imobilização em vermiculita e sílica gel funcionalizada para hidroxilação de alcanos.** 2013. 196f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa (PB), 2013a.

PINTO, V. H. A.; CARVALHODA-SILVA; D.; SANTOS, J. L. M. S.; WEINER, T.; FONSECA, M. G.; YOSHIDA, M. I.; IDEMORI, Y. M.; BATINIĆ-HARBELE, I.; REBOUÇAS, J. S. **Thermal stability of the prototypical Mnporphyrin-based superoxide dismutase mimic and potent oxidative-stree redox modulator Mn(III)**

meso-tetrakis(*N*-ethylpyridinium-2-yl)porphyrin chloride, MnTE-2-PyP⁵⁺. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 73, 29-34, 2013b.

PINTO, V. H. A.; FALCÃO, N. K.S.M.; JACQUELINE C. BUENO-JANICE, J. C.; SPASOJEVIĆ, I.; INES BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S. **Cytochrome P450-Like Biomimetic Oxidation Catalysts Based on Mn Porphyrins as Redox Modulators.** BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUÇAS, J. S.; I. SPASOJEVIC, I. (eds.), *Redox-Active Therapeutics*, Zug (Suíça): Springer International Publishing, Cap. 9, pp. 213-243, 2016.

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

REBOUÇAS, J. S. **Exploring and Exploiting Ruthenium-Porphyrin Complexes: Functionalization, Atropisomerism, Small-Molecule Recognition, Catalysis, and Biological Implications.** 2006. Tese (Doutorado em Química). University of British Columbia, 2006.

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

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

REBOUÇAS, J. S.; SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Pure manganese (III) 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin (MnTBAP) is not a superoxide dismutase mimic in aqueous systems: a case of structure–activity relationship as a watchdog mechanism in experimental therapeutics and biology.** *J. Biol. Inorg. Chem.*, 13, 289-302, 2008c.

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

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

SÁFAR, G. A. M.; MARTINS, D. C. S.; DEFREITAS-SILVA, G.; REBOUÇAS, J. S.; IDEMORI, Y. M.; RIGHI, A. **Interactions of porphyrins and single walled carbon nanotubes: A fine duet.** *Synthetic Metals*, 193, 64-70, 2014.

SARI, M. A.; BATTIONI, J. P.; DUPRE, D.; MANSUY, D.; LE PECQ, J. B. **Interaction of Cationic Porphyrins with DNA: Importance of the Number and Position of the Charges and Minimum Structural Requirements for Intercalation.** *Biochemistry* 29, 4205-4215, 1990.

SERRA, A. C.; PINEIRO, M.; GONSALVES, A. M. D. R.; ABRANTES, M.; LARANJO, M.; SANTOS, A. C.; BOTELHO, M. F. **Halogen atom effect on photophysical and photodynamic characteristics of derivatives of 5,10,15,20-tetrakis(3-hydroxyphenyl)porphyrin** *J. Photochem. Photobiol. Biology*, 92, 59-65, 2008.

SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I.; STEVENS, R. D.; HAMBRIGHT, P.; THORPE, A. N.; GRODKOWSKI, J.; NETA, P.; FRIDOVICH, I. **Manganese(III) biliverdin IX dimethyl ester: a powerful catalytic scavenger of superoxide employing the Mn(III)/Mn(IV) redox couple.** *Inorg. Chem.*, 40, 726-739, 2001.

SPASOJEVIĆ, I.; MENZELEEVE, R.; WHITE, P. S.; FRIDOVICH, I. **Rotational Isomers of N-alkylpyridylporphyrins and their metal complexes. HPLC separation, ¹H NMR and X-ray structural characterization, electrochemistry and catalysis of O₂^{•-} disproportionation.** *Inorg. Chem.*, 41, 5874-5881, 2002.

SPASOJEVIĆ, I.; BATINIĆ-HABERLE, I.; REBOUCAS, J. S.; IDEMORI, Y. M.; FRIDOVICH, I. **Electrostatic contribution in the catalysis of O₂^{•-} dismutation by superoxide dismutase mimics.** *J. Biol. Chem.*, 278, 6831-6837, 2003.

SPASOJEVIĆ, I.; CHEN, Y.; NOEL, T. J.; YU, Y.; COLE, M.P.; ZHANG, L.; ZHAO, Y.; CLAIR, D. K. S.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Mn porphyrin-based superoxide dismutase (SOD) mimic, Mn^{III}TE-2-PyP⁵⁺, targets mouse heart mitochondria.** *Free Rad. Biol. Med.*, 42, 1193-1200, 2007.

SPASOJEVIĆ, I.; KOS, I.; BENOVIĆ, L. T.; RAJIC, Z.; FELS, D.; DEDEUGD, C.; YE, X.; VUJASKOVIC, Z.; REBOUCAS, J. S.; LEONG, K. W.; DEWHIRST, M. W.; BATINIĆ-HABERLE, I. **Bioavailability of metalloporphyrin-based SOD mimics is greatly influenced by a single charge residing on a Mn site.** *Free Radic. Res.* 45, 188-200, 2011.

SLATER, T.F. **Free radical mechanisms in tissue injury.** *J. Biochem.*, 222, 1-15, 1984.

SMITH, K. M. **Porphyrins and Metalloporphyrins.** Ed: SMITH, K.M. (Ed.). New York: Elsevier, 1975.

STAHL, E. *Thin-Layer Chromatography – A Laboratory Handbook.* Heidelberg: Springer-Verlag, 1969.

TOUCHSTONE, J. C.; DOBBINS, M. F. *Practice of Thin Layer Chromatography.* New York: John Wiley & Sons, 1978.

TOVMASYAN, A.; REBOUCAS, J. S.; BENOVA, L. **Simple Biological Systems for Assessing the Activity of Superoxide Dismutase Mimics.** *Antioxid. Redox Signal.*, 20, 2416-2436, 2014.

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

TRAYLOR, T.G. **Synthetic model compounds for hemoproteins.** *Acc. Chem. Res.* 14, 102–109, 1981.

VIANA, O.; RIBEIRO, M.; RODAS, A.; REBOUCAS, J. S.; FONTES, A.; SANTOS, B. **Comparative Study on the Efficiency of the Photodynamic Inactivation of Candida albicans Using CdTe Quantum Dots, Zn(II) Porphyrin and Their Conjugates as Photosensitizers.** *Molecules*, 20, 8893-8912, 2015.

VANCE, C. K.; MILLER, A.F. **A Simple Proposal That Can Explain the Inactivity of Metal-Substituted Superoxide Dismutases.** *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 461-467, 1998.

YANG, J. H.; CHEN, Y. M.; REN, Y. L.; BAI, Y. B.; WU, Y.; JANG, Y. S.; SU, Z. M.; YANG, W. S.; WANG, Y. Q.; ZAO, B.; LI, T. J. **Identification of H-aggregate in a monolayer amphiphilic porphyrin–TiO₂ nanoparticle heterostructure assembly and its influence on the photoinduced charge transfer.** *J. Photoch. Photobio.*, 134, 1-7, 2000.

ZHOU Y, LIANG X, DAI Z. **Porphyrin-loaded nanoparticles for cancer theranostics.** *Nanoscale*. 8,12394-405, 2016.

Apêndice A

Espectros eletrônicos UV-vis comparativos das porfirinas do tipo A₃B

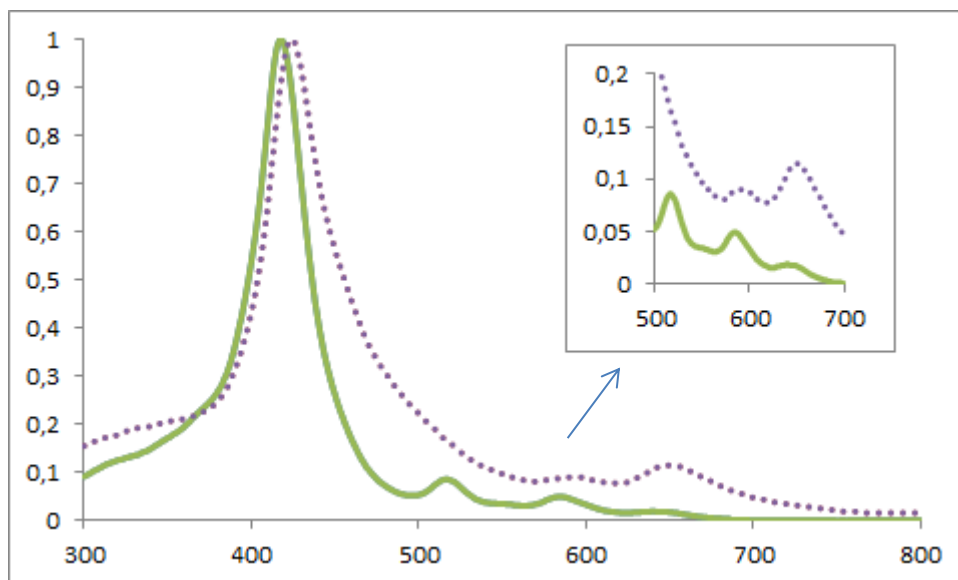


Figura A.1 – Espectros UV-vis da $H_2VanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em HCl 0,1 mol L⁻¹ (linha verde) e HCl 1 mol L⁻¹ (pontilhado roxo). A expansão compreende as bandas Q.

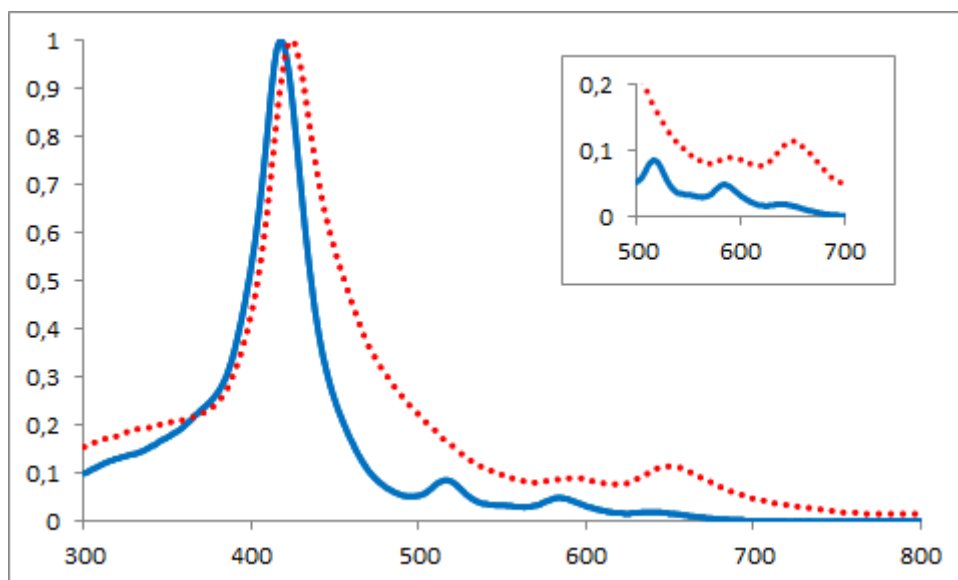


Figura A.2 – Espectros UV-vis da $H_2MVanTriM-2PyP^{3+}$ registrados em HCl 0,1 mol L⁻¹ (linha verde) e HCl 1 mol L⁻¹ (pontilhado vermelho). A expansão compreende as bandas Q.

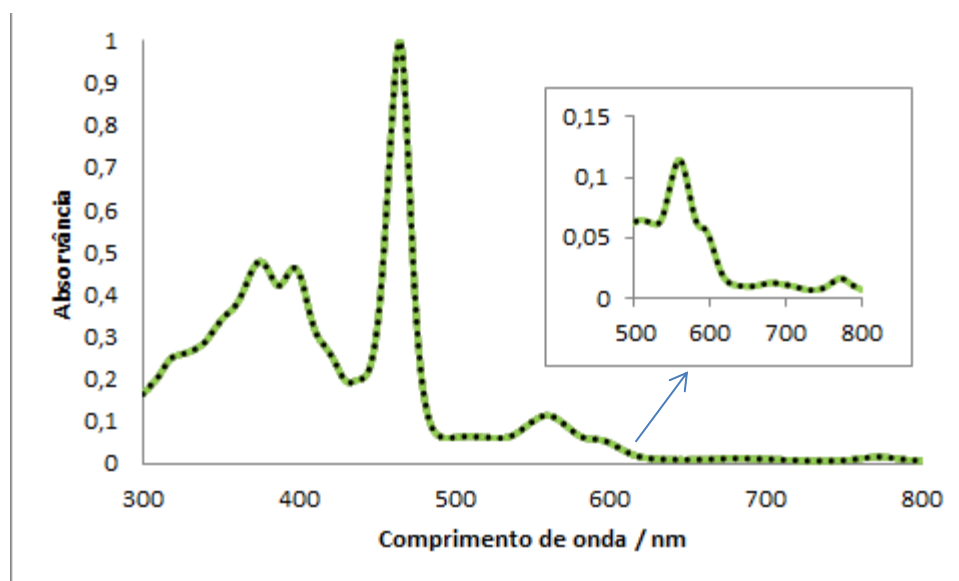


Figura A.3 – Espectro UV-vis dos resíduos da TGA/DTA coletados 120 °C MnVanTriM-2PyP³⁺ (linha verde) e H₂MVanTri-2-PyP (pontilhado preto) em H₂O.

Apêndice B

Espectros de RMN de ^1H das porfirinas de bases livres neutras do tipo A_3B

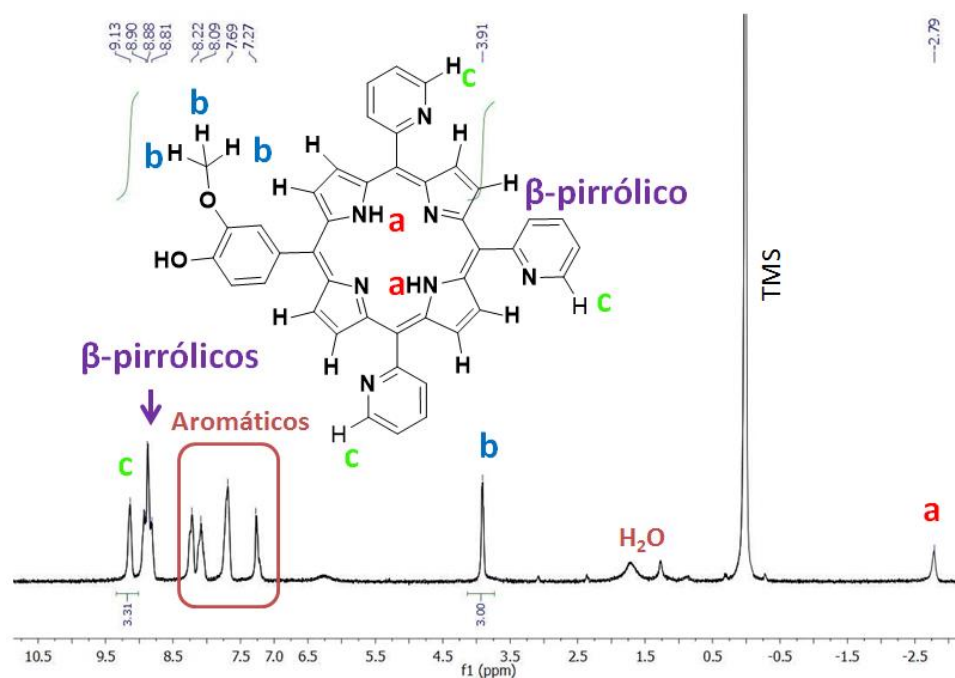


Figura B.1 - Espectro de RMN de ^1H de 200 MHz da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ registrado em CDCl_3 .

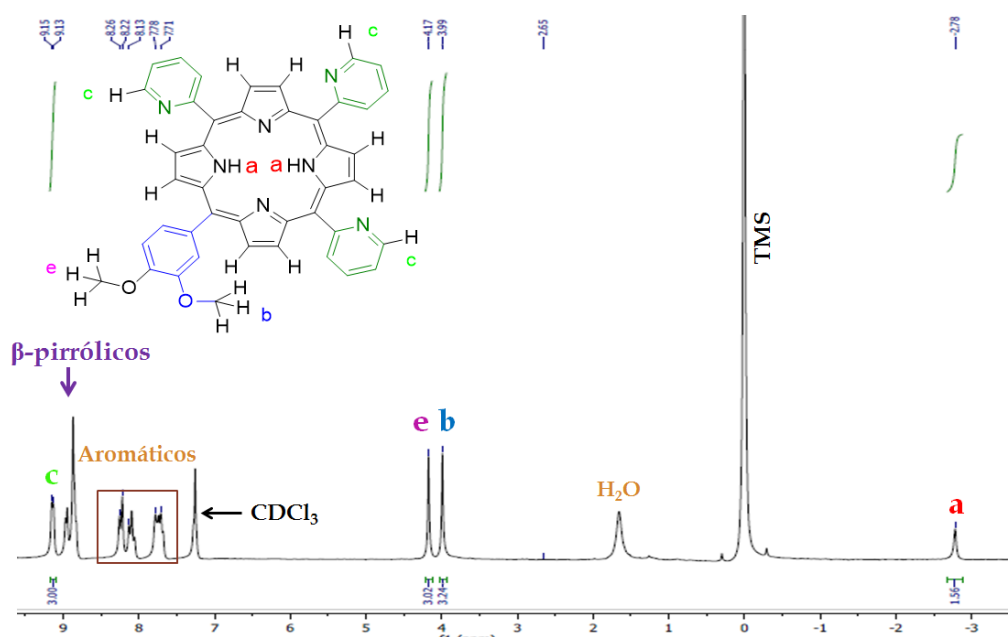
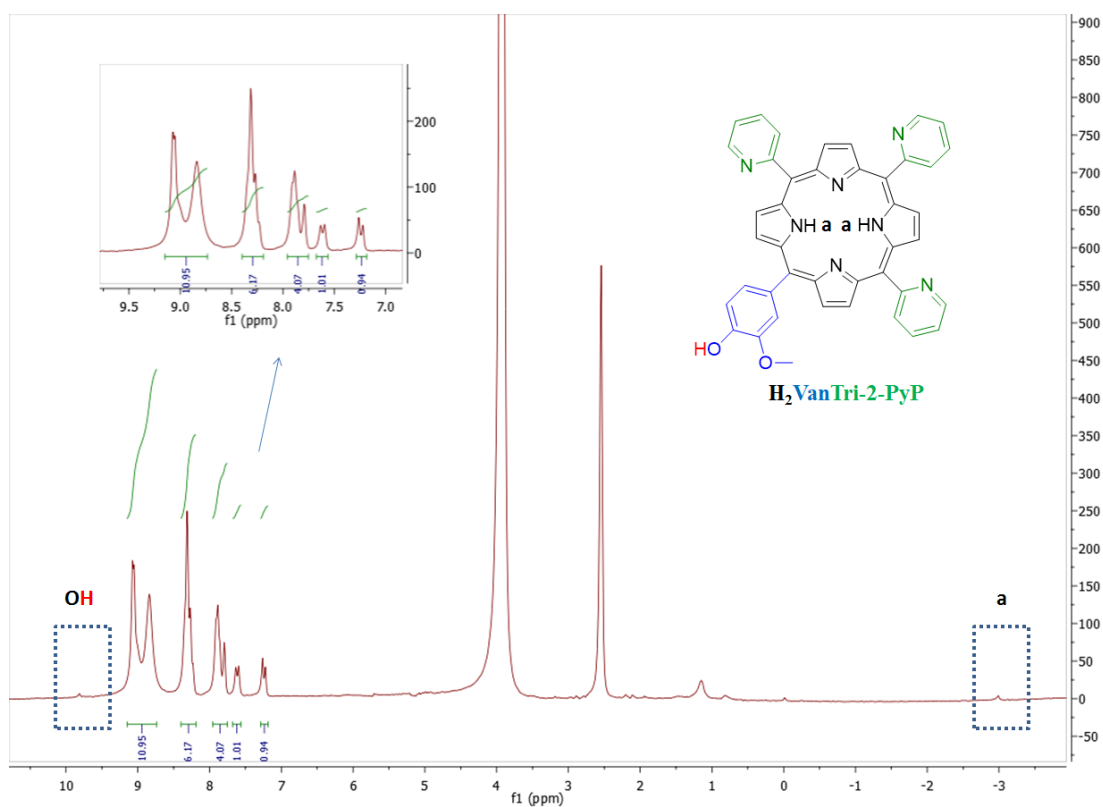
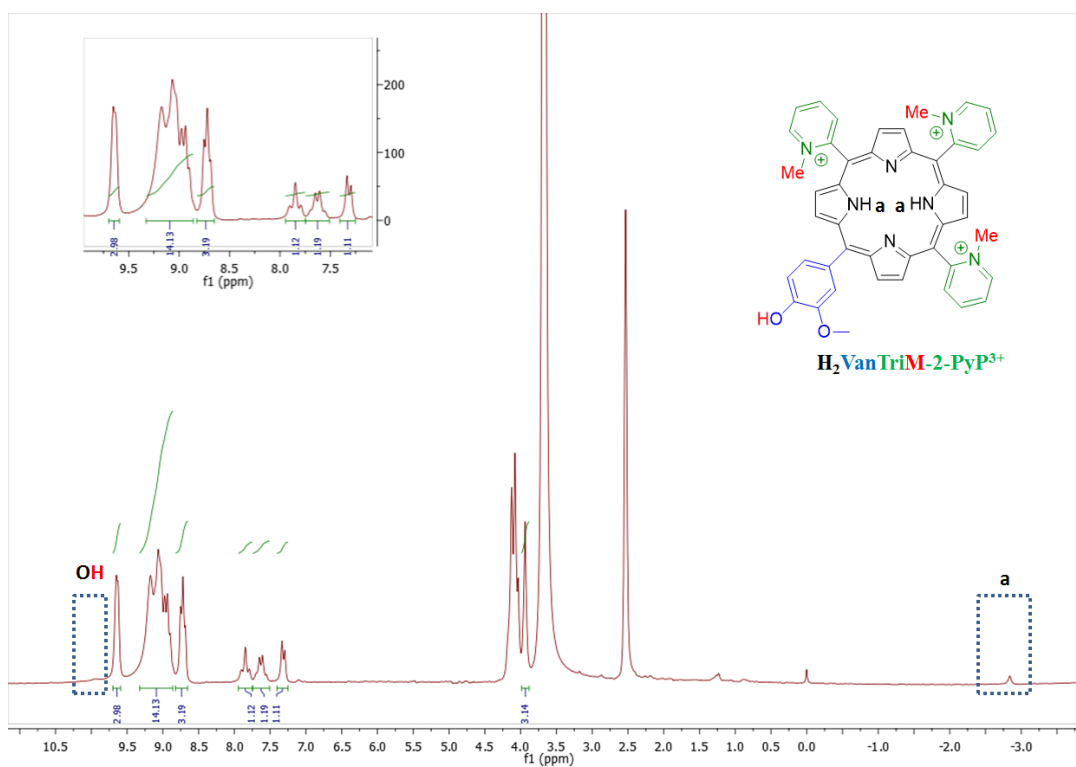


Figura B.2 - Espectro de RMN de ^1H de 200 MHz da $\text{H}_2\text{MVanTri-2-PyP}$ registrado em CDCl_3 .



Apêndice B.3 - Espectro de RMN ^1H 200 MHz da $\text{H}_2\text{VanTri-2-PyP}$ em $d^6\text{-DMSO} + \text{D}_2\text{O}$.



Apêndice B.4 - Espectro de RMN ^1H 200 MHz da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ em $d^6\text{-DMSO} + \text{D}_2\text{O}$.

Apêndice C

Espectros de RMN de ^1H das porfirinas de bases livres catiônicas do tipo A₃B

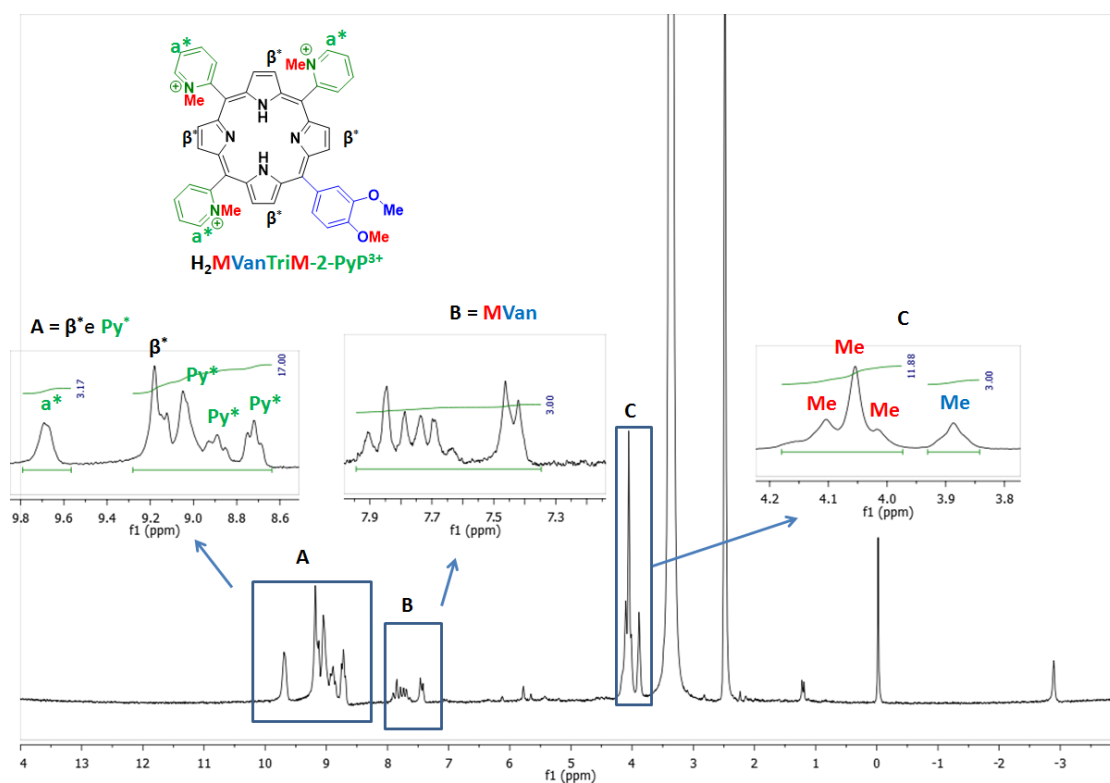


Figura C.1 - Espectro de RMN de ^1H 200 MHz da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ registrado em d^6 -DMSO. Expansão A= grupos β -pirrólicos e 2-*N*-metilpiridil, B = grupo veratril (MVan), C = mistura de sinais dos metilas (em vermelho) dos grupos 2-*N*-metilpiridil (atropoisomeria) e *para* OCH_3 do veratril; *meta* OCH_3 (azul).

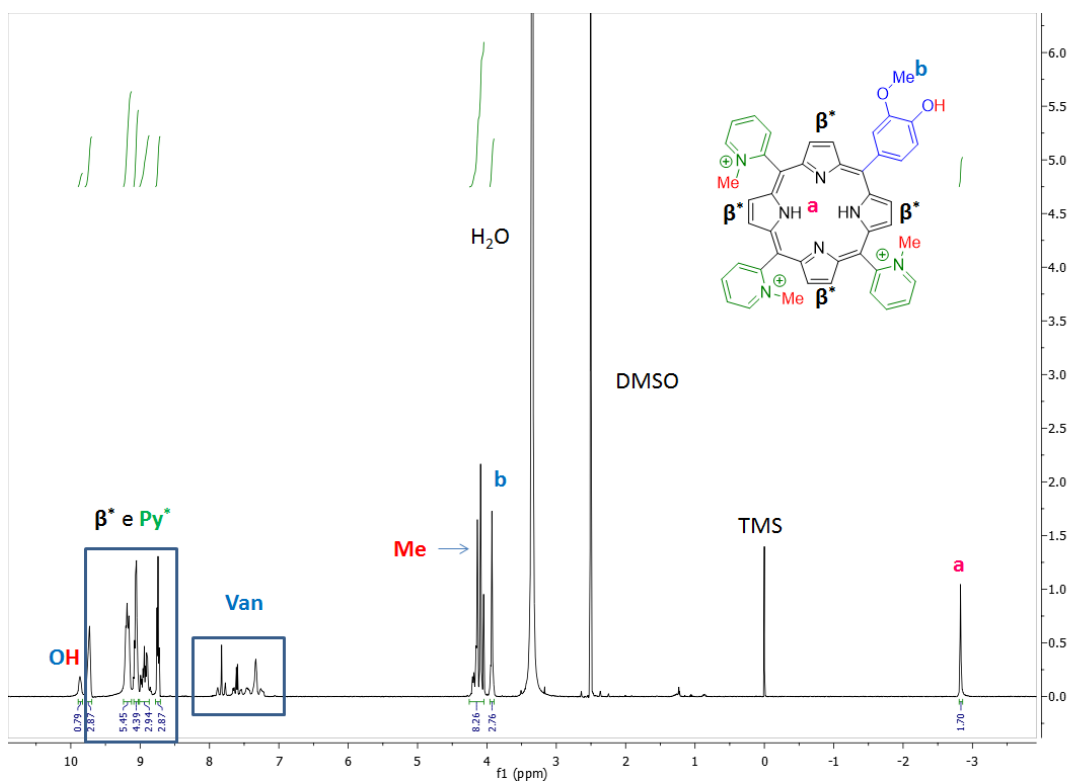


Figura C.2 - Espectro de RMN de ^1H 500 MHz da $\text{H}_2\text{VanTriM-2-PyP}^{3+}$ registrado em d^6 -DMSO.

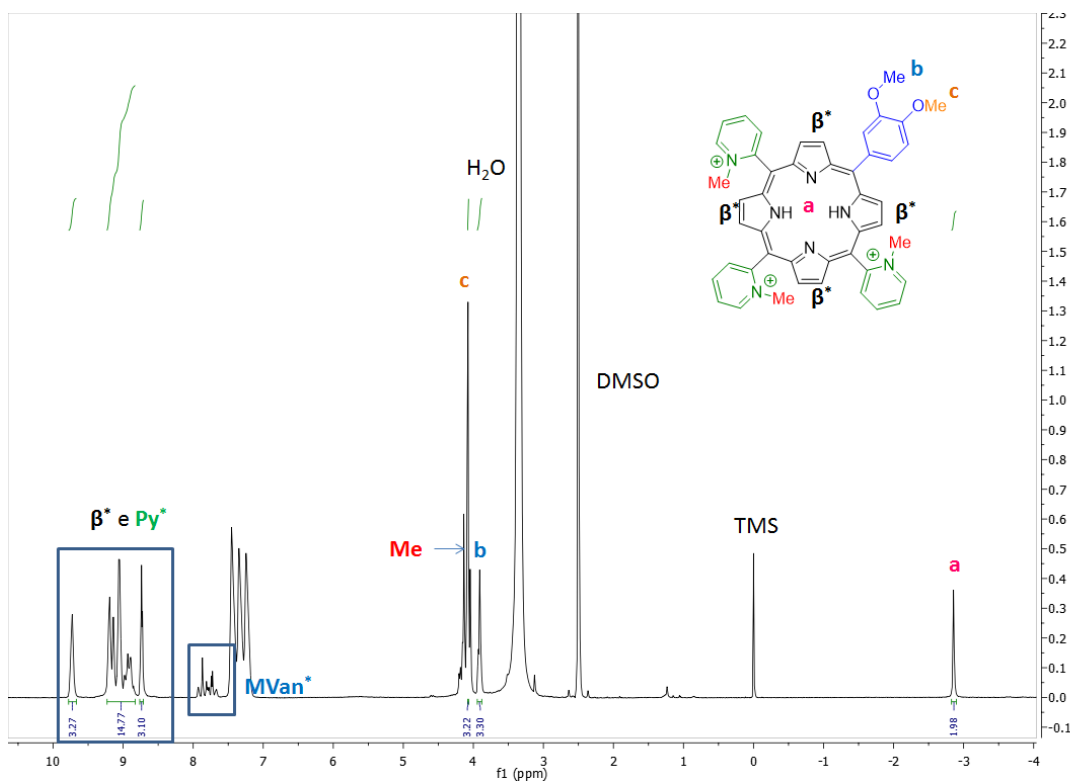


Figura C.3 - Espectro de RMN de ^1H 500 MHz da $\text{H}_2\text{MVanTriM-2-PyP}^{3+}$ registrado em d^6 -DMSO