

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANA CRISTINA CUNICO DALLAGNOL

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTOFÍSICA DE DERIVADOS PORFIRÍNICOS
CONJUGADOS ATRAVÉS DOS GRUPOS
TIOCARBAMIDA, TIOCARBAMATO E CARBAMATO**



CURITIBA

2014

JULIANA CRISTINA CUNICO DALLAGNOL

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTOFÍSICA DE DERIVADOS PORFIRÍNICOS
CONJUGADOS ATRAVÉS DOS GRUPOS
TIOCARBAMIDA, TIOCARBAMATO E CARBAMATO**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador:
Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves.

Co-orientadores:
Prof^a. Dr^a. Sandra Mara W. Barreira.
Prof. Dr. Diogo Ricardo Bazan Ducatti.

CURITIBA

2014

Dallagnol, Juliana Cristina Cunico

Síntese e avaliação fotofísica de derivados porfirínicos conjugados através dos grupos tiocarbamida, tiocarbonato e carbamato / Juliana Cristina Cunico Dallagnol – Curitiba, 2014.

154 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Alan Guilherme Gonçalves

Coorientadora: Professora Dra. Sandra Mara W. Barreira

Coorientador: Professor Dr. Diogo Ricardo Bazan Ducatti

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2014.

Inclui bibliografia

1. Porfirinas. 2. Glicoporfirinas. 3. Glicoconjugados. 4. Ultrassom.
- I. Gonçalves, Alan Guilherme. II. Barreira, Sandra Mara W.
- III. Ducatti, Diogo Ricardo Bazan. IV. Universidade Federal do Paraná.
- V. Título.

CDD 547.593

TERMO DE APROVAÇÃO

JULIANA CRISTINA CUNICO DALLAGNOL

Título: "SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTOFÍSICA DE DERIVADOS PORFIRÍNICOS CONJUGADOS ATRAVÉS DOS GRUPOS TIOCARBAMIDA, TIOCARBAMATO E CARBAMATO"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos.


Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves
Orientador


Prof.ª Dr.ª Jaísa Fernandes Soares
Universidade Federal do Paraná


Prof. Dr. Rodrigo de Paula
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Curitiba, 27 de janeiro de 2014.

Dedico este trabalho à minha família, por seu amor, incentivo e carinho. Meus eternos agradecimentos a vocês: Ewandro, pai Alcides, mãe Mari e irmã Carol.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, saúde e pelas oportunidades que colocou em meu caminho.

Ao meu marido Ewandro, pelo apoio incondicional, pelo incentivo, carinho e amor. Pelas conversas que sempre me deram força para continuar e buscar mais. Por me conceder o privilégio da convivência diária que me tornou uma pessoa melhor. Aos meus pais, Alcides e Marileuza, que sempre me ensinaram a importância da perseverança e da honestidade para conseguir chegar onde se quer; que me deram força nos momentos difíceis e que, sem questionamentos, me apoiaram em minhas decisões. A minha irmã Carol pelo apoio e paciência.

Aos meus orientadores, Professor Alan e Professor Diogo, pelos ensinamentos, pela disponibilidade e pela confiança. Agradeço pelo constante acompanhamento, pelas produtivas discussões e pelo otimismo que demonstraram durante a realização do trabalho. À Professora Sandra, por me conceder a oportunidade de participar do grupo no início, pelo acompanhamento do trabalho e pela amizade.

A todos os colegas que estão ou já passaram pelo grupo de pesquisa: Camila, Stephanie, Laís, Janaína da bioquímica, Íris, Amanda, Alexandre Orsato, Luize da farmacologia, técnica Juliana e os ICs Andressa Veiga, Michele Mila, Ramon e Luiz, pela amizade, companheirismo, apoio e paciência. Em especial à doutoranda Camila, por me ajudar nos ensaios fotofísicos.

Ao departamento de Bioquímica da UFPR, especialmente aos professores Miguel Nosedá, Maria Eugênia Duarte, Guilherme I. Sassaki, Marcelo Müller dos Santos e Luciano Fernandes Huergo, pela disponibilização do laboratório e dos equipamentos de RMN e espectrometria de massas. Aos alunos Lauro M de Souza, Arquimedes e Diego Popó pelo auxílio na aquisição dos espectros de massas e RMN. Ao departamento de Química da UFPR, na pessoa da técnica Grazielle, pelo auxílio nas análises de rotação óptica.

Aos membros da banca examinadora, professor Rodrigo De Paula e professora Jaísa Fernandes Soares pela disponibilidade e atenção.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, PRONEX-Carboidratos, Fundação Araucária pelo suporte financeiro e ao CNPq pela bolsa de estudos.

RESUMO

Porfirinas fazem parte de uma classe de substâncias denominadas fotossensibilizadores (FS), as quais são utilizadas na terapia fotodinâmica (TFD) com diversas finalidades, dentre elas para o tratamento do câncer. A citotoxicidade dos FS deve-se a geração de espécies reativas de oxigênio, em especial o oxigênio singlete, no tecido alvo após a irradiação dos mesmos. Com o intuito de solucionar alguns problemas associados à primeira geração de porfirinas, como a falta de pureza química, a baixa absorção de luz em comprimentos de onda adequados e a fotossensibilidade cutânea prolongada gerada por essas substâncias, inúmeras moléculas vêm sendo sintetizadas e estudadas. Essa segunda geração de porfirinas absorve em comprimentos de onda mais elevados (o que permite maior penetração da luz nos tecidos) e produz menos efeitos adversos comparados à primeira geração. Recentemente, tais moléculas têm sido conjugadas a carreadores, sendo reportadas como a terceira geração de FS. A ligação com motivos carboidratos específicos objetiva o acúmulo seletivo da droga nos tecidos tumorais e o aumento da hidrossolubilidade dos novos compostos. Neste trabalho reportou-se a síntese de seis novos derivados porfirínicos ligados através dos grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato, sendo três deles glicoporfirinas. Utilizaram-se técnicas convencionais e assistidas por ultrassom para obtenção das substâncias em questão. Os melhores rendimentos foram obtidos para síntese dos derivados glicoporfirínicos tiocarbamida (72 %) e carbamato (49 %). Para elencar as moléculas mais promissoras para utilização na TFD levou-se em consideração os rendimentos de síntese e os resultados de ensaios fotofísicos. Através dos dados obtidos neste trabalho pode-se constatar que os conjugados porfirínicos que possuem o motivo carbamato como grupo de ligação são os mais promissores para futuros estudo *in vitro* e *in vivo* em comparação com as demais moléculas estudadas. Esta constatação deve-se ao fato de que estes compostos apresentaram características desejadas para um bom FS, como por exemplo, a fotoestabilidade, o maior rendimento de oxigênio singlete e a não agregação em meio aquoso.

Palavras-chave: porfirinas, glicoporfirinas, glicoconjugados, ultrassom.

ABSTRACT

Porphyrins are chemical compounds known as photosensitizers (PS). They are used in photodynamic therapy (PDT) as anticancer agents, as well as in many other treatments. In order to solve some problems associated with the first generation of porphyrins (as lack of chemical purity, low light absorption on standard wavelengths and skin photossensibility) a number of new molecules have been developed and studied. In turn, the second generation of porphyrins absorbs in higher wavelengths (that allows a deeper tissue penetration of the light), also causing less side effects when compared with the first generation. Recently, the conjugation of PS to carriers is referred as the third generation PS, which currently represents an active research area. The binding of porphyrins with carbohydrates has the purpose of an enhancement on hydrosolubility and a selective accumulation within tumor tissue. In this work, it was reported the synthesis of six new porphyrin derivates bearing thiourea, thiocarbamate and carbamate linkers, including three glycoporphyrins. These compounds were synthesized by means of conventional or ultrasound-assisted synthesis methods. The best yields were obtained for glycoporphyrin thiourea (72 %) and carbamate (49 %). To select the most promising molecules for the use in PDT, it was considered both the synthesis yields and the photophysical evaluation. The results allowed to elect the porphyrin carbamate derivates as the most promising photosensitizers for future PDT *in vitro* and *in vivo* evaluation due to their photostability, higher oxygen singlet production and lack of self-assembling behavior in aqueous media.

Key-words: porphyrins, glycoporphyrins, glycoconjugates, ultrasound-assisted synthesis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	OBJETIVOS	20
1.1.1	Objetivo Geral	20
1.1.2	Objetivos Específicos	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1	PORFIRINAS	22
2.1.1	Estrutura química e nomenclatura	22
2.1.2	Propriedades fotofísicas	23
2.1.3	Porfirinas nos sistemas biológicos	25
2.1.4	Aplicação das porfirinas	25
2.1.5	Aspectos históricos da TFD	26
2.1.6	Princípios básicos da TFD	27
2.2	GLICOCONJUGADOS	30
2.2.1	Síntese de glicosídeos	31
2.2.2	Glicosídeos isotiocianato	35
2.3	SÍNTESE DE PORFIRINAS E GLICOPORFIRINAS	37
2.3.1	Síntese de porfirinas	38
2.3.2	Glicoporfirinas obtidas através da funcionalização de porfirinas	39
2.3.2.1	Síntese de aminoporfirinas e glicoconjugados via ligação amida	39
2.3.2.2	Síntese de porfirinas hidroxiladas e glicoconjugados via ligação éter e éster	42
2.3.3	Glicoporfirinas obtidas a partir de blocos estruturais	43
2.3.3.1	Derivados pirrólicos ou dipirranos glicosilados	43
2.3.3.2	Derivados aldeídicos glicosilados	45
2.4	GRUPO TIOCARBAMIDA, TIOCARBAMATO E CARBAMATO	46
3	MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1	PESQUISA DE ALTERNATIVAS SINTÉTICAS	49
3.2	SÍNTESE CONVENCIONAL	49
3.3	SÍNTESE OPERADA SOB ULTRASSOM	51
3.4	OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE E CÁLCULOS DE RENDIMENTOS	51
3.5	PURIFICAÇÃO	52
3.5.1	Extração	52
3.5.2	Cristalização	52
3.5.3	Cromatografia em sílica	52
3.6	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS DE SÍNTESE	53
3.6.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	53

3.6.2	Espectometria de massas	54
3.6.2.1	Ionização por dessorção a laser assistida por matriz acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF)	54
3.6.2.2	Ionização por eletrodispersão acoplada à espectrometria de massa (ESIMS)	54
3.6.3	Ultravioleta-visível	54
3.6.4	Determinação do poder rotatório específico	55
3.7	ENSAIOS FOTOFÍSICOS	55
3.7.1	Fotoestabilidade dos derivados porfíricos	55
3.7.2	Estudos de geração de oxigênio singlete.....	56
3.7.3	Estudo de agregação	57
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1	OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS PORFIRINAS 7 E 8	58
4.1.1	5-(4-aminofenil),10,15,20-trifenilporfirina 7	60
4.1.2	5-(4-hidroxifenil),10,15,20-trifenilporfirina 8	65
4.2	OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DOS ISOTIOCIANATO 9 E 10	68
4.2.1	2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato 9	69
4.2.2	Benzil isotiocianato 10	71
4.3	OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS PORFIRINAS 1-6	72
4.3.1	Otimização e síntese da glicoporfirina 1	74
4.3.2	Otimização e síntese da glicoporfirina 2 e glicoporfirina 3	75
4.3.3	Síntese dos conjugados benzil-porfíricos 4, 5 e 6	78
4.4	SÍNTESE ASSISTIDA POR ULTRASSOM	79
4.5	CARACTERIZAÇÃO DAS PORFIRINAS 1-6	81
4.5.1	Análise da conformação dos derivados porfíricos 1-6	84
4.6	ESTUDOS FOTOFÍSICOS.....	87
4.6.1	Absorção no UV-visível	88
4.6.2	Produção de O ₂ singlete.....	89
4.6.3	Fotoestabilidade	91
4.6.4	Estudo de agregação	98
5	CONCLUSÃO	101
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
	ANEXOS	112

LISTA DE ABREVIATURAS

- Ac:** grupo acetila
- AcOEt:** acetato de etila
- BF₃OEt₂:** trifluoreto de boro eterato
- Bn:** grupo benzila
- Bz:** grupo benzoila
- CCD:** cromatografia em camada delgada
- DHp:** Derivados da Hematoporfirina
- DMS:** dimetilsulfureto
- DDQ:** 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
- DMSO-d₆:** dimetilsulfóxido deuterado
- Et₂O:** éter etílico
- EtOH:** etanol
- FS:** fotossensibilizador.
- HSQC:** *Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy*
- HMBC:** *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*
- MALDI-TOF:** *Matrix-Assisted Laser-Desorption Time Of Flight*
- Me:** metila
- MeOH:** metanol
- MsO:** grupo mesilato
- mW/cm²:** miliWatt por centímetro quadrado
- Ph:** fenil
- RMN de ¹³C:** ressonância magnética nuclear de carbono-13
- RMN de ¹H:** ressonância magnética nuclear de hidrogênio-1
- SDS:** dodecil sulfato de sódio
- TA:** temperatura ambiente
- TEA:** trietilamina
- TFA:** ácido trifluoroacético
- TFD:** terapia fotodinâmica
- THF:** tetrahidrofurano
- TMS-NCS:** trimetilsilil isotiocianato
- TPP:** tetrafenilporfirina
- Ts:** grupo tosila

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Porfirinas conjugadas através dos grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato	20
Figura 2: Porfirinas funcionalizadas por grupos amino e hidroxila.	21
Figura 3: Derivados isotiocianatos.	21
Figura 4: Numeração do anel segundo a IUPAC (11) e segundo Ficher (12).....	22
Figura 5: Espectro de absorção no UV-vis típico de porfirinas.....	24
Figura 6: Mecanismos de geração de espécies reativas de oxigênio.	28
Figura 7: Substâncias sintetizadas a partir de derivados glicosil isotiocianatos.....	36
Figura 8: Galactoporfirina obtida por MATSUO et al. (2006).....	42
Figura 9: Semelhança estrutural entre as ligações tiocarbamato, tiocarbamida, carbamato e amida.....	46
Figura 10: Deslocamentos químicos no RMN de C ¹³ para isotiocianato e tiocianato.	71
Figura 11: Definição de “grupo de ligação” e “ligante” para os derivados porfirínico.	72
Figura 12: Espectro de massas atribuído ao derivado carbamida 106	75
Figura 13: RMN de H ¹ mostrando a integração dos sinais de H-1 do derivado 2 e 3	80
Figura 14: Fenômeno de Cavitação.	81
Figura 15: Estruturas genéricas das porfirinas 1-6	82
Figura 16: Sinais de RMN de H ¹ relativo ao H-N', H-1 e CH ₂ dos compostos 2 e 5	83
Figura 17: Isômeros <i>E</i> e <i>Z</i> dos grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato.	84
Figura 18: Possíveis rotâmeros do grupo glicosiltioureia	85
Figura 19: Conformação provável dos derivados porfirínicos.....	86
Figura 20: Reação entre DFIBF e ¹ O ₂ para formação do endoperóxido.....	89
Figura 21: Estruturas sugeridas para os agregados-H e -J para os porfirinas 1 e 4	100
Figura 22: Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 53	116
Figura 23: Espectro de massas da porfirina 53 , <i>m/z</i> = 660.8 [M+H] ⁺	116
Figura 24: Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 7	118
Figura 25: Espectro de massas da porfirina 7 , <i>m/z</i> = 630.6 [M+H] ⁺	118
Figura 26: Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 103	120
Figura 27: Espectro de massas da porfirina 103 , <i>m/z</i> = 673.119 [M+H] ⁺	120
Figura 28: Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 8	122
Figura 29: Espectro de massas da porfirina 8 , <i>m/z</i> = 631.103 [M+H] ⁺	122
Figura 30: Espectro de RMN de ¹ H do glicosídeo 42	125
Figura 31: Espectro de RMN de ¹³ C do glicosídeo 42	125
Figura 32: Espectro de RMN de H ¹ do glicosídeo 10	127
Figura 33: Espectro de RMN de C ¹³ do glicosídeo 9	127
Figura 34: Espectro de massas do glicosídeo 9 , <i>m/z</i> = 412,1 [M+H] ⁺	128
Figura 35: Espectro de RMN de ¹ H do composto 10	130
Figura 36: Espectro de massas de alta resolução da glicoporfirina 1	135
Figura 37: NOESY ¹ H- ¹ H - porfirina 1	135

Figura 38: Espectro de RMN de ^1H da porfirina 1	136
Figura 39: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 1	136
Figura 40: Espectro de massas de alta resolução da glicoporfirina 2	138
Figura 41: Espectro de RMN de ^1H da porfirina 2	139
Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 2	139
Figura 43: Espectros de RMN-NOE-1D. (a) Irradiação do sinal em 10,82 ppm. (b) Irradiação do sinal em 10,59 ppm	140
Figura 44: Espectro de massas de alta resolução da glicoporfirina 3	142
Figura 45: Espectro de RMN de ^1H da porfirina 3	143
Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 3	143
Figura 47: RMN presat H^1 – porfirina 3	144
Figura 48: RMN - NOESY ^1H - ^1H porfirina 3	144
Figura 49: RMN - HMBC ^1H - ^{13}C NRM porfirina 3	144
Figura 50: Espectro de massas de alta resolução da porfirina 4	146
Figura 51: RMN - NOESY ^1H - ^1H porfirina 4	146
Figura 52: Espectro de RMN de ^1H da porfirina 4	147
Figura 53: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 4	147
Figura 54: Espectro de massas de alta resolução da porfirina 5	149
Figura 55: Espectro de RMN de ^1H da porfirina 5	150
Figura 56: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 5	150
Figura 57: Espectros de RMN-NOE-1D da porfirina 5 (a) Irradiação do sinal em 10,55 ppm. (b) Irradiação do sinal em 4.86 ppm (c) Irradiação do sinal em 10,34 ppm (d) Irradiação do sinal em 4.71 ppm.....	151
Figura 58: Espectro de massas de alta resolução da porfirina 6	153
Figura 59: RMN - NOESY ^1H - ^1H - porfirina 6	153
Figura 60: Espectro de RMN de ^1H da porfirina 6	154
Figura 61: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 6	154

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Reação de glicosilação de Fischer aplicada a D-glucose.....	32
Esquema 2: Bromação de carbono anomérico.....	32
Esquema 3: β -piranosídeos a partir de derivados halogenados.....	33
Esquema 4: α -piranosídeos a partir de derivados halogenados.....	33
Esquema 5: Síntese de glicosídeos através de derivados glicosil tricloroacetamidas.....	34
Esquema 6: Exemplo de obtenção de glicosídeos através da aminação reductiva.....	34
Esquema 7: Exemplo de tioglicosídeos na síntese de glicoconjugados.....	35
Esquema 8: Estratégias gerais para síntese de derivados anoméricos glicosil isotiocianatos.....	36
Esquema 9: Estratégias para síntese de 6-desoxi-6-glicosil isotiocianatos.....	37
Esquema 10: Reação geral para formação de <i>meso</i> -tetrafenilporfirinas.....	38
Esquema 11: Nitração direta da TPP.....	40
Esquema 12: Ligação amida em conjugado porfirínico.....	41
Esquema 13: Síntese de glicoporfirina proposto por SOL et al. (2006).....	41
Esquema 14: Síntese de glicoporfirina proposta por LAVILLE et al. (2006).....	42
Esquema 15: Ligação éter para obtenção de glicoporfirinas (TOMÉ et al.,2005).....	43
Esquema 16: Ligação éster para obtenção de glicoporfirinas (TOMÉ et al.,2005).....	43
Esquema 17: Estratégia de síntese de glicoporfirinas através de dipirranos.....	44
Esquema 18: Estratégia para síntese de dipirranos via derivados ditioacetais.....	45
Esquema 19: Estratégia de síntese de glicoporfirinas através de aldeídos glicosilados.....	45
Esquema 20: Porfirinas conjugadas através do grupo de ligação tiocarbamida.....	47
Esquema 21: Porfirina conjugada através do grupo de ligação carbamato.....	48
Esquema 22: Síntese de conjugados através dos grupos de ligação tiocarbamida e tiocarbamato.....	48
Esquema 23: Rota sintética para obtenção da aminofenil-porfirina 7	49
Esquema 24: Rota sintética para obtenção da hidroxifenil-porfirina 8	50
Esquema 25: Rota sintética para obtenção da glicosil isotiocianato 9	50
Esquema 26: Síntese do benzil isotiocianato 10	50
Esquema 27: Síntese dos conjugados porfirínicos 1-6	51
Esquema 28: Mecanismo de ciclocondensação na síntese de porfirinas.....	59
Esquema 29: Gama de porfirinas formadas na reação de ciclocondensação a partir de dois aldeídos diferentes.....	60
Esquema 30: Quatro rotas sintéticas testadas para síntese da porfirina 7	61
Esquema 31: Polimerização do <i>p</i> -aminobenzaldeído.....	63
Esquema 32: Quatro rotas testadas para síntese da porfirina 8	66
Esquema 33: Mecanismos da síntese de derivados tiocianato e isotiocianato.....	69
Esquema 34: Metodologias para síntese dos derivados isotiocianato.....	70
Esquema 35: Síntese, deslocamentos químicos no RMN de H ¹ e isomerização do derivado benzil isotiocianato 10 e tiocianato 105	72

Esquema 36: Mecanismo de reação proposto para síntese das porfirinas glicoconjugadas....	73
Esquema 37: Compostos formados a partir da solução da glicoporfirina 2 em DMSO.....	77
Esquema 38: Mecanismo de hidrólise do grupo tiocarbamato	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Rendimentos obtidos em cada etapa de síntese para obtenção da porfirina 7	62
Tabela 2: Rendimentos globais para síntese da aminofenilporfirina 7	63
Tabela 3: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese porfirina 53	64
Tabela 4: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese da porfirina 7	65
Tabela 5: Rendimentos obtidos em cada etapa sintética na obtenção da porfirina 8	67
Tabela 6: Rendimentos globais obtidos na síntese da porfirina 8	67
Tabela 7: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese da porfirina 103	67
Tabela 8: Comparativo entre os rendimentos da literatura para síntese do derivado 9	70
Tabela 9: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese do derivado 9	70
Tabela 10: Rendimentos e condições sintéticas empregadas na síntese da glicoporfirina 1	74
Tabela 11: Rendimentos e condições empregadas na síntese da glicoporfirina 2 e 3	76
Tabela 12: Rendimentos e condições empregadas na síntese das porfirinas 4 , 5 e 6	79
Tabela 13: Comparativos entre os rendimentos obtidos por síntese convencional e reações assistidas por ultrassom em termos de rendimento percentual molar.....	80
Tabela 14: Sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das Porfirinas 1-6	82
Tabela 15: Rendimentos quânticos de oxigênio singlete ($\Phi\Delta$).	94

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1:** Espectro de absorção no UV-Vis das Bandas Q das porfirinas **1-8**. *Plot* da absorvidade molar (ϵ) *versus* comprimento de onda (λ) empregando concentrações de porfirinas de 12 $\mu\text{mol/L}$ em DMSO. *Inset*: Band Soret..... 88
- Gráfico 2:** Porcentagem de decaimento da absorbância em 415 nm após irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. As soluções irradiadas consistiram de DFIBF 50 $\mu\text{mol/L}$ e porfirinas a 0,5 $\mu\text{mol/L}$ em DMF/ H_2O (9:1). 90
- Gráfico 3:** Decaimento da absorbância do DFIBF na presença de azul de metileno após irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. DFIBF a 50 $\mu\text{mol/L}$ e azul de metileno a 0,5 $\mu\text{mol/L}$ em DMF/ H_2O (9:1). 92
- Gráfico 4:** Decaimento da absorbância do DFIBF na presença da Porfirina **3** após irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. DFIBF a 50 $\mu\text{mol/L}$ e porfirina a 0,5 $\mu\text{mol/L}$ em DMF/ H_2O (9:1). 92
- Gráfico 5:** *Plot* do logaritmo natural da absorbância do DFIBF (y) *versus* tempo de irradiação (x) das porfirinas **1-6** e do padrão azul de metileno. Irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. DFIBF a 50 $\mu\text{mol/L}$; porfirinas e azul de metileno a 0,5 $\mu\text{mol/L}$ em DMF/ H_2O (9:1). 93
- Gráfico 6:** Porcentagem do decaimento da banda Soret na ausência de irradiação referente à estabilidade dos compostos em meio aquoso. Soluções de porfirinas obtidas a partir das soluções estoque (1 mmol/L em DMSO) na concentração de 10 $\mu\text{mol/L}$ em H_2O 95
- Gráfico 7:** Porcentagem do decaimento da banda Soret na ausência de irradiação referente à estabilidade dos compostos **1** e **4** em solução de SDS 0,1 $\text{mg}/100\text{ml}$. Soluções de porfirinas obtidas a partir das soluções estoque (1 mmol/L em DMSO) na concentração de 10 $\mu\text{mol/L}$... 96
- Gráfico 8:** Porcentagem do decaimento da banda Soret após irradiação a 100 mW/cm^2 referente à fotoestabilidade dos derivados porfirínicos. Soluções de porfirinas obtidas a partir das soluções estoque (1 mmol/L em DMSO) na concentração de 10 $\mu\text{mol/L}$ em H_2O 97
- Gráfico 9:** Espectro de UV-*vis* dos compostos **1** (a) e **4** (b) em diferentes concentrações de porfirinas. *Plot* da absorbância (y) *versus* comprimento de onda (x)..... 99
- Gráfico 10:** *Plot* da área da intensidade da emissão (y) *versus* concentração (x) das porfirinas **1** (linha solidada) e **4** (linha pontilhada). Círculos e triângulos representam os pontos experimentais. 99

1 INTRODUÇÃO

Porfirinas constituem uma classe de compostos orgânicos definida por uma estrutura macrocíclica que apresenta duplas ligações conjugadas e que contém quatro subunidades pirrólicas unidas por carbonos metínicos (MILGROM, 1997). Estes compostos fazem parte de uma classe de substâncias denominadas fotossensibilizadores (FS), os quais apresentam a capacidade de absorver energia de uma fonte luminosa e a transmitirem para componentes do meio.

As porfirinas apresentam diversas aplicações na medicina (dentre elas o tratamento do câncer), sendo sua ação terapêutica decorrente da citotoxicidade destas moléculas. Apesar do exposto anteriormente, estas substâncias não podem ser classificadas como agentes quimioterápicos comuns, e sim como agentes fototerápicos, sendo aplicados na denominada terapia fotodinâmica (TFD). Assim, sua ação está condicionada a presença de luz. Estes compostos absorvem energia diretamente de uma fonte luminosa, em um comprimento de onda específico, e a transmite ao oxigênio molecular, gerando espécies reativas de oxigênio *in situ* (BROWN et al., 2004; DETTY et al., 2004).

Alguns compostos porfirínicos de primeira geração, constituídos por derivados da hematoporfirina, são aprovados em países com Estados Unidos e Japão para o tratamento de alguns tipos de câncer, como câncer de pele, bexiga, pulmão, esôfago e intestino (BROWN et al., 2004). Apesar destes FS de primeira geração terem sido objeto de vastos ensaios clínicos e estarem no mercado, eles ainda apresentam alguns problemas, dentre eles a baixa seletividade para com o tecido alvo, geram fotossensibilidade cutânea durante algumas semanas (devido a sua lenta eliminação), apresentam fraca fotoativação quando irradiados com luz na região de comprimento de onda do vermelho (na qual a penetração da luz nos tecidos é maior) e apresentam-se como uma mistura variável de compostos, não tendo sido possível isolar nem definir o principal ativo (BONNET, 1995; O'CONNOR et al., 2009).

Com o intuito de solucionar os problemas associados à primeira geração de porfirinas, inúmeras moléculas foram sintetizadas e estudadas. Essa denominada segunda geração de porfirinas absorve em comprimentos de onda mais elevados (o que permite que sejam ativadas em tecidos mais profundos) e produz menos efeitos adversos comparados à primeira geração. Recentemente, tais moléculas têm sido conjugadas a carreadores, sendo então reportadas como a terceira geração de FS (O'CONNOR et al., 2009; PANDEY, ZHENG, 2000). Neste sentido, a ligação de carboidratos na estrutura porfirínica apresenta-se como uma alternativa bastante promissora para a estratégia de síntese de FS melhores.

Glicoporfirinas possuem maior hidrossolubilidade quando comparadas a outras porfirinas. Essa característica confere a esses compostos vantagens do ponto de vista farmacotécnico, por facilitar a incorporação em diferentes formas farmacêuticas, e do ponto de vista farmacocinético, uma vez que aumenta a velocidade de distribuição e eliminação da droga. Além disso, porções glicídicas específicas podem auxiliar no endereçamento do fármaco ao tecido desejado pela ligação com receptores presentes nas membranas celulares (MACMILLAN et al., 2003; CHUNG et al., 2005; JAIN et al., 2012). Além disto, células tumorais apresentam maior concentração de lectinas (proteínas ligantes de carboidratos) em sua membrana celular o que contribui para o acúmulo preferencial da droga nos tecidos malignos.

Considerando o potencial terapêutico das glicoporfirinas, diversos pesquisadores (CASIRAGUI et al., 1994; CARRÉ et al., 1999; TOMÉ et al., 2005; SOL et al., 2006; CAVALEIRO et al., 2007; ETHIRAJAN et al., 2011; GARCIA et al., 2011) têm realizado esforços para obtenção destes derivados. Em muitos casos estes compostos são obtidos por reações de adição entre porções porfirínicas e glicídicas previamente funcionalizadas, gerando glicoconjugados.

A natureza dos grupos de ligação mais comumente empregados na síntese de glicoporfirinas envolve ligações do tipo éter, éster e triazol, porém alternativas para essas ligações vêm sendo estudadas uma vez que processos de deglicosilação (LAVILLE, et al., 2004) e redução da atividade biológica (LAFONT, et al., 2013) já foram relatados empregando-se os motivos de ligação anteriormente citados. De fato, a estrutura do grupo de ligação e a natureza química das porções ligadas ao macrociclo porfirínico são notoriamente capazes de influenciar as propriedades biológicas, químicas e fotofísicas (TAI, et al., 2013) do FS e a compreensão acerca deste assunto ainda é um desafio para os pesquisadores da área.

A estratégia de ligação porfirina-carboidrato através de grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato apresenta-se bastante promissora e ainda não explorada para síntese desse tipo de conjugado, sendo interessante aprimorar e demonstrar a versatilidade desse método de conjugação aplicado à química de porfirinas. A formação do grupo tiocarbamida, por exemplo, já é há muito empregada para unir diferentes moléculas. Esta estratégia foi primeiramente explorada para a ligação de marcadores fluorescentes em biomoléculas sensíveis. A robustez e versatilidade deste grupo de ligação fez com que o mesmo se tornasse comum na conjugação de carreadores a moléculas bioativas (HERMANSON, 1996). Embora este e outros grupos estruturalmente relacionados (grupos tiocarbamato e carbamato) possam ser obtidos através de condições reacionais bastante brandas e utilizando-se substratos

bastante simples, há poucos exemplos da utilização destes grupos na síntese de derivados porfirínicos (CLARKE, BOYLE, 1999; SILVA et al., 2010).

Tendo em vista a necessidade de avanços na descoberta de novos agentes terapêuticos, são justificáveis os esforços no desenvolvimento de novos métodos de síntese e a investigação da aplicabilidade de novos derivados porfirínicos. No presente trabalho demonstrou-se a síntese de derivados porfirínicos e glicoporfirínicos através da conjugação e formação dos grupos de ligação tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato, bem como foi evidenciada (através de avaliações fotofísicas) a potencialidade de alguns dos derivados obtidos para o uso na TFD.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Sintetizar novos derivados porfirínicos e glicoporfirínicos explorando a conjugação através dos grupos tiocarbamida (estruturas **1** e **4**), tiocarbamato (estruturas **2** e **5**) e carbamato (estruturas **3** e **6**) (Figura 1).

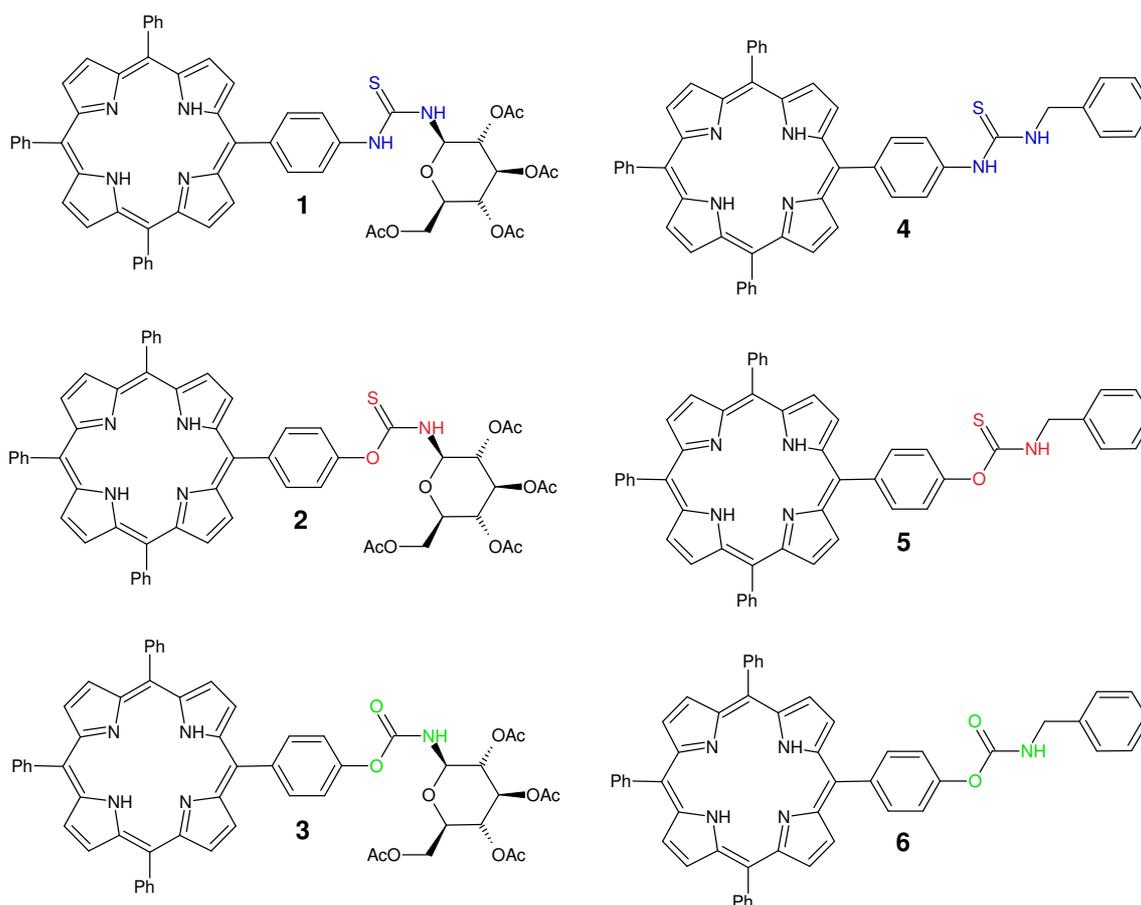


Figura 1: Porphirinas conjugadas através dos grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato

1.1.2 Objetivos Específicos

- Planejar, desenvolver e otimizar a síntese de derivados porfirínicos mono-substituídos por grupos nucleofílicos polares, especificamente com função amino (porfirinas **7**) e hidroxila (porfirina **8**) que possibilitem a ligação com derivados isotiocianato (Figura 2);

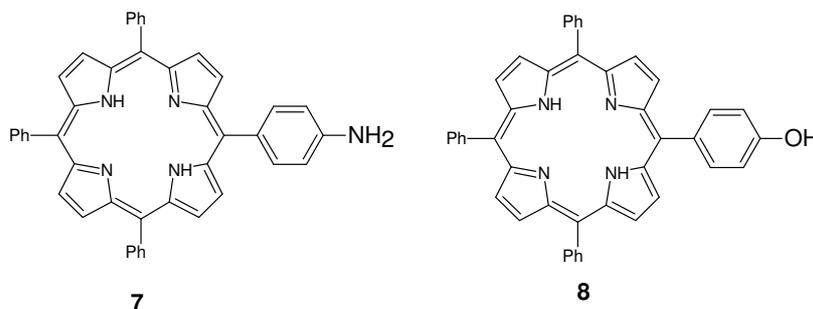


Figura 2: Porphirinas funcionalizadas por grupos amino e hidroxila.

- Planejar, desenvolver e otimizar a síntese de derivados isotiocianato glicosídico (composto **9**) e não glicosídico (benzil isotiocianato **10**) que possibilitem a ligação com porfirinas funcionalizadas (Figura 3);

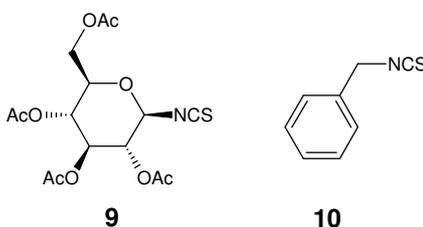


Figura 3: Derivados isotiocianatos.

- Otimizar a síntese dos derivados porfirínicos conjugados (substâncias **1-6**);
- Realizar a síntese dos conjugados assistida por ultrassom;
- Caracterizar quimicamente os novos derivados porfirínicos obtidos;
- Avaliar a influência do tipo de grupo de ligação e do substituinte nas características químicas, na fotoestabilidade, geração de oxigênio singlete e agregação dos conjugados porfirínicos sintetizados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PORFIRINAS

2.1.1 Estrutura química e nomenclatura

Quimicamente as porfirinas são macrociclos heterogêneos, planares e conjugados, formadas por quatro subunidades pirrólicas interconectadas por carbonos metínicos.

O macrociclo central apresenta 20 átomos de carbono e 4 átomos de nitrogênio e essa estrutura não substituída recebe o nome de porfina (composto **11**). A Figura 4 apresenta a numeração do anel sugerida pela IUPAC para uma nomenclatura sistemática (IUPAC, 1960).

Por se tratar de uma estrutura complexa, outros sistemas de nomenclatura foram criados, com destaque para a nomenclatura criada por Fischer. Nesse sistema as posições 5, 10, 15 e 20 (Figura 4), que correspondem aos carbonos metínicos, são denominadas de posições *meso*, e representados pelas letras gregas α , β , γ , δ . De maneira semelhante, as posições 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19 são denominadas posições α -pirrólicas e as posições 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 são denominadas posições β -pirrólicas. A Figura 4 mostra esquematicamente esse sistema de nomenclatura. Ainda, algumas simplificações para nomenclatura são muito utilizadas, como por exemplo, o prefixo “tetraquis” para porfirinas com quatro substituintes iguais nas posições *meso* (MILGROM, 1997).

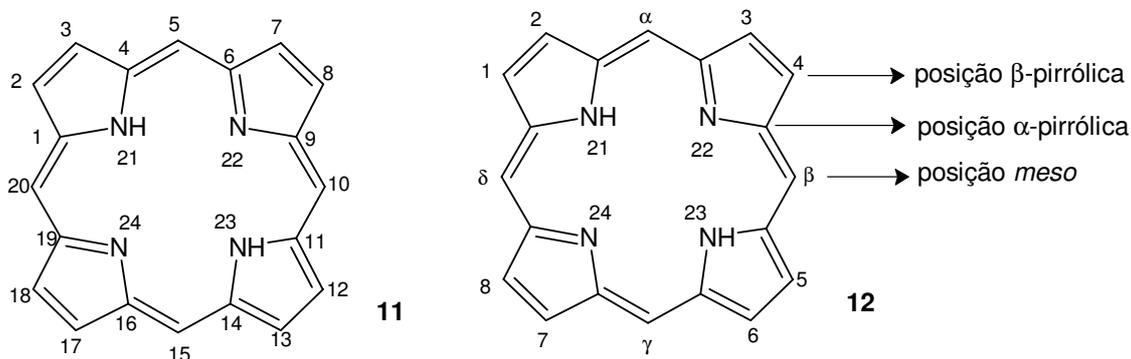


Figura 4: Numeração do anel segundo a IUPAC (**11**) e segundo Fischer (**12**)

2.1.2 Propriedades fotofísicas

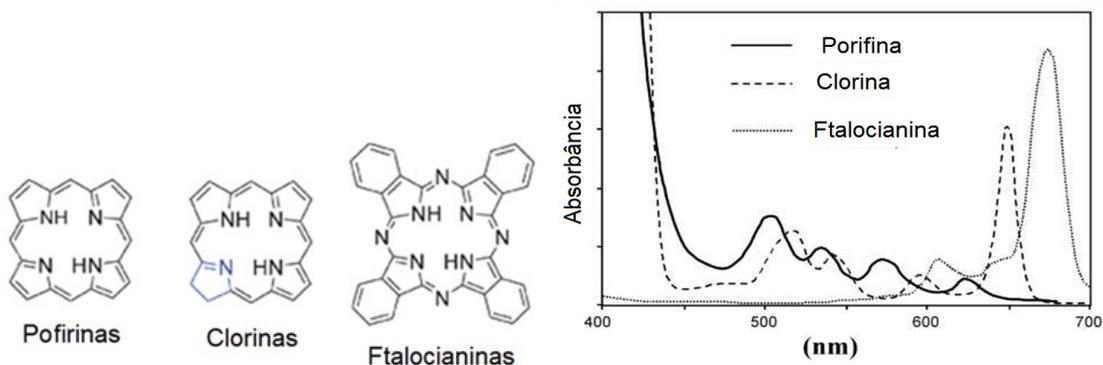
Porfirinas e algumas classes de compostos estruturalmente relacionadas (como clorinas e ftalocianinas) apresentam propriedades fotofísicas peculiares e já bem estabelecidas, como, por exemplo, a região do espectro na qual são capazes de absorver (Fig. 5a). A avaliação de parâmetros como absorção no UV-visível, a emissão de fluorescência e o desvio destes parâmetros em condições determinadas vem sendo utilizada como um instrumento para avaliar a potencialidade de compostos como agentes FS. Por envolver ensaios simples e baratos, a avaliação fotofísica tornou-se bastante popular nos estágios iniciais do desenvolvimento de novos FS haja vista os inúmeros estudos que já permitiram relacionar estes parâmetros com resultados de atividade biológica (*in vitro*) (GUO et al., 2008; TAI, et al., 2013).

O espectro na região do UV-visível típico de porfirinas é caracterizado pela presença de uma banda bastante intensa característica, a cerca de 400 nm, denominada banda Soret e ainda outras bandas satélites, de menor intensidade e em maiores comprimentos de onda, denominadas bandas Q. Apesar de a estrutura básica do anel porfirínico apresentar 22 elétrons π apenas 18 deles participam da ressonância (Fig. 5b). A banda Soret reflete a presença destes 18 elétrons π deslocalizados. As bandas Q são denominadas de IV, III, II, e I em comprimentos de onda crescentes. O número e intensidade relativa das bandas Q podem ser relacionados, no caso de macrociclos não complexados, com os substituintes presentes nas posições *meso* e β -pirrólicas, ou, no caso de complexos, com estabilidade do íon metálico central (BONNET, 1995; MILGROM, 1997). O espectro de absorção que apresenta bandas Q $IV > III > II > I$ é chamado de espectro do tipo *etio*. Este perfil de absorção é comum em porfirinas *meso*-substituídas ou em porfirinas cujos substituintes das posições β -pirrólicas são grupos alquila. Quando grupos elétron retiradores são inseridos nas posições β -pirrólicas diferentes padrões de intensidade das bandas Q são visualizados. Quando o espectro apresenta bandas Q $III > IV > II > I$ é denominado do tipo *rhodo*, quando o perfil de intensidade é $III > II > IV > I$ é dito do tipo *oxo-rhodo* e quando apresenta um perfil no qual a intensidade segue a ordem $IV > II > III > I$ é dito, então, do tipo *phyllo* (Fig. 5c).

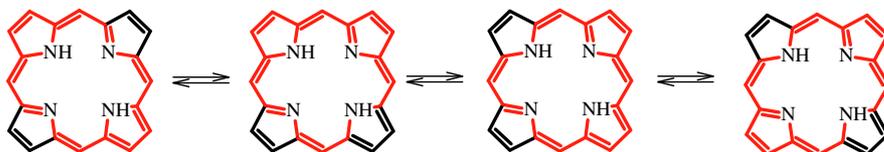
A região do comprimento de onda na qual se encontram as bandas Q de determinado FS é importante e pode refletir seu efeito biológico. Um dos objetivos dos pesquisadores da área é planejar novos compostos que apresentem essas bandas deslocadas para comprimentos de ondas maiores (próximo ao comprimento de onda do vermelho). Nos comprimentos de onda próximos a 700 nm a luz apresenta maior

penetração no tecido e garante, assim, que o fotossensibilizador gere um rendimento apreciável de oxigênio singleto no tecido (O'CONNOR et al., 2009).

(a)



(b)



(c)

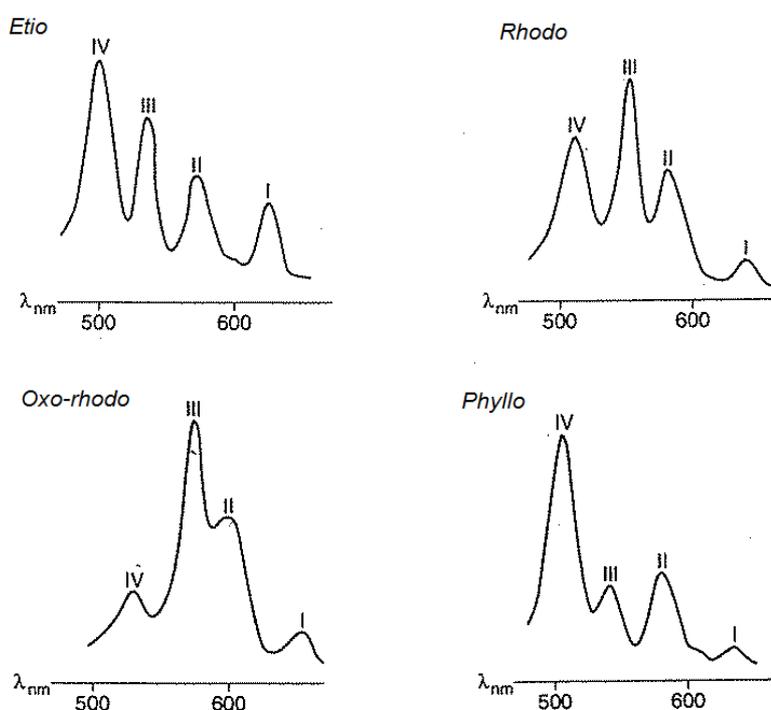


Figura 5: Propriedades fotofísicas. (a) Espectro de absorção no UV-Vis de diferentes classes de fotossensibilizadores (b) Tautomerismo do anel porfirínico; (c) Perfil de intensidades das bandas Q de porfirinas.

FONTE: MILGROM, 1997

2.1.3 Porfirinas nos sistemas biológicos

Nos sistemas biológicos, as porfirinas participam de importantes processos bioquímicos, tais como: transporte de oxigênio na hemoglobina, armazenamento de oxigênio na mioglobina, participação na cadeia transportadora de elétrons no citocromo C, na catálise de reações de hidroxilação e epoxidação no citocromo P-450 e fotossíntese. Alguns metais encontrados em sistemas biológicos formam complexos estáveis e podem estar associados a porfirinas ou outros macrociclos estruturalmente semelhantes ao anel porfirínico. Como exemplos desta associação destacam-se o ferro na hematoporfirina, o magnésio na clorofila (LEHNINGER et al., 2006).

2.1.4 Aplicação das porfirinas

Porfirinas são agentes fotossensibilizadores, podendo ser empregadas clinicamente na chamada terapia fotodinâmica (TFD). Essa modalidade terapêutica visa a destruição localizada de células alvo ou tecido anormal, partindo do princípio de que a interação de luz de comprimento de onda adequado com um composto fotossensibilizador (FS) e oxigênio tecidual resulta em espécies reativas capazes de induzir a inviabilização dessas células (BROWN , 2004; DETTY et al., 2004).

Terapeuticamente, esses compostos são aplicados no tratamento da psoríase e da acne (ROSA, CRUTCHLEY, 2002; BONNET, 1995; STERNBERG et al., 1998), embora encontrem sua aplicação mais importante no tratamento de neoplasias (BROWN et al., 2004; VIOLA et al., 1997). Além dessas aplicações, diversos estudos tem revelado a ação de derivados porfirínicos como agentes fungicidas (CARRÉ et al., 1999), virucidas (TOMÉ et al., 2005) e bactericidas (CARVALHO et al., 2007).

Além da área medicinal, as porfirinas podem ser aplicadas em catálises químicas (DE PAULA et al., 2011; DE PAULA et al., 2008), no tratamento de efluentes (COSTA et al., 2008), como modelos de sistemas fotossintéticos (SOLLADIÉ et al., 2000), transportadores artificiais de oxigênio (KOMATSU et al., 2005) e sensores químicos (LEE, HUPP, 2006; PURRELLO et al., 1999). Na medicina diagnóstica, as porfirinas têm sido estudadas clinicamente como fotomarcadores, por exemplo, no diagnóstico do câncer (PAPAZOGLU, 1995; MIYOSHI, 2004).

Atualmente a TFD utiliza os derivados da hematoporfirina (DHp), os quais são classificados como “fotossensibilizadores de primeira geração”. O Photosan®, Photogem® e Photofrin® são algumas das suas denominações comerciais. Apesar de os fotossensibilizadores de primeira geração terem sido objeto de vastos ensaios

clínicos e estarem no mercado, eles ainda apresentam alguns problemas, dentre eles a baixa seletividade para com o tecido alvo, geram fotossensibilidade cutânea durante algumas semanas, apresentam fraca fotoativação quando irradiados com luz na região de comprimento de onda do vermelho (na qual a penetração da luz nos tecidos é maior) e apresentam uma mistura variável de compostos, não tendo sido possível isolar nem definir o principal ativo (BONNET, 1995; O'CONNOR et al., 2009). Tais dificuldades enfrentadas pelos tratamentos atuais empregando porfirinas incentivam vários grupos de pesquisa a desenvolver novos derivados sintéticos ou semi-sintéticos capazes de minimizar os efeitos indesejados e tornar o tratamento mais seletivo (CAVALEIRO et al., 2007; ETHIRAJAN et al., 2011; GARCIA et al., 2011).

2.1.5 Aspectos históricos da TFD

As porfirinas não são as únicas e nem foram as primeiras drogas empregadas na TFD. Essa modalidade de tratamento data da antiguidade, desde a medicina Indu, onde se utilizava da seiva de algumas plantas e o sol para o tratamento de vitiligo. O uso de psoralenos presentes na folha de figo e de outras plantas associados à exposição à luz também é um exemplo do efeito fotodinâmico empregado à medicina (PATHAK; FITZPATRICK, 1992). Estudos mais aprofundados foram realizados em 1900, quando Oscar Raab, em seu trabalho de doutorado, observou que a combinação de luz com o corante acridina era letal para o micro-organismo *Paramecium sp.* (RAAB, 1900). Os primeiros estudos sobre a aplicação do efeito fotodinâmico no tratamento de tumores em humanos foram feitos no início do séc. XX por TAPPENIER e JESIONEK (1903), empregando eosina como fotossensibilizador. Embora os resultados tenham sido positivos, esse trabalho não teve continuidade. Onze anos mais tarde, POLICARD (1924) relatou os primeiros achados que incentivaram o uso das porfirinas como agentes antineoplásicos. Ele constatou que as porfirinas acumulavam-se em tumores malignos, reportando também que essas porfirinas eram atóxicas na ausência de luz, porém, tornavam-se altamente nocivas ao tecido na presença de luz visível.

Em meados dos anos 1960, LIPSON (1966) reportou um caso de tratamento bem-sucedido de câncer de mama, empregando DHp e irradiação seletiva do tumor com luz visível. Mais tarde, a partir dos trabalhos de DOUGHERTY e colaboradores (1998), a TFD passou a ser reconhecida como uma alternativa para o tratamento de câncer, tendo sido empregada com sucesso no tratamento de tumores sólidos, além de outras condições clínicas. Thomas Dougherty foi um dos principais fundadores do

mais avançado centro de TFD, vinculado ao *Roswell Park Cancer Institute*, na cidade de Buffalo, nos Estados Unidos (RICHTER et al., 1994).

No Brasil, os estudos em TFD começaram a ganhar espaço a partir de 1987, nas teses de mestrado e doutorado de Denise Maria Zezell, orientada por Jorge Humberto Nicola, na Universidade Estadual de Campinas. Em 2002, houve o 1º Encontro sobre TFD, ocorrido em Águas de São Pedro/SP. Atualmente, a TFD já ocupa um espaço relativamente grande, com alguns grupos em diferentes universidades e centros de pesquisa realizando estudos nessa área. Além disso, o Hospital Amaral de Carvalho, em Jaú-SP, já conta com um centro de TFD que vem beneficiando muitos pacientes portadores de câncer. Além desse hospital, a TFD já é utilizada também pelo Instituto da Visão, ligado à Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), para o tratamento da degeneração macular senil, uma doença comum, mas que é considerada a segunda causa de cegueira nos idosos (RIBEIRO et al., 2005).

2.1.6 Princípios básicos da TFD

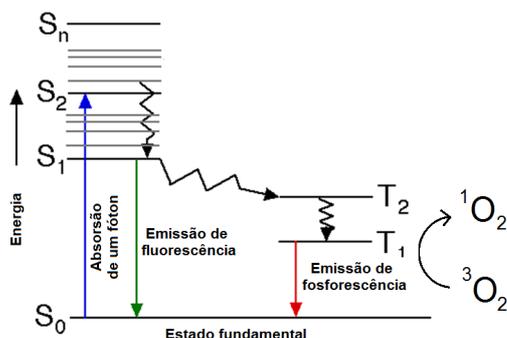
A TFD baseia-se na interação entre um FS, oxigênio e luz para geração de espécies reativas responsáveis por combater a neoplasia, micro-organismos ou vírus. O processo de ativação e transferência de energia de um FS pode ser demonstrado pelo diagrama de Jablonski (Figura 6a), o qual mostra as diversas transições de energia que estas substâncias podem apresentar. O macrociclo porfirínico possui a capacidade de absorver energia no espectro visível, passando do seu estado fundamental (S_0) para um estado excitado singlete (S_1) cujo tempo de vida é da ordem dos nanossegundos. Em princípio, o elétron que sofreu uma transição de orbital poderia ainda sofrer outras transições, gerando ainda outros estados excitados singlete (S_n), com tempos de vida na ordem de picossegundos, no entanto, processos de conversão interna conduzem a porfirina ao estado excitado de singlete menos energético (S_1). O retorno ao seu estado fundamental pode ser realizado tanto por um processo radiativo (com emissão de fluorescência ou fosforescência) ou não radiativo (onde a energia é liberada na forma de calor). Pode ainda apresentar uma transição para o estado triplete excitado (T_2). O fotossensibilizador no estado triplete passa ainda por uma interconversão interna gerando um estado triplete (T_1) com maior tempo de meia-vida. Dessa forma, o fotossensibilizador no estado T_1 pode interagir fotoquimicamente com moléculas de oxigênio, localizadas próximas à região irradiada, gerando espécies reativas que oxidam biomoléculas e danificam o tecido irradiado.

Quando o fotossensibilizador está no estado tripleto podem ocorrer danos celulares através de dois mecanismos:

a) Mecanismo tipo I – O fotossensibilizador que se encontra no estado excitado tripleto reage diretamente com moléculas que estão próximas por processos de transferência de elétrons formando radicais livres (não mostrado).

b) Mecanismo do tipo II – O fotossensibilizador no estado excitado tripleto transfere a sua energia para o oxigênio molecular no estado fundamental de tripleto ($^3\text{O}_2$), convertendo-o em oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Supõe-se que o oxigênio singlete seja a principal espécie reativa de oxigênio envolvida na destruição de alvos biológicos (DEROSA; CRUTCHLEY, 2002) através da indução da morte celular, principalmente por apoptose (BECKMAN, KOPPENOL et al., 1996; ZAWACKA-PANKAU et al., 2008).

(a)



(b)

Orbitais Moleculares do Oxigênio

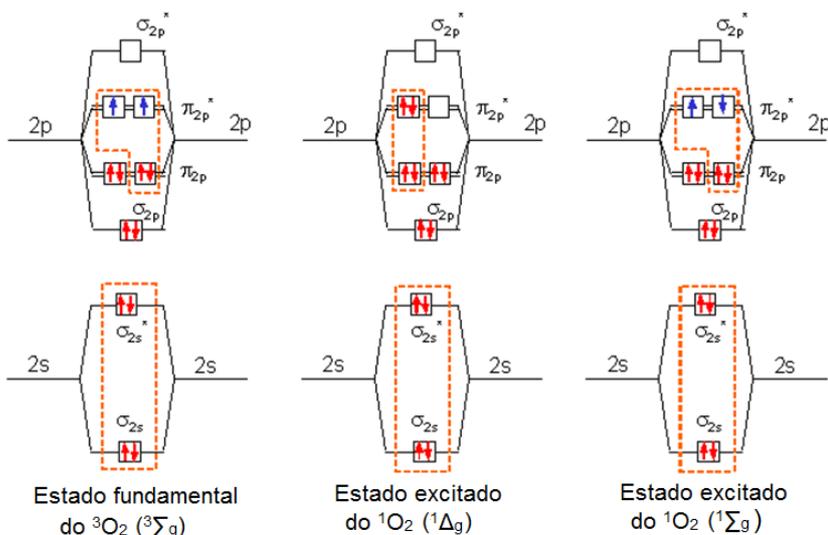


Figura 6: Representação da geração do oxigênio singlete. (a) Diagrama de Jablonski modificado e (b) Orbitais moleculares do estado tripleto e singlete do oxigênio molecular.

Oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) é como são conhecidos os estados eletronicamente excitados imediatamente superiores ao oxigênio molecular no estado fundamental tripleto ($^3\text{O}_2$). Segundo a teoria dos orbitais moleculares, a configuração eletrônica do oxigênio no estado fundamental possui dois elétrons desemparelhados nos orbitais moleculares antiligantes π_{2p}^* (Figura 6b). Esses elétrons tendem a possuir o mesmo spin de forma a produzir multiplicidade máxima e assim um estado de mais baixa energia ($^3\Sigma_g$). Essa é a razão pela qual o estado fundamental do oxigênio molecular é um tripleto ($n+1$; onde $n = 2$). A Figura 6b apresenta as formas de ocupação nesses orbitais moleculares antiligantes para o oxigênio no estado fundamental e para os estados excitados imediatamente superiores. Desses estados, o que possui energia intermediária ($^1\Delta_g$; 92,4 kJ/mol) é o responsável pela reatividade química do oxigênio singlete. A assimetria dessa molécula, diferente da observada no estado fundamental, lhe garante um considerável tempo de vida quando comparada com a forma de mais alta energia ($^1\Sigma_g$; 159,6 kJ/mol), que possui a mesma simetria do estado fundamental. O orbital molecular vazio no estado $^1\Delta_g$ confere ao oxigênio singlete um caráter eletrofílico, o que favorece sua participação mais efetiva em reações químicas, principalmente no caso em que os substratos possuem sítios ricos em elétrons.

O mecanismo da reação para cada agente fototerapêutico pode ser determinado por uma série de fatores como, por exemplo, as propriedades de oxirredução do substrato, a capacidade intrínseca do FS em promover a oxirredução, a intensidade da luz e a concentração endógena de oxigênio (PIETTE et al., 2003). Supõe-se que o oxigênio singlete seja a espécie responsável pelos danos celulares no caso da TFD com porfirinas (WILKINSON et al., 1995; DEROSA, CRUTCHLEY, 2002).

Os produtos resultantes de processos secundários a essas reações (radicais livres e outras espécies carregadas) tendem a se difundir nas vizinhanças do tecido afetado, iniciando uma cadeia de reações bioquímicas, que resulta em danos de diferentes proporções no tumor, o que tende a inviabilizá-lo. Além disto, o metabolismo acelerado, característico de tecidos tumorais, faz com que os agentes fototerapêuticos tenham seu efeito aumentado nesses locais. Esses eventos resultam em danos à parede celular, mitocôndrias e lisossomos, comprometendo a integridade celular (O'CONNOR et al., 2009). Esses agentes podem ainda destruir um tumor indiretamente, pelo dano causado ao endotélio vascular, o que resulta em hipóxia e morte do tecido. Tecidos vizinhos normais podem ser afetados e, por isso, busca-se a síntese de moléculas mais seletivas para as células e tecidos alvo (MACHADO, 2000).

2.2 GLICOCONJUGADOS

A síntese de análogos de carboidratos, tais como glicosídeos e oligossacarídeos, tem recebido especial atenção dos pesquisadores uma vez que se tem identificado diversas estruturas com importantes atividades biológicas (MACMILLAN, DAINES, 2003; FERRIER, 1988; OVEREND, 1972). Carboidratos podem atuar como moléculas de reconhecimento, mostrando-se essenciais tanto em processos fisiológicos normais quanto em estados patológicos (JAIN et al., 2012). A capacidade de atuar como moléculas de informação se deve ao grande número de oligossacarídeos que podem ser formados a partir de um pequeno número de monômeros, através da ligação entre eles em diferentes sequências e de modificações nos substituintes da cadeia principal dos açúcares (FERRIER, 1988).

Além de apresentarem atividade biológica intrínseca, quando ligados a porções não glicídicas (aglicona) representam uma importante ferramenta para aumentar a hidrossolubilidade e seletividade dessas moléculas (CHUNG et al., 2005; MACMILLAN, DAINES, 2003).

Como exemplo da utilização de glicoconjugados na elaboração de fármacos mais eficientes pode-se citar o estudo de VLIEGHE e colaboradores (2002). Nesse estudo foi desenvolvido um pró-fármaco recíproco, ou seja, uma molécula composta por duas porções em que ambas apresentam atividade. O fármaco polimérico *kappa*-carragenana-3-azido-3-desoxitimidina é um derivado de zidovudina e possui como transportador a *k*-carragenina. A atividade antiviral intrínseca do polissacarídeo somada à atividade também antiviral da molécula matriz conferiu ao novo fármaco uma elevada potência e certa seletividade para com o vírus alvo.

Em outro estudo OKUNO e colaboradores (2000) sintetizaram o pró-fármaco polimérico denominado de T-0128. Esse composto foi estruturado de forma a conter uma molécula matriz com atividade antitumoral (um derivado análogo à captotecina), um transportador, o carboximetildextrano, e o tripeptídeo Gly-Gly-Gly como espaçador. Os testes biológicos utilizando essa molécula demonstraram maior concentração do fármaco no tecido tumoral e eficiência na regressão de tumor sólido.

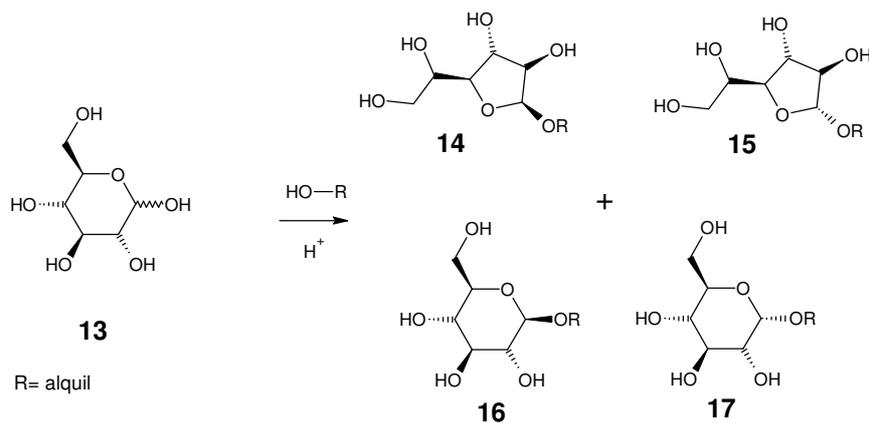
De maneira semelhante, NISHIKAWA e colaboradores (1993) utilizaram carboximetil e succinildextranos com o objetivo de obter liberação hepática específica. Conjugados à mitomicina, os compostos mostraram-se promissores no planejamento de fármacos antineoplásicos dirigidos.

2.2.1 Síntese de glicosídeos

Tanto glicosídeos quanto glicoconjugados podem ser quimicamente definidos como moléculas que possuem uma porção carboidrato ligada a uma porção aglicona (JAIN et al., 2012; GAREGG et al., 1988). Existe, porém, uma discussão em torno dessas terminologias. Usualmente, a designação “glicosídeo” é utilizada para todos os compostos nos quais a hidrólise total resulta em um ou mais monossacarídeos e porções álcool ou fenol (WOLFROM, THOMPSON, 1957). Originalmente a IUPAC (1996), definiu o termo “glicosídeo” como acetais ou cetais derivados de formas cíclicas de monossacarídeos. Porém, recomendações de 1996 admitem que o termo seja estendido para abranger não somente os compostos nos quais há uma substituição no carbono anomérico do tipo *O*-glicosídica, mas inclui também os *S*-glicosídeos, *N*-glicosídeos e *C*-glicosídeos. Em síntese química, o termo “glicosídeo” é mais utilizado quando a porção aglicona é uma molécula pequena, preferindo-se o termo “glicoconjugado” quando essa porção é mais complexa e apresenta atividade biológica.

Um glicosídeo é obtido por reações de glicosilação, as quais envolvem transferência ou ligação de uma porção glicídica a uma segunda molécula (aglicona). Para que a glicosilação de uma porção seja possível e favorável, são empregadas estratégias químicas que envolvem a obtenção de intermediários que facilitem a doação e aceção do grupo glicosil (GAREGG et al., 1988).

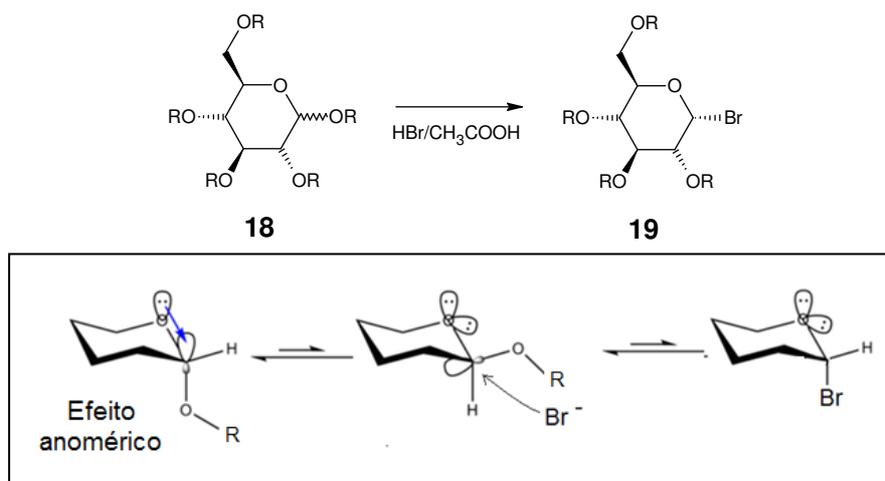
Existem inúmeras reações químicas para obtenção de derivados glicosídicos. Tais reações podem envolver, normalmente, passos de proteção e desproteção das hidroxilas dos açúcares por grupamentos apropriados (GAREGG et al., 1988). Algumas técnicas empregadas podem ser especialmente interessantes devido à simplicidade do método, porém podem resultar em uma mistura complexa de produtos. No método de glicosilação de Fischer (IZUMI et al., 2002, OVEREND, 1972; WOLFROM, THOMPSON, 1957), por exemplo, onde ocorre a reação entre aldoses ou cetoses não protegidas com um álcool alifático em presença de um catalisador ácido, ocorre a formação de uma série de produtos, conforme é demonstrado no Esquema 1. Em reações com hexoses, um pequeno tempo de reação usualmente leva a formação de furanosídeos (compostos **14** e **15**) enquanto tempos de reação maiores levam à formação de piranosídeos (compostos **16** e **17**) α -substituídos (composto **17**).



Esquema 1: Reação de glicosilação de Fischer aplicada a D-glucose (**13**).

Existem, porém, vários procedimentos sintéticos bem estabelecidos que favorecem a produção de um ou outro anômero, evitando, assim, subprodutos indesejados. A síntese pode ser dirigida para a produção de uma substância específica dependendo da vizinhança do carbono anomérico e dos catalisadores empregados (GAREGG et al., 1988).

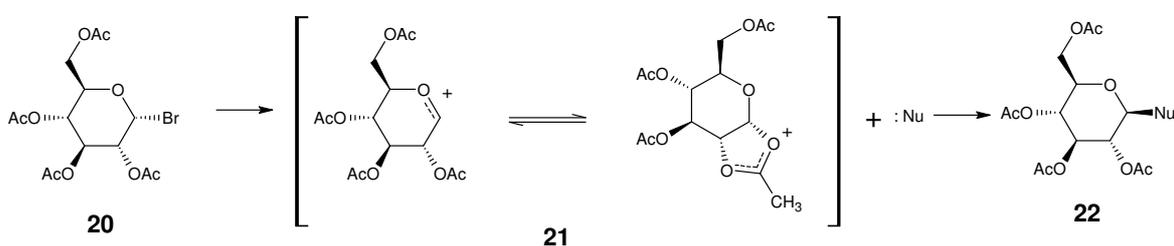
Uma técnica bastante difundida para a obtenção de doadores glicosil envolve a síntese de derivados glicosídicos halogenados (Esquema 2). Quando açúcares substituídos são tratados com haletos de hidrogênio ocorre uma substituição preferencial no carbono anomérico. A substituição em posição α (mostrada no composto **19**) é termodinamicamente favorecida. Além disso, o efeito anomérico, ou seja, a hiperconjugação entre orbitais π do heteroátomo e do carbono C-1, torna o orbital da face superior da molécula menos disponível para ligação favorecendo o ataque na posição α (FERRIER, 1988).



Esquema 2: Reação de bromação em carbono anomérico.

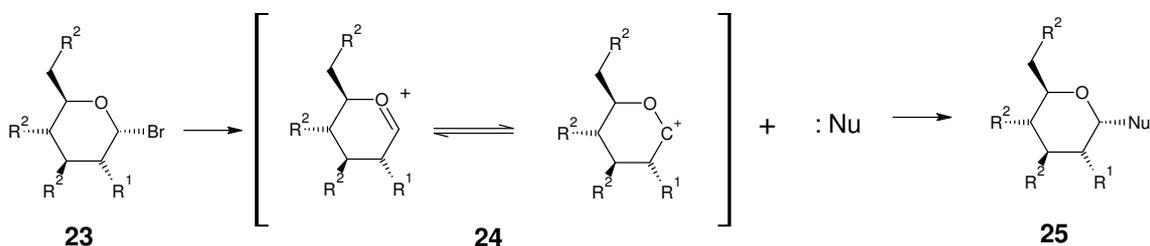
Enquanto glicosídeos fluorados são relativamente estáveis e não permitem deslocamento com facilidade, os derivados correspondentes bromados e clorados são mais suscetíveis à substituição, sendo melhores opções para reações de transferência do grupo glicosil (FERRIER, 1988; OVEREND, 1972).

Segundo a reação clássica de Koenigs-Knorr (GAREGG et al., 1988) é possível obter glicosídeos β -substituídos partindo do derivado halogenado per-*O*-acetilados **20**. O mecanismo da reação segue cinética do tipo S_N1 e o grupo acetil em C-2 tem grande importância para estabilizar o par de intermediários iônicos **21**, favorecendo a produção do anômero β ou 1,2-*trans*-glicosilpiranosídeo **22** (Esquema 3).



Esquema 3: β -piranosídeos a partir de derivados halogenados

Também podem ser obtidos α -piranosídeos a partir dos derivados halogenados (Esquema 4). LEMIEUX et al. (1963) demonstraram que utilizando solventes apolares (os quais não contribuirão para a estabilização do intermediário iônico) e na ausência de um grupo participante em C-2 (como por exemplo, um grupo azido **23a** ou benzil **23b**) o nucleófilo pode atacar em ambas as faces da molécula, porém o α -glicosídeo **25** será favorecido devido ao efeito anomérico.

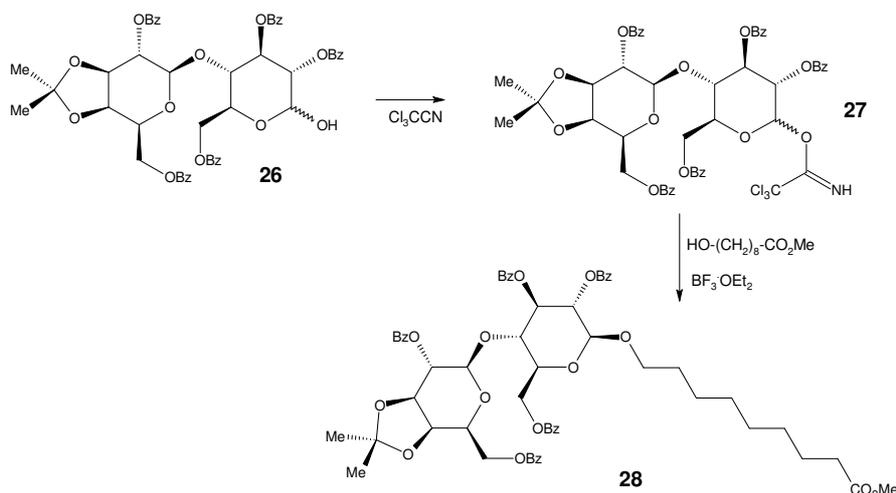


23a, 24a, 25a: $R_1=N_3$; $R_2=OAc$

23b, 24b, 25b: $R_1=R_2=OBn$

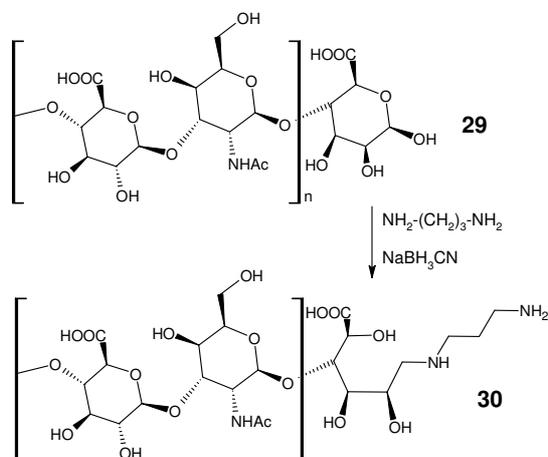
Esquema 4: α -Piranosídeos a partir de derivados halogenados.

Outro método bastante utilizado na obtenção de glicosídeos ou glicoconjugados envolve as glicosil tricloroacetamidas como agentes glicosilantes. Elas reagem facilmente com grupos hidroxila de alcoóis para formar uma ligação *O*-glicosídica. O exemplo de síntese do Esquema 5 mostra a síntese de um glicolípido **28** realizada por LAY e colaboradores (1997) a partir do derivado lactosil tricloroacetamida **27**.



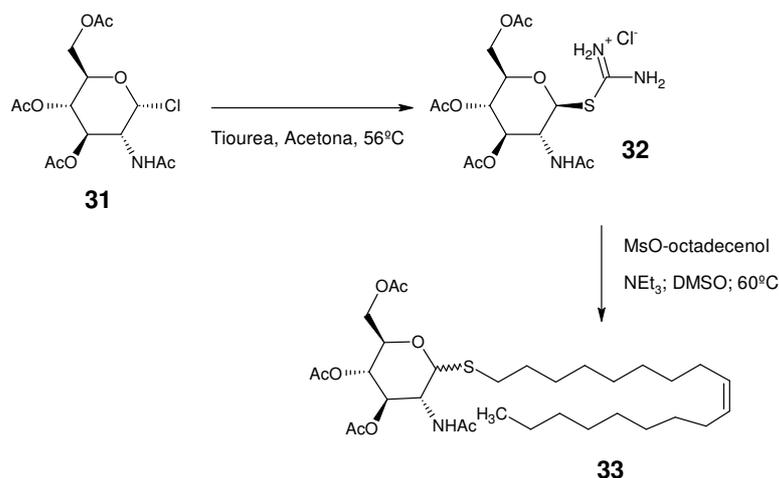
Esquema 5: Síntese de glicosídeos através de derivados glicosil tricloroacetamidas.

A aminação reductiva é um método bastante explorado para conjugação proteína-carboidrato. Nela o grupo carbonila aldeídico reage com um grupamento amino primário gerando uma imina. Na presença de cianoborohidreto de sódio, este grupo é reduzido a amina concluindo a ligação entre as porções. No exemplo mostrado a seguir (Esquema 6), WEIKKOLAINEN e colaboradores (2007) exploram essa técnica para obter um derivado da condroitina **30**.



Esquema 6: Exemplo de obtenção de glicosídeos através da aminação reductiva.

Extensivamente usada, a síntese de tioglicosídeos apresenta como principal vantagem a obtenção de derivados com relativa resistência aos sistemas enzimáticos de hidrólise. Eles podem ser facilmente obtidos a partir da reação de derivados halogenados com grupamentos nucleofílicos contendo enxofre. Dessa maneira, ALVAREZ e colaboradores (2011) obtiveram um glicoconjugado (**33**) com atividade anticancerígena através da conjugação da *N*-acetilglucosamina **31** e o octadecenol (Esquema 7).



Esquema 7: Exemplo de tioglicosídeos na síntese de glicoconjugados.

2.2.2 Glicosídeos isotiocianato

Derivados glicosil isotiocianatos têm sido amplamente utilizados na síntese de glicoconjugados, uma vez que podem reagir facilmente com alguns grupamentos nucleofílicos sofrendo adição (FERNÁNDEZ, MELLET, 2000; KUHNE et al., 2006). Esses derivados apresentam interesse biológico por demonstrarem-se resistentes à ação de glicosidases e por serem úteis na síntese de derivados glicosiltiourea **34**, glicosilamino-heterociclos **35**, *N*-glicopeptídeos **36** e análogos de nucleosídeos **37** (Figura 7) (BLANCO et al., 2007; WITGZAK, 1989; SHULMAN et al., 1976).

Algumas alternativas para síntese desses derivados são apresentadas na literatura. Dentre os métodos gerais para síntese de isotiocianatos **9** (Esquema 8) ganham destaque três estratégias: a isotiocianatação de glicosil amina **40** usando tiosfosgênio (CSCl_2); a substituição nucleofílica utilizando o derivado halogenado **42**, sais inorgânicos tiocianatos, solventes apróticos anidros e temperatura; e a substituição direta de derivados per-*O*-acetilados **41** utilizando trimetilsilil isotiocianato (TMS-NCS) (BLANCO et al., 2007; WITGZAK, 1989; CAMARASA, et al., 1984; SHULMAN et al., 1976).

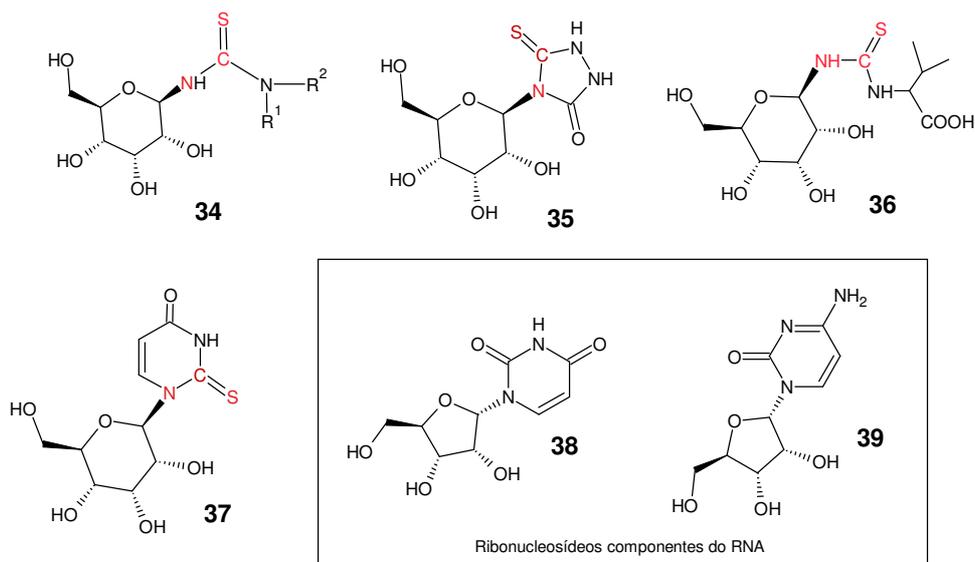
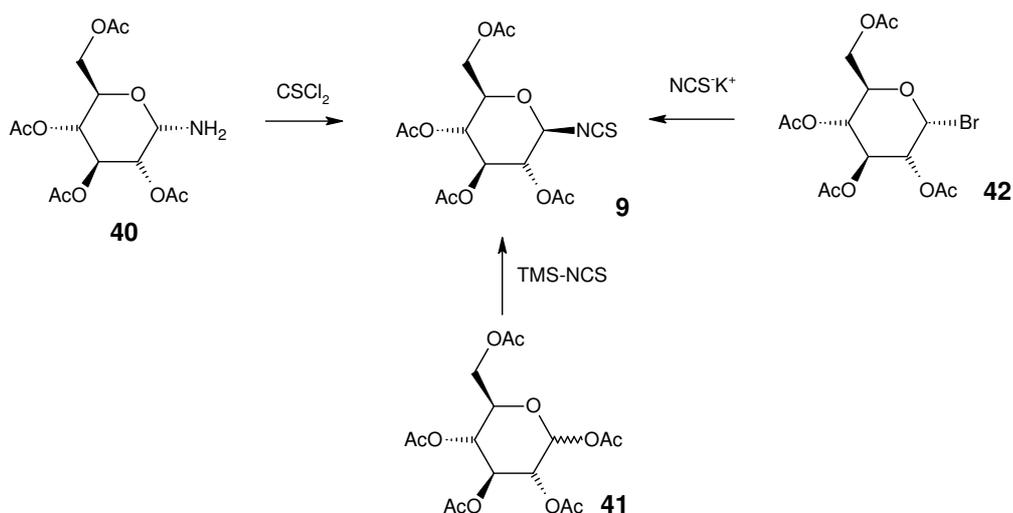


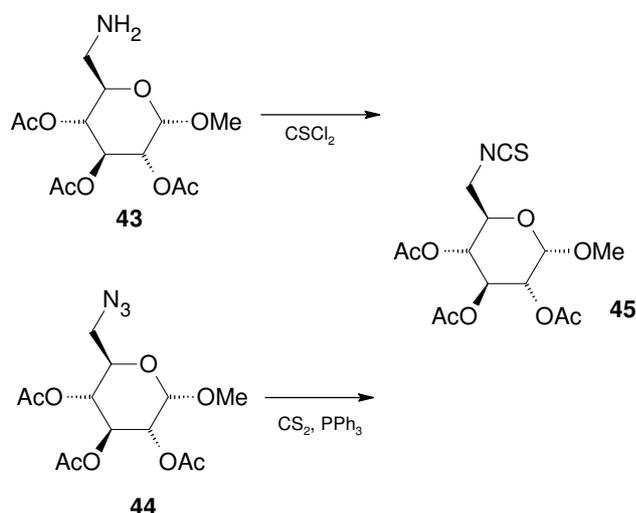
Figura 7: Substâncias sintetizadas a partir de derivados glicosil isotiocianatos.



Esquema 8: Estratégias gerais para síntese de derivados anoméricos glicosil isotiocianatos.

São reportados na literatura ainda alguns estudos da síntese de derivados glicosil isotiocianatos não anoméricos, especialmente de derivados 6-desoxi-6-glicosil isotiocianato e sua utilização para obtenção de heterocíclios e glicoconjugados (FERNÁNDEZ, MELLET, FUENTES, 1993; MAYA et al., 2001; FERNÁNDEZ, MELLET, 2000; GARCIA-MORENO et al., 2002). São reportadas duas formas para

obtenção do derivado isotiocianato **45**: pela clássica isotiocianatação de amino açúcares **43** ou diretamente partir de azido açúcares **44** (Esquema 9).



Esquema 9: Estratégias para síntese de 6-desoxi-6-glicosilisotiocianatos.

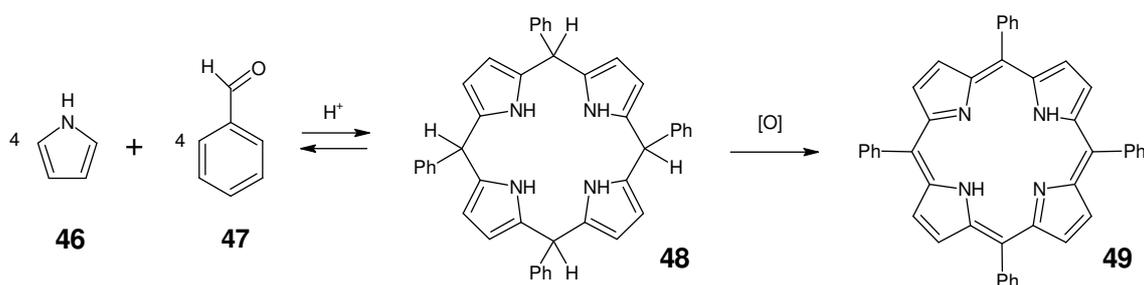
2.3 SÍNTESE DE PORFIRINAS E GLICOPORFIRINAS

Devido ao grande potencial biológico, a elaboração de novas metodologias para síntese de glicoporfirinas tem sido estudada por diversos grupos de pesquisa. Para o estabelecimento de novos métodos de obtenção desses compostos é necessário levar em consideração os conhecimentos sobre a síntese e modificações químicas já estabelecidas na síntese de porfirinas, bem como sobre a ligação de açúcares a outros compostos orgânicos.

Algumas estratégias para síntese de glicoporfirinas podem ser reconhecidas na literatura. Dentre as abordagens existentes estão a glicosilação direta de porfirinas previamente funcionalizadas e a síntese por blocos estruturais. Dentro da primeira estratégia são sintetizadas as porfirinas ligadas através de ligações *O*-glicosídicas, *S*-glicosídicas ou *N*-glicosídicas; e na segunda estratégia, os blocos podem estar baseados tanto em derivados pirrólicos, conhecidos como dipirranos (ou dipirrometanos), quanto em aldeídos contendo a porção glicídica (CAVALEIRO et al., 2007).

2.3.1 Síntese de porfirinas

As porfirinas sintéticas *meso*-substituídas resultam da condensação de quatro anéis pirrólicos **46** com outras quatro moléculas de um aldeído (como, por exemplo, o benzaldeído **47**). Inicialmente ocorre a polimerização e ciclocondensação dos reagentes iniciais, levando à formação de um intermediário - o porfirinogênio **48**. Com a adição de um agente oxidante ao meio, esse intermediário é então oxidado. Essa última etapa de oxidação é que confere a aromaticidade ao macrociclo, como no exemplo abaixo - na *meso*-tetrafenilporfirina **49** (TPP) (Esquema 10).



Esquema 10: Reação geral para formação de *meso*-tetrafenilporfirinas.

A primeira porfirina *meso* substituída sintetizada foi obtida por Rothemund na década de 30. A metodologia empregava acetaldeído e pirrol, tendo piridina ou metanol como solventes. Tal reação era conduzida a 150^o C por 24 horas (ROTHEMUND, 1936). As desvantagens desse método eram as condições severas e o baixo rendimento da reação (cerca de 5%). Mais tarde, Adler e colaboradores modificaram a síntese de porfirinas passando a utilizar ácido propiônico como solvente, o que reduziu o tempo de reação para 30 minutos em refluxo atingindo rendimentos de cerca de 20 % (ADLER et al., 1967). Apesar de trazer algumas facilidades para purificação de porfirinas simétricas (feita através de técnicas de precipitação) este método apresentava uma baixa reprodutibilidade. Assim, 20 anos mais tarde, Lindsey, utilizando condições mais brandas e um ácido de Lewis como catalisador, conseguiu sintetizar porfirinas com rendimentos que variavam entre 30 e 40% (LINDSEY et al., 1987) .

Atualmente novos métodos têm sido desenvolvidos a fim de aperfeiçoar a síntese de porfirinas e obter melhores rendimentos. O emprego de micro-ondas para efetuar este tipo de síntese vem sendo eficientemente explorado, tendo sido obtidos rendimentos de 34 % para síntese da TPP **49** com uma redução no tempo de reação muito significativa (DE PAULA et al., 2008). Outras estratégias para atingir esse

objetivo envolvem a pesquisa de novos catalisadores e agentes oxidantes, eficientes e de baixo custo. Um trabalho recente que obteve sucesso envolveu a utilização do ácido trifluoreto de boro eterato - BF_3OEt_2 - como catalisador e do dióxido de selênio - SeO_2 - como agente oxidante. Tal estratégia foi capaz de obter 56 % de rendimento na síntese da TPP **49** (LÓ et al., 2011).

2.3.2 Glicoporfirinas obtidas através da funcionalização de porfirinas.

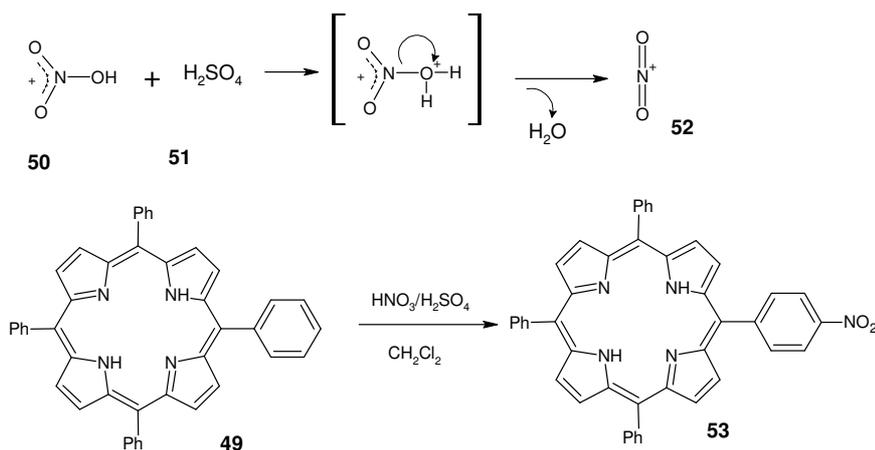
A maior parte das estratégias de glicosilação do macrociclo porfirínico é realizada através da formação de porfirinas *O*- ou *N*-glicosiladas. Em geral, nesta estratégia de síntese realiza-se a introdução de grupamentos amino ou hidroxila na porção porfirínica (que funcionam como bons grupos nucleofílicos) para reagir-los com um doador glicosil, permitindo assim a ligação entre as duas moléculas.

2.3.2.1 Síntese de aminoporfirinas e glicoconjugados via ligação amida

Porfirinas contendo o grupamento amino ($-\text{NH}_2$) são bastante utilizadas para obtenção de outros derivados porfirínicos, especialmente aqueles que envolvem ligação amida. Geralmente, elas são obtidas a partir de precursores nitrados pela redução de grupamentos nitro ($-\text{NO}_2$).

A nitração de porfirinas pode ser realizada utilizando-se diferentes agentes nitrantes ou ainda através de aldeídos que contenham $-\text{NO}_2$.

KRUPER et al. (1989), utilizaram ácido nítrico, tetróxido de nitrogênio (N_2O_4) e água em uma reação regioespecífica capaz de fornecer o derivado porfirínico *p*-aril-nitrado (TPP- NO_2) **53** a partir da TPP **49**. Essa mesma reação pode também ser realizada empregando-se uma mistura de ácido nítrico **50** e ácido sulfúrico **51**. Este último é responsável por auxiliar na formação do íon nitrônio **52** (SOLOMONS, FRYHLE, 2005), que por sua vez facilita a substituição eletrofílica no grupamento aril-porfirínico seguindo os mesmos princípios da nitração em outros compostos aromáticos (Esquema 11).



Esquema 11: Nitração direta da TPP

A síntese de porfirinas aril-nitradas também pode ser alcançada através da condensação de pirrol com *o*, *m* ou *p*-nitrobenzaldeído que, igualmente à reação de nitração direta descrita acima, resultará em uma mistura de compostos mono, di, tri ou tetranitrados dependendo das condições reacionais empregadas.

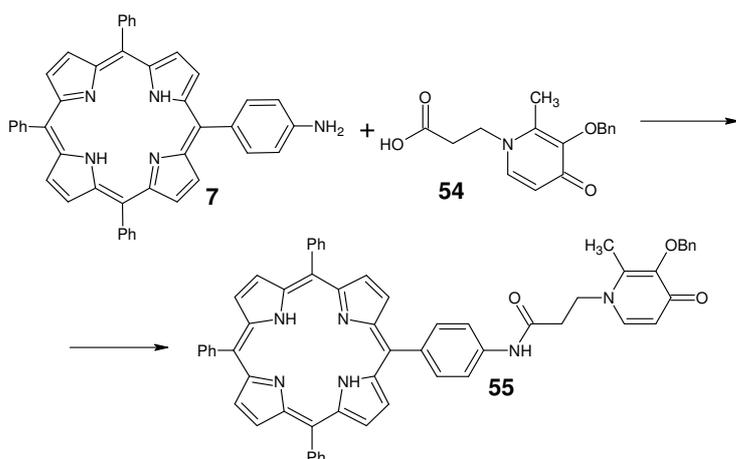
A obtenção de porfirinas nitradas nas posições β-pirrólicas foi detalhadamente estudada por CATALANO et al. (1984). Esses pesquisadores observaram que a presença de alguns metais complexados no centro do anel porfirínico levava à formação regioespecífica de derivados porfirínicos β-nitrados. Comparando a eficiência de diversos nitratos chegou-se a conclusões bastante interessantes, dentre elas a de que quanto mais eletronegativo o metal envolvido na coordenação, maior a especificidade e o rendimento da reação. Assim, nitratos de Ni (II), Cu (II) e Pd (II), são capazes de gerar exclusivamente espécies nitradas na posição β-pirrólica da porfirina. Sais de Zn e Mg também geraram β-nitração, porém os rendimentos mostram-se significativamente menores e há formação de subprodutos em que o macrociclo porfirínico se rompe ou o mesmo sofre hidrogenação .

Outra conclusão interessante a respeito da nitração β-pirrólica em porfirinas foi a de que essa reação independe dos substituintes na porção aril das *meso*-porfirinas e de que, portanto, a seletividade dessa reação está muito mais atrelada a efeitos eletrônicos do que a fatores estéricos (CATALANO et al, 1984).

Na literatura existem diversas metodologias para converter o grupo -NO₂ ao grupo -NH₂ (LAROCK, 1999; ONO, 2001), porém, apenas algumas poucas metodologias podem ser aplicadas à química das porfirinas sem gerar subprodutos indesejados. As condições mais comuns para redução do grupo -NO₂ ao grupo -NH₂ que se mostraram eficientes em compostos aromáticos envolvem o uso de Fe e ácido

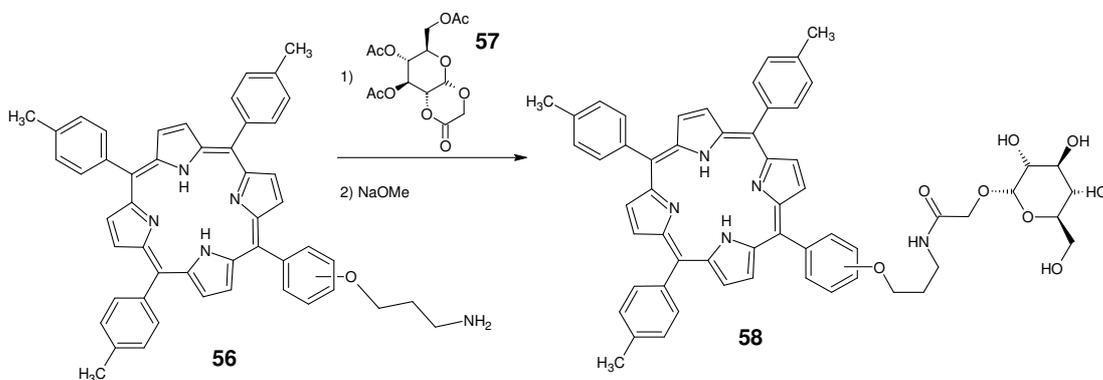
acético, Fe e HCl, Zn e NaOH e Sn e HCl (ONO, 2001). Na redução de grupos nitro presentes em porfirinas relata-se o uso de SnCl_2 e HCl (KRUPER *et. al.*, 1989).

As aminoporfirinas são amplamente empregadas para síntese de conjugados porfíricos. A função $-\text{NH}_2$ reage facilmente com grupamentos carboxílicos ($-\text{COOH}$) ou seus haletos sendo, portanto, a ligação amida é a mais utilizada para obtenção de derivados a partir de aminoporfirinas. Desta maneira, SILVA *et al.* (2011) sintetizaram um conjugado piridinona-porfirina **54** a partir da aminofenilporfirina **7** e uma carboxi-propil-piridinona **55** (Esquema 12).



Esquema 12: Ligação amida em conjugado porfírico.

A ligação amida também já foi aplicada para preparação de conjugados porfirina-carboidratos. O Esquema 13 apresenta a síntese de um desses derivados. SOL *et al.* (2006) obtiveram a porfirina glicosilada **58** a partir da porfirina funcionalizada com o grupamento $-\text{NH}_2$ **56**. MATSUO *et al.* (2006), também sintetizaram um derivado ligado pela ligação amida **59** (Figura 8), porém, utilizaram como materiais de partida um DHp (o qual possui um grupamento carboxílico) e um aminogalactosídeo.



Esquema 13: Síntese de glicoporfirina proposto por SOL *et al.* (2006).

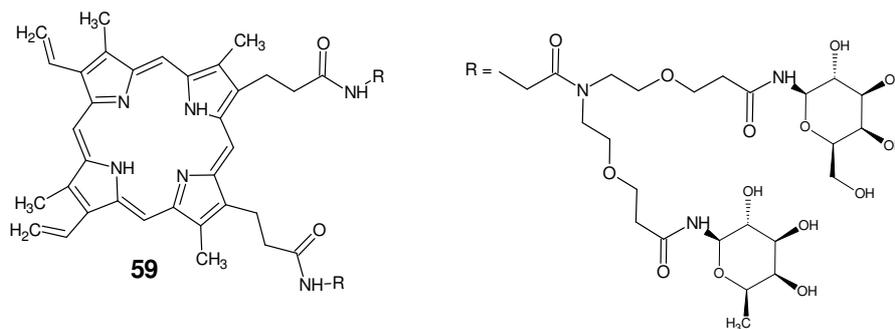
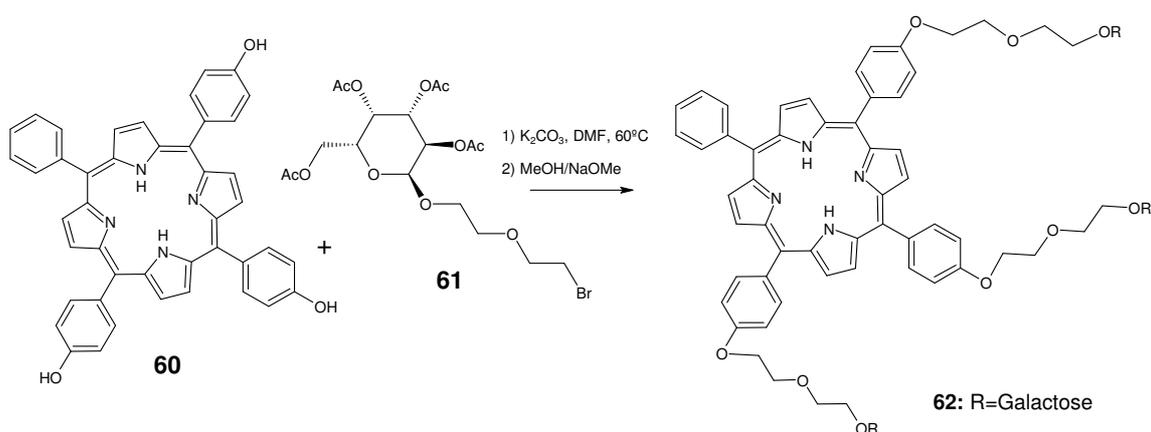


Figura 8: Galactoporfirina obtida por MATSUO et al. (2006).

2.3.2.2 Síntese de porfirinas hidroxiladas e glicoconjugados via ligação éter e éster

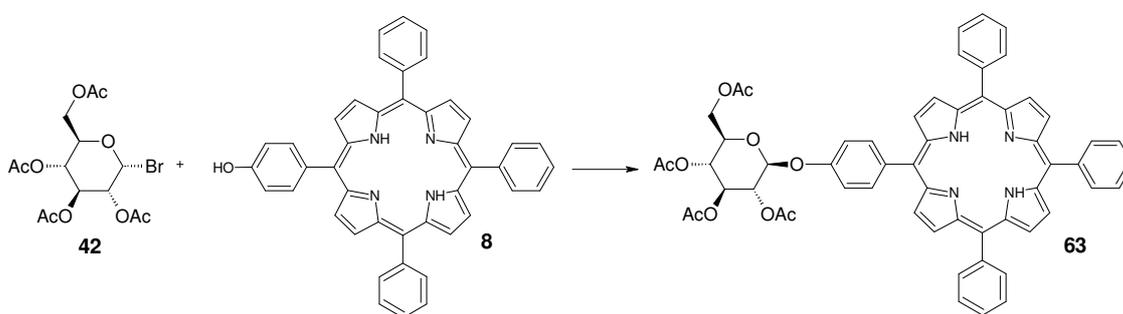
Hidroxifenilporfirinas foram os primeiros derivados porfirínicos empregados para obtenção de glicoporfirinas, sendo, portanto as ligações do tipo éter as melhores estudadas até o momento para obtenção desses compostos (ZHENG, PANDEY, 2008). Para síntese desses derivados são empregados *o*, *m* ou *p*-hidroxibenzaldeído e pirrol para formar o anel porfirínico.

A estratégia empregada por diversos autores (TOMÉ et al., 2005; LAVILLE et al., 2006) para obtenção de glicoporfirinas através da ligação éter se dá pela reação entre a hidroxifenilporfirina e um derivado halogenado. Assim, LAVILLE e colaboradores (2006), utilizaram a 5,10,15-*tri*(*p*-hidroxifenil)-20-fenilporfirina **60** e o dietilenobromoglicosídeo **61** para obter a glicoporfirina **62** (Esquema 14).

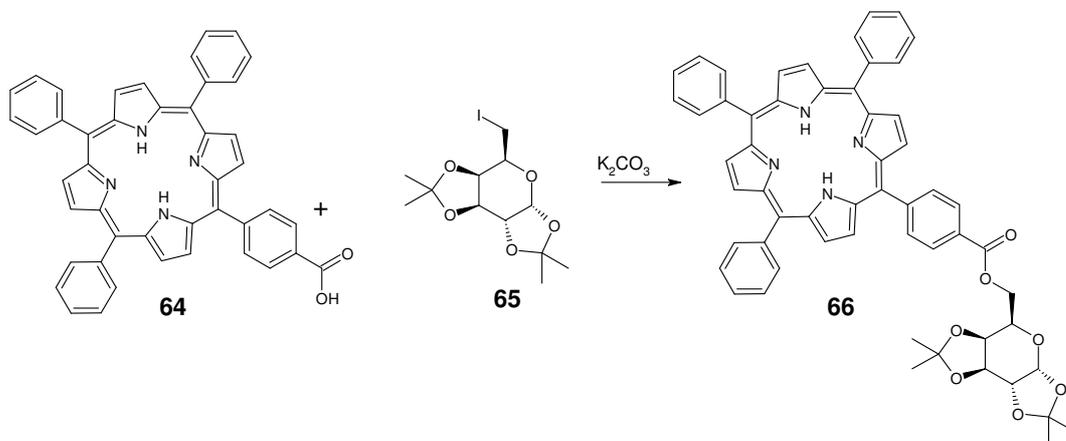


Esquema 14: Síntese de glicoporfirina proposta por LAVILLE et al. (2006).

Outro exemplo de porfirina *O*-ligada foi dado por Tomé e colaboradores (2005). Estes pesquisadores utilizaram a 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina **8** e a 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-bromo- α -D-glucopiranosose **42** para obter a 5-[4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-fenil]-10,15,20-trifenilporfirina **63** mostrada no Esquema 15. Para síntese de porfirinas conjugadas através da função éster estes mesmos pesquisadores acima citados (TOMÉ et al., 2005) utilizaram uma porfirina funcionalizada com um ácido carboxílico **64** e 6-iodo-6-desoxi-galactosídeo **65**. O Esquema 16 mostra a etapa de obtenção da porfirina **66**, uma glicoporfirina conjugada através da função éster.



Esquema 15: Ligação éter para obtenção de glicoporfirinas (TOMÉ et al.,2005).



Esquema 16: Ligação éster para obtenção de glicoporfirinas (TOMÉ et al.,2005).

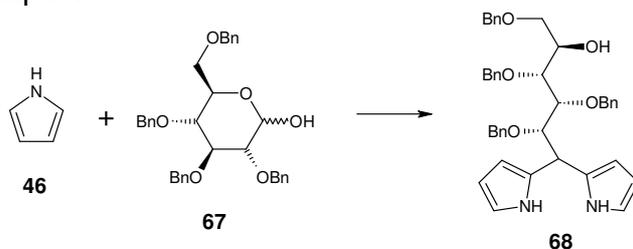
2.3.3 Glicoporfirinas obtidas a partir de blocos estruturais

2.3.3.1 Derivados pirrólicos ou dipirranos glicosilados

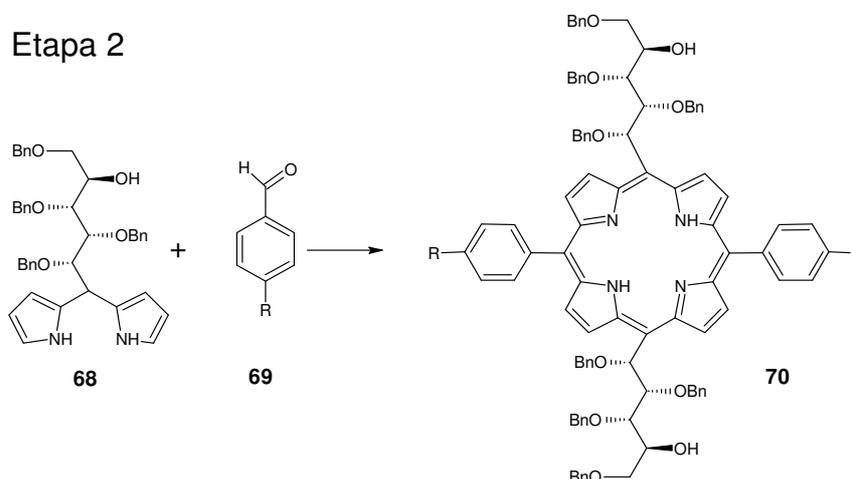
CASIRAGHI e colaboradores (1994) sintetizaram algumas glicoporfirinas através da estratégia dos blocos de dipirranos **65** (Esquema 17). Eles obtiveram esses desoxialditóis utilizando pirrol **46** em excesso, açúcares parcialmente protegidos 1-

hidroxi-*O*-benzilados **67** e TFA (ácido trifluoroacético) ou BF_3OEt_2 como catalisadores. A glicoporfirina **70** obtida é substituída com o grupo glicosil nas posições *meso* 5 e 15 do anel porfirínico. Nessa estratégia duas etapas são necessárias: a primeira para formação do dipirrano **68** e a segunda para condensação e oxidação. Os rendimentos alcançados por esse grupo variaram de 6 a 16%.

Etapa 1

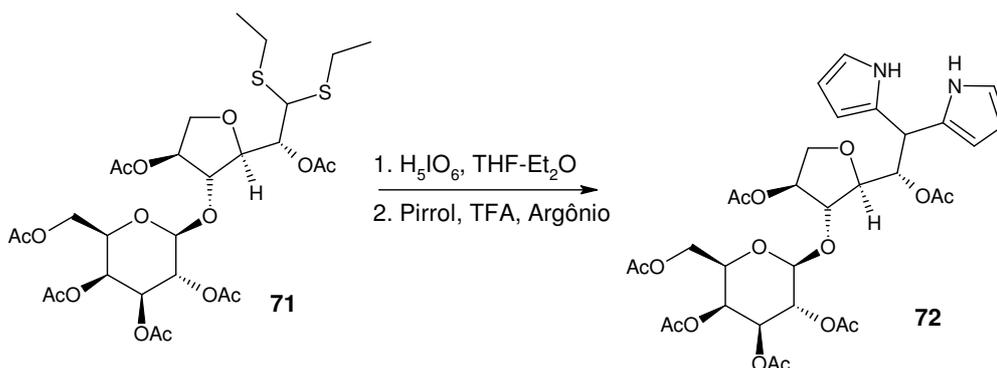


Etapa 2



Esquema 17: Estratégia de síntese de glicoporfirinas através de dipirranos.

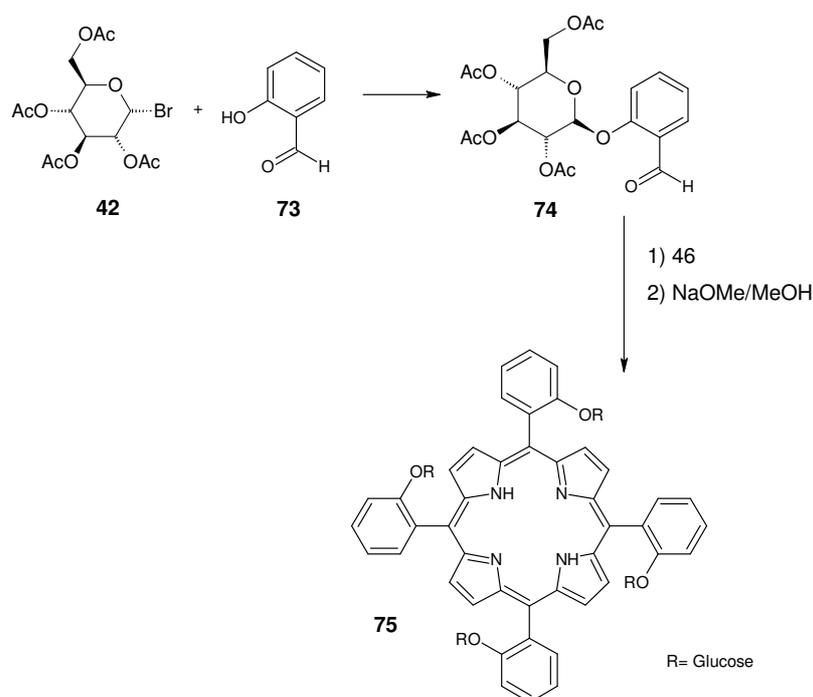
Outras metodologias vêm sendo estudadas para obtenção de dipirranos contendo porções glicídicas mais complexas **72**, como é o caso do estudo de LÓ e colaboradores (2013). Através da proteção e desproteção de *C*-1-desoxialditóis eles obtiveram dipirranos glicosídicos *C*-ligados via derivados ditioacetais **71** inclusive de dissacarídeos provenientes da hidrólise da agarose (agarobiose). O Esquema 18 mostra a estratégia de síntese empregada por esses pesquisadores.



Esquema 18: Estratégia para síntese de dipirranos via derivados ditioacetais.

2.3.3.2 Derivados aldeídicos glicosilados

HALAZY e colaboradores (1990) elaboraram uma estratégia de síntese de benzaldeídos *orto* e *meta* substituídos por porções glicídicas (Esquema 19). Então, considerando o método de síntese das porfirinas por condensação do pirrol **46** com diferentes aldeídos, OULMI e colaboradores (1995) utilizaram esses precursores aldeídicos glicosilados **74** para obter a glicoporfirina **75**. Apesar de obterem sucesso com essa estratégia, o impedimento estérico proporcionado pela porção glicosil, principalmente quando ligado à posição *orto*, foi um empecilho para a síntese de determinados compostos.



Esquema 19: Estratégia de síntese de glicoporfirinas através de aldeídos glicosilados.

2.4 GRUPO TIOCARBAMIDA, TIOCARBAMATO E CARBAMATO

Os grupos ou funções tiocarbamida **76**, tiocarbamato **77** e carbamato **78** apresentam relação estrutural com o grupo amida **79** (Figura 9). Apesar da semelhança estrutural tais grupos apresentam diferenças significativas quanto ao comportamento químico, apresentando diferentes graus de resistência à hidrólise química e enzimática (CAVALEIRO et al., 2007; BENITO et al., 1999). Devido à facilidade com que estes grupos de ligação podem ser formados, eles tornam-se uma alternativa interessante para ligar carreadores em moléculas biologicamente ativas.

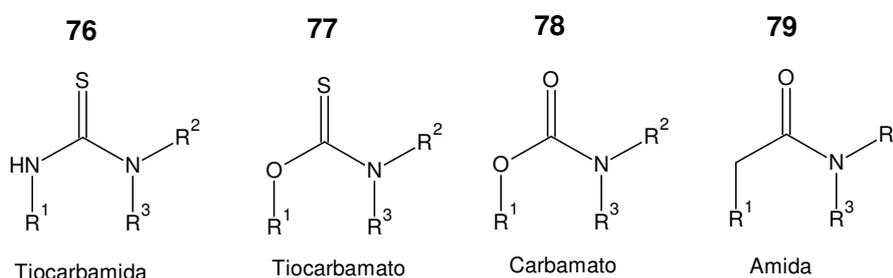


Figura 9: Semelhança estrutural entre as ligações tiocarbamato, tiocarbamida, carbamato e amida.

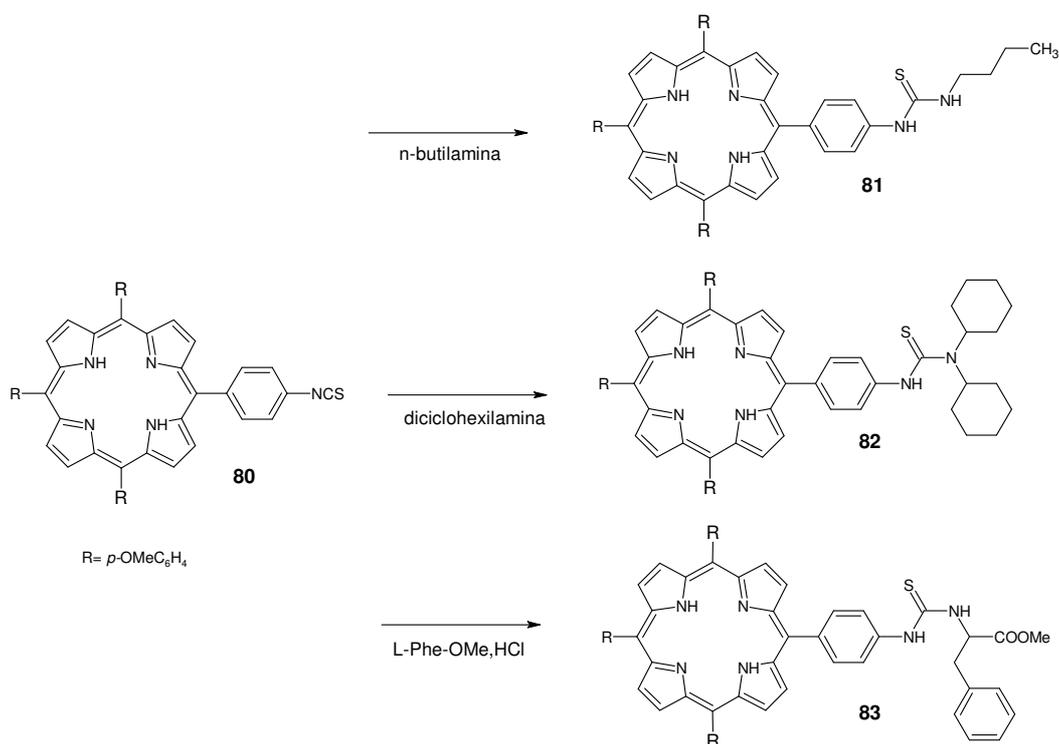
Apesar de nunca explorado na síntese de glicoporfirinas, o grupo tiocarbamida (também conhecido como tiourea) já foi empregado na obtenção de outros tipos de conjugados. RUSIN e colaboradores (2001), por exemplo, com o intuito de aumentar a hidrossolubilidade de compostos porfíricos, sintetizaram um conjugado porfirina-fluoresceína utilizando o grupo tiocarbamida como grupo de ligação. Os materiais de partida incluíram uma amino porfirina e um derivado isotiocianato derivado da fluoresceína.

Clarke e Boyle (1999), por sua vez, obtiveram uma infinidade de conjugados porfíricos empregando o grupo de ligação tiocarbamida (Esquema 20). Porém a estratégia utilizada por esses pesquisadores foi diferente. Os mesmos partiram de uma porfirina isotiocianato **80** para então realizar a conjugação com os mais diversos tipos de motivos químicos contendo grupamentos amino (-NH₂). Nesse estudo, os pesquisadores foram capazes de conjugar a porfirina com aminas primárias (composto **81**), secundárias (composto **82**) e alguns aminoácidos protegidos (composto **83**).

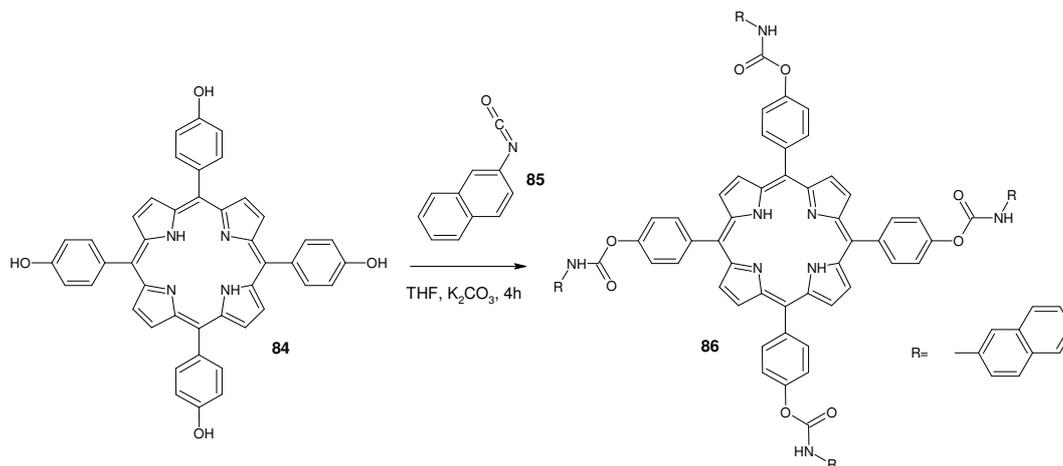
Silva e colaboradores (2010) obtiveram um derivado porfirina-naftaleno **86** conjugado através do grupo carbamato verificando, neste, ótima geração de oxigênio singlete, com rendimento quântico (ϕ_{Δ}) de 0,60, sendo superior ao rendimento de

oxigênio singlete observado para a porfirina precursora **84** ($\phi_{\Delta} = 0,32$). O conjugado em questão foi obtido a partir da reação da hidroxifenilporfirina **84** e o naftilisocianato **85** (Esquema 21).

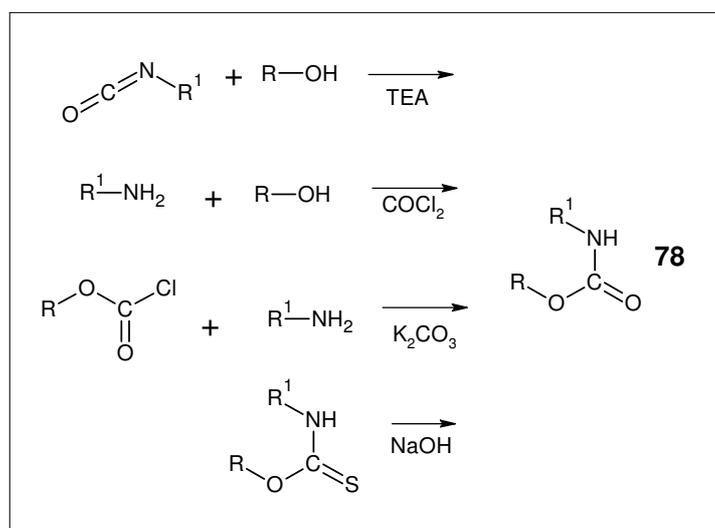
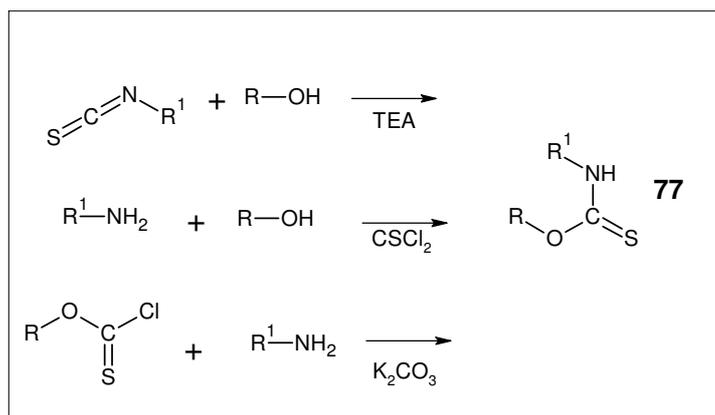
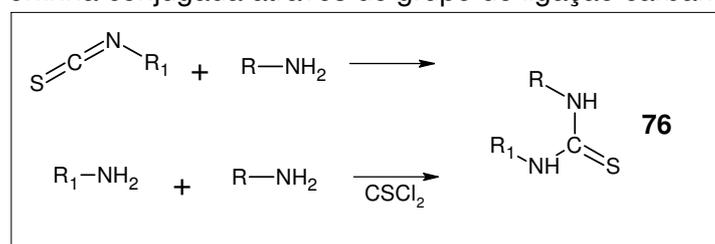
Como mostrado anteriormente, os grupos tiocarbamida **76** e tiocarbamato **77** podem ser obtidos a partir de derivados isotiocianatos. O grupo carbamato **78** é mais comumente obtido a partir de derivados isocianatos. Porém, estas não são as únicas alternativas para preparação de conjugados envolvendo grupos dessa natureza. Estes grupos podem ser construídos a partir de dicloreto de tiocarbonila (no caso dos grupos tiocarbamida e tiocarbamato) ou dicloreto de carbonila (no caso do grupo carbamato). Podem ainda ser obtidos a partir de clorotioformiatos (para obtenção da função tiocarbamato) ou cloroformiatos (para obtenção da função carbamato). O grupo tiocarbamato pode ainda ser convertido ao grupo carbamato pela adição de base hidroxilada ao meio reacional. O Esquema 22 (na página seguinte) mostra estas estratégias sintéticas empregadas para obtenção desse tipo de grupo.



Esquema 20: Porphirinas conjugadas através do grupo de ligação tiocarbamida.



Esquema 21: Porphirina conjugada através do grupo de ligação carbamato.



Esquema 22: Síntese de conjugados através dos grupos de ligação tiocarbamida e tiocarbamato.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

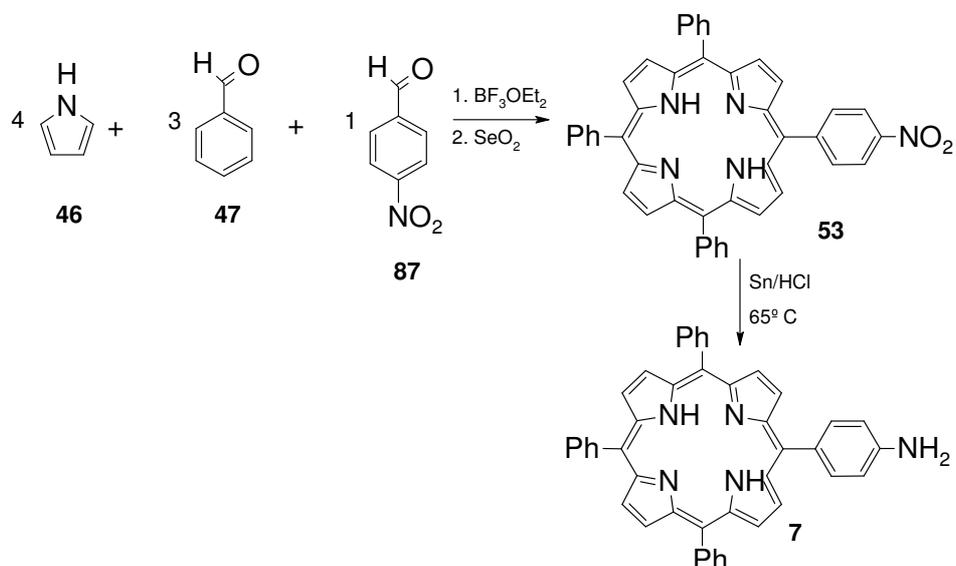
3.1 PESQUISA DE ALTERNATIVAS SINTÉTICAS

Após definir as estruturas químicas a serem sintetizadas foram feitas buscas das alternativas sintéticas em bases de dados como Reaxys[®] e SciFinder[®] entre outras. Alternativamente, algumas literaturas específicas foram consultadas como WHISTLER e WOLFROM (1963) para síntese de intermediários glicosídicos, GREENE e WUTS (1999) para elaborações de intermediários protegidos e LAROCK (1999) em consultas de alternativas para conversão de grupos funcionais.

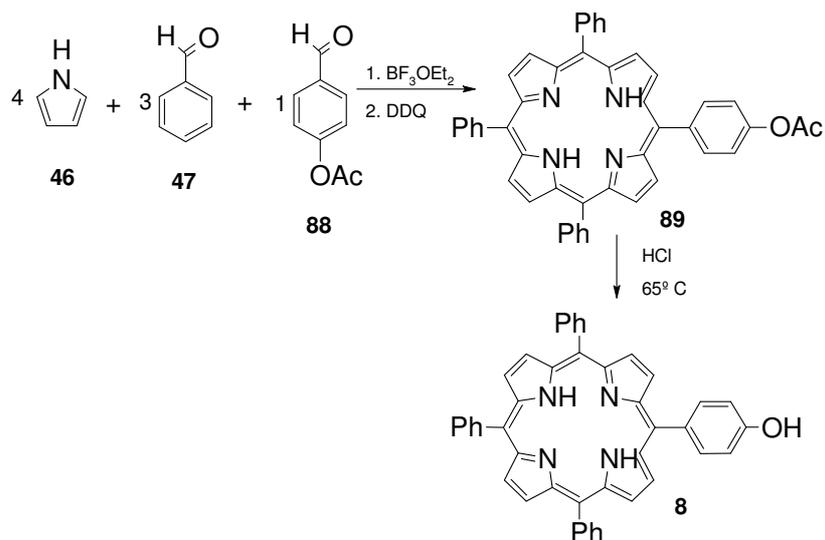
3.2 SÍNTESE CONVENCIONAL

Para o preparo dos compostos porfirínicos, glicosídicos e benzil isotiocianato foram utilizadas técnicas de síntese tradicionais, sendo algumas delas já relatadas na literatura e outras adaptações de condições relatadas na literatura.

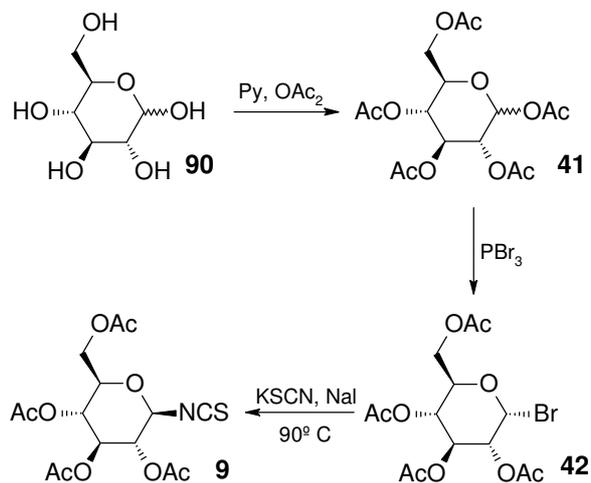
O detalhamento dos procedimentos de síntese e a caracterização de todos os compostos obtidos neste trabalho encontra-se na seção dos Anexos. Os materiais iniciais e produtos obtidos podem ser visualizados a seguir nos esquemas resumidos das rotas sintéticas realizadas (Esquemas 23 e 24 para síntese das porções porfirínicas **7** e **8**; Esquema 25 para síntese do derivado glicosil isotiocianato **9**; Esquema 26 para síntese do benzil isotiocianato **10**; e Esquema 27 para síntese dos conjugados porfirínicos **1-6**).



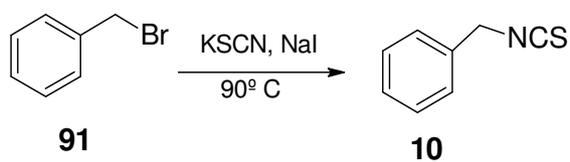
Esquema 23: Rota sintética para obtenção da aminofenil-porfirina **7**.



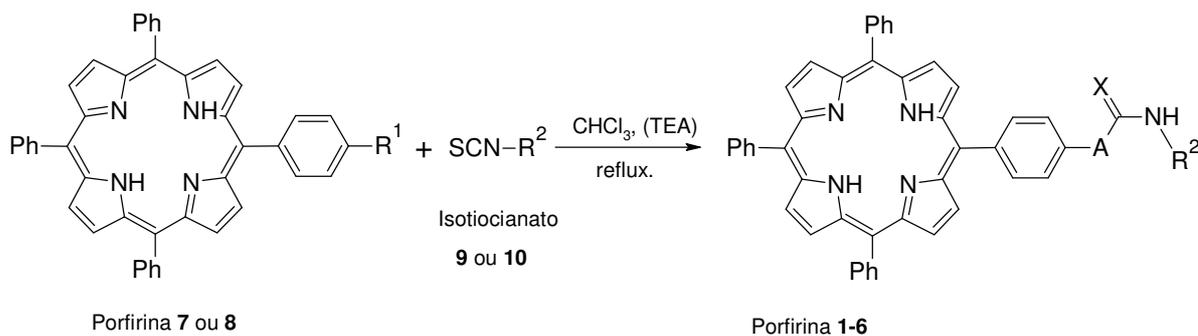
Esquema 24: Rota sintética para obtenção da hidroxifenil-porfirina **8**.



Esquema 25: Rota sintética para obtenção da glicosil isotiocianato **9**.



Esquema 26: Síntese do benzil isotiocianato **10**



Porfirrina 1: $R_1=\text{NH}_2$; $R_2=\text{Glc}p\text{-OAc}$; $A=\text{NH}$; $X=\text{S}$

Porfirrina 2: $R_1=\text{OH}$; $R_2=\text{Glc}p\text{-OAc}$; $A=\text{O}$; $X=\text{S}$

Porfirrina 3: $R_1=\text{OH}$; $R_2=\text{Glc}p\text{-OAc}$; $A=\text{O}$; $X=\text{O}$

Porfirrina 4: $R_1=\text{NH}_2$; $R_2=\text{Bn}$; $A=\text{NH}$; $X=\text{S}$

Porfirrina 5: $R_1=\text{OH}$; $R_2=\text{Bn}$; $A=\text{O}$; $X=\text{S}$

Porfirrina 6: $R_1=\text{OH}$; $R_2=\text{Bn}$; $A=\text{O}$; $X=\text{O}$

Esquema 27: Síntese dos conjugados porfirínicos 1-6.

3.3 SÍNTESE OPERADA SOB ULTRASSOM

Essa técnica foi utilizada para obtenção dos conjugados porfirínicos 1-6. As reações foram realizadas em equipamento de banho ultrassônico Schuster L-100 operando em frequência ultrassônica de 42 kHz. O tempo de reação foi de 1h para todas as reações de conjugação.

3.4 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE E CÁLCULOS DE RENDIMENTOS

Para otimizar algumas das etapas sintéticas foram realizados os experimentos de síntese com alteração de parâmetros importantes da reação como tempo e temperatura, tipo e concentração de catalisadores, tipo de solvente e concentração dos reagentes. Após purificação conveniente, foram efetuados os cálculos dos rendimentos, os quais permitiram avaliar a melhor condição reacional.

Os resultados dos rendimentos foram calculados em termos de porcentagem com base no rendimento molar dos compostos utilizando para os cálculos os dados obtidos por gravimetria dos produtos purificados.

3.5 PURIFICAÇÃO

Em cada uma das reações realizadas foram aplicadas metodologias de purificação adequadas para cada caso. Na sessão dos Anexos são detalhados os procedimentos de purificação de cada composto. A seguir são citadas brevemente as metodologias de purificação empregadas bem como um detalhamento da técnica.

3.5.1 Extração

O processo de extração com solventes foi empregado para isolar substâncias dissolvidas, misturas sólidas ou ainda para remoção de impurezas solúveis indesejáveis na mistura. Essa técnica baseia-se na afinidade preferencial entre substâncias e líquidos extratores com polaridades semelhantes (VOGEL, 1971).

3.5.2 Cristalização

Cristalização foi um método utilizado para purificar compostos sólidos que se encontravam dissolvidos em determinada condição. Através dessa técnica pode-se separar compostos que são solúveis a quente e insolúveis a frio num dado solvente. Possibilita ainda a obtenção do sólido quando na adição de um segundo solvente torna o composto de interesse menos solúvel na mistura de líquidos gerada (GONÇALVES; WAL; ALMEIDA,1985).

3.5.3 Cromatografia em sílica

Foram empregadas duas técnica cromatográficas diferentes na purificação dos compostos, sendo a escolha do método direcionada pela necessidade de cada caso.

A técnica empregada na maior parte dos casos foi a cromatografia em coluna, realizada utilizando-se sílica gel 60 (220-240 mesh) e misturas de solventes variadas medidas na base v/v como fase móvel. A quantidade de sílica e as dimensões da coluna foram selecionadas de acordo com a relação descrita por STIL, KAHN e MITRA, 1978.

Quando não foi possível purificar a substância de interesse pela técnica citada anteriormente foi utilizada a cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP).

Nessa técnica empregou-se placas de vidro de 20x20 cm recobertas com sílica gel 60 (70-230 mesh) com 8 mm de espessura. As placas foram eluídas em cuba fechada.

Para o controle das reações de síntese e monitoramento das frações geradas na cromatografia em coluna utilizou-se a cromatografia em camada delgada (CCD). Foram utilizadas cromatoplasas de alumínio revestidas com sílica gel 60. Essas placas foram eluídas com diferentes misturas de solventes. A detecção dos compostos foi realizada pela visualização direta (no caso dos compostos coloridos) ou com auxílio de um revelador, sendo ele uma solução 0,5% orcinol em H₂SO₄ conc./EtOH (1:20).

3.6 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS DE SÍNTESE

3.6.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos com os espectrômetros BRUKER Avance DRX 400 ou BRUKER Avance 600 operando na frequência base de 400,1 MHz ou 600,1 MHz para os núcleos de ¹H e 100,63 MHz ou 150,903 MHz para os núcleos de ¹³C respectivamente. Experimentos bidimensionais de ¹H-¹H – COSY (*Correlation Spectroscopy*), ¹H-¹³C HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*) e ¹H-¹³C HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) também foram realizados quando necessários.

Além destes foram realizados experimentos de NOE (*Nuclear Overhauser Effect*) e NOESY ¹H-¹H para determinar a conformação tridimensional de alguns compostos.

Os assinalamentos e as magnitudes das constantes de acoplamento foram obtidos a partir dos espectros de RMN de ¹H através de análises de primeira ordem. A aparência dos sinais foi indicada pelas abreviaturas b, s, d, t, q, e m para “broad”, singlete, duplete, triplete, quarteto e multiplete respectivamente.

As amostras foram solubilizadas nos solventes deuterados CDCl₃ ou DMSO-*d*₆ e colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro para análise a temperaturas de 30°C.

Os deslocamentos químicos expressos em ppm foram determinados utilizando como padrão interno o CDCl₃ (7,27 ppm e 77,23 ppm, ¹H e ¹³C, respectivamente) ou DMSO-*d*₆ (2,54 ppm e 40,45 ppm, ¹H e ¹³C, respectivamente).

Os espectros foram analisados com auxílio do programa TOPSPIN 2.1.

3.6.2 Espectrometria de massas

3.6.2.1 Ionização por dessorção a laser assistida por matriz acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF)

As amostras foram previamente adicionadas da matriz HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinamínico) para realização destas análises. Os espectros de massas foram obtidos com o espectrômetro MALDI-TOF/MS modelo Autoflex II (Bruker Daltonics), empregando o programa FlexControl 2.0 (Bruker Daltonics). Foi empregado modo refletor positivo, com uma voltagem de aceleração de 20 kV, intervalo de 150 ns entre o pulso de laser e aplicação da voltagem, e faixa de aquisição entre 500 – 2000 Da. A análise e tratamento dos espectros foram realizados com o auxílio do programa FlexAnalysis 2.0 (Bruker Daltonics).

3.6.2.2 Ionização por eletrodispersão acoplada à espectrometria de massa (ESIMS)

Os experimentos de ESIMS foram realizados no espectrômetro MICROMASS QUATTRO LC-MS/MS de triplo quadrupolo e no espectrômetro LTQ Orbitrap XL, utilizando como padrões externos formato de sódio e Ultramark 1621 respectivamente. Para realização das análises as amostras foram diluídas (de 100 $\mu\text{g/mL}$ a 10 $\mu\text{g/mL}$) em misturas constituídas de metanol, clorofórmio e água e introduzidas no espectrômetro por infusão direta. No caso das análises realizadas no LC-MS/MS N_2 foi usado como gás de nebulização (83 L/h) e desolvatação (309 L/h). A fonte foi operada a 150° C e a temperatura de desolvatação foi mantida a 250° C. Para a determinação dos íons moleculares no modo positivo, os parâmetros foram: 5,0 kV (capilar) e 50 V (cone). A pressão foi mantida a $1,1 \times 10^{-5}$ mBar para o analisador e $2,0 \times 10^{-5}$ mBar para célula de gás.

3.6.3 Espectrometria na região do Ultravioleta-visível

Para realização das análises as amostras foram dissolvidas na concentração de 12 $\mu\text{mol/L}$ em DMSO. Os espectros de UV-visível foram obtidos no espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 no modo de varredura 350-800 nm. Os resultados foram expressos em termos de absortividade molar (ϵ) dos compostos analisados segundo a seguinte equação a seguir, onde A é a absorbância em

determinado comprimento de onda, c é a concentração da amostra em mol/L e l é o caminho óptico percorrido pela luz em cm.

$$A = \epsilon cl$$

3.6.4 Determinação do poder rotatório específico

O poder rotatório das glicoporfirinas inéditas foi obtido a partir de soluções com concentração de 10 mg/ml (ou 1,0 %) dos compostos em DMSO. Utilizou-se para as medições um polarímetro modelo Jasco P-200 o qual possuía como fonte de emissão uma lâmpada de sódio operando no comprimento de onda de 589 nm à temperatura de 25°C. A cubeta possuía 100 mm de comprimento definindo o caminho óptico. Os cálculos foram processados e operados no programa Spectra Manager seguindo-se a seguinte fórmula:

$$[\alpha]_D^{20^\circ\text{C}} = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c}$$

Onde:

α =ângulo medido no polarímetro

l = comprimento da cubeta em dm

c = concentração da amostra em g/100ml

3.7 ENSAIOS FOTOFÍSICOS

Para os ensaios fotofísicos empregaram-se soluções estoque das porfirinas a 1 mmol/L em DMSO. Estas soluções foram conservadas em geladeira (4°C) protegidas da luz por no máximo 7 dias e para os derivados tiocarbamato foram empregados soluções estoque recém preparadas.

3.7.1 Fotoestabilidade dos derivados porfirínicos

Para o estudo da fotoestabilidade dos derivados porfirínicos foram empregadas soluções aquosas de cada derivado na concentração de 10 $\mu\text{mol/L}$ obtidas a partir das soluções estoque. Nos casos onde verificou-se agregação (porfirinas **1** e **4**), os testes de fotoestabilidade foram procedidos em solução aquosa de SDS 0,1 mg/100ml.

Tais soluções foram submetidas a irradiações sob intensidade luminosa de 100 mW/cm². Os experimentos consistiram em medir a intensidade da banda Soret no espectro UV-visível em diferentes tempos de irradiação (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 15, 20 e 30 min). As absorbâncias foram mensuradas no modo varredura (entre 350 - 800 nm)

sendo os experimentos realizados em duplicata empregando espectrofotômetro Shimadzu 1800 UV. A interpretação dos dados foi realizada com o auxílio do programa UV Probe 2.3 e o tratamento estatístico dos dados feito no programa GraphPad Prism 5 utilizando teste ANOVA Newman-Keuls para avaliação da variância múltipla dos dados.

3.7.2 Estudos de geração de oxigênio singlete

Os experimentos para verificar a geração de oxigênio singlete seguiram a metodologia descrita por Hadjur e colaboradores (1998). Imediatamente antes da análise foram preparadas duas soluções: uma contendo os derivados porfirínicos na concentração de 0,1 mmol/L dissolvidos em DMF:água (9:1) e outra contendo o composto 1,3-difenilisobenzofurano (DFiBF) na concentração de 10 mmol/L em DMSO. Em células de vidro foram preparados então 2 mL de solução contendo DFiBF 50 $\mu\text{mol/L}$ e porfirina 0,5 $\mu\text{mol/L}$, em DMF/H₂O 9:1. As células foram irradiadas com luz em intensidade de 9,0 mW/cm² e comprimento de onda na faixa de 550-800 nm. Durante a irradiação, as soluções foram mantidas sob agitação magnética em temperatura ambiente (25° C). A absorbância foi medida em 415 nm com o auxílio de espectrofotômetro Shimadzu 1800 UV a cada minuto durante os 15 minutos iniciais e posteriormente após 20 e 30 minutos de irradiação. A porcentagem de redução, proporcional à produção de oxigênio singlete, foi calculada por comparação entre a absorbância inicial da solução ao tempo zero e a absorbância registrada ao fim de cada período de irradiação avaliado. A interpretação dos dados foi realizada com o auxílio do programa UV Probe 2.3 e o tratamento estatístico dos dados feito no programa GraphPad Prism 5 utilizando teste ANOVA Newman-Keuls para avaliação da variância múltipla dos dados.

3.7.2.1 Rendimento quântico de oxigênio singlete

Os rendimentos quânticos de oxigênio singlete foram determinados através do método indireto e utilizando o azul de metileno como substância de referência (ROITMAN et al., 1994). Preparou-se células de vidro contendo 2 ml de solução a uma concentração de 0,5 $\mu\text{mol/L}$ de azul de metileno e 50 $\mu\text{mol/L}$ de DFiBF (como realizado para as porfirinas). Foram tomados os dados obtidos nos 8 minutos iniciais de irradiação onde houve linearidade no decaimento da absorbância do DFiBF e assim pudessem ser aplicados os cálculos de equação da reta respeitando a lei de Lambert-Beer. O rendimento quântico de oxigênio singlete foi obtido pela seguinte equação:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}}{R^{\text{Padrão}} \cdot I_{\text{abs}}}$$

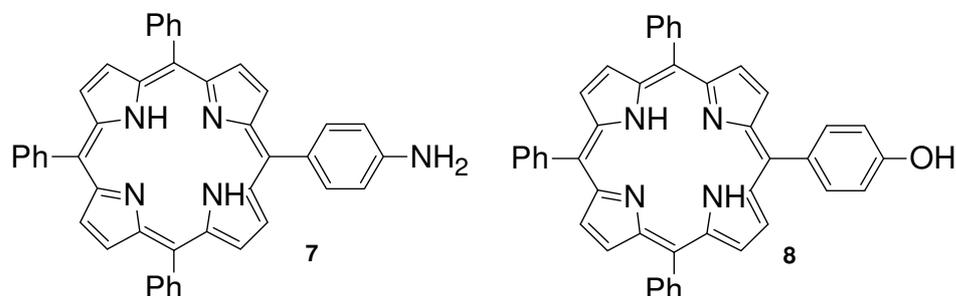
Nesta equação Φ_{Δ} representa o rendimento quântico das porfirinas e $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}$ representa o rendimento quântico do padrão (para o azul de metileno $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}=0,52$). R e $R^{\text{Padrão}}$ são os coeficientes angulares do consumo do DFIBF na presença das porfirinas e do azul de metileno. Uma vez que a reação é de primeira ordem, estes parâmetros podem ser obtidos do gráfico que apresenta o logaritmo natural (ln) da absorbância do DFIBF versus o tempo de irradiação. I_{abs} e $I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}$ são as constantes de absorção luminosa para a amostra e para o azul de metileno respectivamente.

3.7.3 Estudo de agregação

Os ensaios para o estudo da agregação dos derivados porfirínicos empregaram as técnicas espectrometria no UV-Vis e fluorescência segundo metodologia descrita por GUO (2008). A partir da solução mãe de porfirina na concentração de 1,0 mmol/L em DMSO, foram preparadas diluições das porfirinas nas concentrações de $5,0 \cdot 10^{-7}$, $1,0 \cdot 10^{-6}$, $2,0 \cdot 10^{-6}$, $5 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$, $1,5 \cdot 10^{-5}$ e $2,5 \cdot 10^{-5}$ mol/L em água. Estas foram submetidas a leituras de UV-Vis e fluorescência. Os equipamentos empregados foram espectrômetro Shimadzu 1800 UV e espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC. As absorbâncias foram mensuradas no modo varredura (entre 350 - 800 nm) para que os pontos máximos da banda Soret pudessem ser identificados. A partir destes dados verificou-se o deslocamento hipsocrômico ou batocrômico dos máximos de absorção. A interpretação dos dados foi realizada com o auxílio do programa UV Probe 2.3 de acordo com a teoria excitônica estabelecida por Kasha et al. (1963). Nas leituras de fluorescência calculou-se a área do pico de emissão entre 600 e 750 nm com auxílio do programa RF-5301PC.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

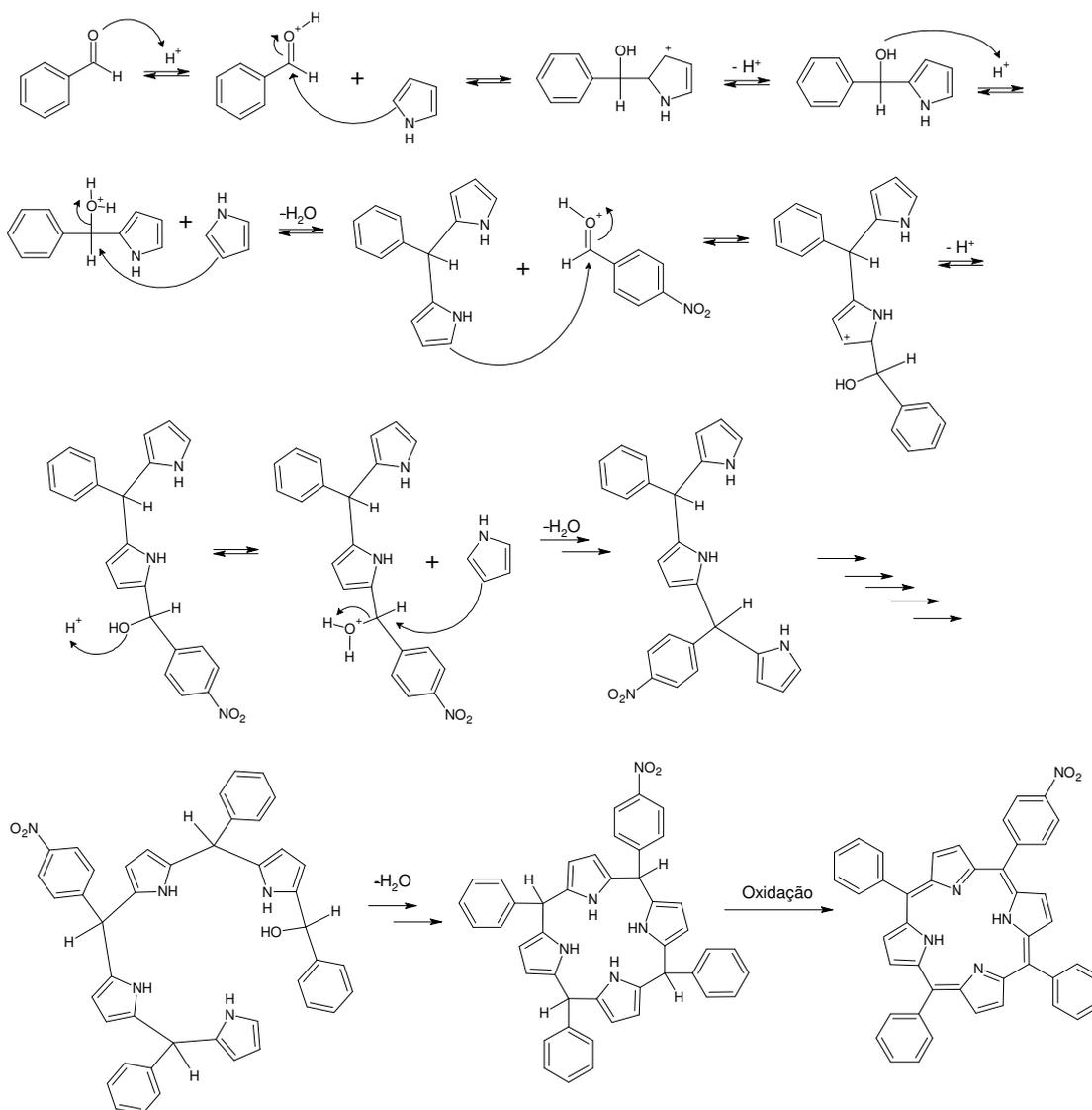
4.1 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS PORFIRINAS 7 E 8



Para síntese das porfirinas precursoras assimétricas **7** (aminofenilporfirina) e **8** (hidroxifenilporfirina) foram testadas algumas rotas sintéticas com o intuito de verificar qual destas seria mais promissora para obtenção de melhores rendimentos. Apesar de a síntese destas porfirinas já estar descrita na literatura verificou-se grande dificuldade para obtenção dos rendimentos relatados, além da falta de alternativas para síntese destes compostos. Considerando a importância destas porfirinas como materiais iniciais (não somente para obtenção dos derivados tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato, mas também para obtenção de outros derivados ou compostos oriundos de modificação química) fez-se oportuno o estudo da otimização e das alternativas sintéticas para obtenção destas porfirinas substituídas por grupos polares.

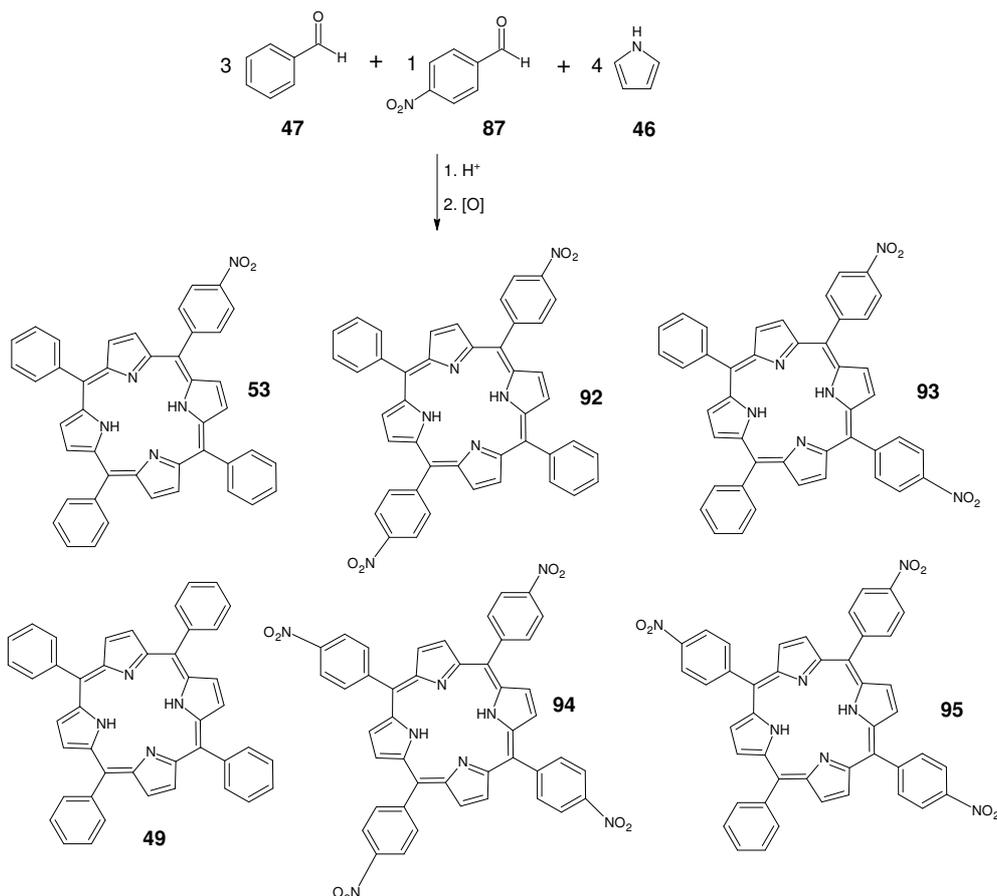
As duas porfirinas propostas são monossustituídas, o que torna a síntese e purificação destas substâncias muito mais complexa em relação a um composto que possua todos os substituintes iguais na posição *meso*. Isso porque durante a reação de ciclocondensação podem ser formadas também espécies di, tri ou tetrassustituídas. A utilização de quantidades estequiométricas dos reagentes iniciais contribui para evitar a formação excessiva dos produtos indesejados, porém não evita a sua formação. O Esquema 28 mostra o mecanismo da ciclocondensação na síntese de porfirinas monossustituídas tomando como exemplo a síntese da 5-(4-nitrofenil)-10,15,20-trisfenilporfirina **53**. Na página 56 (Esquema 29) pode-se visualizar a gama de porfirinas que foram obtidas nesta mesma reação devido à condensação indiscriminada entre pirrol **46**, benzaldeído **47** e *p*-nitrobenzaldeído **87**.

Nota: A caracterização e os procedimentos otimizados para síntese de todos os compostos obtidos no presente trabalho encontram-se na seção de Anexos.



Esquema 28: Mecanismo de ciclocondensação na síntese de porfirinas.
 Fonte: Adaptado de MILGROM, 1997.

Na reação representada no Esquema 29 os principais produtos obtidos foram a TPP **49** (com rendimento de 22%) e a espécie mononitrada **53** (com rendimento de 16,2%). Mesmo com a adição de quantidades estequiométricas ocorreu a formação das espécies dinitradas (estruturas **92** e **93**), tri e tetranitradas (estruturas **94** e **95** respectivamente). O somatório de todas as porfirinas sintetizadas numa única reação e purificadas por cristalização em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ alcança o rendimento de 52% (sendo o cálculo baseado na massa molecular média das porfirinas obtidas).



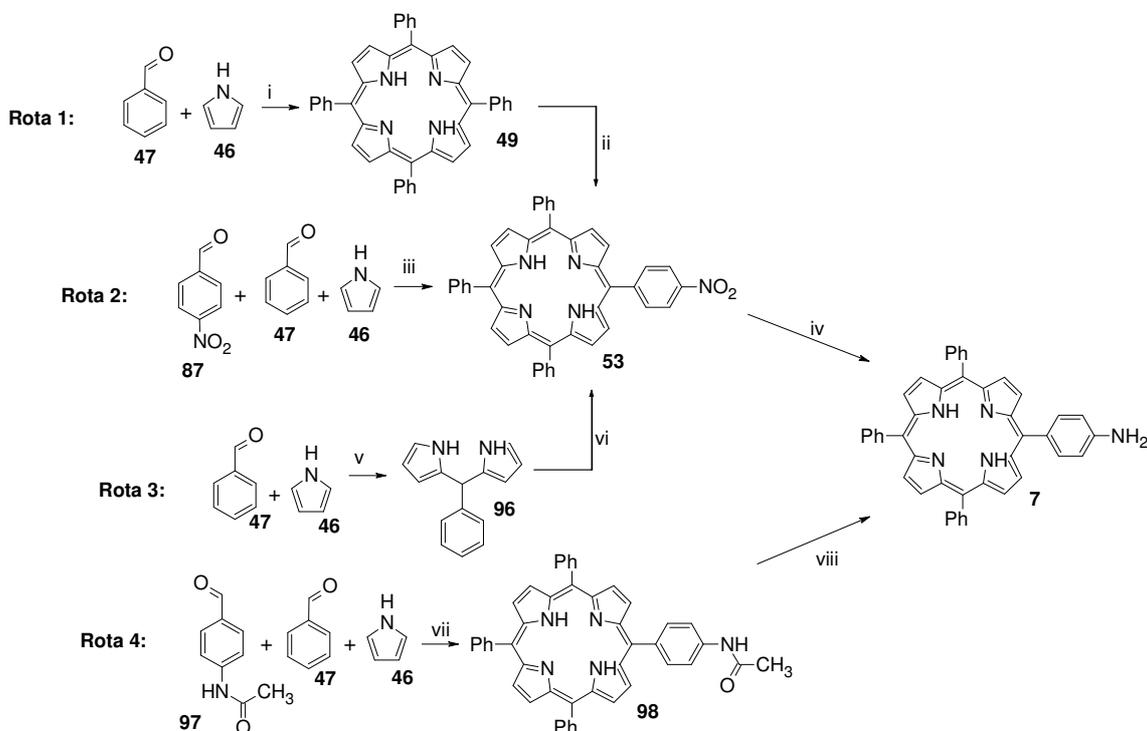
Esquema 29: Gama de porfirinas formadas na reação de ciclocondensação a partir de dois aldeídos diferentes.

4.1.1 5-(4-aminofenil),10,15,20-trifenilporfirina **7**

Para síntese da aminofenilporfirina **7** foram testadas quatro rotas sintéticas diferentes (Esquema 30, na página seguinte). Numa primeira etapa foi realizada a ciclocondensação combinando diferentes aldeídos e pirrol para obtenção de porfirinas intermediárias capazes de originar a porfirina **7** desejada. Nesta etapa inicial as condições de tempo, temperatura, o catalisador e o agente oxidante foram os mesmos. Tais condições preconizaram a utilização de uma metodologia já estabelecida no laboratório para síntese de *meso*-tetraarilporfirinas, na qual se utilizou como catalisador o BF_3OEt_2 e como agente oxidante o SeO_2 . Na rota 3 (Esquema 30) a etapa de ciclocondensação se deu a partir de um precursor dipirrometano **96** e não a partir do pirrol. Os rendimentos obtidos em todas as etapas sintéticas podem ser visualizados na Tabela 1 (pág. 58).

A grande vantagem no rendimento para obtenção da porfirina **49** (etapa sintética *i* do Esquema 30) ocorre porque esta porfirina é simétrica, ou seja, todos os substituintes da posição *meso* são iguais. Nas demais situações, além da porfirina

monossustituída desejada, são também sintetizadas porfirinas com duas ou mais substituições. Isto gera o consumo dos materiais iniciais e divide o rendimento da reação entre as diversas espécies sintetizadas.



(i) benzaldeído(1mmol), pirrol(1mmol), BF_3OEt_2 (0,07 mmol), CH_2Cl_2 (10ml), 30 min; SeO_2 (15 mmol), 1 h, TA; (ii) TPP (0,5 mmol), HNO_3 65%/ H_2SO_4 (0,5ml de solução 1:1), CH_2Cl_2 (1ml), 5h, TA; (iii) benzaldeído (0,9mmol), *p*-nitrobenzaldeído(0,3mmol), pirrol(1,2mmol), BF_3OEt_2 (0,084 mmol), CH_2Cl_2 (12ml), 30 min; SeO_2 (18 mmol), 1 h, TA; (iv) TPP- NO_2 (0,5 mmol), Sn(10mmol), HCl(4,1 ml), 5 h, 65 °C; (v) benzaldeído(1mmol), pirrol(25mmol), TFA(0,2mmol), 1 h, TA; (vi) dipirrometano (1mmol), *p*-nitrobenzaldeído (0,5 mmol), benzaldeído (0,5 mmol), BF_3OEt_2 (0,07 mmol), CH_2Cl_2 (10ml), 1 h; SeO_2 (15 mmol), 1 h, TA. (vii) benzaldeído (0,9mmol), *p*-acetamido-benzaldeído(0,3mmol), pirrol(1,2mmol), BF_3OEt_2 (0,084 mmol), CH_2Cl_2 (12ml), 30 min; SeO_2 (18 mmol), 1 h, TA; (viii) TPP-NAc(1 mmol), HCl(3 ml), 4h, 60 °C;

Esquema 30: Quatro rotas sintéticas testadas para síntese da porfirina 7.

Na rota 1, a primeira etapa de ciclocondensação é seguida por uma nitração clássica utilizando o íon nitrônio (etapa sintética *ii*). Trata-se de uma substituição eletrofílica aromática. Devido à presença de vários anéis na molécula é bastante complicado fazer o controle da nitração para que haja apenas uma substituição. Foram testadas 3 condições reacionais: 1) com quantidade estequiométrica de íons nitrônio; 2) com 2 eq. de íons nitrônio e 3) com grande excesso de íons nitrônio. Observou-se que utilizando grande excesso de íons nitrônio os rendimentos eram maiores, mesmo com a obtenção de grande quantidade de espécies polinitradas.

As rotas 1, 2 e 3 compartilham a mesma etapa final (etapa sintética *vi*), que é a redução do grupo nitro para obtenção do grupo amino. As alternativas de agentes redutores para esta transformação especificamente são bastante restritas uma vez que algumas técnicas de redução mais comuns (como a utilização de hidrogenação catalítica) podem reduzir as duplas-ligações do anel porfirínico, o que é indesejado. Na literatura, o dicloreto de estanho é o agente redutor utilizado na maioria dos casos (KRUPER et al., 1989). No presente trabalho este composto foi obtido *in situ* (método não usual), pela reação de estanho metálico com ácido clorídrico concentrado.

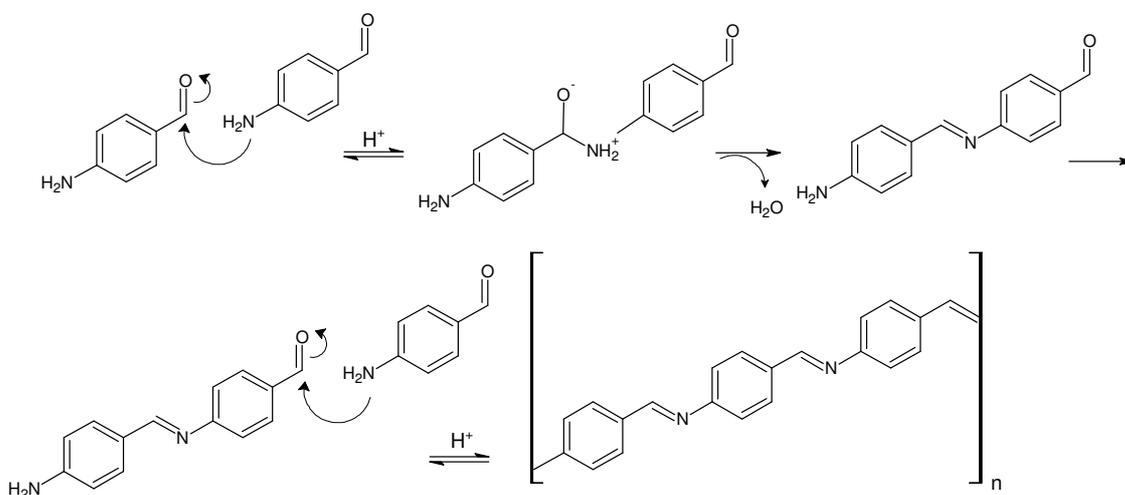
Tabela 1: Rendimentos obtidos em cada etapa de síntese para obtenção da porfirina **7**

Etapa sintética	Rendimento (%)
<i>i</i>	56,0
<i>ii</i>	11,4
<i>iii</i>	10,3
<i>iv</i>	55,3
<i>v</i>	50,0
<i>vi</i>	20,3
<i>vii</i>	4,4
<i>viii</i>	71,3

Na rota 3 optou-se por obter um derivado dipirrometano **96** para então proceder a ciclocondensação com benzaldeído **47** e *p*-nitrobenzaldeído **87**. Apesar de o rendimento para obtenção do derivado dipirrano **96** (etapa sintética *v*) ter sido razoável, na etapa de ciclocondensação (etapa sintética *vi*) ocorreu a formação também da espécie dinitrada o que fez com que o rendimento desta última etapa não fosse elevado e com isso, o rendimento global desta rota não superou o rendimento obtido na rota 2.

Na rota 4 utilizou-se o *p*-acetamidobenzaldeído **97** como um dos materiais iniciais. O grupo acetamido é um motivo químico bastante explorado em reagentes nos quais o grupo amino não pode estar desprotegido e deseja-se ter este grupo funcional na molécula final. Este grupo pode ser facilmente convertido em grupo amino por uma simples reação de hidrólise de amida catalisada por ácido. Esta rota sintética apresentava-se como uma das opções sintéticas mais promissoras por dois motivos: 1) por se tratar de uma rota com apenas 2 etapas e; 2) pelo fato de a última etapa se tratar de uma reação de desacetilação com previsão de rendimentos quantitativos. Estas projeções, porém, não foram confirmadas uma vez que o resultado da reação de ciclocondensação (etapa sintética *vii*) apresentou um rendimento ínfimo, comprometendo assim o rendimento global. O reagente ideal para essa rota seria o *p*-

aminobenzaldeído, porém o mesmo nunca poderia ser comercializado sabendo-se que sofreria facilmente polimerização (Esquema 31). O grupo amino de uma molécula reagiria com o carbono carbonílico de outra molécula gerando assim o polímero.



Esquema 31: Polimerização do *p*-aminobenzaldeído.

A rota 2, possuindo apenas duas etapas e apresentando rendimento razoável para obtenção da mononitrofenilporfirina **53**, foi, afinal, a rota mais vantajosa entre as alternativas testadas. A rota 3, apesar de apresentar um rendimento próximo ao encontrado na rota 2 não foi considerada como uma boa opção, uma vez que não necessárias 3 etapas para obtenção do composto em questão. A Tabela 2 resume os rendimentos globais obtidos nas quatro diferentes rotas sintéticas testadas e mostradas anteriormente no Esquema 30. A linha hachurada destaca a rota com melhor rendimento. Os valores dos rendimentos globais foram calculados com base nos valores de rendimento de cada etapa sintética descritos a Tabela 1.

Tabela 2: Rendimentos globais para síntese da aminofenilporfirina **7**

Rota	Etapas sintéticas	Rendimento (%)
1	<i>i, ii, iv</i>	3,5
2	<i>iii, iv</i>	5,7
3	<i>v, vi, iv</i>	5,6
4	<i>vii, viii</i>	3,1

Na posse desta análise inicial, passamos a otimizar as reações representadas pelas setas *iii* e *iv* no Esquema 30. As otimizações na etapa *iii* (síntese da nitrofenilporfirina **53**) incluíram alterações na proporção entre os aldeídos (Tabela 3,

reação 2), na natureza do catalisador (reações 3 e 4), na condição de ciclização (reações 5 e 6), a quantidade do agente oxidante (reações 7-9) e condições de oxidação (reações 10 e 11). A Tabela 3 abaixo resume algumas das condições testadas bem como os rendimentos obtidos em termos de porcentagem molar. A condição que proporcionou o melhor rendimento pode ser identificada na linha hachurada da presente Tabela (reação 7).

Tabela 3: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese porfirina **53**, (etapa *iii*, Esquema 30).

REAÇÃO	CONDIÇÕES					
	Proporção entre aldeídos *	Catalisador	Ciclização	SeO ₂ (mmol)	Oxidação	Rend. (%)
1	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	60	TA, 1 h	10,3
2	3:2	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	60	TA, 1 h	6,0
3	3:1	TFA	TA, 30 min.	60	TA, 1 h	0,3
4	3:1	SnCl ₄	TA, 30 min.	60	TA, 1 h	0,4
5	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 1 h.	60	TA, 1 h	8,1
6	3:1	BF ₃ OEt ₂	refluxo 30 min.	60	TA, 1 h	4,3
7	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	30	TA, 1 h	16,2
8	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	10	TA, 1 h	13,3
9	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	2	TA, 1 h	14,2
10	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	30	TA, 2 h	5,2
11	3:1	BF ₃ OEt ₂	TA, 30 min.	30	TA, 0,5 h	4,8

* mmol de benzaldeído : mmol de *p*-nitrobenzaldeído

Apesar de a reação 9 ter apresentado um eventual rendimento de 14,2 % mesmo com quantidades baixas do agente oxidante, esta reação não se mostrou reprodutível. Aventa-se a possibilidade de que a falta de homogeneidade da reação (reação heterogênea) tenha sido o principal fator para o comportamento observado. Os procedimentos de síntese e a caracterização da 5-(4-nitrofenil)-10,15,20-trisfenilporfirina **53** podem ser vistos no Anexo 2.

Para otimização da reação de redução (etapa *iv* do Esquema 30) o parâmetro tempo foi crucial. Foram realizados experimentos com 2, 5, 10 e 24h de duração de reação de redução (Tabela 4, reações 12-15) nos quais se verificou que o tempo de 5h foi o ideal. Também foram feitos alguns testes utilizando agentes redutores comumente empregados neste tipo, como o dicloreto de estanho dihidratado (reação 16) e o tetracloreto de estanho (reação 17), porém não obteve-se êxito em tais situações.

Tabela 4: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese da porfirina **7** (etapa *iv*, Esquema 32)

REAÇÃO	CONDIÇÕES		
	Catalisador	Tempo (h)	Rendimentos (%)
12	Sn ⁰ /HCl	24	55,3
13	Sn ⁰ /HCl	10	61,2
14	Sn ⁰ /HCl	5	61,3
15	Sn ⁰ /HCl	2	36,2
16	SnCl ₂ .2H ₂ O/HCl	24	0
17	SnCl ₄ /HCl	24	0

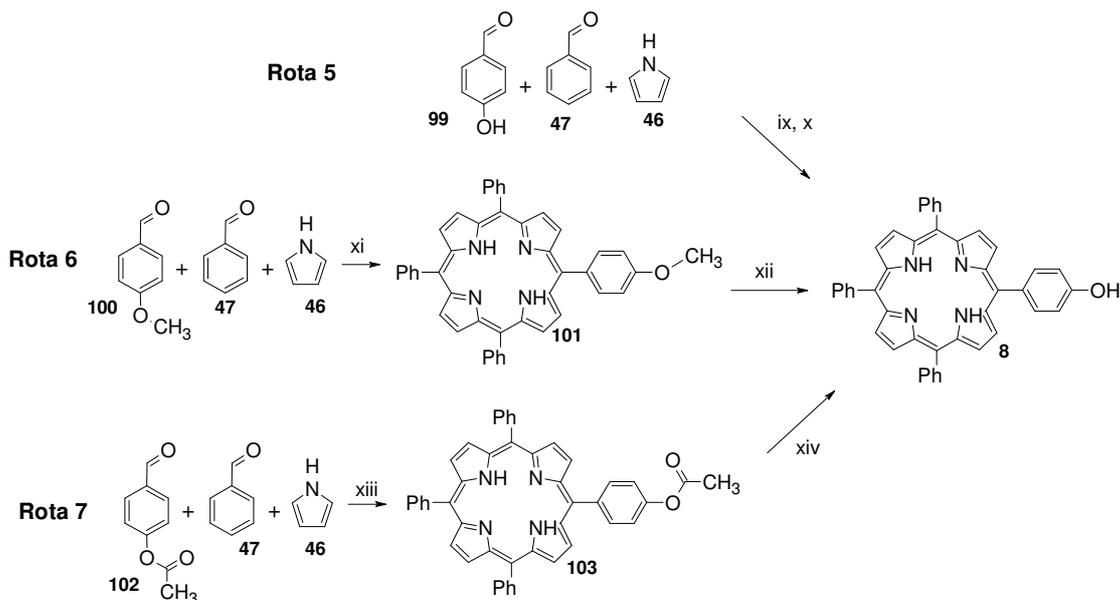
Os procedimentos de síntese e a caracterização da 5-(4-aminofenil)-10,15,20-trisfenilporfirina **7** pode ser vistos no Anexo 3. Com estas otimizações o rendimento global da rota 3 passou de 5,7% (vide tabela 2) para 9,9% (utilizando como base os rendimentos da reação 7 e 14 para os cálculos).

4.1.2 5-(4-hidroxifenil),10,15,20-trifenilporfirina **8**

De forma semelhante ao realizado na síntese da aminoporfirina **7**, foram testadas algumas rotas sintéticas com o intuito de verificar qual destas seria mais promissora para obtenção da hidroxifenilporfirina **8**. No Esquema 32 são mostradas todas as rotas testadas. A Tabela 5 mostra os resultados em termos de porcentagem do rendimento molar do composto e cada etapa da rota sintética.

Por ser uma rota com uma única etapa de reação a rota 5 seria a primeira escolha para obtenção da hidroxifenilporfirina **8**, porém os rendimentos obtidos nas condições testadas tornaram esta rota desvantajosa. Foram testadas duas metodologias na tentativa de obtenção desta porfirina. A primeira delas (etapa sintética *ix*, Esquema 32) empregou as condições reacionais otimizadas e estabelecidas para síntese da nitrofenilporfirina **53**. Partindo do *p*-hidroxibenzaldeído **99** e utilizando a

presente metodologia não obteve-se sucesso. Para aldeídos que possuem substituintes polares a utilização do catalisador BF_3OEt_2 torna-se inviável uma vez que o mesmo interage com estes grupos, deixando de participar da reação principal de ciclocondensação. Optou-se então por outra metodologia mais adequada para sintetizar porfirinas substituídas por grupos polares (Adler e Longo, 1932). Nesta metodologia empregam-se altas temperaturas e ácido propiônico como solvente e catalisador. Os resultados de rendimento foram melhores do que a metodologia utilizada anteriormente, porém não alcançaram os valores descritos na literatura.



(ix) benzaldeído(0,9mmol), *p*-hidroxibenzaldeído(0,3mmol), pirrol(1,2mmol), BF_3OEt_2 (0,084 mmol), CH_2Cl_2 (12ml), 30 min; SeO_2 (18 mmol), 1 h, TA; (x) benzaldeído(0,9mmol), *p*-hidroxibenzaldeído (0,3mmol), pirrol(1,2mmol), ácido propiônico(10 ml), 1h, 150 °C; (xi) benzaldeído(0,9mmol), anisalaldeído(0,3mmol), pirrol(1,2mmol), BF_3OEt_2 (0,084 mmol), CH_2Cl_2 (12ml), 30 min; SeO_2 (18 mmol), 1 h, TA; (xii) TPP-OMe(0,1mmol), HBr/AcOH 30% (2ml), 24 h, 60 °C; (xiii) benzaldeído(0,9mmol), *p*-acetoxibenzaldeído(0,3mmol), pirrol(1,2mmol), BF_3OEt_2 (0,084 mmol), CH_2Cl_2 (12ml), 30 min; SeO_2 (18 mmol), 1 h, TA; (xiv) TPP-OAc (1 mmol), HCl (3,5 ml), 4h, 60 °C;

Esquema 32: Quatro rotas testadas para síntese da porfirina 8.

Buscando alternativas sintéticas, foram testadas outras duas rotas (rotas 6 e 7, Esquema 32). Nestas estratégias buscou-se utilizar aldeídos precursores com a função hidroxila protegida para que as porfirinas obtidas apresentassem substituições menos polares e com isso permitissem o emprego da metodologia estabelecida no laboratório.

Na rota 6 utilizou-se o anisalaldeído **100** ou (*p*-metoxibenzaldeído) na ciclocondensação (etapa *xi*) seguida por uma reação de demetilação (etapa *xii*). Já na rota 7 empregou-se o *p*-acetoxibenzaldeído **102** na etapa de ciclocondensação (etapa

xiii) seguida por uma reação de desacetilação. Tanto para a ciclocondensação como para a reação posterior de desproteção a rota 7 apresentou rendimentos superiores ao da rota 6. A Tabela 5 traz os rendimentos de todas as etapas sintéticas em termos de rendimento percentual molar. Logo abaixo, a Tabela 6 mostra os rendimentos globais calculados a partir dos dados mostrados na tabela anterior.

Tabela 5: Rendimentos obtidos em cada etapa sintética na obtenção da porfirina **8**.

Etapa sintética	Rendimento (%)
<i>ix</i>	0,8
<i>x</i>	2,5
<i>xi</i>	4,0
<i>xii</i>	62,0
<i>xiii</i>	8,6
<i>xiv</i>	70,0

Tabela 6: Rendimentos globais obtidos na síntese da porfirina **8**.

Rota	Etapa sintética	Rendimento (%)
5	<i>ix</i>	0,8
5	<i>x</i>	2,5
6	<i>xi, xii</i>	2,5
7	<i>xiii, xiv</i>	6,0

Tendo indícios da rota sintética mais promissora passou-se para fase de otimização. As otimizações da etapa sintética *xiii* (Esquema 32) incluíram alterações da natureza do catalisador (reação 19), tipo e concentração do agente oxidante (reações 20-22). Os resultados em termos de porcentagem do rendimento molar do composto são mostrados na Tabela 7. A condição que proporcionou o melhor rendimento pode ser identificada na linha hachurada da Tabela.

Tabela 7: Rendimento obtidos no estudo da otimização da síntese da porfirina **103**, (etapa *xiii*)

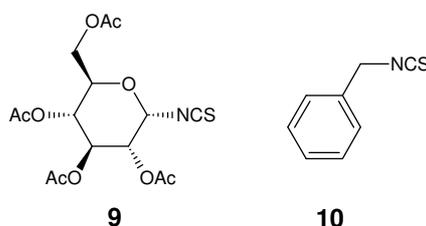
REAÇÃO	CONDIÇÕES		
	Catalisador (mmol)	Agente Oxidante	Rendimento (%)
18	BF ₃ OEt ₂	SeO ₂	8,6
19	TFA	SeO ₂	2,5
20	BF ₃ OEt ₂	DDQ (1 eq)	3,0
21	BF ₃ OEt ₂	DDQ (3 eq)	12,6
22	BF ₃ OEt ₂	DDQ (6 eq)	9,8

Os procedimentos de síntese e a caracterização da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trisfenilporfirina **103** e da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trisfenilporfirina **8** pode ser vistos nos Anexos 4 e 5 respectivamente.

Ficou demonstrado que a alteração do agente oxidante de SeO_2 para DDQ (2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona) foi essencial para o aumento no rendimento da síntese da acetoxifenilporfirina **103**. Notou-se, pela observação em CCD, a formação de vários subprodutos quando se utilizou SeO_2 nesta situação. Por outro lado, no caso da síntese da nitrofenilporfirina **53** não foi constatada necessidade da alteração do agente oxidante. Apesar de os motivos para tal comportamento não estarem claros até momento especula-se que substituintes elétron-injetores (como, por exemplo, grupos acetoxila ou metoxila) possam interferir na reatividade do anel porfirínico tornando-o mais reativo, e assim, favorecendo reações colaterais na presença de agentes oxidantes mais duros. Neste contexto, agentes oxidantes mais brandos como o DDQ encontrariam vantagens pelo fato de gerarem menos subprodutos durante a reação.

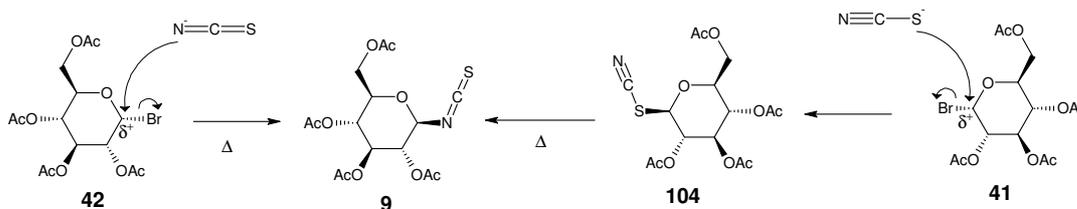
Com as otimizações realizadas o rendimento global da rota 6 passou de 6,0 % (vide Tabela 6) para 8,8% (utilizando como base o rendimento da reação 21 para os cálculos).

4.2 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DOS ISOTIOCIANATOS **9** E **10**



A reação para síntese dos derivados isotiocianato se dá pelo mecanismo de substituição nucleofílica de segunda ordem ou $\text{S}_{\text{N}}2$. O grupo de saída nestas reações são em geral haletos (brometos ou iodetos são os mais comumente utilizados) e o nucleófilo são íons tiocianato provenientes do sal potássico correspondente. Devido à ressonância presente no nucleófilo, é de conhecimento geral que nestas reações podem ser gerados também derivados tiocianato **104** (conforme pode ser observado no Esquema 33). Estudo anteriores estabeleceram que estes derivados são produtos cinéticos desta reação (GARCIA FERNÁNDEZ; ORTIZ MELLET, 2000). Já derivados isotiocianato são produtos termodinâmicos. Sendo assim, todas as reações para síntese dos derivados isotiocianato foram procedidas sob aquecimento e com tempos

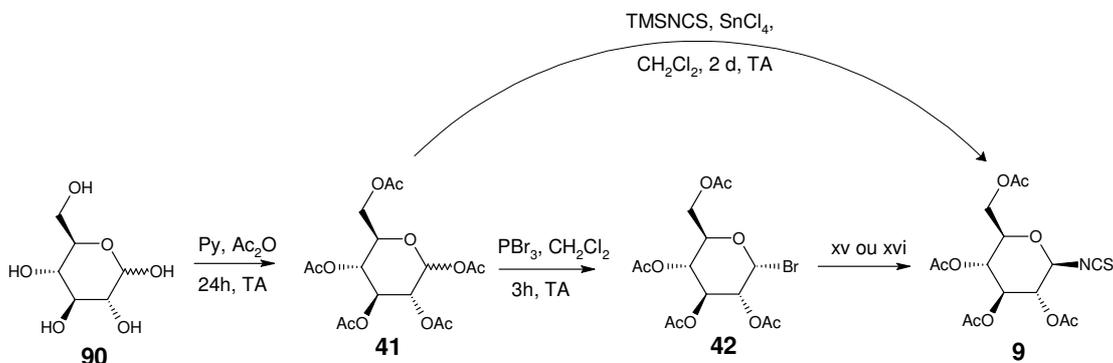
prolongados, fornecendo assim a energia necessária para que o produto desejado pudesse ser obtido. A conversão de tiocianatos para seus correspondentes isotiocianatos também é reportada na literatura (BLANCO et al., 2007). Devido à inversão de configuração característica de reações S_N2 , os produtos foram obtidos com estereoespecificidade para o anômero β .



Esquema 33: Mecanismos da síntese de derivados tiocianato e isotiocianato.

4.2.1 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato **9**

Para síntese do glicosil isotiocianato **9** foram inicialmente testadas três metodologias já descritas na literatura. Tanto na metodologia de CAMARASA et al. (1984) quanto na metodologia de LINDHORST et al. (1995) utiliza-se como substrato o bromo glicosídeo **42** e como nucleófilo o sal tiocianato de potássio, sendo que esta última etapa ocorre na ausência de solvente (condição *xvi*, Esquema 34). Já na metodologia de KÜHNE et al. (2006) utiliza-se como substrato o derivado peracetilado **41** e como nucleófilo o reagente trimetilsilil isotiocianato (TMSNCS, Esquema 34). Devido à grande discrepância entre os rendimentos alcançados e os descritos na literatura, algumas adaptações metodológicas foram realizadas. A Tabela 8 mostra os rendimentos reportados na literatura em comparação com os rendimentos encontrados.



(xv) **42** (1mmol), KSNC (2 mmol), TBAB (1 mmol), acetonitrila anidra, 3h, 90°C.

(xvi) **42** (1mmol), KSNC (10 mmol), 5 min., N_2 , 190°C.

Esquema 34: Metodologias para síntese dos derivados isotiocianato.

Tabela 8: Comparativo entre os rendimentos obtidos e reportados na literatura para síntese do derivado glicosil isotiocianato **9**.

	Rendimento reportado (%)	Rendimento encontrado (%)
CAMARASA et al. (1984)	71	34
LINDHORST et al. (1995)	60	32
KÜHNE et al. (2006)	54	5

A metodologia de CAMARASA et al. (1984) foi eleita a mais promissora por apresentar maior rendimento obtido nas primeiras tentativas e pela simplicidade metodológica em comparação com a metodologia de LINDHORST et al. (1995). Na otimização desta síntese alterou-se a atmosfera (reação 24, Tabela 9), a concentração do nucleófilo (reação 25), a concentração do catalisador de fase TBAB (brometo de tetrabutílamônio) (reação 26), o solvente (reações 27 e 28), concentração de NaI (reações 29-31) e tempo (reação 32).

Tabela 9: Rendimentos obtidos no estudo da otimização da síntese do glicosil isotiocianato **9**, (etapa xv, Esquema 34)

REAÇÃO	CONDIÇÕES						
	KNCS (eq)	Atmosfera	TBAB (eq)	Solvente (anidro)	NaI (eq)	Tempo (h)	Rendimento (%)
23	2,0	Ar	1,0	CH ₃ CN	-	3	34
24	2,0	N ₂	1,0	CH ₃ CN	-	3	37
25	4,0	N ₂	1,0	CH ₃ CN	-	3	30
26	2,0	N ₂	2,0	CH ₃ CN	-	3	31
27	2,0	N ₂	1,0	CH ₂ Cl ₂	-	3	22
28	2,0	N ₂	1,0	DMF	-	3	24
29	2,0	N ₂	1,0	CH ₃ CN	0,2	3	42
30	2,0	N ₂	1,0	CH ₃ CN	0,5	3	84
31	2,0	N ₂	1,0	CH ₃ CN	1,0	3	50
32	2,0	N ₂	1,0	CH ₃ CN	0,5	6	12

Após as otimizações o produto desejado pode ser sintetizado com rendimento de 84% ao invés de 34% (vide Tabela 9), como inicialmente foi alcançado seguindo-se a metodologia reportada na literatura. Como consequência do trabalho de otimização, foi alcançado um resultado superior a qualquer rendimento já reportado para a síntese desse derivado. Os procedimentos de síntese e a caracterização 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato **9** podem ser vistos no Anexo 8.

Para confirmação da síntese do composto **9**, além da observação dos sinais de RMN de ¹H fez-se necessária a análise através de RMN de ¹³C. Enquanto os sinais referentes ao grupo isotiocianato (-N=C=S) apresentam valores entre δ 140-150 ppm, no seu isômero tiocianato (-S-C \equiv N) os valores de deslocamento química ficam em

torno de δ 105 ppm, o que permitiu a diferenciação entre estes dois compostos. O assinalamento completo do glicosil isotiocianato encontra-se no Anexos 8. A Figura 10 mostra os assinalamentos característicos dos derivados tiocianato **123** e isotiocianato **9** conforme literatura (KOCHETKOV et al., 1991; BLANCO et al., 2007).

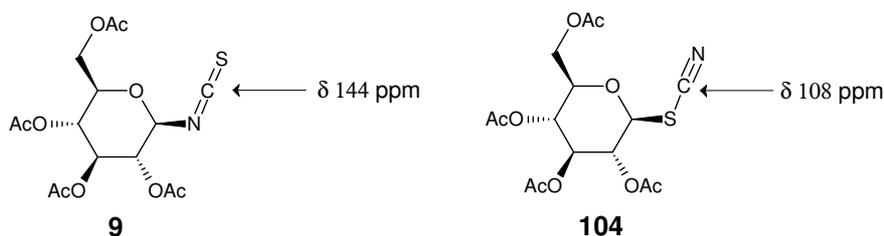
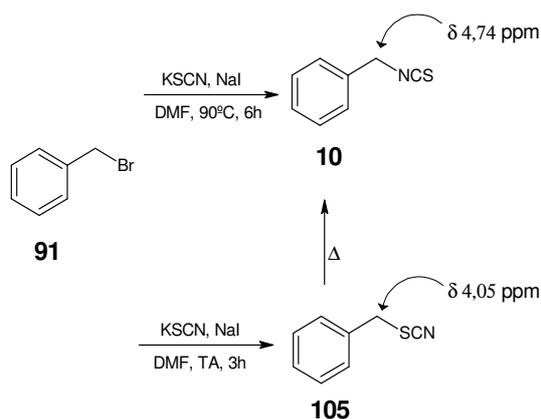


Figura 10: Deslocamentos químicos no RMN de ^{13}C para derivados isotiocianato e tiocianato.

4.2.2 Benzil isotiocianato **10**

Sabendo que o substrato para síntese do composto **10** era um brometo de alquila, a metodologia já estabelecida e otimizada para síntese do glicosil isotiocianato **9** foi aplicada nesta síntese. Não houve formação do produto desejado quando o solvente empregado foi a acetonitrila, porém alterando-se o solvente para DMF, o rendimento foi de 70%. Este resultado aproxima-se do que foi reportado por L'Abè e Leurs (1993). Estes pesquisadores utilizaram DMF e NaI para síntese de um derivado benzil isotiocianato. Sendo assim, manteve-se esta metodologia para obtenção do presente derivado. O Esquema 35 abaixo mostra a obtenção do derivado benzil isotiocianato e seu isômero tiocianato com os respectivos deslocamentos químicos dos hidrogênios do carbono benzílico (CH_2). Conforme reportado por Nishiyama e Oba (1987) é possível também obter o derivado isotiocianato **10** a partir da termoisomerização do respectivo derivado tiocianato **105**.

Diferentemente do que ocorreu para o glicosil isotiocianato **9**, para confirmar a identidade do benzil isotiocianato **10** bastou a análise de RMN de ^1H . Os deslocamentos químicos dos hidrogênios do carbono benzílico ($-\text{CH}_2-$) são diferentes para o derivado isotiocianato e tiocianato, sendo tipicamente de δ 4,74 ppm e δ 4,05 ppm respectivamente (KITAMURA et al, 1990). O assinalamento completo do composto em questão bem como o procedimento de síntese pode ser visto no Anexo 9.



Esquema 35: Síntese, deslocamentos químicos no RMN de H^1 e isomerização do derivado benzil isotiocianato **10** e tiocianato **105**.

4.3 OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DAS PORFIRINAS 1-6.

O grupo isotiocianato foi utilizado anteriormente por diversos autores para conjugação de moléculas através dos grupos tiocarbamida (ou tiourea), tiocarbamato e carbamato (RUSIN et al., 2001; CLARKE, BOYLE, 1999; SILVA et al., 2010). No presente trabalho o objetivo inicial foi conjugar compostos porfirínicos com porções glicídicas, porém, por verificar diferenças significativas no comportamento químico e fotofísico destes compostos, e a fim de associar essas diferenças com a natureza do ligante ou do grupo de ligação (Figura 11), foi necessário também propor a síntese de derivados não glicosídicos. Os resultados incluem a avaliação dos rendimentos em diferentes condições sintéticas. Na sequência foram avaliados o comportamento químico e fotofísico dos compostos com vistas à sua utilização para a TFD.

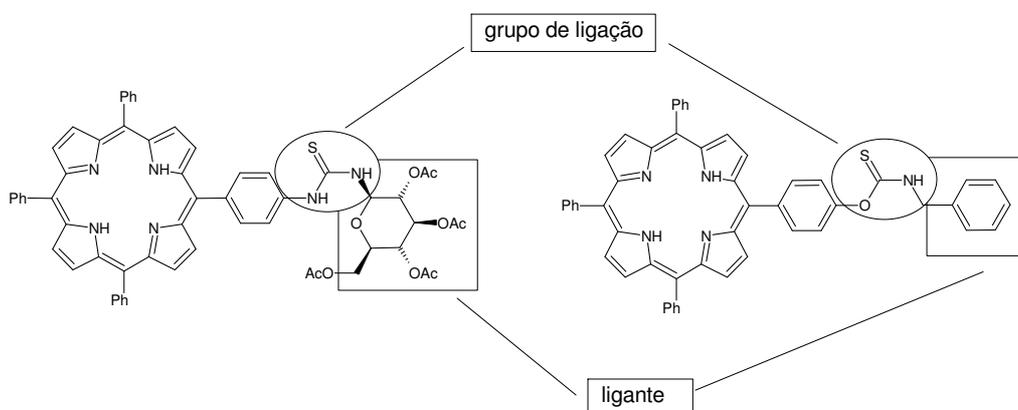
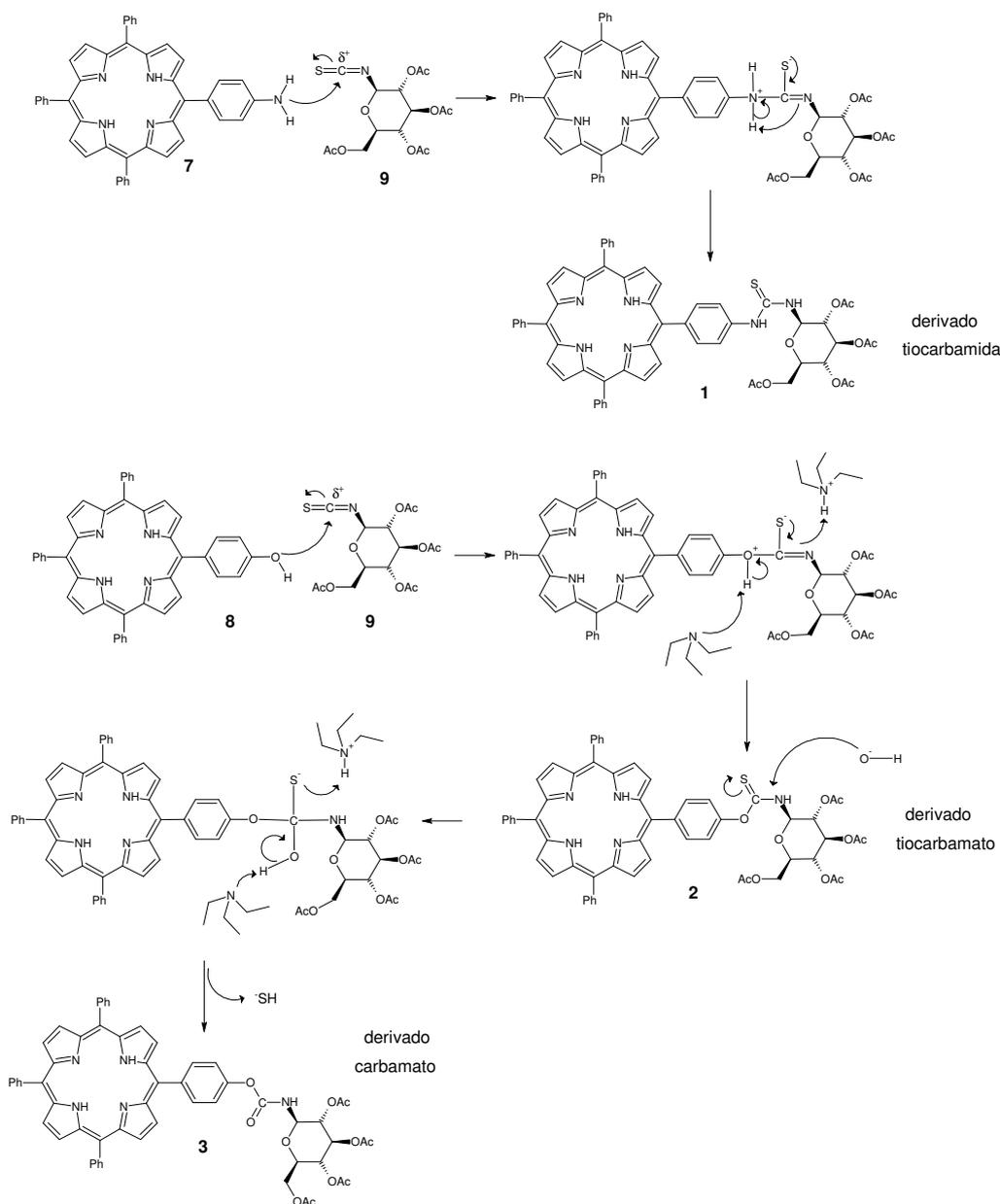
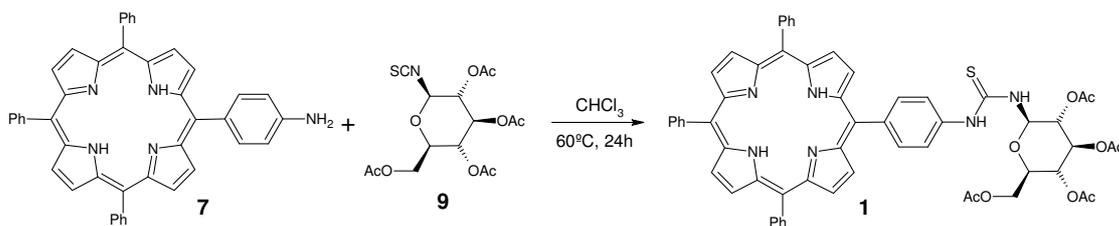


Figura 11: Definição de “grupo de ligação” e “ligante” para os derivados porfirínicos sintetizados.

A reação de obtenção dos derivados tiocarbamida e tiocarbamato é uma reação de adição entre o grupamento amino ou hidroxila e o grupo isotiocianato. Para formação do grupo tiocarbamida observou-se que não há necessidade da adição de catalisadores, já para a síntese dos derivados tiocarbamato foi necessário o emprego de uma base (receptor de próton) para favorecer a formação do produto. A obtenção dos derivados carbamato ocorreu em meio básico pela substituição do átomo de enxofre (no derivado tiocarbamato) pelo átomo de oxigênio. O Esquema 36 mostra os mecanismos de reação propostos para formação dos conjugados em discussão.



Esquema 36: Mecanismo de reação proposto para síntese das porfirinas glicoconjugadas.

4.3.1 Otimização e síntese da glicoporfirina **1**

Como modelo de síntese inicial optou-se por realizar as reações de conjugação entre a porfirina **7** e o glicosil isotiocianato **9**. A reação 35 (Tabela 10) refere-se à metodologia de conjugação reportada na literatura (GHOSH, 2009; SANSONE, 2003). Na sequência foram realizadas adaptações a fim de se otimizar o rendimento destas reações. As alterações realizadas incluíram a utilização de maior excesso do glicosídeo **9** (reação 36), tempo (reação 37 e 39), temperatura (reação 38) e adição de TEA como catalisador (reação 40). A Tabela 10 mostra os rendimentos obtidos em termos de percentual molar. A identidade do composto foi comprovada por análise de RMN de ^1H e ^{13}C e por espectrometria de massas. O procedimento de síntese e assinalamento da molécula encontra-se na seção dos Anexos 10 e 13 respectivamente.

Tabela 10: Rendimentos e condições sintéticas empregadas na síntese da glicoporfirina **1**

REAÇÃO	CONDIÇÕES				
	Glicosídeo 9 (eq.)	Tempo	Temperatura	TEA (eq.)	Rendimento (%)
35	2	4h	TA	-	10
36	10	4h	TA	-	15
37	2	24h	TA	-	54
38	2	24h	60 °C	-	72
39	2	48h	60 °C	-	70
40	2	24h	60 °C	0,2	60*

*formação de pequena quantidade de subproduto com $m/z = 1003$ Da

As condições reacionais delineadas mostraram que o aumento da temperatura e do tempo de reação contribuíram para melhorar o rendimento na obtenção da glicoporfirina **1**. Observou-se também que a adição de TEA (reação 40) desencadeou a formação de um segundo produto, muito difícil de ser separado por cromatografia da própria glicoporfirina **1** desejada. A análise de massas sugere que este subproduto

seja o derivado urea ou carbamida **106** (Figura 12) cuja massa molecular monoisotópica é 1002,35 Da.

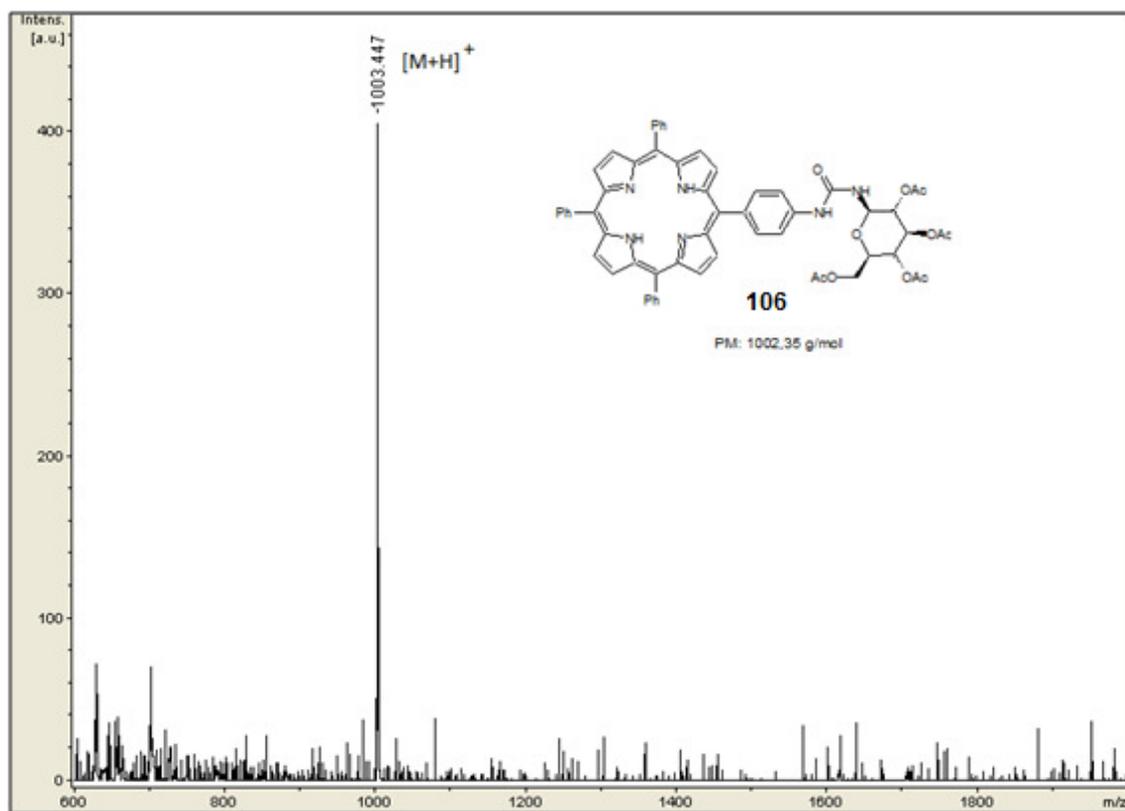
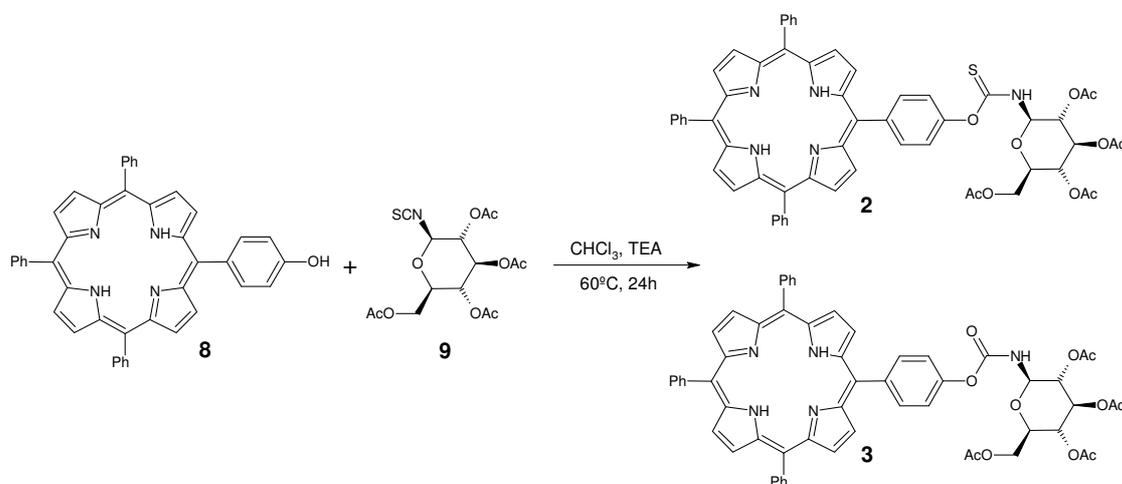


Figura 12: Espectro de massas atribuído ao derivado carbamida **106** (subproduto) com $m/z = 1003,447 [M + H]^+$ pela técnica de MALDI-TOF.

4.3.2 Otimização e síntese da glicoporfirina **2** e glicoporfirina **3**.



Depois de estabelecidas as condições que proporcionaram maior rendimento para síntese do derivado tiocarbamida **1**, as mesmas foram aplicadas para síntese da glicoporfirina **2** (reação 41, Tabela 11) a partir a hidroxifenilporfirina **8** e do glicosil isotiocianato **9**. Por verificar um rendimento muito abaixo do esperado, foram procedidas reações com maior duração (reação 42) e com a adição de TEA (reação 43). Da mesma forma como observado na síntese da glicoporfirina **1**, a adição de TEA desencadeou a formação do análogo carbamato **3**, porém neste caso houve formação de grande quantidade deste derivado (o que não ocorreu na reação 40 - Tabela 10), sendo inclusive uma quantidade maior do que do próprio tiocarbamato **2**. Apesar de apresentarem Rf (fator de retenção) muito próximos, foi possível separar estes dois compostos por cromatografia em coluna. Alternativamente, adicionando-se NaOH (reação 44) ao meio reacional, obteve-se exclusivamente como produto a glicoporfirina **3**. A Tabela 12 resume as condições reacionais e os rendimentos obtidos para síntese das glicoporfirinas **2** (derivado tiocarbamato) e **3** (derivado carbamato).

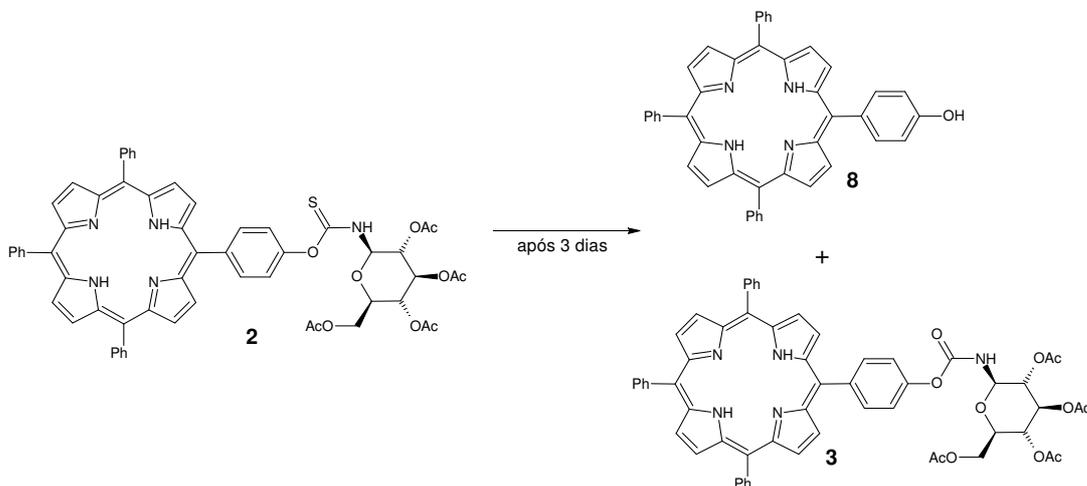
Tabela 11: Rendimentos e condições sintéticas empregadas na síntese da glicoporfirina **2** e **3**.

REAÇÃO	CONDIÇÕES				
	Tempo (h)	TEA (eq.)	NaOH (eq.)	Rendimento (%)	
				Porfirina 2	Porfirina 3
41	24	-	-	10	0
42	48	-	-	19	0
43	48	0,2	-	23	33
44	48	0,2	1,0	0	49

Foi possível, portanto, encontrar uma condição reacional para síntese somente do derivado carbamato **3** (reação 44) e outra condição para obter-se somente o derivado tiocarbamato **2** (reação 42). Embora esta última não tenha sido a condição na qual o produto desejado foi obtido com maior rendimento ela apresenta a vantagem da facilidade na etapa de purificação. A descrição dos procedimentos de síntese otimizados e a assinalamento dos compostos encontram-se nos Anexos 11 (procedimentos), 14 e 15 (assinalamento do composto **2** e **3** respectivamente).

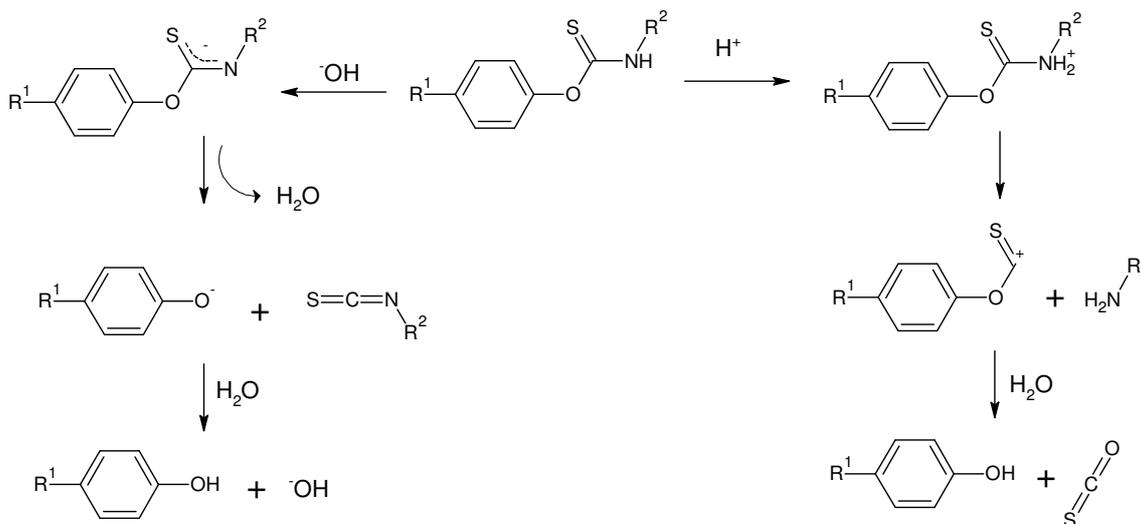
Verificou-se posteriormente à síntese destes compostos que o derivado tiocarbamato **2** apresentava uma instabilidade química bastante significativa. Pode-se observar a manutenção da estabilidade do produto quando armazenado em freezer em solução de DMSO por até 3 dias. Após esse período foi possível detectar por CCD a presença da hidroxifenilporfirina **8** e do análogo carbamato **3** nesta solução. Foram visualizadas, portanto, três manchas na CCD: a primeira e mais intensa referente ao

próprio tiocarbamato **2**, a segunda (de média intensidade) referente a porfirina precursora **8**, e a terceira (muito suave) compatível como o derivado carbamato **3**. O Esquema 37 ilustra as reações envolvidas na degradação da porfirina **2**. Este comportamento também foi observado para porfirina **5**, que se degrada ou se converte às porfirinas **8** e **6**.

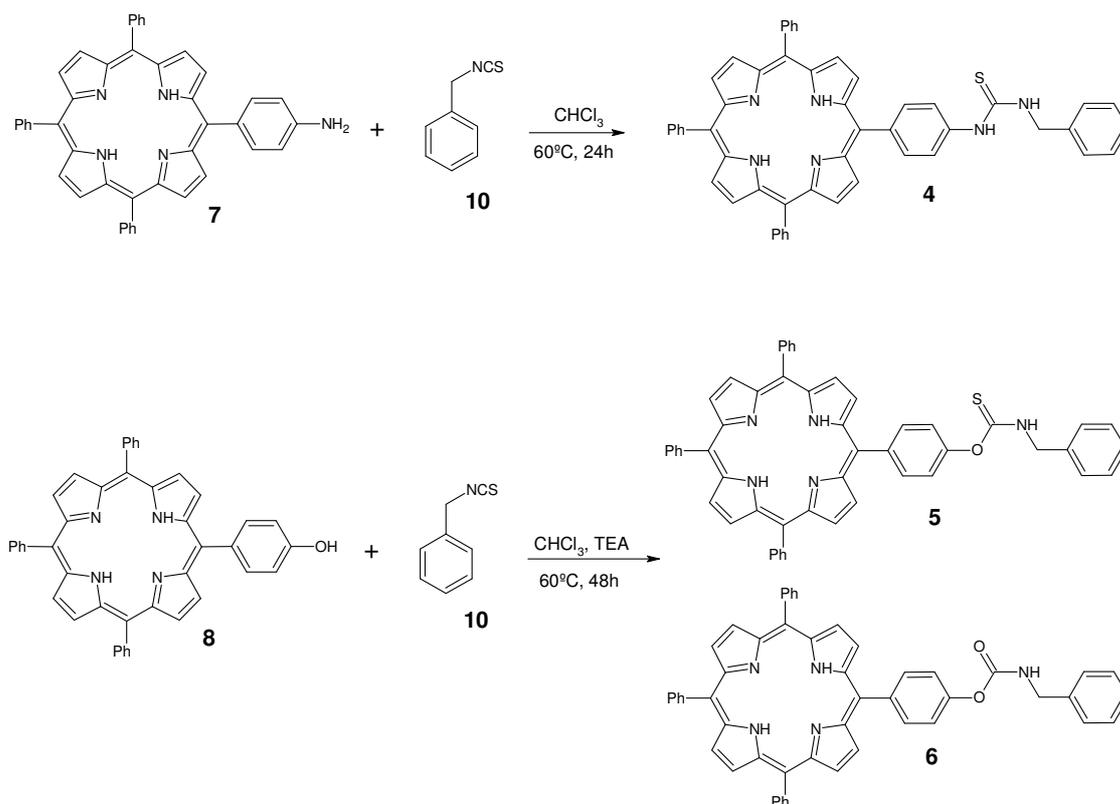


Esquema 37: Compostos formados a partir da solução da glicoporfirina **2** em DMSO.

A formação de derivados carbamato a partir de análogos tiocarbamato já foi evidenciada no Esquema 37. Também é reportada na literatura a hidrólise deste grupo sob condições ácidas ou básicas (HUMERES et al, 2010). No mecanismo de hidrólise proposto por Humeres e colaboradores (Esquema 38), o grupo tiocarbamato poderia sofrer hidrólise tanto em condições ácidas quanto em condições básicas, originando, em ambas as situações, um derivado fenólico.



Esquema 38: Mecanismo de hidrólise do grupo tiocarbamato
FONTE: HUMERES et al., 2010.

4.3.3 Síntese dos conjugados benzil-porfirínicos **4**, **5** e **6**.

Para síntese dos conjugados porfirínicos **4-6** foram empregadas as condições sintéticas já estudadas para síntese das glicoporfirinas **1-3**. Sendo assim, para síntese da porfirina **4** (reação 45) empregou-se as mesmas condições da reação 38 (Tabela 10), para síntese das porfirinas **5** e **6** (reação 46) empregou-se as condições da reação 43 (Tabela 11), e para síntese somente da porfirina **6** (reação 47) empregou-se as condições da reação 44 (Tabela 11) com a única alteração sendo a utilização de 10 equivalentes (ao invés de 2 equivalentes) do benzil isotiocianato **10** nos três dos casos. O comportamento das reações foi bastante semelhante ao que já havia sido observado para síntese dos glicoconjugados porfirínicos, porém a separação entre os derivados tiocarbamato **5** e carbamato **6** foi consideravelmente mais fácil neste caso. Isso porque a diferença entre os Rfs destes dois compostos foi maior do que aquela observada entre dos derivados **2** e **3**. Os procedimentos de síntese otimizados e o assinalamento dos compostos obtidos são relatados nos Anexos 10, 12 (procedimentos), 16, 17 e 18 (assinalamento dos compostos 4, 5 e 6 respectivamente). A Tabela 12 mostra os resultados em termos de rendimentos molares.

Tabela 12: Rendimentos e condições sintéticas empregadas na síntese dos derivados porfirínicos **4**, **5** e **6**

REAÇÃO	CONDIÇÕES						
	Bn-NCS 10 (eq.)	Tempo	TEA (eq.)	NaOH (eq)	Rendimento (%)		
					Porfirina 4	Porfirina 5	Porfirina 6
45	10	24h	-	-	52	-	-
46	10	48h	0,2	-	-	20	27
47	10	48	0,2	1,0	-	-	32

4.4 SÍNTESE ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Por se tratarem de reações de longa duração, buscou-se alternativas para reduzir o tempo na síntese dos conjugados porfirínicos **1-6**. Neste contexto, a utilização de ultrassom como técnica alternativa para auxiliar as reações em questão mostrou-se uma opção bastante viável.

A utilização de ondas ultrassônicas mostrou-se efetiva para síntese dos derivados glicoporfirínicos **1-3**, pois rendimentos satisfatórios puderam ser obtidos com apenas 1h de reação utilizando o ultrassom como fonte de energia. Por outro lado, esta metodologia foi ineficiente para síntese dos conjugados benzilporfirínicos **4-6**. Supõe-se que o derivado benzil isotiocianato **10** seja instável nas condições extremas geradas momentaneamente no meio reacional pelas ondas em alta frequência. A Tabela 13 traz um comparativo entre os rendimentos obtidos por síntese convencional e pelas reações assistidas por ultrassom.

No presente trabalho os grupos de ligação tiocarbamida, na porfirina **1**, e carbamato, na porfirina **3**, provaram ser eficientemente formados sob as condições de ultrassom utilizadas. Os resultados positivos da síntese assistida por ultrassom na obtenção destes derivados glicoporfirínicos são promissores, uma vez que, são escassos na literatura exemplos da utilização desta fonte de energia na obtenção de conjugados porfirínicos (ZHU et. al., 2008). Especula-se que o motivo para escassez de trabalhos que empregam essa modalidade de fonte energética em síntese de derivados porfirínicos poderia ser o fato de que algumas porfirinas são sensíveis às condições geradas pelas ondas ultrassônicas. Alguns trabalhos inclusive demonstram a utilização de dados mensuráveis da degradação de porfirinas (extinção da banda Soret) para quantificar indiretamente a intensidade de fontes ultrassônicas (NOMURA et al. 1996a, NOMURA et al. 1996b).

Tabela 13: Comparativos entre os rendimentos obtidos por síntese convencional e reações assistidas por ultrassom em termos de rendimento percentual molar.

Fonte de energia	Porfirinas Tiocarbamida		Porfirinas Tiocarbamato		Porfirinas Carbamato	
	1 ^(a)	4 ^(c)	2 ^(b)	5 ^(d)	3 ^(b)	6 ^(d)
Convencional	72	52	23	20	33	27
Ultrassom (1h)	69	*	8	*	40	*

* traços dos derivados detectados por CCD.

^(a) condições reacionais descritas na reação 38, Tabela 10.

^(b) condições reacionais descritas na reação 43, Tabela 11.

^(c) condições reacionais descritas na reação 45, Tabela 11.

^(d) condições reacionais descritas na reação 46, Tabela 12.

É importante notar que a técnica de síntese assistida por ultrassom aumentou a quimiosseletividade para síntese do derivado carbamato **3**. Enquanto que na síntese convencional a proporção entre os derivados **2** e **3** foi de 1 : 1,4 , quando assistida por ultrassom passou a ser de 1 : 5. A Figura 18 mostra a integração dos sinais referentes ao H-1 da mistura obtida na reação assistida por ultrassom formada pelos compostos **2** e **3**, confirmando assim a proporção calculada após purificação dos mesmos.

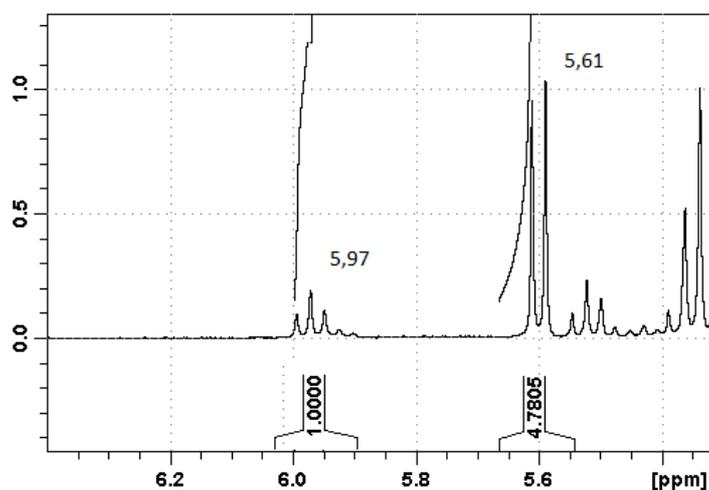


Figura 13: RMN de ¹H mostrando a integração dos sinais de H-1 do derivado **2** (5,97 ppm) e do derivado **3** (5,61 ppm) na proporção de aproximadamente 1:5.

As ondas ultrassônicas constituem uma fonte de energia não convencional para reações químicas. Esse tipo de fonte de energia vem ganhando espaço em trabalhos de síntese orgânica uma vez que têm provado auxiliar reações de maneira efetiva no sentido de melhorar a quimiosseletividade e reduzir o tempo de reações, além de apresentar grande simplicidade e custos muito baixos para sua operacionalização (KARDOS, LUCHE, 2001; BAIG et al. 2012). Essas características

fazem com que essa técnica se enquadre na moderna “química verde” uma vez que promete ser capaz de reduzir a formação de subprodutos e os gastos de energia (através do aumento da seletividade e da aceleração de reações respectivamente).

A aceleração das reações tem sido explicada pelo fenômeno de cavitação. Esse fenômeno refere-se à formação e colapso de cavidades ou micro bolhas no meio reacional. Em meios líquidos, as ondas longitudinais promovem a formação momentânea de áreas de alta e baixa pressão. Nas áreas de baixa pressão são formadas micro cavidades ou bolhas que, em decorrência das vibrações ultrassônicas, podem se expandir em momentos de baixa pressão e entrar em colapso em momentos de compressão (Figura 14) . Defende-se que as reações seriam aceleradas devido a um aumento momentâneo das condições de temperatura e pressão na interface destas cavidades. Além disto, no momento em que ocorre o colapso das microbolhas, existe uma aceleração de partículas no meio reacional o que potencializa os choques intermoleculares (KARDOS, LUCHE, 2001; BAIG et al. 2012; ROOZE et al., 2013).

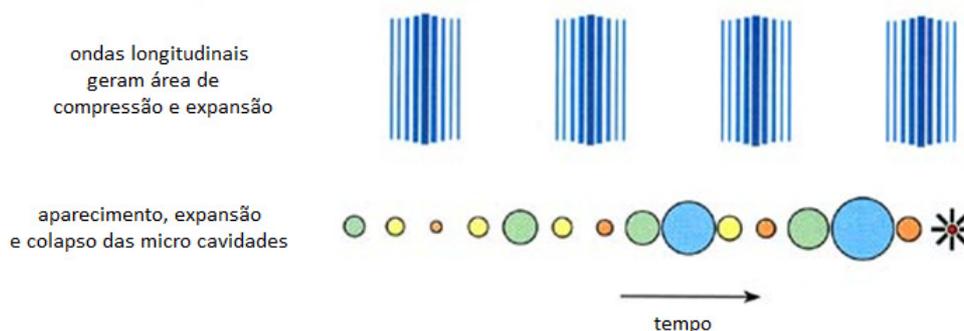


Figura 14: Fenômeno de Cavitação. Fonte: BAIG et al., 2012

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS PORFIRINAS 1-6.

Nesta seção serão comentados alguns aspectos relevantes sobre o assinalamento químico dos derivados porfirínicos **1-6**. O assinalamento, espectros e caracterização completa referente aos derivados porfirínicos sintetizados encontram-se na seção de Anexos. A Tabela 14 na página seguinte resume os principais sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C (em termos de deslocamento químico em ppm e das constantes de acoplamento em Hz) que possibilitaram confirmar a formação dos produtos desejados. Para facilitar a compreensão, a Figura 15 mostra a denominação adotada na designação dos hidrogênios reportados na Tabela 14.

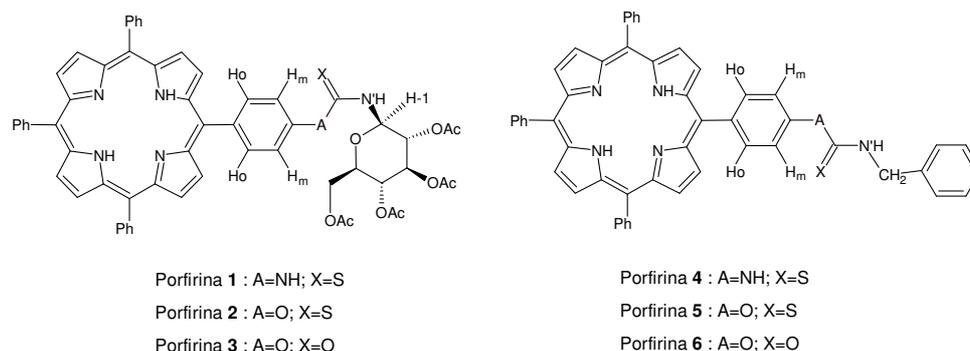


Figura 15: Estruturas genéricas das porfirinas 1-6.

Tabela 14: Sinais de RMN de ^1H e ^{13}C das Porphirinas 1-6.

Porfirina	N-H	N'H	H _o	H _m	H-1	CH ₂	C=X	
1	10,35 s	8,50	8,18	7,96	6,04	-	181,9	
		d(8,5)	d(8,3)	d(8,3)	t(8,5)			
2	-	10,82	8,24	7,51	5,97	-	183,1	
		d(9,0)			d(8,2)			t(9,0)
		10,59			d(8,2)			5,95
		d(8,6)			t(8,6)			
3	-	9,97	8,02	7,22	5,62	-	154,4	
		br	(8,4)	(8,4)	d(8,7)			
4	10,06 s	8,53	8,17	7,97	-	4,90	181,0	
		d(5,3)	d(8,3)	d(8,3)	d(5,3)			
5	-	10,55	8,21	7,52	-	4,86	189,3	
		t(5,9)				m		d(5,9)
		10,34				m		4,71
		t(6,2)				d(6,2)		
6	-	8,57	8,20	7,56	-	4,41	154,8	
		t(6,1)	m	m	d(6,1)			

Valores principais representam os deslocamentos químicos dados em ppm. Valores entre parênteses representam as constantes de acoplamento em Hz. As siglas *br*, *s*, *d* e *t* denotam a aparência dos sinais como broad, singleto, duplete ou tripleto respectivamente.

Uma das evidências observadas da formação dos compostos foi o surgimento de sinais de ^{13}C com elevados deslocamentos químicos. Enquanto que no grupo isotiocianato ($-\text{N}=\text{C}=\text{S}$) os valores de deslocamento do ^{13}C ficam em torno de 145 ppm, para os derivados conjugados esse valor é mais elevado. Para os derivados tiocarbamida e tiocarbamato os valores referentes ao carbono $\text{C}=\text{S}$ ficaram acima de 180 ppm, já para os derivados carbamato (compostos **3** e **6**) os valores de deslocamento químico do carbono carbonílico ($\text{C}=\text{O}$) foram mais baixos (em torno de 155 ppm) evidenciando principalmente a diferença entre estes e seus análogos tiocarbamato. Os valores encontrados para o deslocamento do carbono central dos

grupos de ligação foram confrontados e coincidem com dados da literatura (SANSONE, 2003; SILVA, 2010).

As constantes de acoplamento também evidenciam a formação dos grupos de ligação propostos. Exceto para porfirina **3** (onde não observou-se desdobramento do sinal de H-N') houve coincidência das constantes de acoplamento verificadas entre o H-1 da porção carboidrato e o H-N para os derivados glicoporfirínicos **1** e **2**, bem como entre as constantes de acoplamento dos hidrogênios benzílicos (-CH₂-) e o H-N' nos derivados benzil-porfirínicos **4-6**. Para confirmar a posição do grupo carbamato (O-C(=O)-NH) do composto **3** procedeu-se o experimento de RMN HMBC ¹H-¹³C (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) no qual são detectadas correlações entre núcleos de hidrogênio e carbonos distantes a duas ou três ligações químicas. Esse experimento denotou as correlações esperadas entre os sinais δ 9,97/69.8 (HN/C-2) e entre δ 5,61/154,4 (H-1/C=O) demonstrando a correta posição do grupo. O mapa de correlação citado pode ser visto no Anexo 15 (Figura 49). O derivado **3** não apresentou acoplamento entre os hidrogênios H-N' e H-1 devido à acidez do primeiro hidrogênio citado. Este comportamento pôde ser observado em um experimento de RMN de ¹H com pré-saturação da H₂O (vide Anexo 15 – Figura 47).

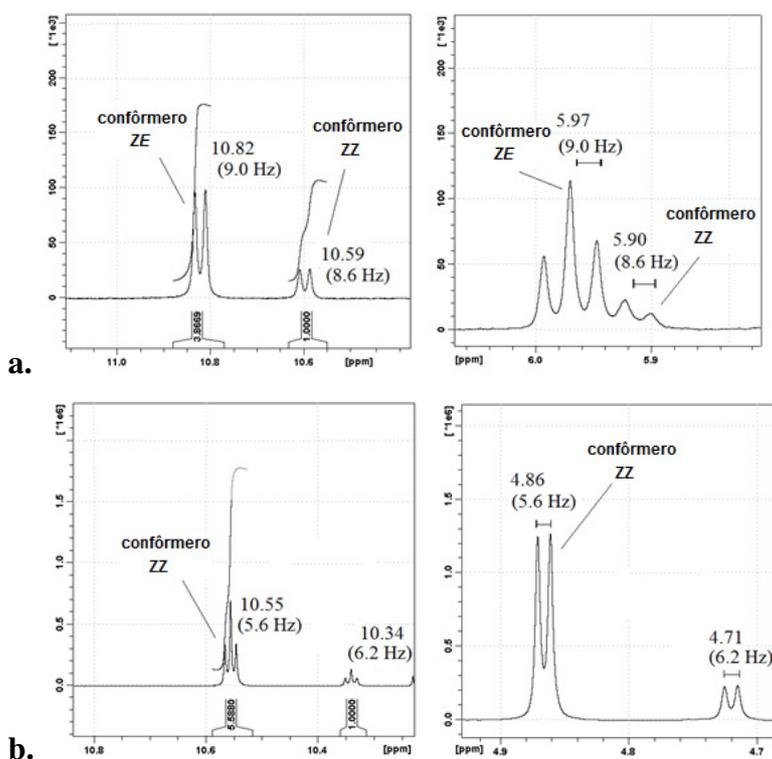


Figura 16: Sinais de RMN de ¹H relativo ao H-N', H-1 e CH₂ dos compostos **2** (espectro a) e **5** (espectro b).

Nos derivados tiocarbamato **2** e **5** pode-se verificar a presença de duas populações diferentes de confôrmeros em equilíbrio. As constantes de acoplamento do H-N nos diferentes confôrmeros coincidem com as constantes medidas nos sinais de H-1 (para o composto **2**) e -CH₂- (para o composto **5**) (Figura 16).

4.5.1 Análise da conformação dos derivados porfirínicos **1-6**.

Os grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato apresentam um tipo de isomerismo característico. Por vezes pode ser observada uma diminuição na rotação da ligação simples por um efeito mesomérico, ou seja, a ligação simples N-C adquire certo caráter de dupla ligação (SMITH, MARCH, 2001). Na Figura 17 podem ser observadas as estruturas de ressonância do grupo tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato em sua conformação *trans* (estruturas **107**, **108** e **109** respectivamente) e na conformação *cis* (estruturas **110**, **111** e **112** respectivamente). A conformação assumida por determinada molécula que possui esses grupos pode ser sugerida através da análise de alguns experimentos de RMN.

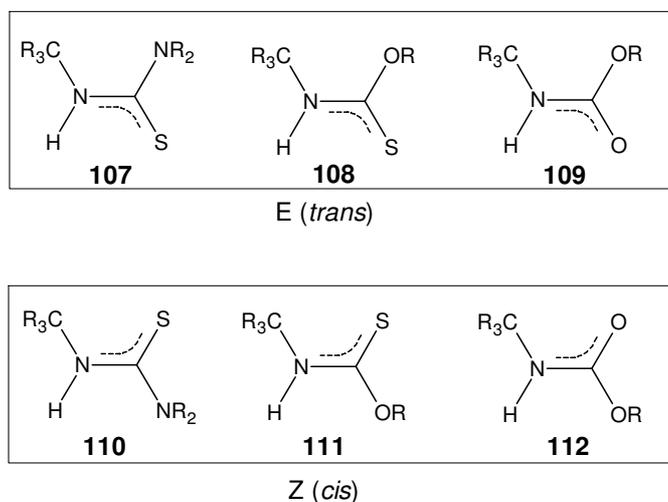


Figura 17: Isômeros *E* e *Z* dos grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato.

No caso em que os grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato encontram-se conjugados a um motivo glicídico, aumentam as possibilidades de isomeria. A Figura 18 mostra alguns dos possíveis rotâmeros de um derivado gliosil-tioureído (adaptado de SANSONE et al., 2003).

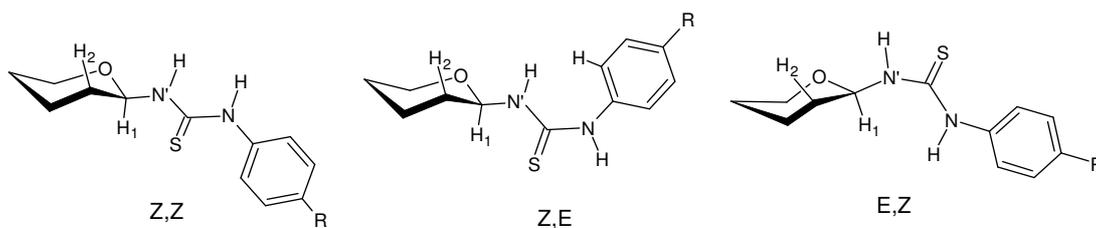


Figura 18: Possíveis rotâmeros do grupo glicosiltiourea
(Adaptado de: SANSONE et al., 2003).

As informações que permitiram a determinação da conformação dos produtos de síntese incluíram os experimentos de RMN de H^1 , NOESY (NOE bidimensional) ou NOE (*Nuclear Overhauser Effect*). Os valores das constantes de acoplamento entre H-1 da porção carboidrato e H-N-glicosídeo para as glicoporfirinas **1** e **2** foram bastante similares sendo de 8,5 e 9,0 Hz respectivamente. Este achado condiz com um ângulo diédrico de $150-160^\circ$ (H1-C1-N'-H) e, portanto, uma configuração *anti* entre os dois hidrogênios citados anteriormente (SILVERSTEIN, 2006). Além disto, o deslocamento químico relativamente baixo dos sinais referentes aos H-1 anoméricos (δ 6,04 e 5,93 ppm, respectivamente) nestes compostos sugere, segundo literatura, uma disposição paralela entre as ligações C-H₁ e C=S (GARCIA FERNÁNDEZ; ORTIZ MELLET, 2000). Levando em consideração as informações anteriormente citadas pode-se sugerir a conformação *Z* (*cis*) para ligação S=C-N-C₁ como mais provável nos derivados em questão (conforme Figura 19 na página seguinte). Para o derivado glicoporfirínico **3** essa dedução não foi possível devido à ausência de desdobramento do sinal relativo a H-N do grupo de ligação carbamato, onde portanto, não foi possível medir a constante de acoplamento entre os hidrogênios de interesse. Nos derivados benzil-porfirínicos **4-6** um raciocínio semelhante pode ser aplicado. Assim, para constantes de acoplamento nos valores de 5,3, 5,9 e 6,1 Hz (porfirinas **4**, **5** e **6**, respectivamente) define-se um ângulo diédrico entre 30° e 50° compatível com uma configuração *gauche* entre os três hidrogênios envolvidos (CH₂ e H-N), definindo assim uma conformação *Z* para a ligação X=C-N-CH₂ (X = S ou O).

Para os derivados tioureido-açúcares a conformação *ZZ* (vide Figura 19) tem sido relatada como a mais abundante. Além de permitir um bom distanciamento dos grupos volumosos, esta conformação apresenta as ligações H-N e H-N' dispostas paralelamente, o que favorece a formação de pontes de hidrogênio com moléculas de água presentes no meio (DIAZ PÉREZ, et al., 2000). Para ambas as porfirinas **1** e **4** os experimentos bidimensionais de NOESY (anexos 13 e 16) permitiram observar a esperada proximidade espacial requerida entre os dois hidrogênios do grupo tiourea

(bem como a proximidade de um dos HN com hidrogênios arílicos do macrociclo porfirínico) para definir a conformação *ZZ*.

Para os derivados tiocarbamato, a substituição de um dos átomos de nitrogênio do grupo de ligação por um átomo de oxigênio, torna aceitável qualquer das configurações *ZZ* ou *ZE* não sendo um consenso na literatura a forma mais abundante (CHNITI et al., 2013; VALLEJOS, et al. 2009). No presente trabalho observou-se um comportamento peculiar para os derivados tiocarbamato **2** e **5** relativo a um equilíbrio entre confôrmeros. Estes compostos apresentaram padrões de sinais de próton para duas diferentes populações. Uma vez que os experimentos de NOESY não proporcionaram bons resultados devido à instabilidade destes compostos, foram realizados experimentos unidimensionais mais rápidos e que não requeriam aumento da temperatura da fonte. Portanto, foram realizados experimentos de NOE, com a irradiação seletiva de hidrogênios-chave (vide espectros no Anexo 14 e 17). No caso do composto glicoporfirínico **2**, ao irradiar o hidrogênio mais intenso referente ao H-N (δ 10.82 ppm) verificou-se (além das correlações no espaço já esperadas para H-1 e H-2) uma fraca, mas significativa, correlação com hidrogênios *meta*-aril-*meso*-porfirínicos (δ 7.51 ppm) que somente seria compatível com a conformação *ZE*, sendo este o confôrmero mais abundante no equilíbrio observado. Já ao irradiar o sinal menos intenso (produto minoritário) referente ao H-N (δ 10.59 ppm) foi possível

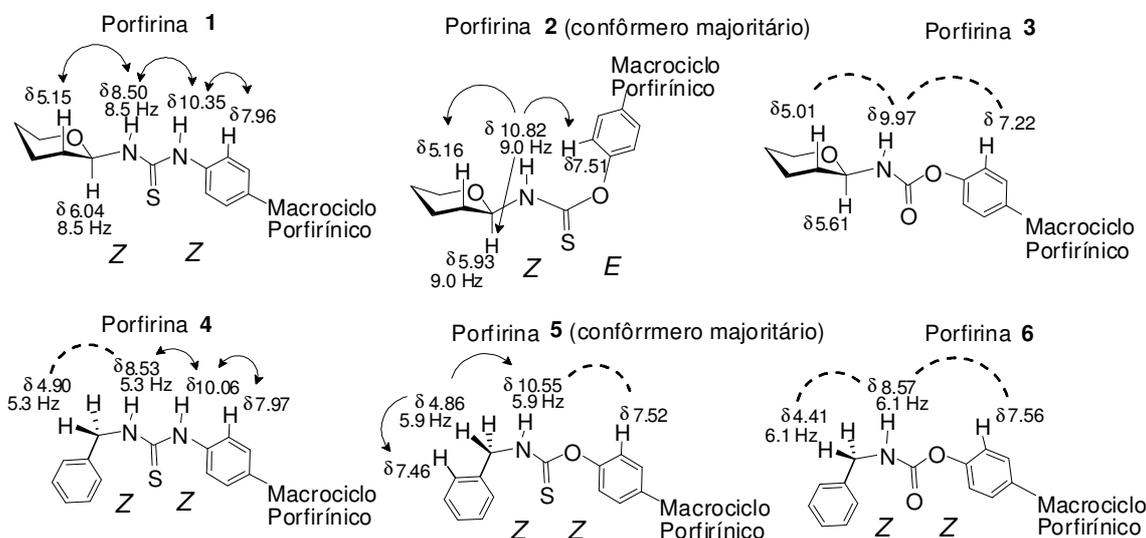


Figura 19: Conformações prováveis dos compostos **1**, **2** (confôrmero majoritário), **4**, **5** (confôrmero majoritário) e **6**. Sinais-chave do RMN de ^1H e constantes de acoplamento são dados em ppm e Hz respectivamente. Seta unidirecional (\longrightarrow) representa sinais de NOE observados; seta bidirecional (\longleftrightarrow) representa correlações de NOESY observadas e as linhas pontilhadas (-----) representam correlações que não foram observadas no experimento de NOE ou NOESY.

verificar apenas a correlação com o H-2 da porção glicosídica. A ausência de outras correlações pode condizer com a conformação ZZ. Para o composto **5**, não foi detectado sinal de NOE em δ 7,52 ppm (*meta*-*aryl-meso*-porfirínicos) ao irradiar o H-N em δ 10,55 ppm, excluindo-se num primeiro momento a conformação ZE. Por correlação com os análogos sintetizados sugeriu-se que a população predominante no composto **5** possivelmente adote a conformação ZZ. Ao irradiar o sinal minoritário em δ 10,34 ppm referente à segunda população de confôrmeros esperava-se um sinal de NOE com hidrogênios *meta*-*aryl-meso*-porfirínicos para confirmar a conformação ZE, porém não foi detectado qualquer sinal. Neste caso, supõe-se que a baixa abundância deste confôrmero possa ter comprometido o ganho de sinal durante o experimento.

Para a análise da conformação do composto **6**, foi empregado um raciocínio semelhante ao utilizado na elucidação do composto **5**. Assim, a ausência de correlação no espaço entre os hidrogênios H-N e *meta*-*aryl-meso*-porfirínicos observados no mapa de correlações NOESY levaram a exclusão da conformação ZE e por consequência a dedução da conformação ZZ para tal composto (vide Anexo 18). A análise da conformação do composto **3** ficou comprometida devido ao não desdobramento do sinal referente ao H-N impossibilitando a definição da configuração relativa entre O=C-N-C₁. Supôs-se que o relativo alargamento do sinal de H-N em questão fosse resultado da troca destes hidrogênios por hidrogênios de moléculas de água presentes no solvente. Essa hipótese mostrou-se condizente com resultados obtidos em experimentos de RMN de ¹H com pré-saturação e supressão do sinal da água. Ao suprimir o sinal da água em δ 3,33 ppm o sinal relativo os H-N (δ 9,97 ppm) do grupo de ligação carbamato também foi suprimido (vide Anexo 15, Figura 47).

4.6 ESTUDOS FOTOFÍSICOS

Os estudos fotofísicos foram realizados com o intuito de averiguar se diferenças na natureza do grupo de ligação e/ou na natureza do ligante influenciaram de maneira significativa as características fotofísicas dos conjugados porfirínicos. Esta avaliação foi realizada com vista ao emprego das moléculas propostas na terapia fotodinâmica. Sendo assim, os derivados porfirínicos sintetizados foram comparados entre si e com alguns parâmetros relatados na literatura e classificados como mais ou menos promissores de acordo com sua aproximação de características consideradas ideais para um fotossensibilizador. Nestas avaliações, foram também incluídas as porfirinas precursoras aminofenilporfirina **7** e hidroxifenilporfirina **8** a fim de verificar se

a conjugação foi eficaz em agregar características fotofísicas melhores aos novos compostos.

4.6.1 Absorção no UV-visível

Os espectros de absorção no UV-Vis das porfirinas sintetizadas foram avaliados em dois aspectos. O primeiro deles foi quanto à intensidade da absorbância das bandas Q numa mesma concentração, não tendo sido identificada nenhuma correlação lógica entre as diferenças encontradas e as estruturas químicas dos compostos avaliados.

O segundo aspecto estudado foi a identificação do comprimento de onda da última banda Q presente no espectro. Enquanto todas as porfirinas avaliadas apresentaram bandas Q em torno de 650 nm, a porfirina **4** apresentou uma banda Q adicional em 710 nm, destacando-se portando neste quesito. O Gráfico 1 mostra o espectro de absorção no UV-visível das porfirinas avaliadas. Assim, somente o grupo de ligação tiocarbamida foi capaz de possibilitar a transferência da nuvem eletrônica presente no grupo benzila para o macrociclo porfirínico. Isto provavelmente foi possível devido à relativa acidez dos hidrogênios benzílicos e a possibilidade de desprotonação dos hidrogênios ligados aos nitrogênios da ponte tiocarbamida, gerando a possibilidade da presença de estruturas de ressonância (GARCIA FERNÁNDEZ; ORTIZ MELLET, 2000).

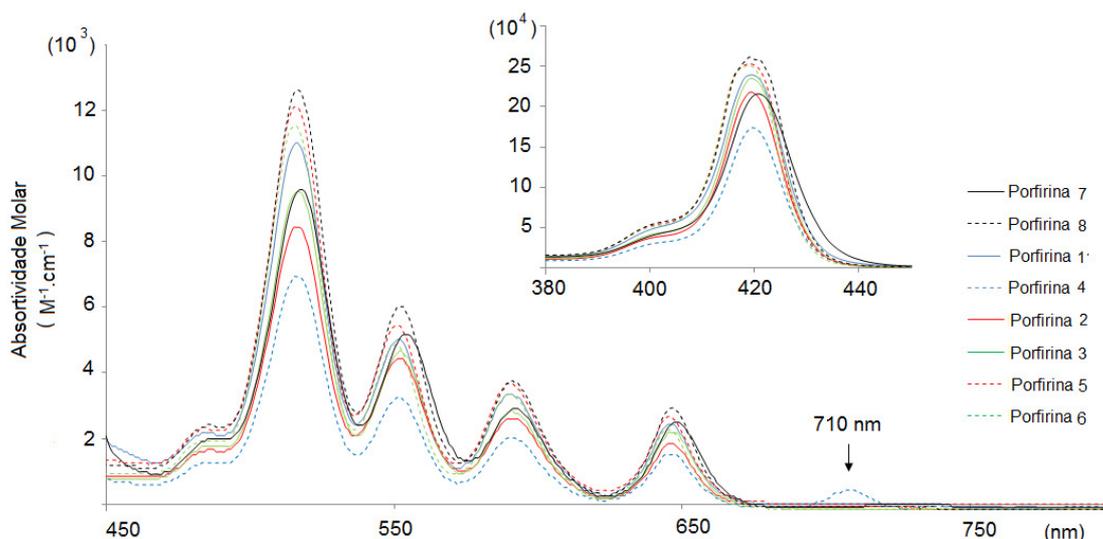


Gráfico 1: Espectro de absorção no UV-Vis das Bandas Q das porfirinas **1-8**. *Plot* da absortividade molar (ϵ) versus comprimento de onda (λ) empregando concentrações de porfirinas de 12 $\mu\text{mol/L}$ em DMSO. *Inset:* Band Soret.

Porfirinas que apresentem bandas Q em comprimentos de onda maiores (próximos a 700 nm) são promissoras, devido ao fato de que nestes comprimentos de onda a luz apresenta maior penetração no tecido (O'CONNOR, 2009) e por consequência essa característica tende a melhorar a atividade biológica do composto. Obviamente, esse não é um fator que isoladamente pode determinar o sucesso de um fotossensibilizador, dependendo este de uma série de condições favoráveis, como, por exemplo, a solubilidade a capacidade de absorção e a estabilidade das moléculas em meios biológicos.

4.6.2 Produção de O_2 singlete

Diversos autores defendem que o oxigênio no seu estado singlete (1O_2) é a principal espécie envolvida na fotocitotoxicidade de porfirinas e outros fotossensibilizadores (BECKMAN, KOPPENOL *et al.*, 1996; ZAWACKA-PANKAU *et al.*, 2008). Esta é uma espécie reativa de ação inespecífica e tempo de meia vida curto, gerada pela transferência de energia do fotossensibilizador para o oxigênio presente no meio em presença de luz em comprimento de onda adequado.

Num primeiro momento foi realizado apenas um teste qualitativo, seguindo metodologia proposta por Hadjur e colaboradores (1998). Esta avaliação da geração de 1O_2 consistiu em uma metodologia indireta, baseada na reação do 1,3-difenilisobenzofurano (DFiBF) com o 1O_2 gerado pelos derivados porfirínicos. Em seu estado inicial, o reativo receptor DFiBF apresenta forte absorção no comprimento de onda de 415 nm, porém após reagir com o 1O_2 singlete são gerados produtos incapazes de absorver nesta região de comprimento de onda (Figura 20). Portanto, o maior decaimento da absorbância em 415 nm após irradiação representa uma maior quantidade de oxigênio singlete gerada.

Os dados apresentados no Gráfico 2 na página seguinte mostram as absorbâncias observadas para o DFiBF na presença e ausência dos derivados porfirínicos em termos de porcentagem após diferentes períodos de irradiação.

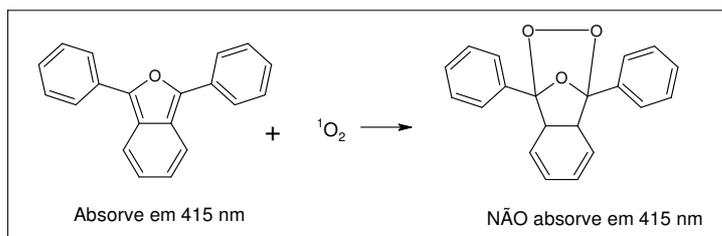


Figura 20: Reação entre DFiBF e 1O_2 para formação do endoperóxido.
 FONTE: Gorman *et al.*, 2004.

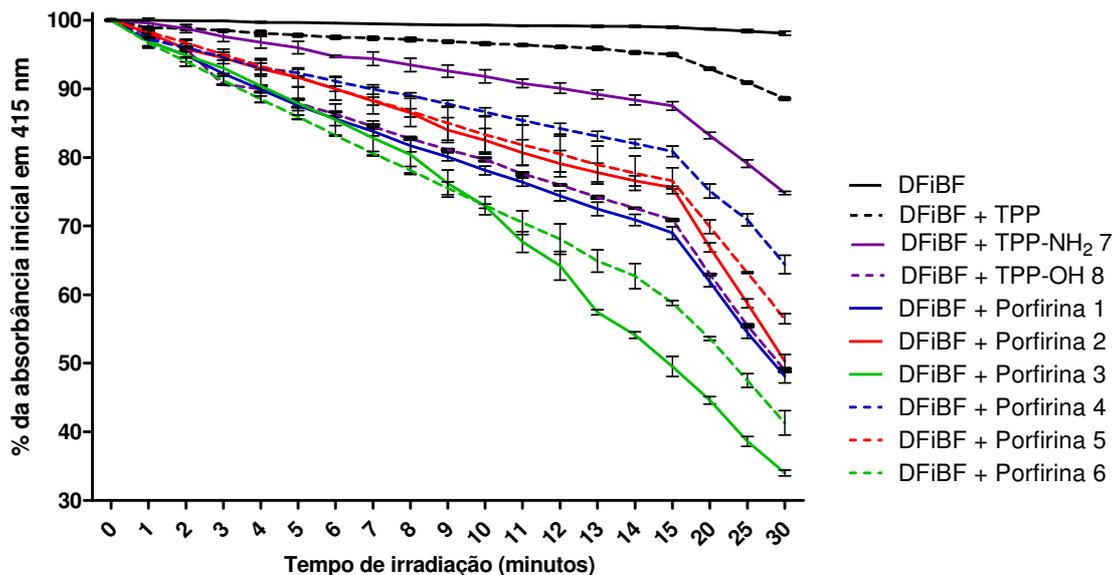


Gráfico 2: Porcentagem de decaimento da absorvância em 415 nm após irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. As soluções irradiadas consistiram de DFiBF $50 \mu\text{mol/L}$ e porfirinas a $0,5 \mu\text{mol/L}$ em DMF/H₂O (9:1).

Para assegurar que o decaimento observado não era decorrente de qualquer fotodegradação do reativo DFiBF procedeu-se um ensaio na ausência dos derivados porfirínicos. Nesta situação não foi verificado decaimento significativo. A fim de avaliar o ganho da geração de $^1\text{O}_2$ obtido com a síntese dos conjugados, foram avaliadas também as porfirinas precursoras não conjugadas aminofenilporfirina **7**, hidroxifenilporfirina **8** e a TPP **49**. Os resultados obtidos nesta série de ensaios permitiram, em alguns casos, associar a maior ou menor capacidade de geração de $^1\text{O}_2$ singlete com as estruturas químicas propostas.

Assim, verificou-se que a presença do grupo de ligação tiocarbamida nas estruturas **1** e **4** (linhas azuis no Gráfico 2) foi capaz de aumentar a geração de $^1\text{O}_2$ em relação a porfirina que deu origem a estes derivados (porfirina **7**). Isto também foi observado para os derivados carbamato **3** e **6** (linhas verdes) em relação ao seu precursor sintético (porfirina **8**). Para os derivados tiocarbamato foram observados comportamentos distintos dos relatados anteriormente sendo que o derivado **2** apresentou um perfil de geração de $^1\text{O}_2$ muito semelhante ao observado para porfirina **8** e o derivado porfirínico **5** apresentou uma redução na geração de $^1\text{O}_2$ em relação porfirina precursora **8**. De maneira geral, os derivados porfirínicos glicosilados apresentaram maiores rendimentos de oxigênio singlete em relação aos respectivos análogos não glicosídicos.

Qualitativamente, segundo os resultados obtidos com a metodologia aplicada no ensaio, a geração de $^1\text{O}_2$ foi crescente para as porfirinas na seguinte ordem: porfirina **7** < porfirina **4** < porfirina **5** < porfirina **2** = porfirina **8** = porfirina **1** < porfirina **6** < porfirina **3**. Portanto, os derivados conjugados através do grupo de ligação carbamato foram as substâncias que geraram maior rendimento de $^1\text{O}_2$ dentre as espécies avaliadas.

4.6.2.1 Rendimento quântico de oxigênio singlete

Para o cálculo dos rendimentos quânticos de oxigênio singlete foi necessário a realização de ensaios empregando o composto azul de metileno para comparação. Este composto foi utilizado como referência e apresenta um rendimento quântico considerado excelente, próximo a 100%, sendo de 0,52. Para esta avaliação foram tomados os dados obtidos anteriormente nos primeiros oito primeiros minutos de irradiação, onde foi observada linearidade no decaimento da absorbância do reativo DFiBF frente a irradiação, tanto na presença das amostras como na presença do padrão. Comparando-se os coeficientes angulares da reta obtida pelo *plot* do logaritmo natural da absorbância do DFiBF no ponto máximo (415 nm) *versus* o tempo de irradiação pode-se obter os valores para o rendimento quântico de $^1\text{O}_2$. Abaixo são mostrados dois gráficos de varredura: o primeiro mostrando o decaimento da absorbância do DFiBF na presença do padrão azul de metileno e o segundo mostrando este comportamento frente a presença da porfirina **3**. Na sequência não mostrados os gráficos de decaimento da absorbância do DFiBF para as demais porfirinas avaliadas. A tabela 15 resume os valores encontrados para o rendimento quântico de $^1\text{O}_2$ calculados segundo a equação:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}}{R^{\text{Padrão}} \cdot I_{\text{abs}}}$$

Nesta equação Φ_{Δ} representa o rendimento quântico das porfirinas e $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}$ representa o rendimento quântico do padrão (para o azul de metileno $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}=0,52$). R e $R^{\text{Padrão}}$ são os coeficientes angulares do consumo do DFiBF na presença das porfirinas e do azul de metileno. Uma vez que a reação é de primeira ordem, estes parâmetros podem ser obtidos do gráfico que apresenta o logaritmo natural (ln) da absorbância do DFiBF *versus* o tempo de irradiação. I_{abs} e $I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}$ são as constantes

de absorção luminosa para a amostra e para o azul de metileno respectivamente, consideradas iguais no presente trabalho.

Abaixo são mostrados dois gráficos da varredura da absorbância das misturas DFIBF e azul de metileno (Gráf. 3) e DFIBF e a porfirina **3** (Graf. 4), para a visualização da ausência de interferência na absorbância do padrão e da amostra, respectivamente, na leitura do decaimento da absorção do DFIBF. A partir dos valores obtidos no ponto máximo de absorção do DFIBF (415 nm) foram traçados os gráficos de decaimento (Gráfico 5_{a-g}) e extraídos os valores do coeficiente angular da reta (α) utilizados no cálculo do rendimento quântico de oxigênio singlete (Φ_{Δ}). Os resultados de (Φ_{Δ}) são mostrado na Tabela 15 e comentados na sequência.

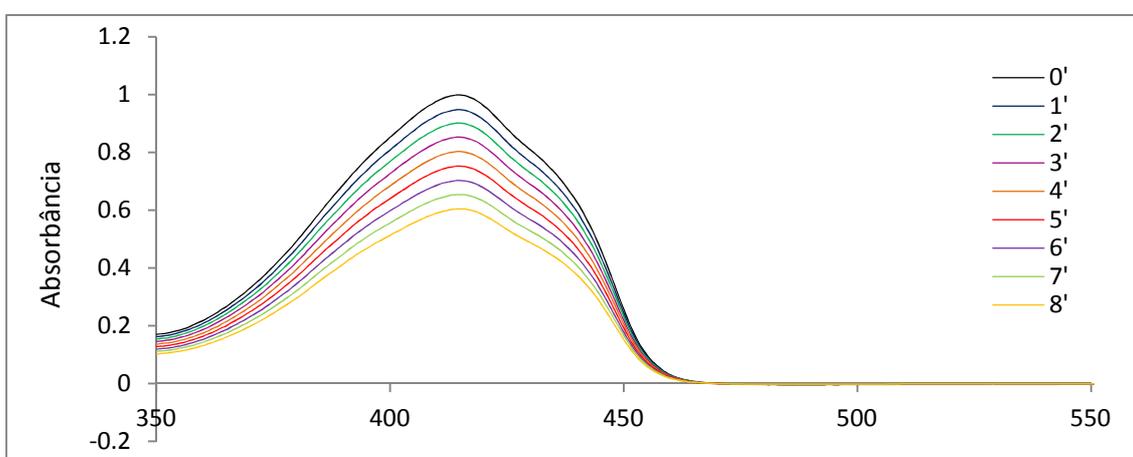


Gráfico 3: Decaimento da absorbância do DFIBF na presença de azul de metileno após irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. DFIBF a $50 \text{ }\mu\text{mol/L}$ e azul de metileno a $0,5 \text{ }\mu\text{mol/L}$ em DMF/ H_2O (9:1).

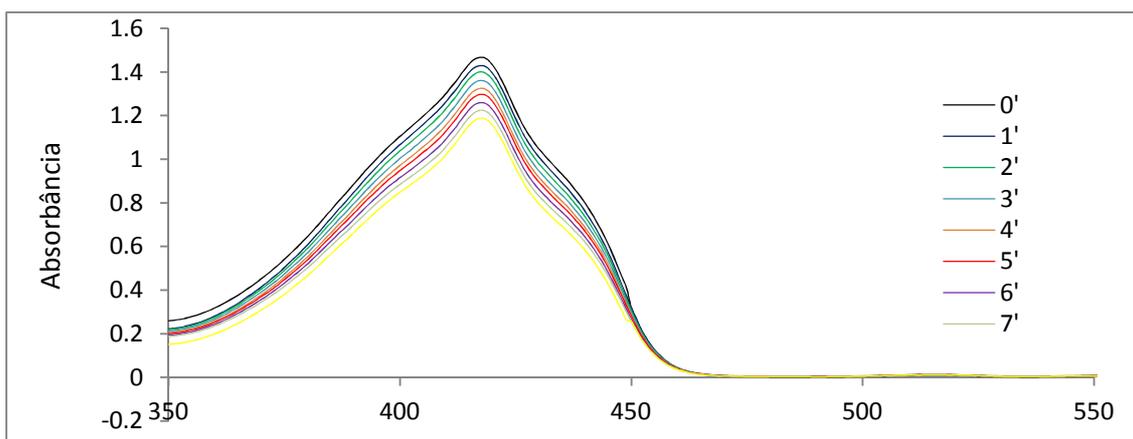


Gráfico 4: Decaimento da absorbância do DFIBF na presença da Porfirina **3** após irradiação a 9 mW/cm^2 na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. DFIBF a $50 \text{ }\mu\text{mol/L}$ e porfirina a $0,5 \text{ }\mu\text{mol/L}$ em DMF/ H_2O (9:1).

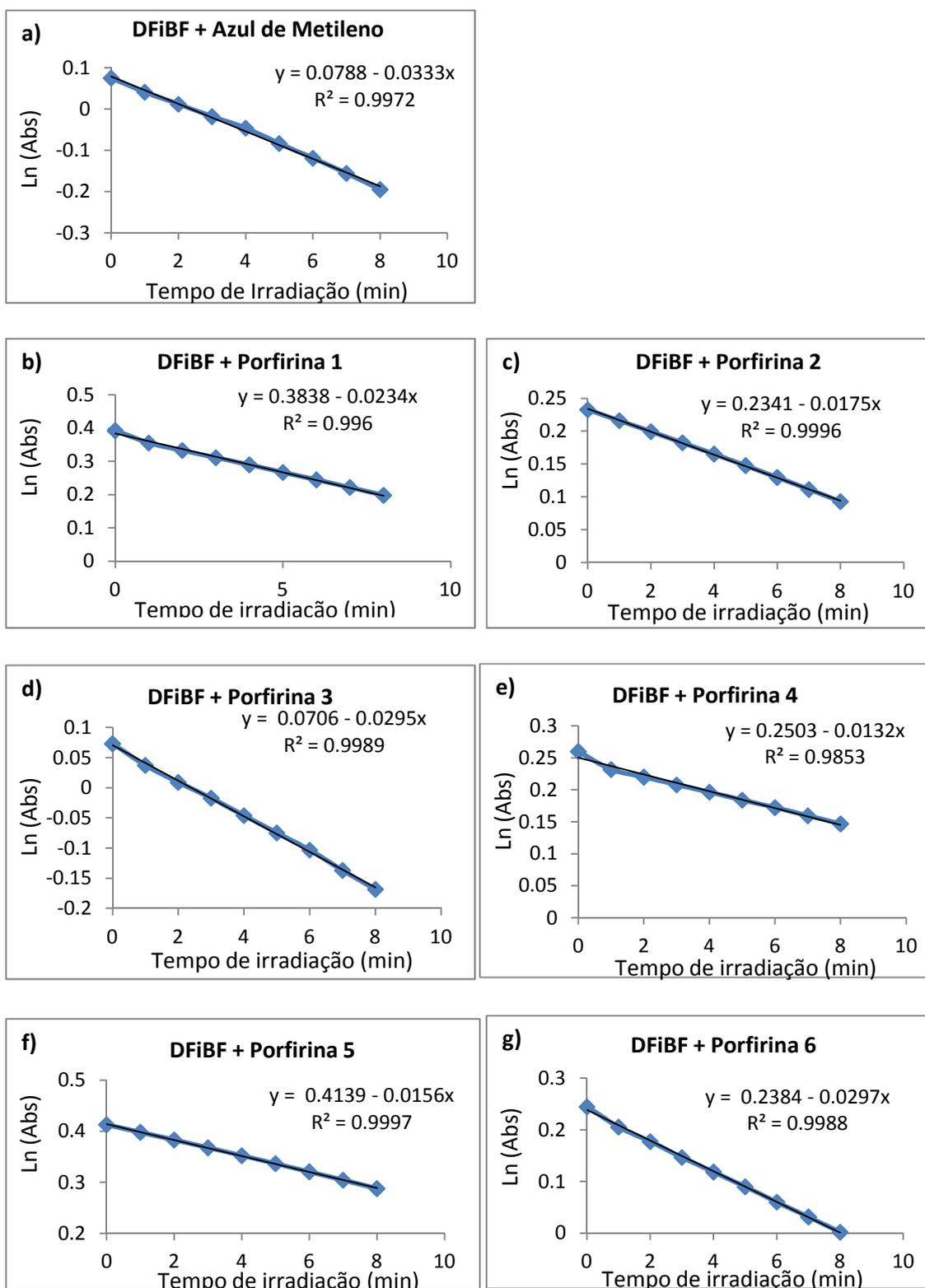


Gráfico 5_{a-g}: Plot do logaritmo natural da absorbância do DFiBF (y) versus tempo de irradiação (x) das porfirinas 1-6 e do padrão azul de metileno. Irradiação a 9 mW/cm² na faixa de comprimento de onda de 550-800 nm. DFiBF a 50 µmol/L; porfirinas e azul de metileno a 0,5 µmol/L em DMF/H₂O (9:1).

Tabela 15: Rendimentos quânticos de oxigênio singlete (Φ_{Δ}).

	R (α)	(Φ_{Δ})
Azul de metileno	0,0333	0,52
Pofirina 1	0,0234	0,37
Pofirina 2	0,0175	0,27
Pofirina 3	0,0295	0,46
Pofirina 4	0,0132	0,21
Pofirina 5	0,0156	0,24
Pofirina 6	0,0297	0,46
Porfirina 7*	0,0093	0,15
Porfirina 8*	0,0242	0,38
Porfirina 49*	0,0028	0,04
Photofrin®**	--	0.32

* não mostrado no Gráfico 5;

**valor proveniente da literatura (SILVA, et al. 2010)

O rendimento quântico de oxigênio singlete gerado pelas porfirinas **3** e **6** (derivados carbamato) podem ser considerados excelentes, sendo de 0,46. Silva e colaboradores (2010) já haviam reportado um derivado porfirínico conjugado através do grupo carbamato á uma porção naftaleno com excelente geração de $^1\text{O}_2$ ($\Phi_{\Delta} = 0,60$). Com os resultados do presente trabalho, pode-se verificar que o grupo de ligação carbamato exerceu grande influencia neste comportamento, não sendo determinante a porção ligada para que haja o efeito da boa produção de $^1\text{O}_2$. As porfirinas **1** (glicosil-tiocarbamida) e **8** (TPP-OH) também apresentaram rendimentos quânticos de $^1\text{O}_2$ apreciáveis, sendo superiores às quantidades encontrados para o padrão ouro na terapia fotodinâmica, Photofrin. As demais porfirinas conjugadas, **2**, **5** (derivados tiocarbamato) e **4** (derivado benzil-tiocarbamida), apresentaram apenas resultados moderados para o rendimento quântico de $^1\text{O}_2$ (variando de 0,21 a 0,27). Isto pôde demonstrar que a produção de oxigênio singlete também foi influenciada pela estabilidade dos compostos (compostos **2** e **5** apresentam uma importante instabilidade química e fotofísica – próximo tópico) e pela absorvidade molar (ϵ) dos compostos (compostos **4** e **2** apresentaram os menores coeficientes de absorvidade entre as molecular avaliadas – vide gráfico 1).

4.6.3 Fotoestabilidade

O estudo de fotoestabilidade foi realizado em meio aquoso a fim de verificar o comportamento dos compostos em um meio que se aproxima ao meio biológico. O

parâmetro utilizado para avaliar a fotoestabilidade dos compostos foi o decaimento da absorvância no ponto máximo da banda Soret. Neste teste deve-se inicialmente avaliar a estabilidade dos compostos na ausência de luz para se ter certeza de que os decaimentos observados decorrem da irradiação. Além da fotodegradação, outros fatores podem levar ao decaimento da banda Soret, dentre eles a degradação química e a agregação dos compostos. O Gráfico 6 mostra os resultados das leituras de absorvância no ponto máximo da banda Soret em porcentagem nos diferentes períodos de tempo avaliados.

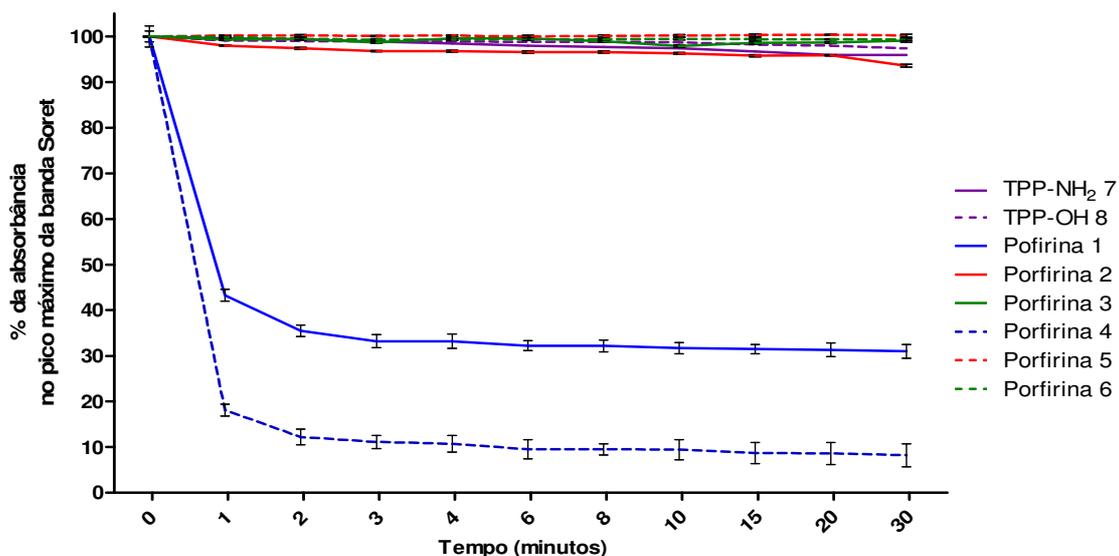


Gráfico 6: Porcentagem do decaimento da banda Soret na ausência de irradiação referente à estabilidade dos compostos em meio aquoso. Soluções de porfirinas obtidas a partir das soluções estoque (1 mmol/L em DMSO) na concentração de 10 $\mu\text{mol/L}$ em H_2O .

Duas das porfirinas avaliadas, **1** e **4** (ambas conjugados tiocarbamida), apresentaram um decaimento muito significativo da banda Soret, atingindo 31% e 8% do valor inicial da absorvância respectivamente. As demais porfirinas foram consideradas estáveis nestas condições uma vez que o decaimento não atingiu valores menores que 93% do valor inicial da absorvância.

O comportamento de decaimento da banda Soret mesmo na ausência de luz, observado para as porfirinas **1** e **4**, indicou a formação de agregados. Para que se pudesse então avaliar a fotoestabilidade destes compostos foi necessário desenvolver um sistema de tensoativos que evitasse esta agregação. Foram testadas soluções de SDS (dodecil sulfato de sódio) nas concentrações de 10, 1 e 0,1 mg/100ml. Em todas

as situações verificou-se a manutenção da absorbância da banda Soret e, assim, optou-se pela menor concentração para realização dos testes de fotoestabilidade nos casos destas duas porfirinas. A concentração de 0,1 mg% corresponde a 0,003 mM e está muito abaixo da CMC (concentração micelar crítica) do SDS, que é de 8 mM. O Gráfico 7 ilustra a estabilidade dos monômeros na solução de SDS de menor concentração, a qual foi utilizada também nos testes de fotoestabilidade. Importante ressaltar que não foi detectada absorvidade do próprio tensoativo SDS no comprimento de onda avaliado. Além disto, a concentração de tensoativo empregada nesta avaliação pode ser considerada baixa, o que é essencial para que a mesma possa ser empregada em testes biológicos futuros sem que o comportamento celular normal seja afetado.

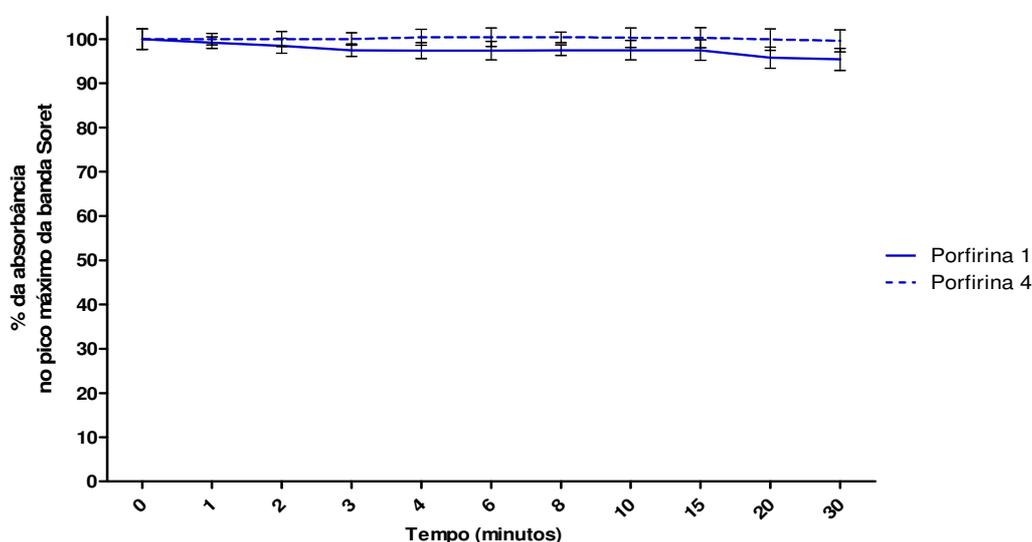
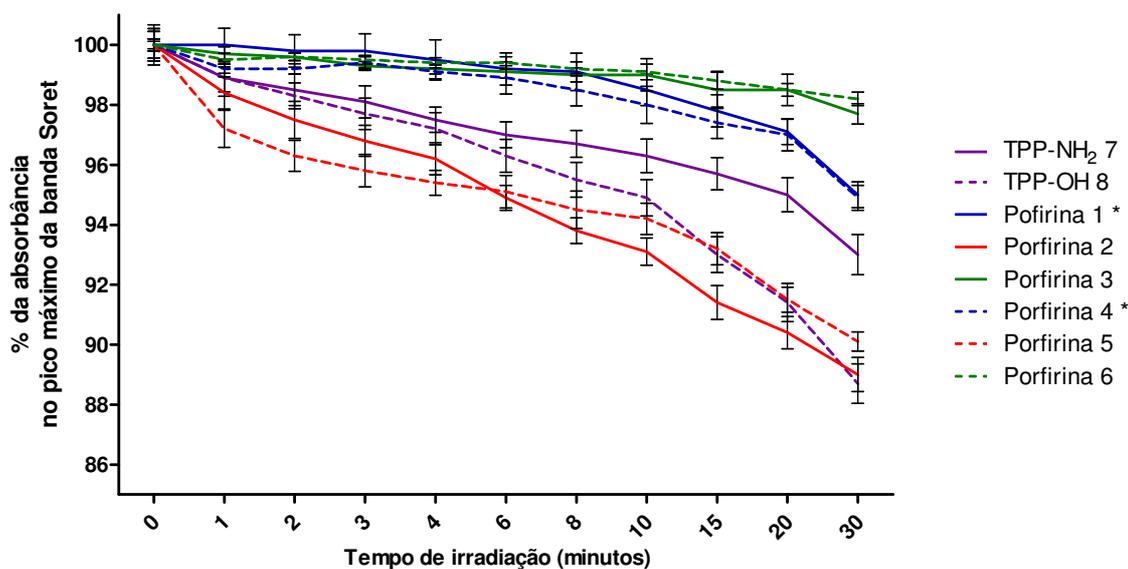


Gráfico 7: Porcentagem do decaimento da banda Soret na ausência de irradiação referente à estabilidade dos compostos **1** e **4** em solução de SDS 0,1mg/100ml. Soluções de porfirinas obtidas a partir das soluções estoque (1 mmol/L em DMSO) na concentração de 10 μ mol/L.

A observação do não decaimento da banda Soret na ausência de luz é necessária para que se possa afirmar que o comportamento na presença de luz é decorrente somente da fotoestabilidade do composto propriamente dito e não decorre de outros fatores como, por exemplo, a agregação. Tendo estabelecido as condições na ausência de irradiação passou-se para os testes com incidência de luz para a avaliação da fotoestabilidade.

Neste ensaio houve grande correlação entre os comportamentos observados e a natureza da ponte de ligação dos conjugados. Assim, constatou-se que os

conjugados porfirínicos carbamato **3** e **6** (linhas verdes do Gráfico 8) foram os compostos mais fotoestáveis, com decaimento da banda Soret inferior a 2%. Estes foram seguidos pelos derivados tiocarbamida **1** e **4** (linhas azuis), os quais apresentaram decaimento em torno de 5%, sendo estatisticamente mais fotoestáveis que o seu precursor sintético (porfirina **7**). Os compostos menos fotoestáveis segundo estes ensaios foram os derivados porfirínicos tiocarbamato **2** e **5** (linhas vermelhas), que apresentaram perfil de decaimento da banda Soret próximas ao que é observado para a porfirina precursora **8**.



* ensaios realizados em solução aquosa de SDS 0,1 mg%;

NOTA: os demais ensaios foram realizados em H₂O (sem a adição de tensoativo).

Gráfico 8: Porcentagem do decaimento da banda Soret após irradiação a 100mW/cm² referente à fotoestabilidade dos derivados porfirínicos. Soluções de porfirinas obtidas a partir das soluções estoque (1 mmol/L em DMSO) na concentração de 10 µmol/L em H₂O.

O perfil de fotobranqueamento apresentado pelos derivados porfirínicos **2** e **5**, muito similar ao do composto **8**, pode ter sido determinado pela hidrólise dos compostos durante o percurso do experimento, o que resultaria justamente na geração do derivado **8** no meio. Já o grupo carbamato, presente nos compostos **3** e **6**, mostrou-se determinante na manutenção da integridade do macrociclo porfirínico observado no experimento.

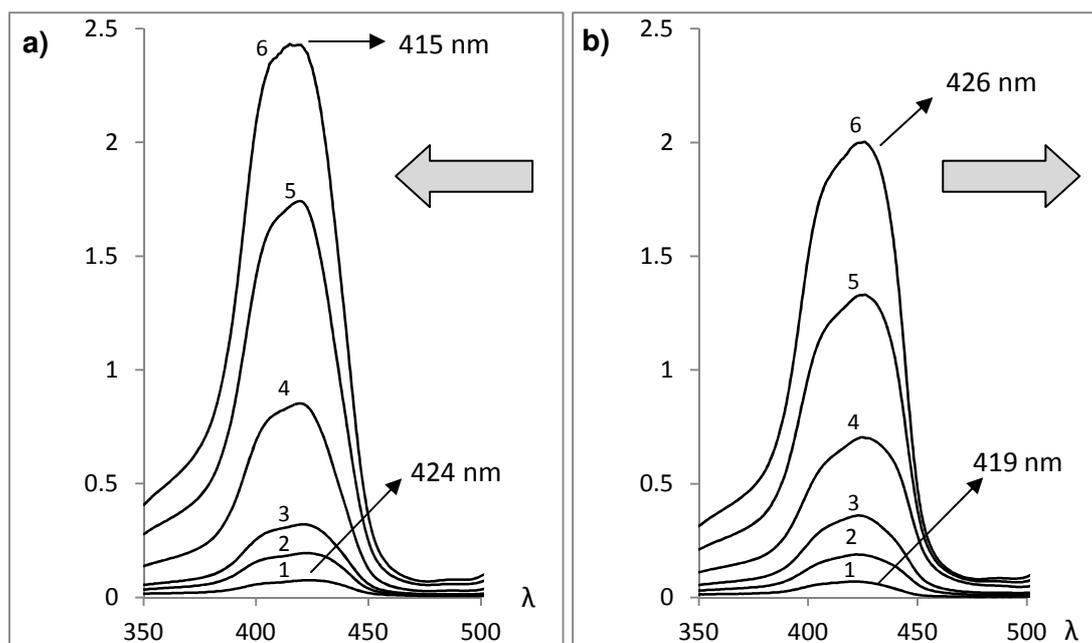
4.6.4 Estudo de agregação

Dentre as porfirinas sintetizadas, duas delas apresentaram um comportamento diferente das demais (porfirinas **1** e **4**), formando agregados em meio aquoso. Esta agregação pode ser observada pelo decaimento da banda Soret até um determinado patamar como já comentado anteriormente (vide Gráfico 6). Observando este comportamento, os resultados obtidos até o momento permitiam apenas afirmar que o grupo de ligação tiocarbamida aumenta a tendência da formação destes agregados.

O fenômeno de agregação em pigmentos já é bastante estudado e reconhecidamente influenciado por diversos fatores. No caso específico das porfirinas este fenômeno é influenciado pela presença e natureza dos substituintes ligados ao anel porfirínico, concentração, polaridade do solvente e temperatura, entre outros. A fim de avaliar esse fenômeno e verificar a influência da natureza do grupo de ligação e do ligante no comportamento de agregação foi realizado um estudo preliminar com base em experimentos espectrofotométricos e de fluorescência.

Ao contrário do esperado, as duas porfirinas avaliadas (**1** e **4**) apresentaram comportamentos fotofísicos distintos no estudo de agregação. O Gráfico 9 mostra o comportamento de deslocamento dos picos máximos da banda Soret em concentrações crescentes das porfirinas e o Gráfico 10 traz o comportamento característico da emissão de fluorescência nos dois casos.

Os dados espectrométricos mostram a porfirina **1** (Gráfico 9a) apresentando deslocamento hipsocrômico com o aumento da concentração e a porfirina **4** (Gráfico 9b) apresentando comportamento batocrômico. Quanto aos resultados da emissão de fluorescência (gráfico 10), pode-se verificar o aumento gradativo para a porfirina **4** com o aumento da concentração, e ao contrário, o decaimento da emissão para a porfirina **1**. Segundo a teoria excitônica estabelecida por Kasha e colaboradores (1963), estes dados permitem fazer considerações acerca do arranjo espacial dos agregados formados.



(a) (1) $5,0 \cdot 10^{-7}$; (2) $1,0 \cdot 10^{-6}$; (3) $2,0 \cdot 10^{-6}$; (4) $5 \cdot 10^{-6}$; (5) $1 \cdot 10^{-5}$; (6) $1,5 \cdot 10^{-5}$ mol/L;
 (b) (1) $1,0 \cdot 10^{-6}$; (2) $2,0 \cdot 10^{-6}$; (3) $5 \cdot 10^{-6}$; (4) $1 \cdot 10^{-5}$; (5) $1,5 \cdot 10^{-5}$; (6) $2,5 \cdot 10^{-5}$ mol/L.

Gráfico 9: Espectro de UV-vis dos compostos **1** (a) e **4** (b) em diferentes concentrações de porfirinas. *Plot* da absorbância (y) *versus* comprimento de onda (x).

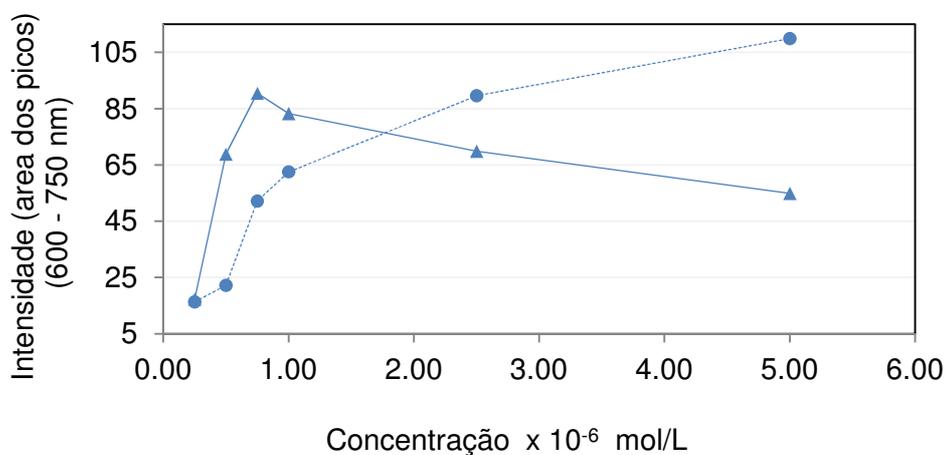


Gráfico 10: *Plot* da área da intensidade da emissão (y) *versus* concentração (x) das porfirinas **1** (linha sólida) e **4** (linha pontilhada). Círculos e triângulos representam os pontos experimentais.

Assim, segundo a teoria, a transição de elétrons do estado fundamental para orbitais moleculares ligantes ou antiligantes no estado excitado influencia o comportamento fotofísico dos compostos e influencia a geometria dos agregados (GUO, 2008; STEPANEK, 2007; EISFELD, BRIGGS, 2006; KASHA, 1963; JELLY, 1936). A transição eletrônica entre de elétrons de orbitais no estado fundamental para

orbitais antiligantes no estado excitado resulta em um deslocamento hipsocrômico da banda Soret e formação de agregados em arranjos colunares conhecidos como “agregados-H” (a letra “H” refere-se ao comportamento hipsocrômico observado). Além disto, o espectro de emissão de fluorescência apresenta um decaimento na ocasião da formação dos agregados. Por sua vez, a transição do estado fundamental para orbitais moleculares ligantes no estado excitado resultam em um deslocamento batocrômico da banda Soret, aumento da emissão de fluorescência e formação de agregados em arranjo inclinado ou em “escada” conhecidos como “agregados-J” (a letra “J” refere-se ao nome do pesquisador que observou pela primeira vez este comportamento – Jelly).

De acordo com o exposto, foi possível identificar que a porfirina **1** tende a formar agregados do tipo H em arranjos colunares e a porfirina **4** tende a formar agregados-J em arranjo inclinado ou “escada”. Abaixo a Figura 21 mostra esquematicamente a estrutura dos agregados em meio aquoso propostas para as porfirinas estudadas. Embora a grupo de ligação tiocarbamida tenha sido mandatório para tendência de agregação, de acordo com nossos resultados ele não foi decisivo para definir o arranjo espacial assumido pelos agregados.

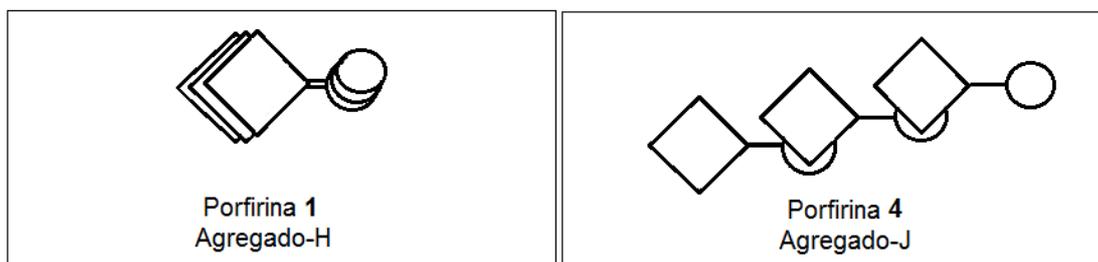


Figura 21: Estruturas sugeridas para os agregados-H e -J para as porfirinas **1** e **4** respectivamente.

O sistema de elétrons π presentes tanto no macrociclo porfirínico quanto no grupo benzila, no derivado **4**, pode ter contribuído para a existência de agregados em arranjos inclinados. A existência deste sistema de elétrons em ambas as porções anteriormente citadas permitiria a sobreposição dos diferentes sistemas durante o processo de agregação. Já para o derivado **1**, sem a existência de um sistema de elétrons π na porção ligada ao macrociclo, esta sobreposição ficaria mais restrita. Assim, somente os macrociclos porfirínicos poderiam sobrepor-se, gerando arranjos mais colunares.

5 CONCLUSÃO

No presente trabalho foram sintetizados e avaliados seis novos conjugados porfirínicos sendo três deles glicoporfirinas (porfirinas **1-3**), uma promissora classe de fotossensibilizadores com potencial aplicação dentro da modalidade terapêutica conhecida como terapia fotodinâmica.

Além da síntese destes novos compostos, foi realizada a otimização da síntese de porfirinas monossobstituídas e de derivados isotiocianato. Através da realização e comparação entre os rendimentos de diferentes rotas sintéticas com posterior otimização das etapas de síntese, foi possível alcançar dados consistentes a respeito da melhor forma de se sintetizar as substâncias em questão. Além disto, demonstrou-se a efetividade de rotas sintéticas ainda não exploradas na síntese das porfirinas **7** e **8**.

Para a síntese da 5-(*p*-aminofenil),10,15,20-trifenilporfirina **7**, a rota sintética proposta na literatura confirmou-se como a mais vantajosa no presente estudo. O emprego de BF_3OEt_2 e SeO_2 mostrou-se eficiente na ciclocondensação de *p*-nitrobenzaldeído e pirrol para formação da 5-(*p*-nitrofenil),10,15,20-trifenilporfirina **53** e o uso de Sn em meio ácido mostrou-se a melhor estratégia para redução do grupo nitro ao grupo amino sem afetar as demais ligações duplas presentes na porfirina **7**.

Já na síntese da 5-(*p*-hidroxifenil),10,15,20-trifenilporfirina **8**, a rota mais vantajosa não foi aquela proposta na literatura, e sim a estratégia que passou pela síntese da 5-(*p*-acetoxifenil),10,15,20-trifenilporfirina **103**. Nesta estratégia os rendimentos obtidos com o uso do DDQ como agente oxidante superaram aqueles obtidos com o uso de SeO_2 .

Na síntese do glicosil isotiocianato **9** foi possível obter um rendimento maior do que qualquer rendimento já relatado na literatura com a simples adição de catalisador aos reagentes já previstos na metodologia descrita por Camarasa e colaboradores (1984).

Quanto à síntese dos novos derivados porfirínicos **1-6** através da conjugação entre as porções previamente sintetizadas, os melhores rendimentos alcançados se deram na obtenção da porfirina glicosil tiocarbamida **1** por métodos tradicionais de síntese e sem a adição de qualquer catalisador. Foi desenvolvido também um método para obtenção especificamente do composto tiocarbamato **2** e **5** e outro para obtenção da porfirina carbamato **3** e **6**, evitando complicações na etapa de purificações dos mesmos. Os compostos benzilporfirínicos **4-6** puderam ser obtidos através das mesmas metodologias empregadas na síntese das glicoporfirinas, demonstrando assim a versatilidade das adaptações realizadas.

Através da síntese assistida por ultrassom não foi possível obter quantidades satisfatórias dos derivados benzil porfirínicos **4-6**. Porém, no caso das glicoporfirinas essa estratégia de transferência de energia trouxe alguns ganhos, como a redução no tempo da reação e um aumento da quimiosseletividade para formação do derivado carbamato **3**.

Um comportamento químico diferenciado foi observado para os conjugados tiocarbamato **2** e **5**. A análise da integração dos sinais e das constantes de acoplamento em espectros de RMN de ^1H permitiram a observação da presença de rotâmeros dos compostos em questão. Nestes dois compostos verificou-se também uma acentuada instabilidade química, sendo observada hidrólise à porfirina precursora **8** (majoritariamente) e troca do átomo de enxofre por oxigênio originando os derivados carbamato **3** ou **6** (em menor proporção) mesmo na ausências de íons hidróxidos (os quais tipicamente provocam esta troca).

Estudos fotofísicos foram realizados com os seis novos derivados porfirínicos **1-6** e as duas porfirinas precursoras **7-8** demonstrando, na maior parte das análises, que os conjugados possuem características fotofísicas melhores, em relação às porfirinas não conjugadas, do ponto de vista da TFD. Também foi verificada grande correlação entre os comportamentos fotofísicos observados e a natureza do grupo de ligação.

Em relação à avaliação do espectro eletrônico das porfirinas sintetizadas, a porfirina **4** se destacou. Apesar de apresentar bandas Q menos intensas que as observadas para as demais porfirinas, ou seja, com menores coeficientes de extinção, apresentou uma banda Q adicional em 710 nm. Esta característica é bastante importante quando se almeja o emprego do fotossensibilizador para o tratamento de tecidos profundos, pois possibilita a ativação do mesmo em comprimentos de onda do vermelho (no qual a luz apresenta maior penetração nos tecidos). Apesar disto, o baixo coeficiente de extinção molar (ϵ) pode representar um empecilho para geração de quantidades apreciáveis de oxigênio singlete.

Quanto ao estudo de fotoestabilidade, as porfirinas carbamato **3** e **6** demonstraram ser as mais fotoestáveis. Apesar de este comportamento ter sido observado para porfirinas ligadas a um grupo carbamato anteriormente (SILVA, et al., 2010), os motivos para ocorrência do mesmo ainda permanecem incertos. Para as porfirinas conjugadas através do grupo tiocarbamato **2** e **5** foram as menos fotoestáveis, resultado que está em concordância com o comportamento químico de instabilidade observado para estes compostos. Nestes mesmos ensaios verificou-se também um comportamento típico da agregação de corantes para as porfirinas **1** e **4** em meio aquoso. Em um ensaio específico verificou-se, então, um perfil de

deslocamento das banda no UV-visível diferente para estes dois derivados sendo hipsocrômico para a porfirina **1** e batocrômico para a porfirina **4** , o que permitiu a proposição de arranjos espaciais diferentes para os agregados de cada uma destas porfirinas.

Na geração de oxigênio singlete, as porfirinas conjugadas através do grupo carbamato **3** e **6** também se destacaram, sendo as substâncias que mais produziram a espécie reativa dentre as porfirinas analisadas. Este comportamento possivelmente se deve ao envolvimento de mecanismos de transferência de energia para a molécula de oxigênio, facilitados pela presença do grupo carbamato ligado ao macrociclo porfirínico (SILVA et al., 2010)

Considerando tanto os resultados dos experimentos de síntese quanto os resultados dos estudos fotofísicos obtidos no presente trabalho, é possível elencar os derivados porfirínicos conjugados através do grupo carbamato (compostos **3** e **6**) como os mais promissores para o uso na TFD. Isto se deve aos rendimentos de síntese apreciáveis (tanto por técnicas convencionais quanto por metodologia assistida por ultrassom), a fotoestabilidade destes compostos, a não agregação em meio aquoso e à geração de oxigênio singlete superior às demais porfirinas estudadas. Além destes, as porfirinas conjugadas através do grupo tiocarbamida (**1** e **4**) também apresentam boas chances para o emprego em TFD desde que contornado o problema da agregação destes composto com a utilização de tensoativos ou sistemas micelares.

Os resultados obtidos neste trabalho são um sólido ponto de partida para a correlação de dados de experimentos fotofísicos e futuros experimentos *in vitro* e *in vivo* que se possa realizar com os compostos sintetizados a fim de se avaliar a relação estrutura-atividade dos mesmos. Além disto, direciona a elaboração de novos conjugados e gliconjugados porfirínicos para obtenção de fotossensibilizadores mais adequados para o uso na TFD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALVAREZ, I. G.; GROULT, H.; CASAS, J.; BARREDA-MANSO, M. A.; YANGUAS-CASAS, N.; SAMPEDRO, M. N.; ROMERO-RAMIREZ, L.; FERNANDEZ-MAYORALAS, A. Synthesis of Antimitotic Thioglycosides: In Vitro and in Vivo Evaluation of Their Anticancer Activity. **J. Med. Chem.**, v.54, p.6949–6955, 2011.

BAIG, R. B. N.; VARMA, R. S. Alternative energy input: mechanochemical, microwave and ultrasound-assisted organic synthesis. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, p. 1559-1584, 2012.

BAKLEH, M. E.; SOL, V.; ESTIEU-GIONNET, K.; GRANET, R.; DÉLÉRIS, G.; KRAUSZ, P. Na efficient route to VEGF-like peptide porphyrin conjugates via microwave-assisted “click-chemistry”, **Tetrahedron**, v. 65, p.7385-7392, 2009.

BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and the ugly. **Am. J. Physiol.**, v.271 p.C1424-C1437, 1996.

BENITO, J. M.; MELLET, C. O.; SADALAPURE, K.; LINKHORST, T. K.; DEFAYE, J.; FERNANDEZ, J. M. G. Synthesis and anomeric stability of (1→6)-thiourea-linked pseudooligosaccharides. **Carbohydr. Res.**, v.320, p.37-48, 1999.

BLANCO, J. L. J.; SYLLA, B.; MELLET, C. O.; FERNANDEZ, J. M. G. Synthesis of α - and β -glycosyl Isothiocyanates via Oxazoline Intermediates. **J. Org. Chem.**, v.72, p.4547-4550, 2007.

BONNET, R. Photosensitizers of the Porphyrin and Phthalocyanine Series for Photodynamic Therapy. **Chem. Soc. Rev.**, v.24, p.19-33, 1995.

BROWN, S. B.; BROWN, E. A.; WALKER, I. The present and future role of PDT in cancer treatment. **Lancet Oncol.**, v.5, p.497-508, 2004.

CATALANO, M. M.; CROSSLEY, M. J.; HARDING, M. M.; KING, L. G. Control of Reactivity at the Porphyrin Periphery by Metal Ion Co-ordination: a General Method for Specific Nitration at the β -pyrrolic position of 5,10,15,20-Tetraarylporphyrins. **J. Chem. Soc. Chem. Commun.**, v.22, p.1535-1536, 1984.

CAMARASA, M. J.; FERNANDEZ-RESA, P.; GARCIA-LOPEZ, M. T.; HERAS, F. G.; MENDEZ-CASTRILLON, P. P.; SAN FELIX, A. A new procedure for the synthesis of glycosyl isothiocyanates. **Synthesis**. p.509-510, 1984.

CARRÉ, V.; GAUD, O.; SYLVAIN, I.; BOURDON, O.; SPIRO, M.; BLAIS, J.; GRANET, R.; KRAUSZ, P.; GUILLOTON, M. Fungicidal properties of meso-arylglycosylporphyrins: influence of sugar substituents on photoinduced damage in the yeast. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, v.48, p.57-62, 1999.

CARVALHO, C. M. B.; GOMES, A. T. P. C.; FERNANDES, S. C. D.; PRATA, A. C. B.; ALMEIDA, M. A.; CUNHA, M. A.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; LIN, Z.; RAINHO, J. P.; ROCHA, J. Photoinactivation of bacteria in wastewater by porphyrins: bacterial β -galactosidase activity and leucine-uptake as methods to monitor the process. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, v.88, p.112-118, 2007.

CASIRAGHI, G.; CORNIA, M.; ZANARDI, F.; RASSU, G. Synthesis and Characterization of Porphyrin-Sugar Carbon Conjugates. **J. Org. Chem.**, v.59, p.1801-1808, 1994.

CAVALEIRO, J. A. S.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F. Synthesis of Glycoporphyrins. **Top. Heterocycl. Chem.**, v.7, p.179–248, 2007.

- CECIONI, S.; MATTHEWS, S. E.; BLANCHARD, H.; PRALY, J. P.; IMPERTY, A.; VIDAL, S. Synthesis of lactosylated glycoclusters and inhibition studies with plant and human lectins. **Carbohydr. Res.**, v. 356, p. 132-141, 2012.
- CLARKE, O. J.; BOYLE, R. W. Isothiocyanatoporphyrins, useful intermediates for the conjugation of porphyrins with biomolecules and solid supports. **Chem. Com.**, p.2231-2232, 1999.
- CHNITI, I.; SANHOURY, M. A. K.; CHEHIDI, I. O-perfluoroalkyl thiocarbamates: synthesis and perfluoroalkyl effect on the barrier to N-CS rotation. **J. Fluor Chem.**, v. 156, p. 101–105, 2013.
- CHUNG, M. C.; SILVA, A. T. A.; CASTRO, L. F.; GÜIDO, R. V. C.; NASSUTE, J. C.; FERREIRA, E. I. Latenciação e formas avançadas de transporte de fármacos. **Rev. Bras. Cien. Farm.**, v.41, p.155-178, 2005.
- COSTA, L.; ALVES, E.; CARVALHO, C. M. B.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; CUNHA, A.; ALMEIDA, A. Sewage bacteriophage photoinactivation by cationic porphyrins: a study of charge effect. **Photochem. Photobiol. Sci.**, v.7, p.415-422, 2008.
- DE PAULA, R.; SIMÕES, M. M. Q.; NEVES, M. G. P. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S. Homogeneous olefin epoxidation catalysed by an imidazolium-based manganese porphyrin. **Catal. Commun.**, v.10, p.57-60, 2008.
- DE PAULA, et al. Kinetic study of *meso*-tetraphenylporphyrin synthesis under microwave irradiation. **J. Heterocyclic Chem.**, v. 45, p. 453-459, 2008.
- DE PAULA, R. et al. Oxidation of styrene and of some derivatives with H₂O₂ catalyzed by novel imidazolium-containing manganese porphyrins: A mechanistic and thermodynamic interpretation. **J. Mol. Catalysis A: Chem.**, v. 345, n. 1-2, p. 1–11, jul. 2011.
- DEROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coord. Chem. Rev.**, v.233, p.351-371, 2002.
- DETTY, M. R.; GIBSON, S. L.; WAGNER, S. J. Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy. **J. Med. Chem.**, v.47, p.3897-3915, 2004.
- DIAZ PÉREZ, V. M.; ORTIZ MELLET, C.; FUENTES, J.; GARCIA FERNÁNDEZ, J. M. Synthesis of glycosyl(thio)ureido sugars via carbodiimides and their conformational behavior in water. **Carboh. Res.**, v. 326, p. 161–175, 2000.
- DOUGHERTY, T. J.; GOMER, C. J.; HENDERSON, B. W.; JORI, G.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; PENG, Q. Photodynamic therapy. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.90, p.889-905, 1998.
- EISFELD, A.; BRIGGS, J. S. The J- and H-bands of organic dyes aggregates. **Chem. Phys.**, v.324, p.376-384, 2006
- ETHIRAJAN, M.; CHEN, Y.; JOSHI, P.; PANDEY, R. K. The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy. **Chem. Soc. Rev.**, v.40, p.340-362, 2011.
- FERNÁNDEZ, J. M. G.; MELLET, C. O.; FUENTES, J. Chiral 2-thioxotetrahydro-1-3-O-N-heterocycles from carbohydrates. Stereocontrolled synthesis of oxazolidine pseudo-C-nucleosides and bicyclic oxazine-2-thiones. **J. Org. Chem.**, v.58, p.5192-5199, 1993.
- FERNÁNDEZ, J. M. G.; MELLET, C. O. Chemistry and developments of N-thiocarbonyl carbohydrate derivatives: Sugar isothiocyanates, thioamides, thioureas, thiocarbamates, and their conjugates. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** v. 55, p. 35-135, 2000.

FERRIER, R. J. The synthesis and reactions of monosaccharide derivatives. In: **Carbohydrate Chemistry**. KENNEDY, J. F. Oxford: Clarendon Press: p.443-451, 1988.

GARCIA, G.; NAUD-MARTIN, D.; CARREZ, D.; CROISY, A.; MAILLARD, P. Microwave-mediated "click-chemistry" synthesis of glycoporphyrin derivatives and in vitro photocytotoxicity for application in photodynamic therapy. **Tetrahedron**, v.67, p.4924-4932, 2011.

GARCIA FERNÁNDEZ J. M.; ORTIZ MELLET, C. Chemistry and developments of N-thiocarbonyl carbohydrate derivatives: Sugar isothiocyanates, thioamides, thioureas, thiocarbamates, and their conjugates. **Adv. Carboh. Chem. Biochem.**, v. 55, p. 35–135, 2000.

GARCIA-MORENO, M. I.; DIAZ PEREZ, P.; BENITO, J. M.; ORTIZ MELLET, C.; DEFAYE, J.; FERNANDEZ, J. M. G. One-step synthesis of non-anomeric sugar isothiocyanates from sugar azides. **Carbohydr. Res.**, v.337, p.2329-2334, 2002.

GAREGG, P. J.; LINDBERG, A. A. The synthesis of oligosaccharides for biological and medicinal applications. In: **Carbohydrate Chemistry**. KENNEDY, J. F. Oxford: Clarendon Press: p.500-520, 1988.

GHOSH, S.; MISRA, A. K.; BHATIA, G.; KHAN, M. M.; KHANNA, A. K. Synthesis and evaluation of glucosyl aryl thiosemicarbazide and glucosyl thiosemicarbazide derivatives as antioxidant and anti-dyslipidemic agents. *Bioorg. Med. Chem Lett.*, v. 19, p. 386-389, 2009.

GREENE, T. W.; WUTS, P. G. M. **Protective groups in organic synthesis**. United States of America: Wiley and Sons Inc. 3ed., p.150-160, 1999.

GORMAN, A.; KILLORAN, J.; O'SHEA, C.; KENNA, T.; GALLAGHER, W. M.; O'SHEA, D.F. In Vitro Demonstration of the Heavy-Atom Effect for Photodynamic Therapy. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 126, p.10619, 2004.

GUO, L. Side-chain-controlled H- and J-aggregation of amphiphilic porphyrins in CTAB micelles. **J. Coll. Interf. Sci.**, v. 322, p. 281-286, 2008

HADJUR, C.; LANGE, N.; REBSTEIN, J.; MONNIER, P.; VAN DEN BERGH, H.; WAGNIERES, G. Spectroscopic studies on photobleaching and photoproduct formation of meta (tetrahydroxyphenyl)chlorine (m-THPC) used in photodynamic therapy. The production of singlet oxygen by m-THPC. **J. Photochem. Photobiol. B Biol**, v.45, p.170-178, 1998.

HALAZY, S.; BERGES, V.; EHRHARD, A.; DANZIN, C. Ortho- and para-(difluoromethyl)aryl- β -D-glucosides: A new class of enzyme-activated irreversible inhibitors of β -glucosidases. **Bioorg. Chem.**, v.18, p.330-344. 1990.

HELFERICH, B.; JOACHIM, Z. Synthese einiger disaccharide. **Chem. Ber.** v.93, p.2604-2611, 1962

HERMANSON, G. T. **Bioconjugate techniques**. London: Elsevier 1996; 1 ed; 303-309.

HUMERES, E.; SOUZA, E. P.; DEBACHER, N. A.; The mechanism of hydrolysis of N-alkyl O-arylthiocarbamate esters. **J. Phys. Org. Chem.**, v. 23, p. 915-924, 2010.

IUPAC. Definitive Rules for Nomenclature of Organic Chemistry. **J. Am. Chem. Soc.**, v.28, p. 5545-5574, 1960.

IUPAC. Nomenclature of Carbohydrates (Recommendations 1996) - Glycosides and glycosyl compounds. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/2carb/33.html#331>>. Acesso em: 14mar2012, 1996.

IZUMI, M.; FUKASE, K.; KUSUMOTO, S. TMSCl as a Mild and Effective source of acidic catalysis in Fischer glycosidation and use of propargyl glycoside for anomeric protection. **Biosci. Biotech. Biochem.**, v.66, p.211–214, 2002.

- JAIN, K.; KESHARWANI, P.; GUPTA, U.; JAIN, N.K. A review of glycosylated carriers for drug delivery. **Biomaterials**, v.33, p.4166-4186, 2012.
- JELLY, E.E. Spectral Absorption and Fluorescence of Dyes in the Molecular State. **Nature.**, v. 138, p. 1009, 1936.
- KARDOS, N.; LUCHE, J. L. Sonochemistry of carbohydrates compounds. **Carbohydr. Res.**, v. 332, p. 115-131, 2001.
- KASHA, M. Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for molecular aggregates. **Radiat. Res.**, v. 20, p. 55-71, 1963
- KITAMURA, T., KOBAYASHI, S.; TANIGUCHI, H. Photolysis of vinyl halides. Reaction of photogenerated vinyl cations with cyanate and thiocyanate ions. **J. Org. Chem**, v. 55, p. 1801-1805, 1990
- KOMATSU, T.; OHMACHI, N.; NAKAGAWA, A.; ZUNSZAIN, P. A.; CURRY, S.; TSUCHIDA, E. O₂ and CO Binding Properties of Artificial Hemoproteins Formed by Complexing Iron Protoporphyrin IX with Human Serum Albumin Mutants. **J. Am. Chem. Soc.**, v.127, p.15933-15942, 2005.
- KRUPER, W. J.; CHAMBERLIN, T. J. R.; KOCHANNY, M. Regioespecific Aril Nitration of meso-substituted tetraarylporfirins: a simple route to bifunctional porfirins. **J. Org. Chem.**, v.54, p.2753-2756, 1989.
- KUHNE, M.; GYORGYDCAK, Z.; LINDHORST. A Simple Method for Preparation of Glycosyl Isothiocyanates. **Synthesis**, v.6, p.949-951, 2006.
- LAFONT, D.; ZORLU, Y.; SAVOIE, H.; ALBRIEUX, F.; AHSEN, V.; BOYLE, R. W.; DUMOULIN, F. Monoglycoconjugated phthalocyanines: Effect of sugar and linkage on photodynamic activity. **Photodiag. Photodyn. Ther.**, v.10, p. 252-259, 2013.
- LAROCK, R. C. **Comprehensive organic transformations: a guide to functional group preparation.** United States of America: John Wiley and Sons Inc. 2 ed., p.826, 1999.
- LAVILLE, I.; PIGAGLIO, S.; BLAIS, J. C.; LOOCK, B.; MAILLARD, P.; GRIERSON, D.; BLAIS, J. A study of the stability of tri(glucoxyloxyphenyl)chlorin, a sensitizer for photodynamic therapy, in human colon tumoral cell: a liquid chromatography and MALDI-TOF mass spectrometry analysis. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 12, p. 3673–3682, 2004.
- LAVILLE, I.; PIGAGLIO, S.; BLAIS, J. C.; DOZ, F.; LOOCK, B.; MAILLARD, P.; GRIERSON, D. S.; BLAIS, J. Photodynamic Efficiency of Diethylene Glycol-Linked Glycoconjugated Porphyrins in Human Retinoblastoma Cells. **J. Med. Chem.**, v.49, p.2558-2567, 2006.
- LAY, L.; WINDMULLER, R.; REINHARDT, S.; SCHMIDT, R. R. A simple access to lactose-derived building blocks required in glycoconjugate synthesis. **Carbohydr. Res.**, v.303, p.39-49, 1997.
- LEE, S. J.; HUPP J. T. Porphyrin-containing molecular squares: Design and applications. **Coord. Chem. Rev.**, v.250, p.1710-1723, 2006.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** São Paulo: Editora Sarvir, 4 ed., p.158;638;688;719, 2006.
- LEMIEUX, R. U. In: **Methods in Carbohydrate Chemistry.** WHISTLER, R. L.; WOLFORM, M.L. New York/London: Academic Press: v.2, p.226–228, 1963.
- LEUCK, M.; KUNZ, H. Synthesis of active principles from the leaves of Moringa oleifera using S-pent-4-enyl thioglycosides. **Carbohydr. Res.**, v. 312, p. 33-44, 1998.
- LINDHORST, T. K.; KIEBURG, C. Solvent-free preparation of glycosyl isothiocyanates. **Synthesis**, p.1228-1230, 1995.

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

LIPSON, R. L. The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. **Proceedings of the 9th International Cancer Congress**, Tokio: p.393, 1966.

LÓ, S. M. S.; DUCATTI, D. R. B.; DUARTE, M. R. B.; BARREIRA, S. M. W.; NOSEDA, M. D.; GONÇALVES, A. G. Synthesis of meso-tetraarylporphyrins using SeO₂ as oxidant. **Tetrahedron Lett.**, v.52, p.1441-1443, 2011.

LÓ, S. M. S.; CUNICO, J. C. C.; DUCATTI, D. R. B.; ORSATO, A.; DUARTE, M. E. R.; BARREIRA, S. M. W.; NOSEDA, M. D.; GONÇALVES, A. G. Synthesis of peracetylated C-1-desoxyalditol- and C-glycoside-dipyrranes via dithioacetal derivatives. **Tetrahedron Lett.**, v. 54, p. 1137-1140, 2013.

LOCOS, O. B.; HEINDL, C. C.; CORRAL, A.; SENGE, M. O.; SCANLAN, E. M. Efficient synthesis of glycoporphyrins by microwave-mediated "click" reaction. **Eur. J. Org. Chem.**, p. 1026-1028, 2010.

MACHADO, A. E. H. Terapia Fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Quim. Nova**, v.23, p.237-243, 2000.

MACMILLAN, D.; DAINES, A. M.; Recent Developments in the Synthesis and Discovery of Oligosaccharides and Glycoconjugates for the Treatment of Disease. **Curr. Med. Chem.**, v.10, p.2733-2773, 2003.

MAYA, I.; LÓPEZ, O.; FERNÁNDEZ-BOLANÓ, J. G.; ROBINA, I. M.; FUENTES, J. A practical one-pot synthesis of O-unprotected glycosyl thioureas. **Tetrahedron Lett.** v. 42, p.5413-5416, 2001.

MATSUO, T.; NAGAI, H.; HISAEDA, Y.; HAYASHI, T. Construction of glycosylated myoglobin by recombinational method. **Chem. Comm.**, p.3131-3133, 2006.

MILGROM, L. R. **The colours of life**. Oxford: Oxford University Press, 1997.

MIYOSHI, N.; OGASAWARA, T.; NAKANO, K.; TACHIHARA, R.; KANEKO, S.; SANO, K.; FUKUDA, M.; HISAZUMI, H. In Light of Recent Developments, Application of Fluorescence Spectral Analysis in Tumor Diagnosis. **Appl. Spec. Rev.**, v.39, p.437-455, 2004.

NISHIKAWA, M.; KAMIJO, A.; FUJITA, T.; TAKAKURA, Y.; SEZAKI, H.; HASHID, M. Synthesis and pharmacokinetics of a new liver-specific carrier, glycosylated carboxymethyl-dextran, and its application to drug targeting. **Pharm. Res.**, v.10, p.1253-1261, 1993.

NISHIYAMA, K.; OBA, M. Substitution reaction of organic halide by trimethylsilyl isothiocyanate: formation of thiocyanate and its rearrangement to isothiocyanate. **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, v. 60, p. 2692-2694, 1987.

NOMURA, H.; KODA, S.; YASUDA, K.; KOJIMA, Y. Ultrasonic irradiation effect on porphyrin and its application for quantification of ultrasonic intensity. **Ultrasonics**, v. 34, p. 555-557, 1996a.

NOMURA, H.; KODA, S.; YASUDA, K.; KOJIMA, Y. Quantification of ultrasonic intensity based on the decomposition reaction of porphyrin, **Ultrasonics Sonochem.**, v. 3, p.S153-S156, 1996b

O'CONNOR, A. E.; GALLAGHER, W. M.; BYRNE, A. T. Porphyrin and Nonporphyrin Photosensitizers in Oncology: Preclinical and Clinical Advances in Photodynamic Therapy. **Photochem. Photobiol.**, v.85, p.1053-1074, 2009.

OKUNO, S.; HARADA, M.; YANO, T.; YANO, S.; KIUCHI, S.; TSUDA, N.; SAKAMURA, Y.; IMAI, J.; KAWAGUCHI, T.; TSUJIHARA, K. Complete regression of xenografted human carcinomas by camptothecin analogue-carboxymethyl dextran conjugate (T-0128). **Cancer Res.**, v.60, p.2988-2995, 2000.

ONO, N. Conversion of nitro compounds into other compounds. In: **The Nitro Group in Organic Synthesis**. ONO, N. Wiley-VCH: p.159-181, 2001.

OULMI, D.; MAILLARD, P.; GUERQUIN-KERN, J. L.; HUEL, C.; MOMENTEAU, M. Glycoconjugated Porphyrins. 3. Synthesis of Flat Amphiphilic Mixed meso-(Glycosylated aryl)arylporphyrins and Mixed meso-(Glycosylated aryl)alkylporphyrins Bearing Some Mono- and Disaccharide Groups. **J. Org. Chem.**, v.60, p.1554-1564, 1995.

OVEREND, W. G. Glicosydes. In: **The carbohydrates – chemistry and biochemistry**. PIGMAN, W.; HORTON, D. Academic Press: 2 ed., p.279-304, 1972.

PANDEY, R. K.; ZHENG, G. The porphyrin handbook- applications: past, present and future. In: **The porphyrin handbook**. KADISH, K. M.; SMITH, K. M.; GUILARD, R. New York: Academic Press, v.6, 2000.

PAPAZOGLU, T. G. Malignancies and atherosclerotic plaque diagnosis laser induced fluorescence spectroscopy the ultimate solution. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, v.28, p.3-11, 1995.

PATHAK, M. A.; FITZPATRICK, T. B. The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): 2000 BC to 1992 AD. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, v. 14, n. 1-2, p. 3-22, 30 jun. 1992.

PIETTE, J.; VOLANTI, C.; VANTIEGHEM, A.; MATROULE, J.Y.; HABRAKEN, Y.; AGOSTINIS, P. Cell death and growth arrest in response to photodynamic therapy with membrane bound photosensitizers. **Biochem. Pharmacol.**, v.66, p.1651-1659, 2003.

POLICARD, A. Etude sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiire de Wood. **C. R. Soc. Biol. Paris**, v.91, p.1423-1424, 1924.

PRATA, C.; MORA, N.; LACOMBE, J. M.; MAURIZIS, J. C.; PUCCI, B. Synthesis and surface-active properties of glycosyl carbamates and thioureas. **Carbohydr. Res.**, v.321, p.4-14, 1999.

PURRELLO, R.; GURRIERI, S.; LAUCERI, R. Porphyrin assemblies as chemical sensors. **Coord. Chem. Rev.**, v.190, p.683-706, 1999.

RAAB, O. On the effect of fluorescent substances on infusoria. **Z. Biol.**, v.39, p.524- 526, 1900.

RIBEIRO, J. N.; FLORES, A. V.; MESQUITA, R. C.; NICOLA, J. H.; NICOLA, E. M. D. Terapia Fotodinâmica: uma luz na luta contra o câncer. **Physicae**, v.5, 2005.

RICHTER, A. M.; JAIN, A. K.; OBOCHI, M.; MEADOWS, H.; CANAAN, A. J.; LEVY, J. G. Activation of benzoporphyrin derivative in the circulation of mice without skin photosensitivity. **Photochem. Photobiol.**, v.59, p.350-355, 1994.

ROITMAN, L.; EHRENBERG, B.; KOBAYASHI, N. Spectral properties and absolute determination of singlet oxygen production by naphthaloporphyrins. **J. Photochem. Photobiol. A Chem.**, v. 77, p. 23-28, 1994

ROOZE, J.; REBROV, E. V.; SCHOUTEN, J. C.; KEURENTJES, J. T. F. Dissolved gas and ultrasonic cavitation – A review. **Ultrasonic Sonochem.**, v. 20, p.1-11, 2013.

ROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coord. Chem. Rev.**, v.233, p.351-371, 2002.

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

RUSIN, O.; HUB, M.; KRAL, V. Novel water-soluble porphyrin-based receptors for saccharide recognition. **Mat. Sci. Eng. C.**, v.18, p.135-140, 2001.

SANSONE, F.; CHIERICI, E.; CASNATI, A.; UNGARO, R. Thiourea-linked upper rim calyx[4]arene neoglycoconjugates: synthesis, conformations and binding properties. **Org. Biomol. Chem.**, v.1, p.1802-1809, 2003.

SHULMAN, M. L.; SHIGAN, S. D.; KORLIN, A. Y. Specific irreversible inhibition of sweet-almond β -glucosidase by some β -glycopyranosylepoxyalkanes and β -D-glucopyranosyl isothiocyanate. **Biochem. Biophys. Acta.**, v.445, p.169-181, 1976.

SILVA, P.; FONSECA, S. M.; ARRANJA, C. T.; BURROWS, H. D.; URBANO, A. M.; SOBRAL, A. J. F. N. A New Nonconjugated Naphthalene Derivative of Meso-tetra-(3-hydroxy)-phenylporphyrin as a Potential Sensitizer for Photodynamic Therapy. **Photochem. Photobiol.**, v. 86, p. 1147-1153, 2010.

SILVA, A. M. G.; LEITE, A.; GONZALEZ, P.; DOMINGUES, M. R. M.; GAMEIRO, P.; CASTRO, B.; RANGEL, M. Use of porphyrin platform and 3,4-HPO chelating units to synthesis ligands with N4 and O4 coordination sites. **Tetrahedron**, v.67, p.7821-7828, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Spectrometric identification of organic compounds**, Editora Guanabara, Rio de Janeiro, ed. 7, 2006.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's advanced organic chemistry: reactions, mechanisms and structure**. Ed. John Wiley & Sons, New York, 2001.

SOL, V.; BLAIS, J. C.; CARRÉ, V.; GRANET, R.; GUILLOTON, M.; SPIRO, M.; KRAUSZ, P. Synthesis, Spectroscopy, and Photocytotoxicity of Glycosylated Amino Acid Porphyrin Derivatives as Promising Molecules for Cancer Phototherapy. **J. Org. Chem.**, v.64, p.4431-4444, 1999.

SOL, V.; KRAUSZ, P.; CHARMOT, A.; TROMBOTTO, S.; QUENEAU, Y. Synthesis of new glycosylated porphyrins bearing an α -D-linkage. **J. Carbohydr. Chem.**, v.25, p.345-360, 2006.

SOLLADIE, N.; HAMEL, A.; GROSS, M. Synthesis of multiporphyrinic α -polypeptides: towards the study of the migration of an excited state for the mimicking of the natural light harvesting device. **Tetrahedron Lett.**, v.41, p.6075-6078, 2000.

SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. Rio de Janeiro: LTC, 5 ed., v.1, p.636, 2005.

STERNBERG, E. D.; DOLPHIN, D.; BRUCKNER, C. Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy. **Tetrahedron.**, v.54, p.4151-4202, 1998.

TAI, C. K.; CHUANG, H. H.; WANG, B. C. Substituted group and side chain effects for the porphyrin and zinc(II)-porphyrin derivatives: A DFT and TD-DFT study. **J. Lumin.**, v. 142, p. 8-16, 2013.

TAPPENIER, H.; JESIONEK, A. Therapeutische versuche mit stoffe. **Muench. Med. Wochenschr.**, v.1, p.2042-2044, 1903.

TOMÉ, J. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; MENDONÇA, A. F.; PEGADO, I. N.; DUARTE, R.; VALDEIRA, M. L. Synthesis of glycoporphyrin derivatives and their antiviral activity against herpes simplex virus types 1 and 2. **Bioorg. Med. Chem.**, v.13, p. 3878-3888, 2005.

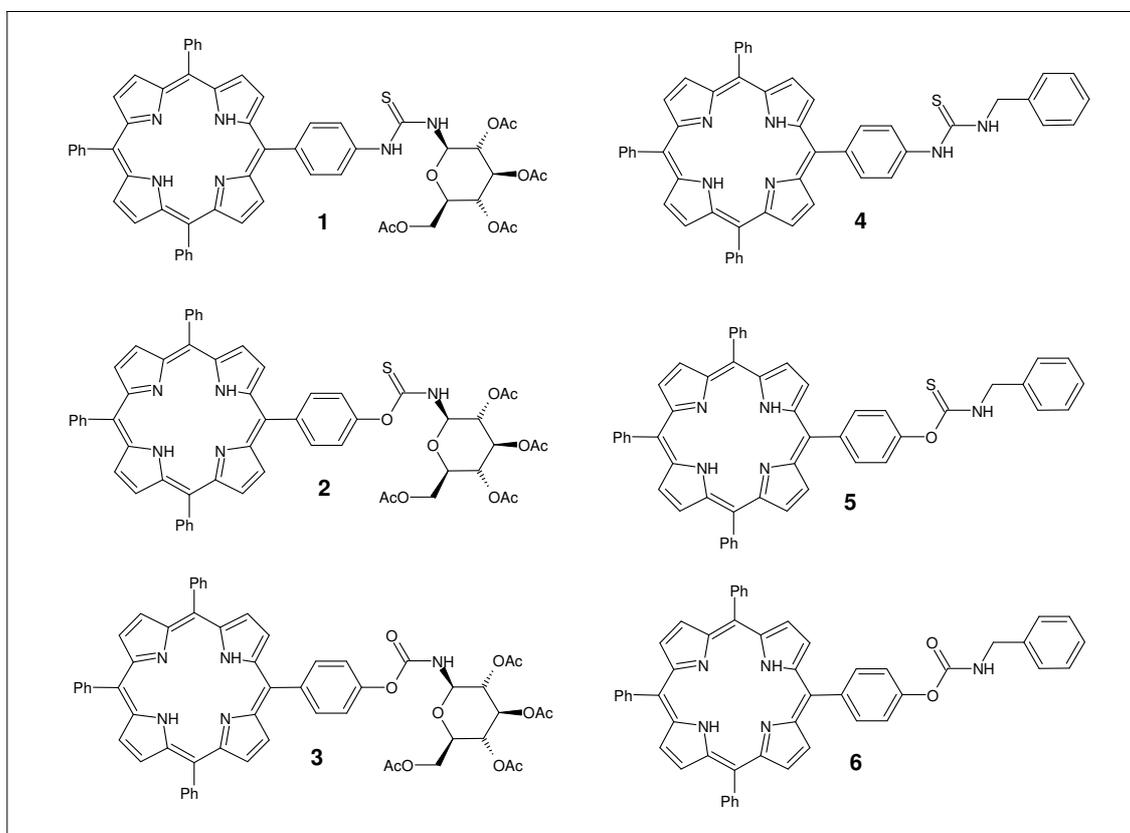
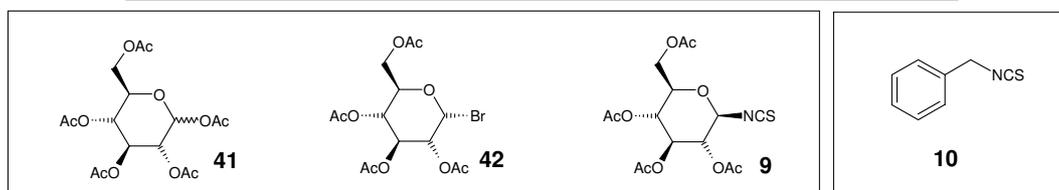
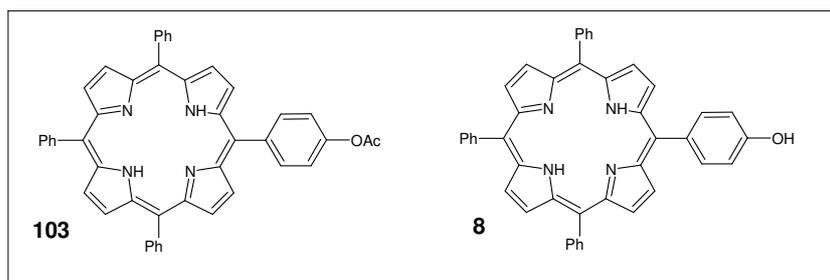
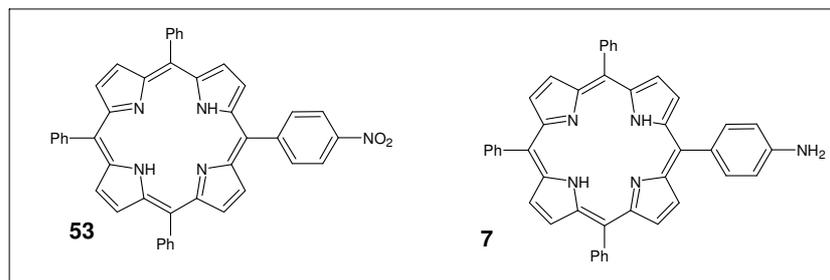
- VALLEJOS, S. T.; ERBEN, M. F.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; DELLA VÉDOVA, C. O. N-H...S=C hydrogen bond in O-alkyl N-methoxycarbonyl thiocarbamates. **Polyhedron**, v. 28, p. 937–946, 2009.
- VIOLA, A.; MANNONI, P.; CHANON, M.; JULLIARD, M.; MEHTA, G.; MAIYA, B. G.; MUTHUSAMY, S.; SAMBAIAH, T. Phototoxicity of some novel porphyrin hybrids against the human leukemic cell line TF-1. **J. Photochem. Photobiol. B Biol.**, v.40, p.263-272, 1997.
- VLIEGHE, P.; CLERC, T.; PANNECOUQUE, C.; WITVROUW, M.; DE CLERCQ, E.; SALLES, J.P.; KRAUS, J. L. Synthesis of new covalently bound kappacarrageenan- AZT conjugates with improved anti-HIV activities. **J. Med. Chem.**, v.45, p.1275-1283, 2002.
- WEIKKOLAINEN, K.; AITIO, O.; BLOMQUIST, M.; NATUNEN, J.; HELIN, J. Conjugation of oligosaccharides by reductive amination to amine modified chondroitin oligomer and γ -cyclodextrin. **Glycoconj. J.**, v.24, p.157-165, 2007.
- WILKINSON, F.; HELMAN, P. W.; ROSS, A. B. Rate constant for the decay and reaction of the lowest electronically excited singlet state of molecular oxygen in solution. An expanded and revised compilation. **J. Phys. Chem.**, v.24, p.663, 1995.
- WITCZAK, Z. J.; Monosaccharides isothiocyanates and thiocyanates: synthesis, chemistry, and preparative applications. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v.44, p.91-145. 1989.
- WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Acetylation. In: **Methods in Carbohydrate Chemistry**; WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. L. New York: Academic Press, v.2, p. 210-215, 1963.
- WOLFROM, M. L.; THOMPSON, A. Glycosides, simple Acetals and Thioacetal, In: **The carbohydrates – chemistry, biochemistry physiology**. SCHMIDT, O. T. New York: Academic Press Inc, v.1, p.188-198, 1957.
- WHISTLER, R. L.; WOLFROM, M. L. **Methods in Carbohydrate Chemistry**. New York: Academic Press, v.2, p. 210-215; 244-245; 326-327, 1963.
- ZAWACKA-PANKAU, J.; KRACHULET, J.; GRULKOWSKI, I.; BIELAWSKI, K. P.; SELIVANOVA, G. The p53-mediated cytotoxicity of photodynamic therapy of cancer: recent advances. **Tox. Appl. Pharm.**,v.232, p.487-497, 2008.
- ZHENG, X.; PANDEY, R. K. Porphyrin-Carbohydrate Conjugates: Impact of Carbohydrate Moieties in Photodynamic Therapy (PDT). **Anti Canc. Agents Med. Chem.**, v.8, p.241-268, 2008.
- ZERROUKI, S. R.; GRANET, R.; HUANG, Y. M. ; LAGORCE, J. F. ; GUILLOTON, M. BLAIS, J. C.; KRAUSZ, P. Synthesis and biological evaluation of thioglycosylated porphyrins for an application in photodynamic therapy. **Bioorg. Med. Chem.**, v.10, p. 57-69, 2002.
- ZHU, X. J.; WONG, W. K.; JIANG, F. L.; POON, C. T.; WONG, W. Y. An ultrasonic wave-assisted synthesis of *meso*-amidinophenyl substituted porphyrins. **Tetrahedron Lett.**, v. 49, p.2114-2118, 2008

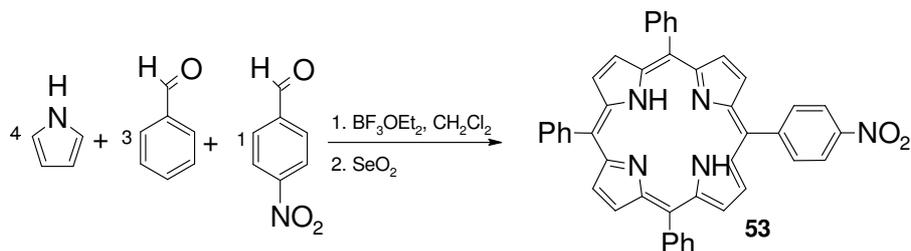
ANEXOS

Índice de Anexos

Anexo 1: Estrutura química dos produtos obtidos por síntese.	114
Anexo 2: Síntese e caracterização da 5-(4-nitrofenil)-10,15,20-trifenilporfirina 53	115
Anexo 3: Síntese e caracterização do 5-(4-amino)-10,15,20-trifenilporfirina 7	117
Anexo 4: Síntese e caracterização da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina 103	119
Anexo 5: Síntese e caracterização da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina 8	121
Anexo 6: Síntese da 1,2,3,4,6- <i>per-O</i> -acetil- α,β -D-glucopiranosídeo 41	123
Anexo 7: Síntese e caracterização da tetra- <i>O</i> -acetil-1-bromo- α -D-glucopiranosídeo 40	124
Anexo 8: Síntese e caracterização dotetra- <i>O</i> -acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato 9	126
Anexo 9: Síntese e caracterização do derivado benzil isotiocianato 10	129
Anexo 10: Síntese dos derivados porfirínicos tiocarbamida 1 e 4	131
Anexo 11: Síntese dos derivados porfirínicos tiocarbamato 2 e 5	132
Anexo 12: Síntese dos derivados porfirínicos carbamato 3 e 6	133
Anexo 13: Caracterização da porfirina 1	134
Anexo 14: Caracterização da porfirina 2	137
Anexo 15: Caracterização da porfirina 3	141
Anexo 16: Caracterização da porfirina 4	145
Anexo 17: Caracterização da porfirina 5	148
Anexo 18: Caracterização da porfirina 6	152

Anexo 1: Estrutura química dos produtos obtidos por síntese.



Anexo 2: Síntese e caracterização da 5-(4-nitrofenil)-10,15,20-trifenilporfirina **53**

A técnica de síntese utilizada para obtenção da porfirina **53** é uma adaptação da metodologia desenvolvida em nosso laboratório (LÓ et al., 2011). Em um balão de fundo redondo adicionou-se 40 ml de CH_2Cl_2 , benzaldeído (3 mmol, 305 μl), *p*-nitrobenzaldeído (1 mmol, 151 mg) e pirrol (4 mmol, 280 μl). Após observar-se a dissolução destes, acrescentou-se gota-a-gota o catalisador ácido BF_3OEt_2 (0,28 mmol, 36 μl) dissolvido em 2 ml de CH_2Cl_2 . Essa mistura reagiu por 30 min à temperatura ambiente (TA). Iniciou-se então a etapa de oxidação na qual foi adicionado o SeO_2 (20 mmol, 2,22 g). Notou-se uma rápida mudança de cor, do castanho para o preto. A reação permaneceu por mais 1 h sob agitação para que se completasse a oxidação. O meio reacional foi então filtrado em Celite, o filtro foi lavado com CH_2Cl_2 e o resultante foi então seco em rotaevaporador. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e CH_2Cl_2 /hexano (1:1) como fase móvel.

A porfirina **53** foi sintetizada com rendimento máximo de 16,2 %. Os sinais de RMN e espectrometria de massas condizem com dados da literatura (KRUPER et al., 1989). Os espectros obtidos podem ser vistos a seguir na Figura 24 (RMN de ^1H) e Figura 25 (ESIMS).

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,87 (d, $J=4,7$ Hz, 2H, β -pirrólico); 8,86 (s, 4H, β -pirrólico); 8,74 (d, $J=4,7$ Hz, 2H, β -pirrólico); 8,63 (d, $J=8,5$ Hz, 2H, *orto*-nitrofenil); 8,40 (d, $J=8,5$ Hz, 2H, *meta*-nitrofenil); 8,22 (d, $J=6,9$ Hz, 6H, *orto*-fenil); 7,77 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); -2,76 (s, 2H, NH-pirrólico). **ESIMS** m/z : 660,8 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$

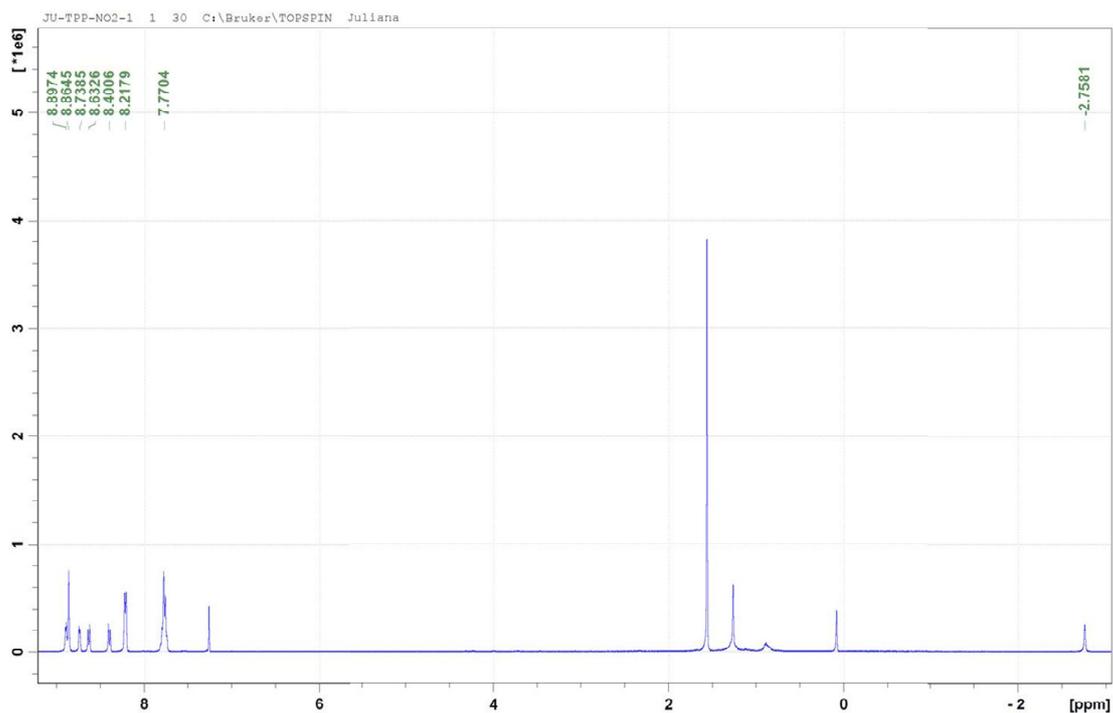


Figura 22: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **53**, na concentração de 5 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

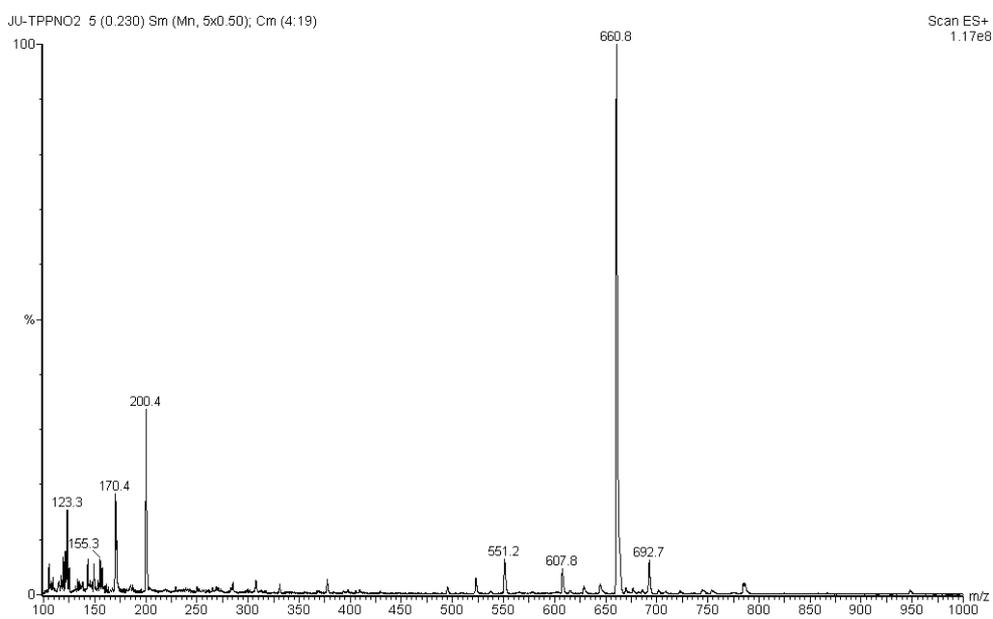
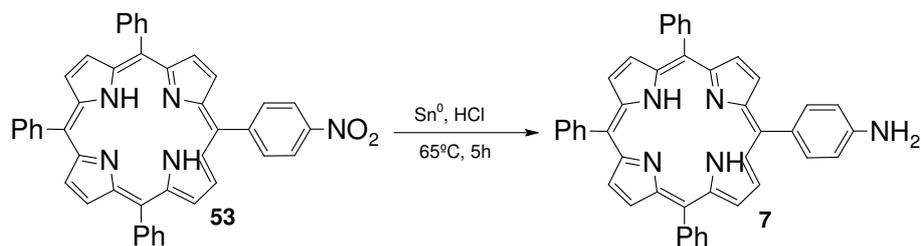


Figura 23: Espectro de massas da porfirina **53**, $m/z = 660.8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Anexo 3: Síntese e caracterização do 5-(4-amino)-10,15,20-trifenilporfirina 7



A metodologia empregada nesta reação de redução baseou-se na técnica utilizada por KRUPER et al. (1989) e também citada em LAROCK (1999). Primeiramente pesou-se a porfirina precursora **53** (0,5 mmol, 330 mg) e o Estanho (10 mmol, 1,187 g) em um balão de fundo redondo. Foi então adicionado 4,1 ml de HCl concentrado (50 mmol) e essa reação heterogênea permaneceu tampada e sob agitação por 5h em banho de glicerina a 65°C . Após esse período retirou-se o aquecimento e aguardou-se até que mistura atingisse a TA. Foram adicionados 50 ml de CH_2Cl_2 e procedeu-se uma extração em funil de separação, lavando a fase orgânica primeiramente com uma solução saturada de Na_2CO_3 até observa-se mudança do coloração de verde para rósea e em seguida procedeu-se a lavagem da fase orgânica com água destilada. O resultante foi filtrado com Na_2SO_4 para remover traços de água e seco em rotaevaporador. Para garantir a pureza do composto o resíduo obtido anteriormente foi purificado por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e CH_2Cl_2 /hexano (3:1) como fase móvel.

A porfirina **7** foi sintetizada com rendimento máximo de 61,3 %. Os sinais de RMN e espectrometria de massas condizem com dados da literatura (KRUPER et al., 1989). Os espectros obtidos podem ser vistos a seguir na Figura 26 (RMN de ^1H) e Figura 27 (ESIMS).

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 9,02 (d, $J=4,77$ Hz, 2H, β -pirrólico); 8,92 (m, 6H, β -pirrólico); 8,30 (d, $J=6,90$ Hz, 6H, *orto*-fenil); 8,04 (d, $J=7,8$ Hz; 2H, *orto*-aminofenil); 7,81 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); 7,03 (d, $J=7,8$ Hz; 2H, *meta*-aminofenil); 3,97 (s, 1H, N-H); -2,73 (s, 2H, NH-pirrólico). **ESIMS** m/z : 630,6 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$

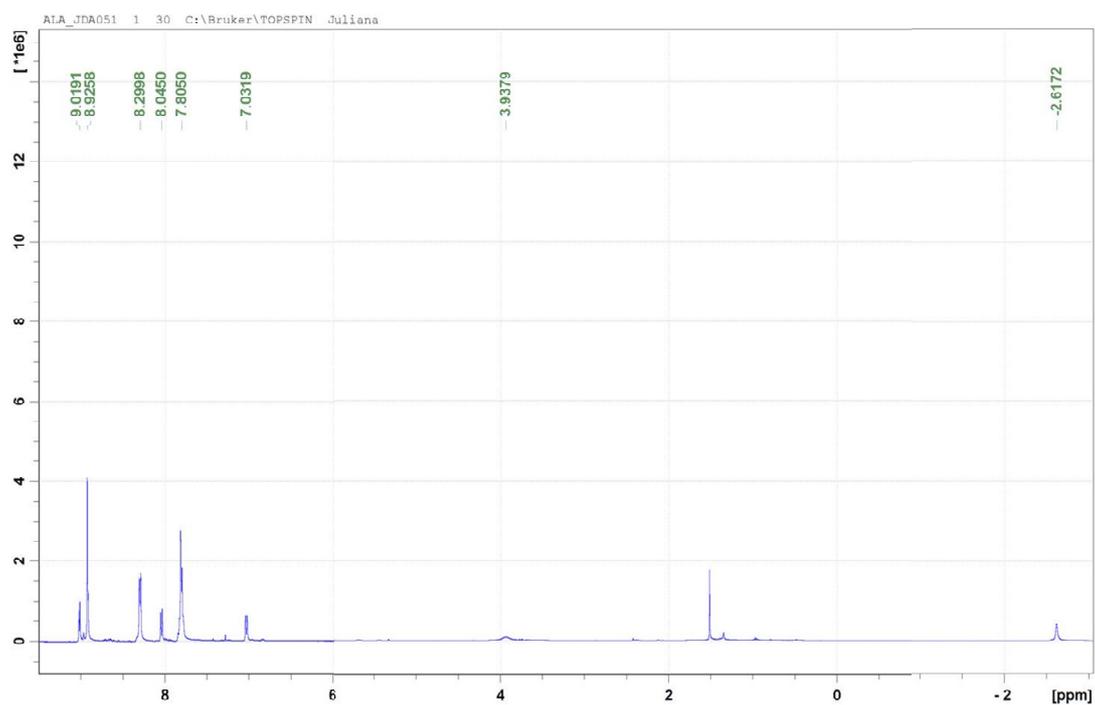


Figura 24: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **7**, na concentração de 5 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

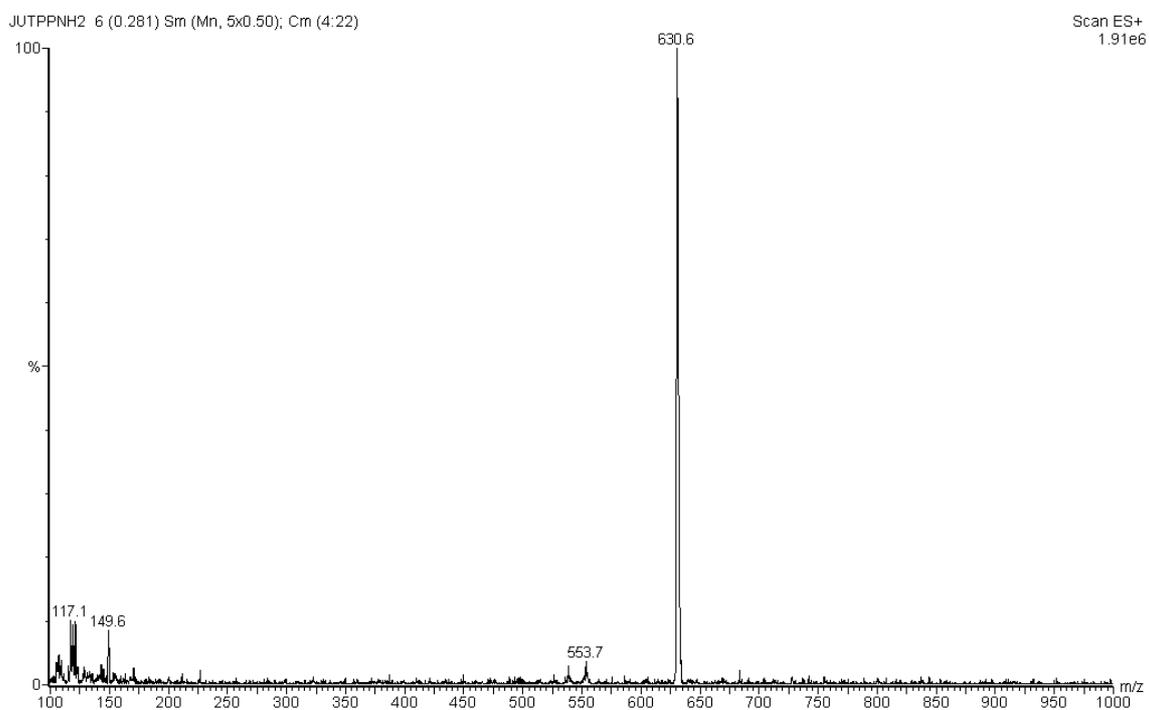
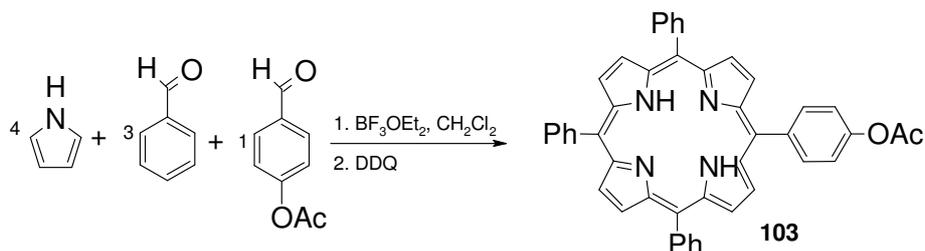


Figura 25: Espectro de massas da porfirina **7**, $m/z = 630.6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Anexo 4: Síntese e caracterização da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina **103**

A síntese da porfirina **103** baseou-se numa adaptação da metodologia proposta por LINDSEY et al., 1987. Inicialmente o benzaldeído (3 mmol, 305 μ l), o *p*-acetoxibenzaldeído (1 mmol, 140 μ l) e o pirrol (4 mmol, 280 μ l) foram adicionados sob agitação a um balão de fundo redondo contendo 40 ml de CH_2Cl_2 . Após observar-se a dissolução destes, acrescentou-se gota-a-gota o catalisador ácido BF_3OEt_2 (0,28 mmol, 36 μ l) dissolvido em 2 ml de CH_2Cl_2 . Essa mistura reagiu por 30 min. à TA. Iniciou-se então a etapa de oxidação na qual foi adicionado o DDQ (3 equiv). A reação permaneceu por mais 1 h, sob agitação, para que se completasse a oxidação. O meio reacional foi então filtrado em celite, o filtro foi lavado com CH_2Cl_2 . Adicionalmente essa mistura foi filtrada em sílica e Florisil® e o resultante foi então seco em rotaevaporador. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e CH_2Cl_2 /hexano (2:1) como fase móvel.

A porfirina **103** foi sintetizada com rendimento máximo de 12,6 %. A identidade do produto foi confirmado por RMN de ^1H e espectrometria de massas. Os espectros obtidos podem ser vistos a seguir na Figura 28 (RMN de ^1H) e Figura 29 (MALDI-TOF).

RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,89 (m, 8H, β -pirrólico); 8,25 (d, $J=6,8$ Hz, 8H, *orto*-fenil); 7,78 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); 7,52 (d, $J=8,2$ Hz; 2H, *meta*-acetoxifenil); 2,50 (s, 3H, CH_3); -2,71 (s, 2H, NH-pirrólico). **MALDI-TOF** m/z : 673,298 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$

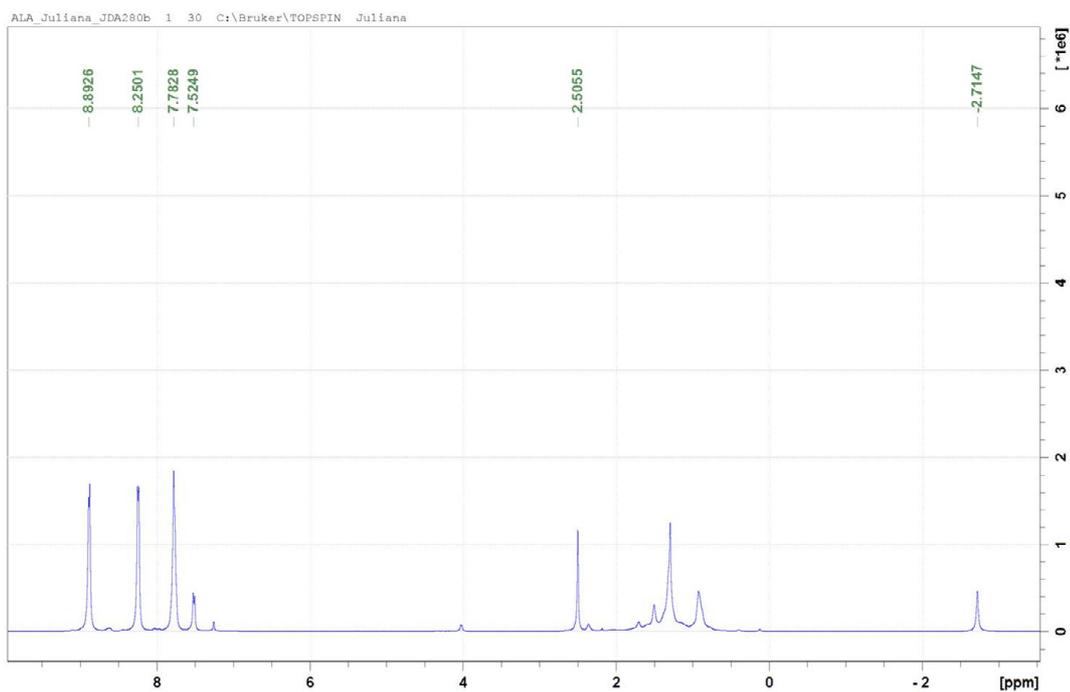


Figura 26: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **103**, na concentração de 5 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

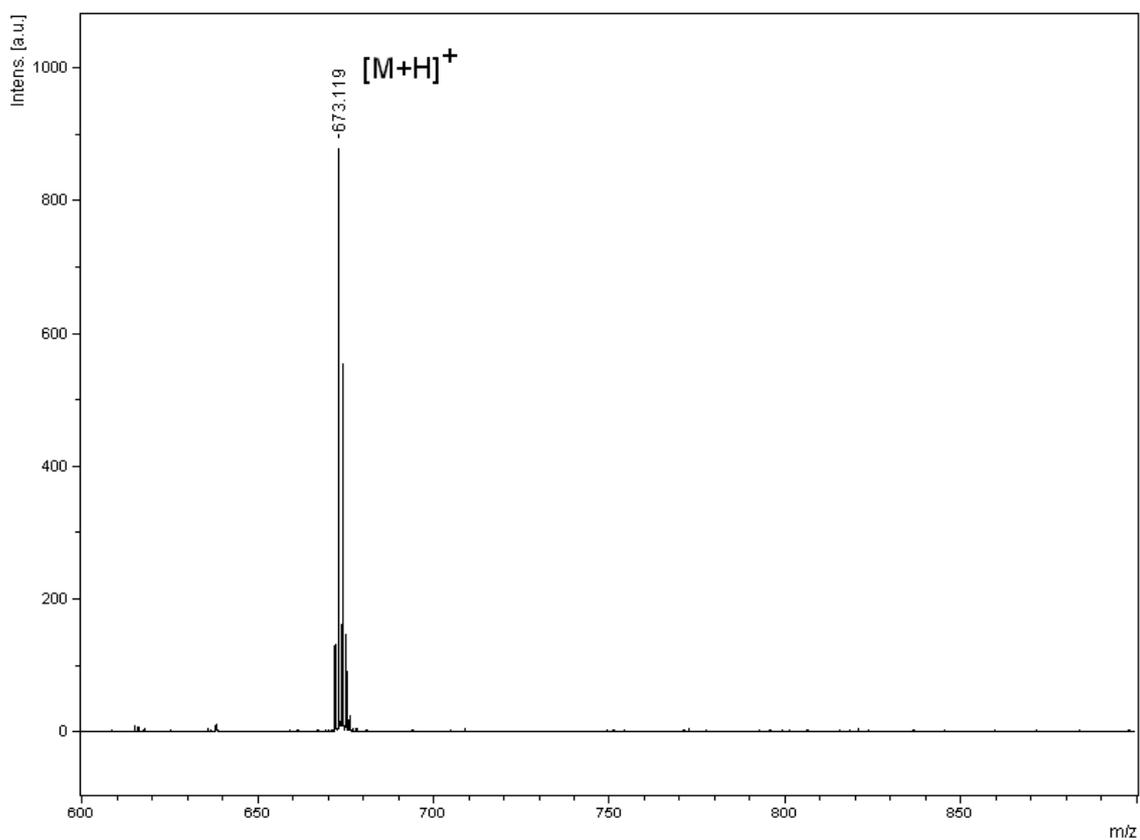
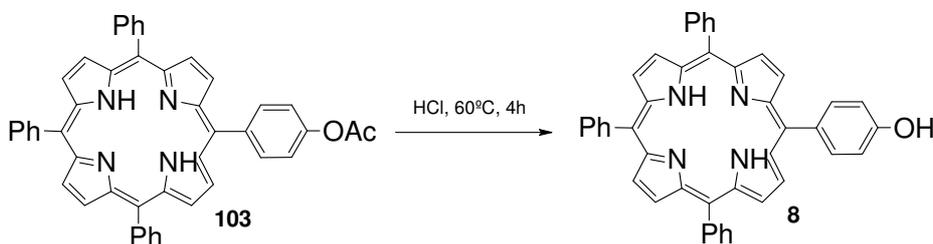


Figura 27: Espectro de massas da porfirina **103**, $m/z = 673.119$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Anexo 5: Síntese e caracterização da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina **8**


A metodologia de desacetilação baseou-se na em GREENE e WUTS (1999). Primeiramente pesou-se 337 mg (0,5 mmol) da porfirina precursora **103** em um balão de fundo redondo. Foi então adicionado 3,5 ml de HCl concentrado e a reação permaneceu tampada e sob agitação por 4h em banho de glicerina a 60°C. Após esse período retirou-se o aquecimento e aguardou-se até que mistura atingisse a TA. Foram adicionados 50 ml de CH₂Cl₂ e procedeu-se uma extração em funil de separação, lavando a fase orgânica com uma solução saturada de Na₂CO₃ até observa-se mudança do coloração de verde para rósea e em seguida procedeu-se a lavagem da fase orgânica com água destilada. O resultante foi filtrado com Na₂SO₄ para remover traços de água e seco em rotaevaporador. Para garantir o pureza do composto o resíduo obtido anteriormente foi purificado por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e CH₂Cl₂/hexano (3:1) como fase móvel.

A porfirina **8** foi sintetizada com rendimento máximo de 70 %. Os sinais de RMN e espectrometria de massas condizem com dados da literatura. Os espectros obtidos podem ser vistos a seguir na Figura 30 (RMN de ¹H) e Figura 31 (MALDI-TOF).

RMN H¹ (CDCl₃) δ (ppm) 8,90 (d, J=4,52 Hz, 2H, β-pirrolico), 8,87 (m, 6H, β-pirrolico); 8,24 (dd, J= 6,9; 1,1 Hz, 6H, *orto*-fenil); 8,08 (d, J=8,19 Hz; 2H, *orto*-hidroxifenil); 7,78 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); 7,17 (d, J=8,19 Hz; 2H, *meta*-hidroxifenil); -2,72 (s, 2H, NH-pirrólico). **MALDI-TOF m/z:** 631,103 [M+H]⁺.

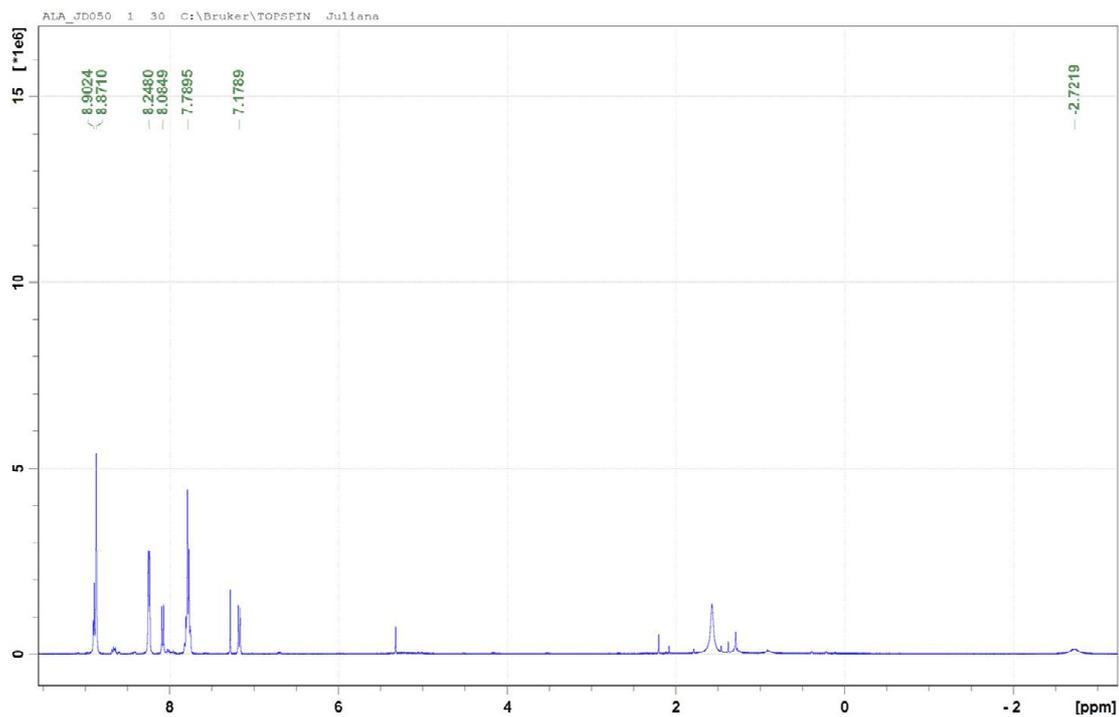


Figura 28: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **8**, na concentração de 5 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

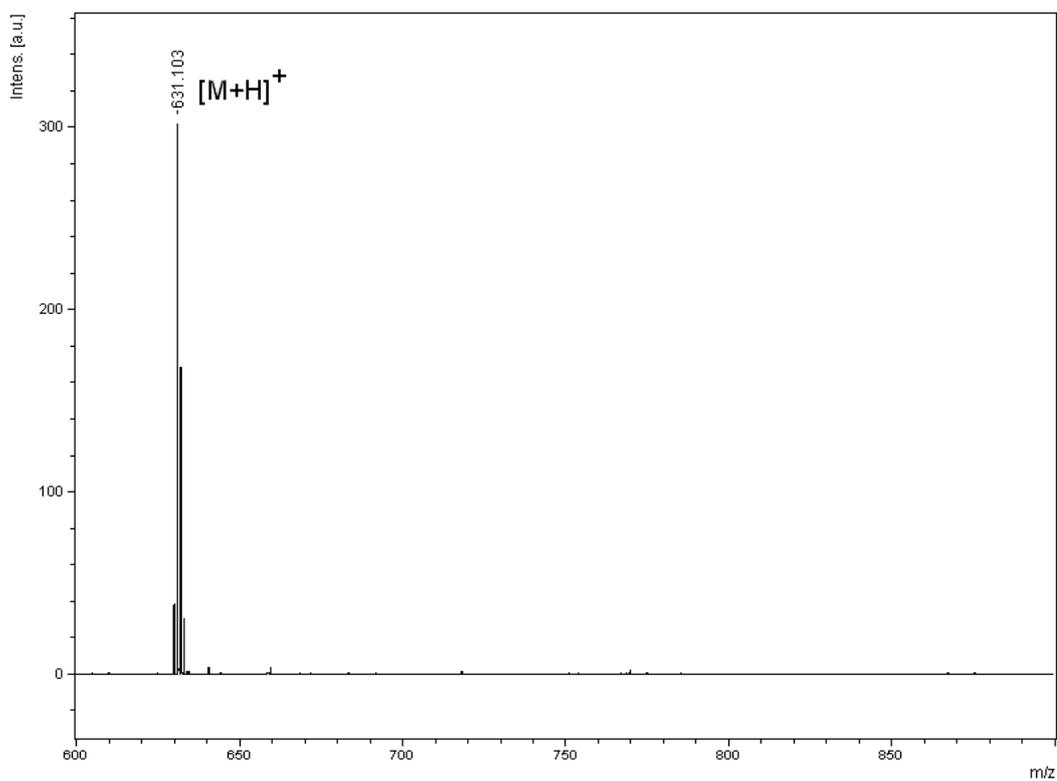
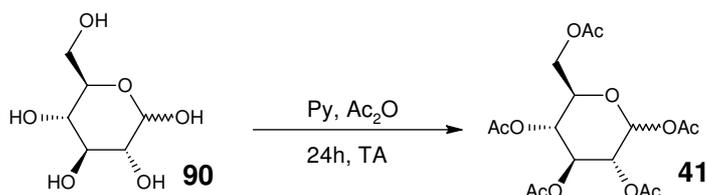


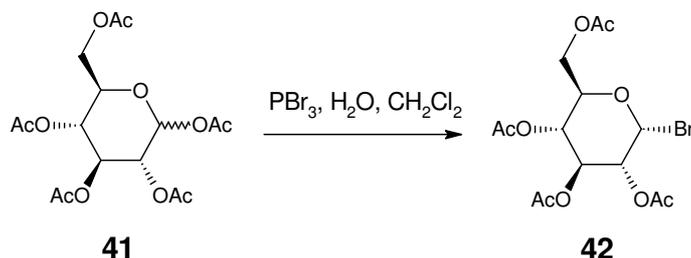
Figura 29: Espectro de massas da porfirina **8**, $m/z = 631.103$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Anexo 6: Síntese da 1,2,3,4,6-*per-O*-acetil- α,β -D-glucopiranosídeo **41**

A glucose **90** foi peracetiladas em mistura de anidrido acético e piridina, a 0^o C, de acordo com metodologia proposta em WOLFROM e THOMPSON (1963).

Para a síntese do derivado peracetilado primeiramente dissolveu-se 10 g (0,25 mol) da glucose em 160 ml de piridina a 0°C. No momento em que se alcançou a dissolução foi adicionado 240 ml de anidrido acético e manteve-se a reação sob agitação em TA por 18 h. Após o término da reação adicionou-se 300 ml de gelo. Nesse momento ocorreu a precipitação no produto, o qual foi separado do meio reacional por filtração sendo lavado com água gelada. O produto foi seco em TA e posteriormente recristalizado em H₂O/EtOH sem necessidade de outros processos de purificação obtendo se 97 % de rendimento.

Anexo 7: Síntese e caracterização da 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-bromo- α -glucopiranosídeo **40**



A glucose peracetilada **41** foi submetida a reação de halogenação onde empregou-se a metodologia descrita por HELFERICH e JOACHIM, 1962. Para síntese do bromoglicosídeo **42** primeiramente dissolveu-se 1,75 g (4,5 mol) do derivado peracetilado em 50 ml de CH_2Cl_2 . Sob forte agitação e em banho de gelo e água foi adicionado lentamente 2,5 ml (75 mmol) de tribrometo de fósforo e em seguida 0,5 ml (37,5 mol) de água, também lentamente. Retirou-se então o banho de gelo e a reação procedeu em TA por 4 h até se verificar o término da reação por CCD (FM:AcOEt/hexano 1:2). Após esse período foi adicionado diretamente ao meio reacional 10 g de Na_2CO_3 para neutralizar o meio reacional. O produto foi então extraído em funil de separação usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$. Após extração e lavagem até pH neutro a fase orgânica foi filtrada com Na_2SO_4 e seca em rotaevaporador. Para garantir a pureza do composto, o resíduo foi ainda cristalizado em uma solução de éter dietílico/ciclohexano.

O glicosídeo **42** foi sintetizado com rendimento máximo de 71 %. Os sinais de RMN e espectrometria de massas condizem com dados da literatura. Os espectros obtidos podem ser vistos a seguir na Figura 32 (RMN de ^1H) e Figura 33 (RMN de ^{13}C).

RMN H^1 (CDCl_3) δ (ppm) 6,60 (d, 1H, $J=3,90$ Hz, H-1); 5,55 (t, 1H, $J_{3-4}=9,80$, H-3); 5,16 (t, 1H, H-4); 4,83 (dd, 1H, H-2); 4,30 (m, 2H, $J_{5-6a}=J_{5-6b}=10,48$); 4,13 (d, 1H, H-5); 2,08-2,02 (4 s, 12H, MeCO). **RMN C^{13}** (CDCl_3) δ (ppm) 170,4; 169,79; 169,74; 169,4 (4C, C=O); 86,6 (C-1); 72,1 (C-2); 70,6 e 70,1 (C-3 e C-5); 67,2 (C-4); 60,9 (C-6); 20,58 (4C, CH_3).

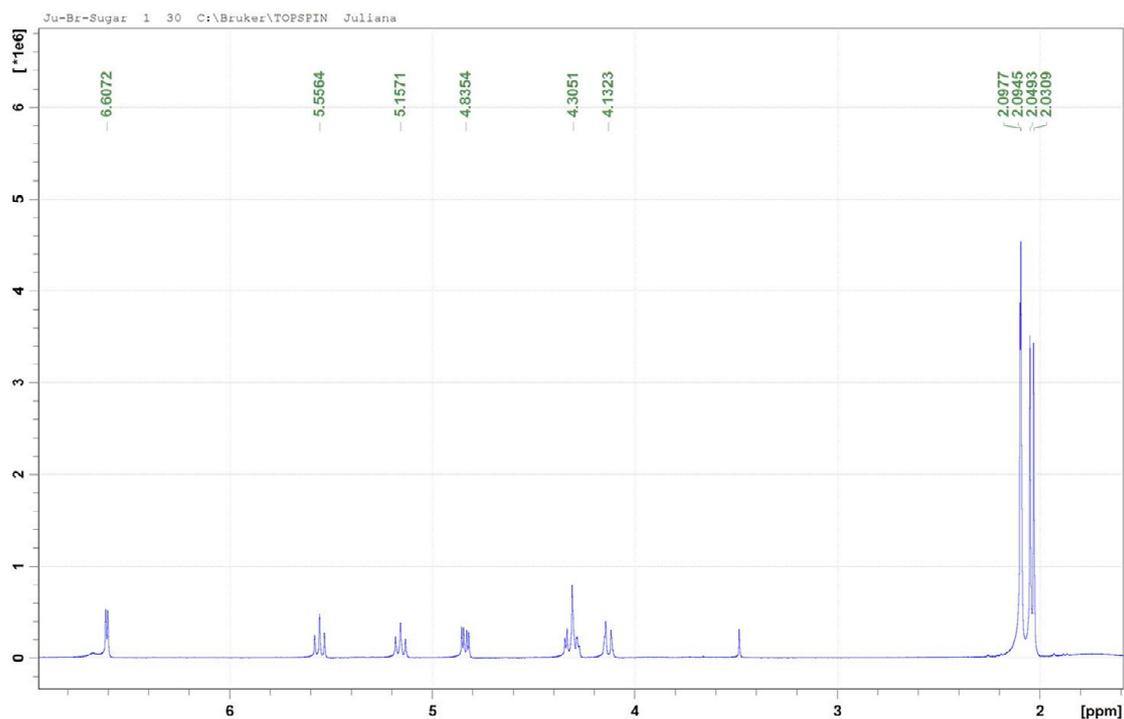


Figura 30: Espectro de RMN de ^1H do glicosídeo **42**, na concentração de 10 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

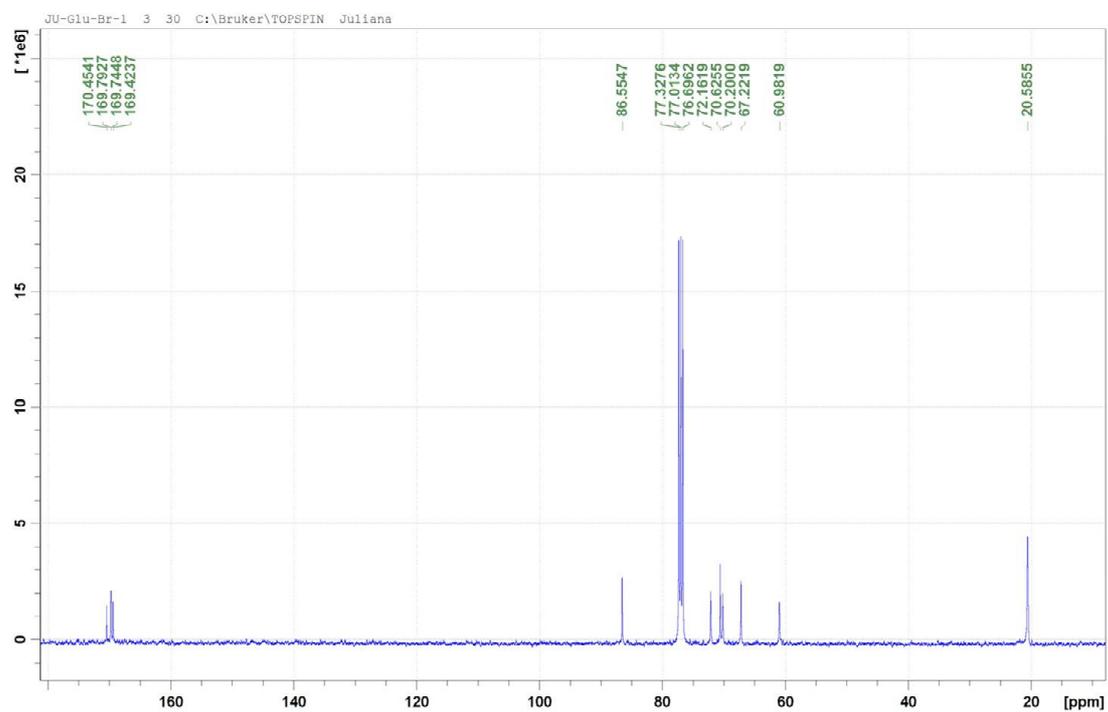
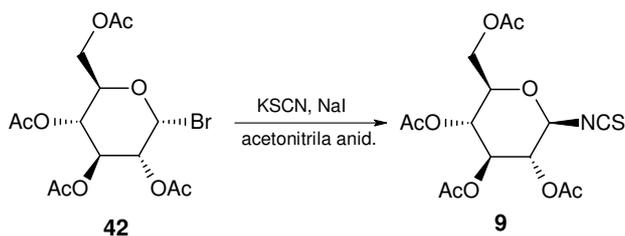


Figura 31: Espectro de RMN de ^{13}C do glicosídeo **42**, na concentração de 10 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 77,2 ppm pelo sinal no solvente.

Anexo 8: Síntese e caracterização do 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato **9**



A metodologia empregada para síntese do Glc-NCS **9** é uma adaptação da metodologia de L'ABEE e LEURS (1992) para síntese de benzil isotiocianatos a partir de brometo de benzila. Em um balão de fundo redondo foram adicionados 411 mg (1 mmol) do bromoglicosídeo **42**, 194 mg (2 mmol) de tiocianato de potássio, 75 mg (0,5 mmol) de iodeto de sódio e 161 mg (0,5 mmol) de brometo de tetrabutilamônio. Em seguida o balão foi tampado e inseriu-se uma atmosfera de gás nitrogênio. Após a troca da atmosfera, foi adicionada 25 ml de acetonitrila anidra sem a abertura do frasco (com o auxílio de uma seringa). A reação procedeu por 2 h à temperatura de 90°C. Foram adicionados então, 50 ml de CH₂Cl₂ e procedeu-se uma extração em funil de separação, lavando a fase orgânica três vezes com água destilada. O resultante foi filtrado com Na₂SO₄ para remover traços de água e seco em rotaevaporador. O resíduo obtido anteriormente foi purificado por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e AcOEt/hexano (1:1) como fase móvel. Adicionalmente o composto foi cristalizado em uma solução de éter dietílico/ciclohexano.

O glicosídeo **9** foi sintetizado com rendimento máximo de 84 %. Os sinais de RMN e espectrometria de massas condizem com dados da literatura. Os espectros obtidos podem ser vistos a seguir na Figura 34 (RMN de ¹H), Figura 35 (RMN de ¹³C) e Figura 36 (ESIMS),

RMN H¹ (CDCl₃) δ (ppm) 5,20 (t, 1H, J₂₋₃=J_{3,4}= 9,46 Hz, H-3); 5,09 (t, 2H, H-2 e H-4); 5,01 (d, 1H, J= 8,48 Hz, H-1); 4,24 (dd, 1H, J_{6a-6b}= 12,63 Hz, J_{5-6a}= 4,80 Hz, H-6a); 4,14 (dd, 1H, J_{5-6b}= 2,34 Hz, H-6b); 3,74 (m, 1H, H-5). **RMN C¹³** (CDCl₃) δ (ppm) 170,8-169,3 (4C, C=O); 144,7 (NCS); 83,9 (C-1); 74,5(C-2); 72,8 e 72,2 (C-3 e C-5); 68,0 (C-4); 61,9 (C-6); 21,0-20,8 (4C, CH₃). **ESIMS** m/z: 412,1 [M+Na]⁺

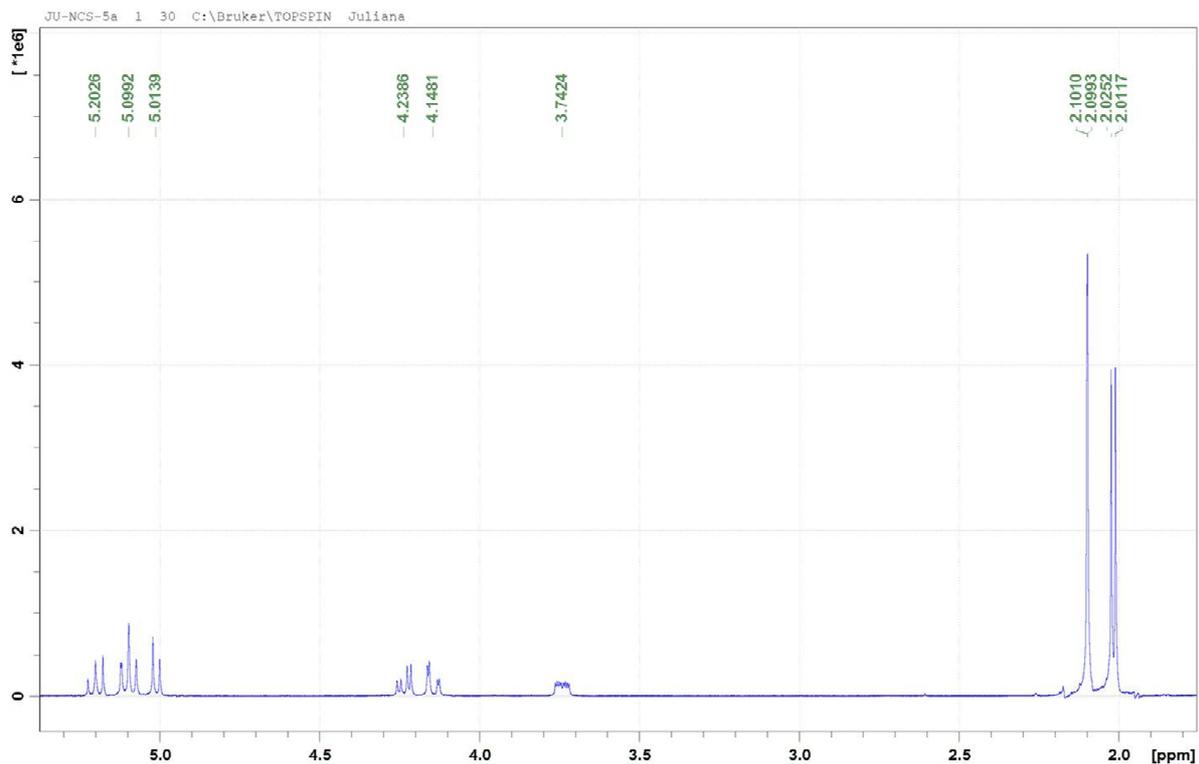


Figura 32: Espectro de RMN de ^1H do glicosídeo **10**, na concentração de 5 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

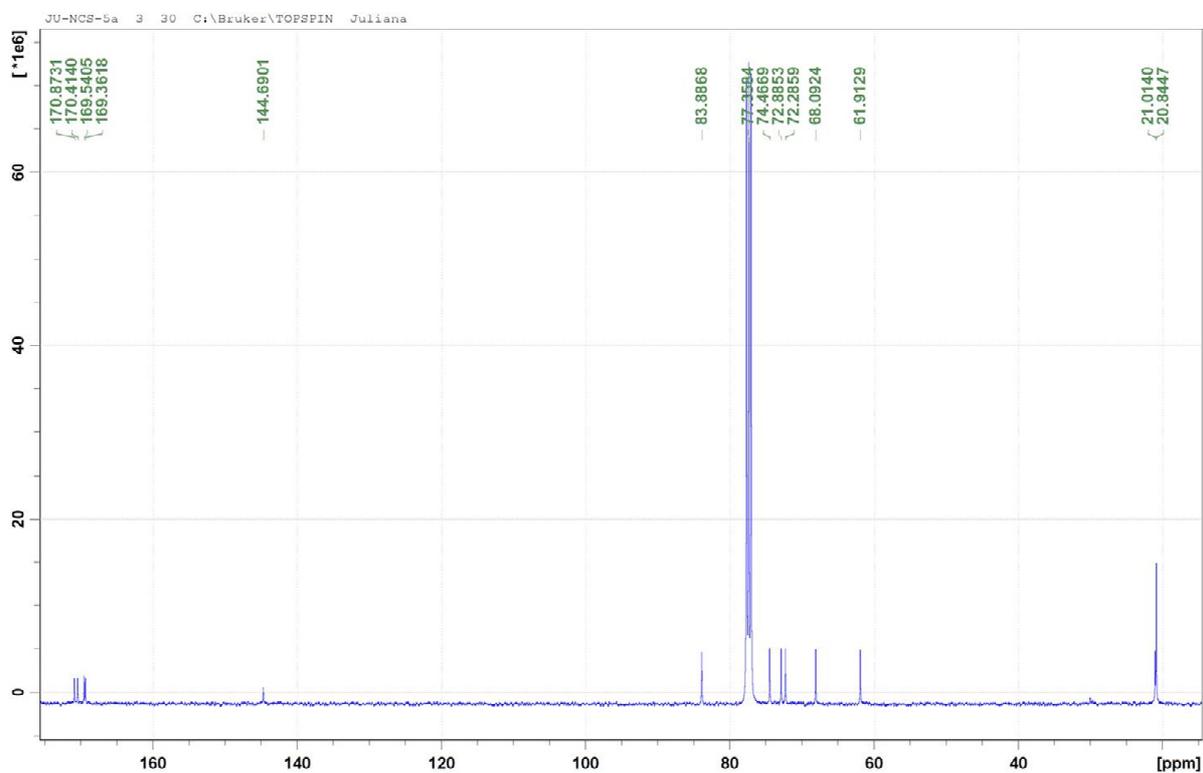


Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C do glicosídeo **9**, na concentração de 5 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 77,2 ppm pelo sinal no solvente.

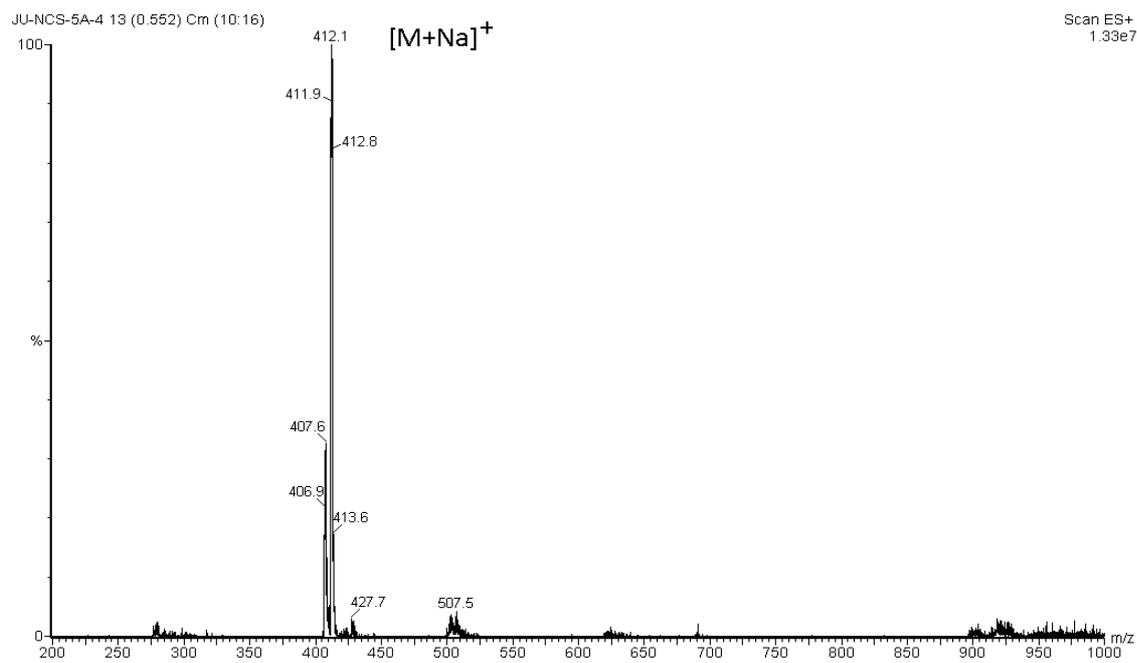
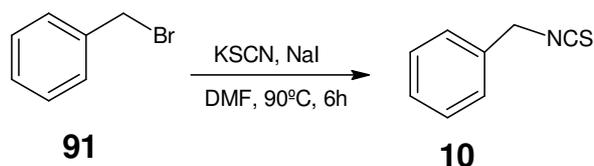


Figura 34: Espectro de massas do glicosídeo **9**, $m/z = 412,1$ $[M+H]^+$

Anexo 9: Síntese e caracterização do derivado benzil isotiocianato 10

A metodologia empregada para síntese do Bn-NCS **10** é uma adaptação da metodologia de L'ABEE e LEURS (1993). Em um balão de fundo redondo foram adicionados 600 μ l de brometo de benzila, 972 mg de tiocianato de potássio e 300 mg de iodeto de sódio. Em seguida o balão foi tampado e inseriu-se uma atmosfera de gás nitrogênio. Após a troca da atmosfera, foi adicionada com o auxílio de seringas de vidro 25 ml de DMF anidro sem a abertura do frasco. A reação procedeu por 6h à temperatura de 90°C (banho de glicerina). Foram adicionados então, 50 ml de CH₂Cl₂ e procedeu-se uma extração em funil de separação, lavando-se a fase orgânica três vezes com água destilada. O resultante foi filtrado com Na₂SO₄ para remover traços de água e seco em rotaevaporador. O resíduo obtido anteriormente foi purificado por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e hexano como fase móvel.

O derivado isotiocianato **10** foi sintetizado com rendimento máximo de 70 %. Os sinais de RMN condizem com dados da literatura. O espectro de RMN de ¹H pode ser visto a seguir na Figura 37.

RMN H¹ (CDCl₃) δ (ppm) 7,38 (m, 5H, Ph); 4,74 (s, 2H, CH₂).

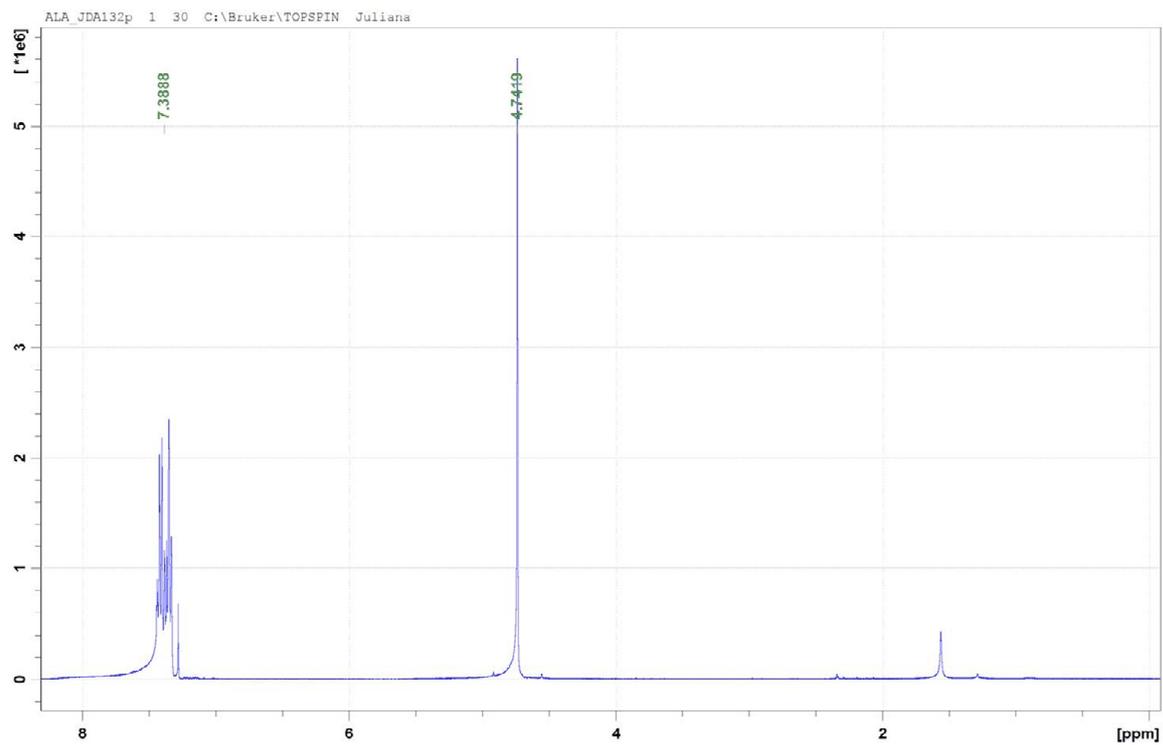
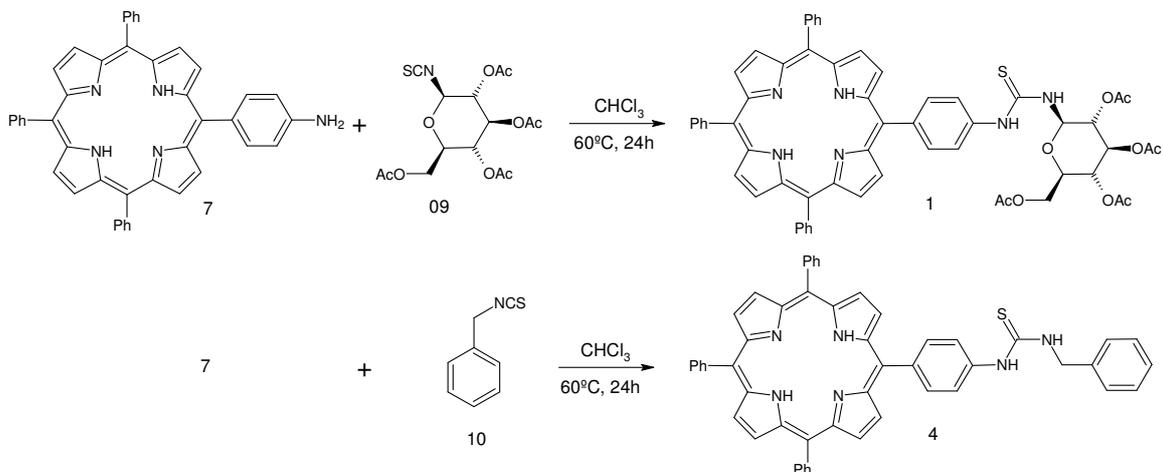


Figura 35: Espectro de RMN de ^1H do composto **10**, na concentração de 10 mg/ml em CDCl_3 e calibrado em 7,26 ppm pelo sinal no solvente.

Anexo 10: Síntese dos derivados porfirínicos tiocarbamida **1** e **4**.



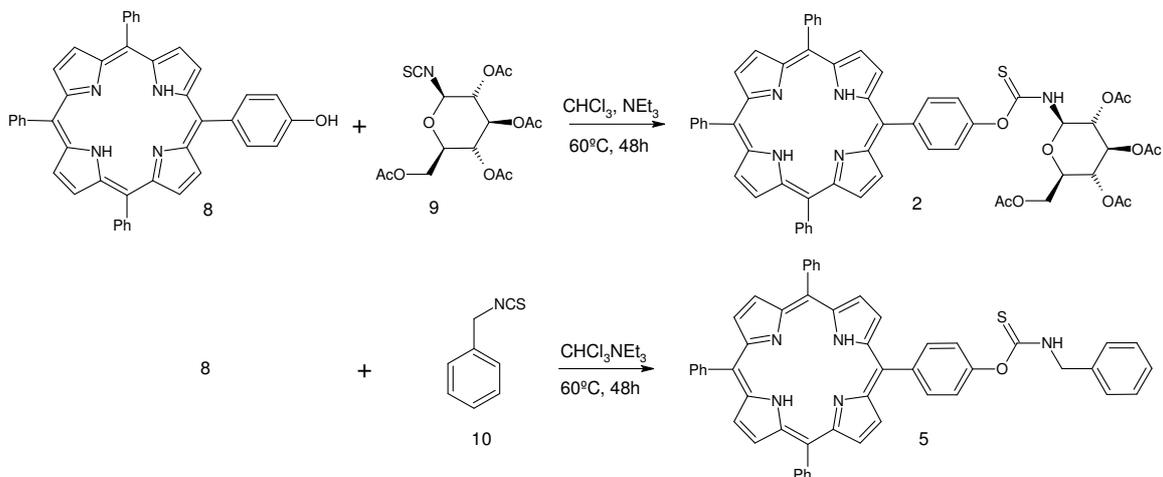
O procedimento para síntese dos derivados tiocarbamida **1** e **4** consistiu em dissolver 0,05 mmol da aminoporfirina **7** e 0,1 ou 0,5 mmol dos derivados isotiocianato **9** e **10** respectivamente em 2 ml de CHCl_3 . Após dissolução as reações procederam sob agitação a 60°C por 24h. Após o término das reações o meio foi seco em rotoevaporador e as porfirinas purificadas por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e fases móveis adequadas para cada caso:

- Porfirina **1**: FM = $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99:1
- Porfirina **4**: FM = $\text{AcOEt}/\text{Hexano}$ 1:1

Os compostos foram obtidos com 72 e 52% de rendimento respectivamente.

No procedimento empregando ultrassom para síntese dos derivados tiocarbamida **1** e **4** empregou-se as mesmas quantidades de reagentes e solventes citados acima e procedeu-se a reação sob ultrassom na frequência de 42 kHz e a TA por 1h. Após o término das reações o meio foi seco em rotoevaporador. A glicoporfirina **1** foi purificada por cromatografia em coluna. As demais reações foram analisadas por espectrometria de massas.

O rendimento da glicoporfirina **1** foi calculado, sendo de 69%.

Anexo 11: Síntese dos derivados porfirínicos tiocarbamato **2 e **5**.**


O procedimento para síntese dos derivados tiocarbamato **2** e **5** consistiu em dissolver 0,05 mmol da porfirina precursora **8** e 0,1 ou 0,5 mmol dos derivados isotiocianato **9** e **10** respectivamente em 2 ml de CHCl_3 . Após dissolução adicionou-se 0,02 mmol de trietilamina e a reação procedeu-se sob agitação a 60°C por 48h. Ao término das reações o meio foi seco em rotoevaporador e as porfirinas purificadas por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e fases móveis adequadas para cada caso:

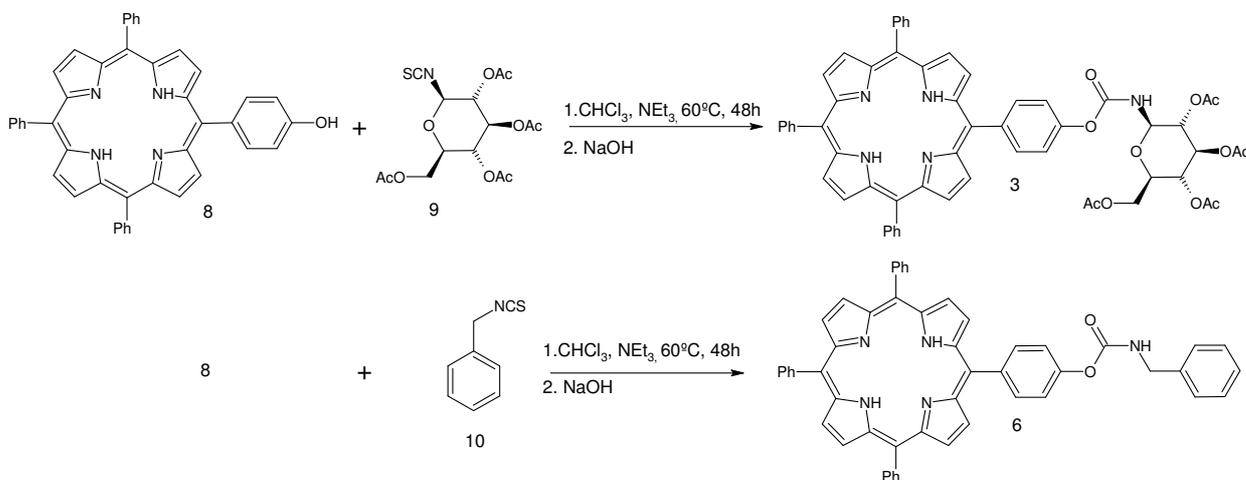
- Porfirina **2**: FM = $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 40:1
- Porfirina **5**: FM = CHCl_3

Os compostos foram obtidos 23 e 20% de rendimento respectivamente.

No procedimento empregando ultrassom para síntese dos derivados tiocarbamato **2** e **5** empregou-se as mesmas quantidades de reagentes e solventes citados acima e procedeu-se a reação sob ultrassom na frequência de 42 kHz e a TA por 1h. Após o término das reações o meio foi seco em rotoevaporador. Somente a glicoporfirina **2** foi purificada por cromatografia em coluna de sílica. As demais reações foram analisadas por espectrometria de massas.

O rendimento na obtenção da glicoporfirina **2** foi calculado, sendo de 8%.

Anexo 12: Síntese dos derivados porfirínicos carbamato **3** e **6**.



O procedimento para síntese dos derivados carbamato **3** e **6** consistiu em dissolver 0,05 mmol da porfirina precursoras **8** e 0,1 ou 0,5 mmol dos derivados isotiocianato **9** e **10** respectivamente em 2 ml de CHCl₃. Após dissolução adicionou-se 0,02 mmol de trietilamina e a reação procedeu-se sob agitação a 60°C por 48h. Ao fim desta etapa adicionou-se ainda 0,05 mmol de NaOH, mantendo agitação por mais 1h. Ao término da reação o meio foi seco em rotaevaporador e as porfirinas purificadas por cromatografia em coluna utilizando Silica Gel 60 como fase estacionária e fases móveis adequadas para cada caso:

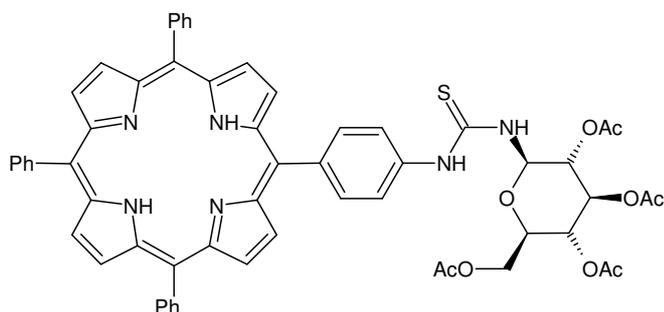
- Porfirina **3**: FM = CHCl₃/AcOEt 40:1
- Porfirina **6**: FM = CHCl₃

Os compostos foram obtidos com 49 e 32% de rendimento respectivamente.

O procedimento empregando ultrassom para síntese dos derivados carbamato **3** e **6** consistiu em dissolver 0,05 mmol da porfirinas precursoras **8** e 0,1 ou 0,5 mmol dos derivados isotiocianato **9** e **10** respectivamente em 2 ml de CHCl₃. Após dissolução adicionou-se ainda 0,02 mmol de trietilamina e procedeu-se a reação sob ultrassom na frequência de 42 kHz e a TA por 1h. Após o término das reações o meio foi seco em rotaevaporador. Somente a glicoporfirina **3** foi purificada por cromatografia em coluna. As demais reações foram analisadas por espectrometria de massas.

O rendimento da glicoporfirina **3** nestas condições foi calculado, sendo de 40%.

Anexo 13: Caracterização da porfirina 1



Monoisotopic Mass = 1018.335997 Da

$[\alpha]_D^{25} + 6,25$ (c 1.0, DMSO); **RMN H^1** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 10,35 (s, 1H, N-H tiourea); 8,92 (d, J=4,3 Hz, 2H, β -pirrólico), 8,83 (m, 6H, β -pirrólico); 8,50 (d, J=8,5 Hz, 1H, N'-H tiourea), 8,21 (d, J=5,6 Hz, 6H, *orto*-fenil); 8,18 (d, J=8,36 Hz; 2H, *orto*-fenil tiourea); 7,96 (d, J=8,36 Hz; 2H, *meta*-fenil tiourea); 7,84 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); 6,04 (t, J=8,5 Hz, 1H, H-1'); 5,45 (t, 1H, J= 9,52 Hz, 1H, H-3'); 5,15 (t, J=9,52 Hz, 1H, H-2'); 5,03 (t, J=9,68 Hz, 1H, H-4'); 4,27-4,13 (m, 2H, H-5' e H-6'a); 4,07 (m, $J_{6'a-6'b}=12,0$ Hz, H-6'b), 2,09-1,99 (4s, 12H, CH_3) -2,89 (s, NH-pirrónico). **RMN C^{13}** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 181,9 (C=S); 170,1; 169,9; 169,6; 169,4 (4C, C=O); 141,2; 138,7; 137,5; 135,2; 134,5; 131,4; 128,1; 127,0; 121,5; 120,0; 119,6 (44C); 81,4 (C-1); 72,9 (C-2); 72,3 e 70,6 (C-3 e C-5); 68,0 (C-4); 61,8 (C-6); 20,6; 20,5; 20,4; 20,3 (4C, CH_3). **ESIMS**: m/z calc. para $C_{59}H_{51}N_6O_9S^+$: 1019.3433 Da; encontrado: 1019.34326 Da.

JU_JDA_288A_130913105138 #19 RT: 0.51 AV: 1 NL: 4.92E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-2000.00]

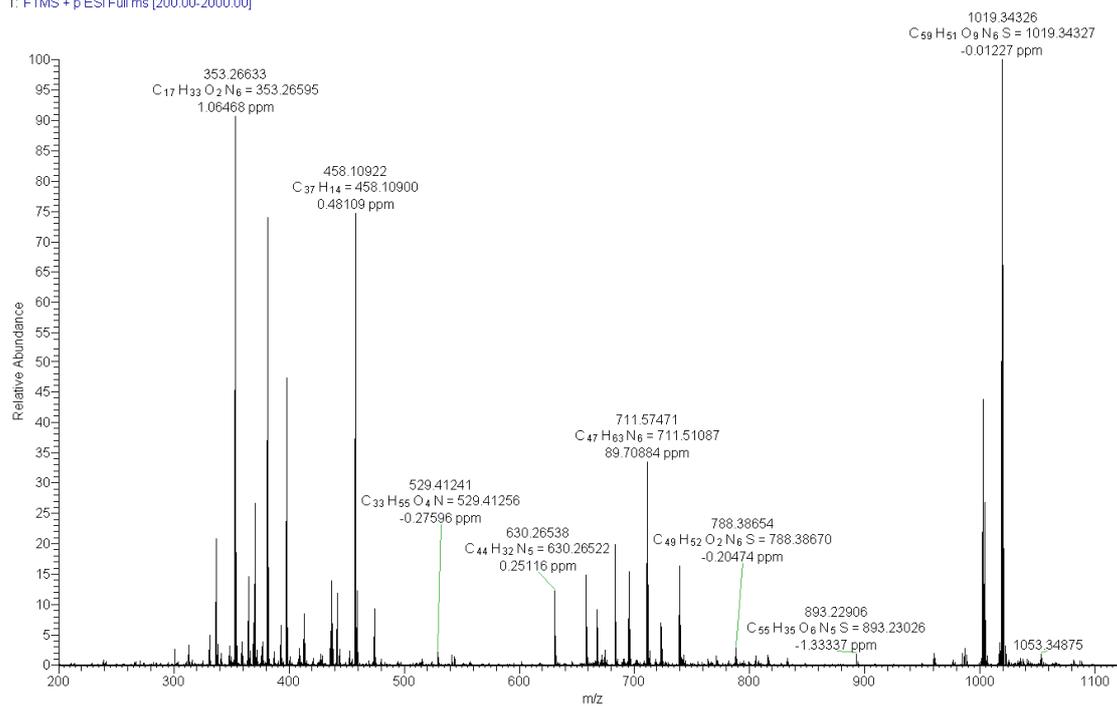


Figura 36: Espectro de massas de alta resolução da glicoporfirina **1**.
ESIMS: m/z calc. para C₅₉H₅₁N₆O₉S⁺: 1019.3433 Da; encontrado: 1019.34326 Da.

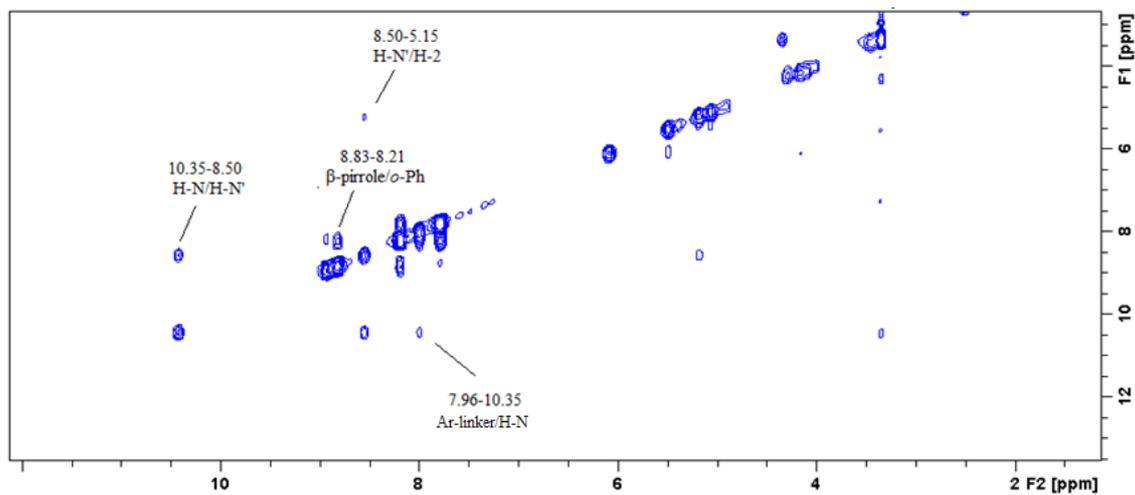


Figura 37: NOESY ¹H-¹H - porfirina **1** obtido em DMSO-*d*₆

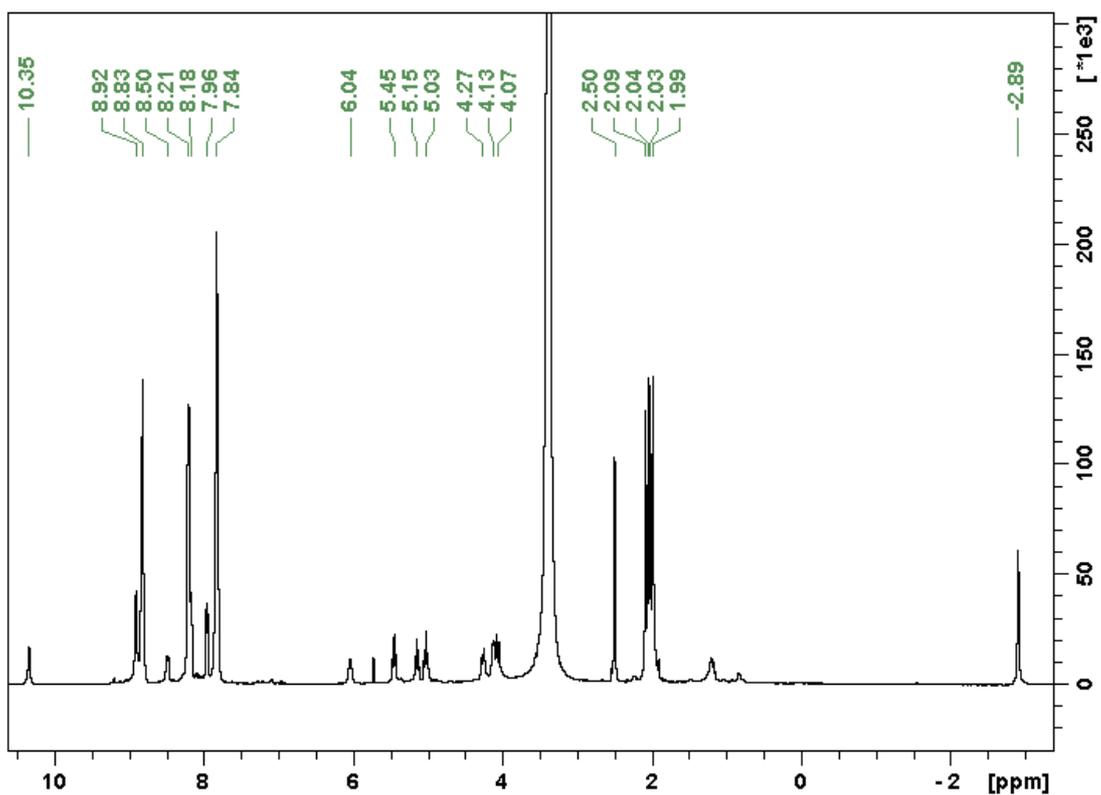


Figura 38: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **1**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO-*d*6 e calibrado em 2.50 ppm pelo sinal no solvente.

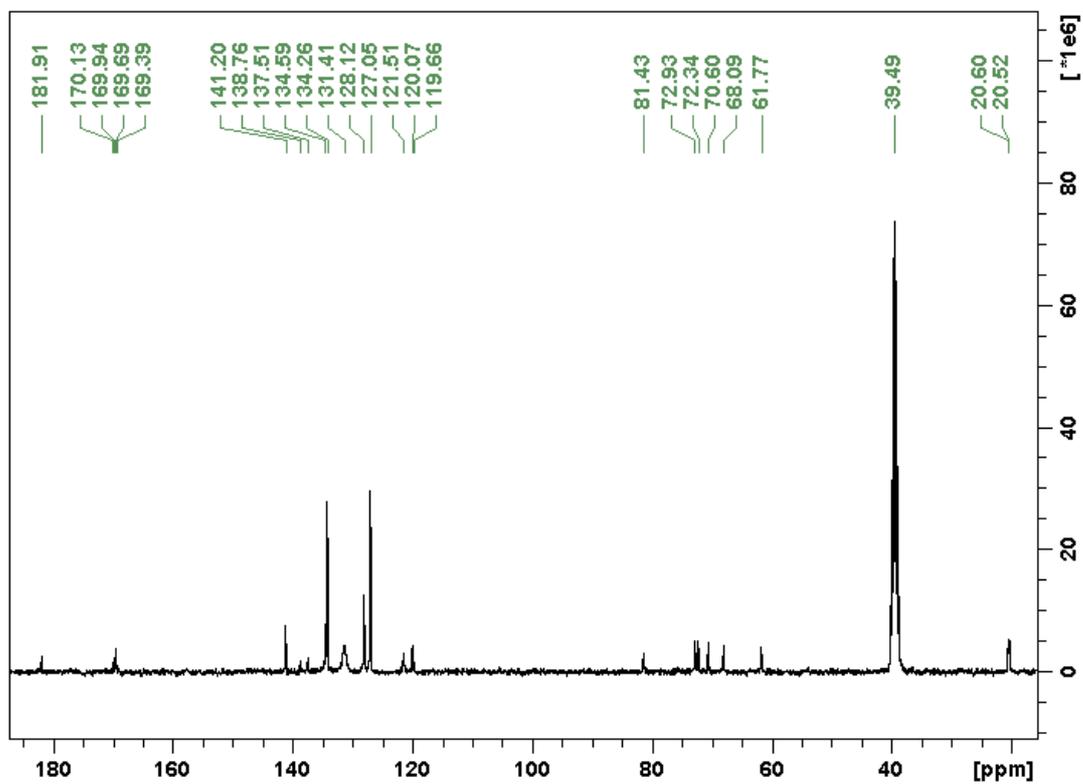
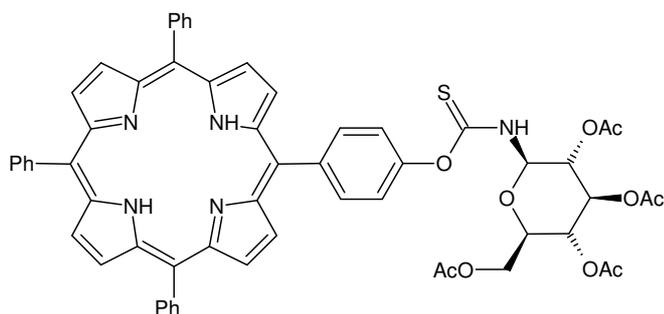


Figura 39: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **1**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO-*d*6 e calibrado em 39,5 ppm pelo sinal no solvente.

Anexo 14: Caracterização da porfirina 2



Monoisotopic Mass = 1019.320013 Da

$[\alpha]_D^{25} + 4,31$ (*c* 1.0, DMSO); **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 10,82 (d, $J=9,0$ Hz, N'-H), 10,59 (d, $J=8,6$ Hz, N'-H); 8,83 (m, 8H, β -pirrólico); 8,24 (d, $J=8,20$ Hz; 2H, *orto*-fenil tiocarbamato), 8,21 (d, 6H, *orto*-fenil); 7,82 (d, 9H, *meta* e *para*-fenil); 7,51 (d, $J=8,20$ Hz; 2H, *meta*-fenil tiocarbamato); 5,97 (m, 9,0/8,6 Hz, 1H, H-1); 5,51 (t, 1H, H-3); 5,16 (t, 1H); 5,01 (t, 1H); 4,26 (m, 2H, H-5 e H-6a), 4,11 (m, 1H, H-6b); 2,09; 2,06; 2,04; 2,00 (4s, 12H, CH_3); -2,87 (s, NH-pirrólico). **RMN ^{13}C** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 183,1 (C=S); 170,5; 169,9; 169,6; 169,5 (4C, C=O); 153,3; 141,6; 141,5; 135,4; 134,7; 131,9; 128,6; 127,4; 121,8; 120,6; 119,5 (44C); 82,7 (C-1); 73,2 (C-2); 72,0 e 71,8 (C-3 e C-5); 68,0 (C-4); 62,0 (C-6); 20,9; 20,8; 20,7; 20,67 (4C, CH_3). ESIMS: *m/z* calc. para $\text{C}_{59}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{S}^+$: 1020.3273 Da; encontrado: 1020.32916 Da.

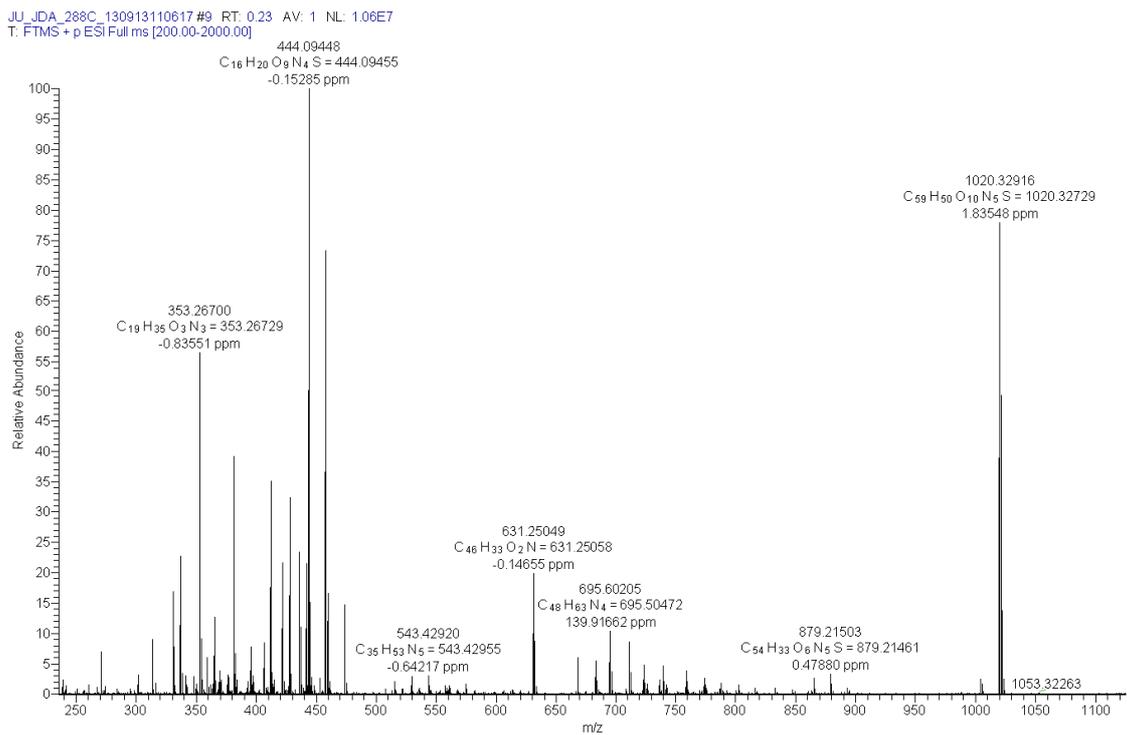


Figura 40: Espectro de massas de alta resolução da glicoporfirina 2.
ESIMS: m/z calc. para $C_{59}H_{50}N_5O_{10}S^+$: 1020.3273 Da; encontrado: 1020.32916 Da.

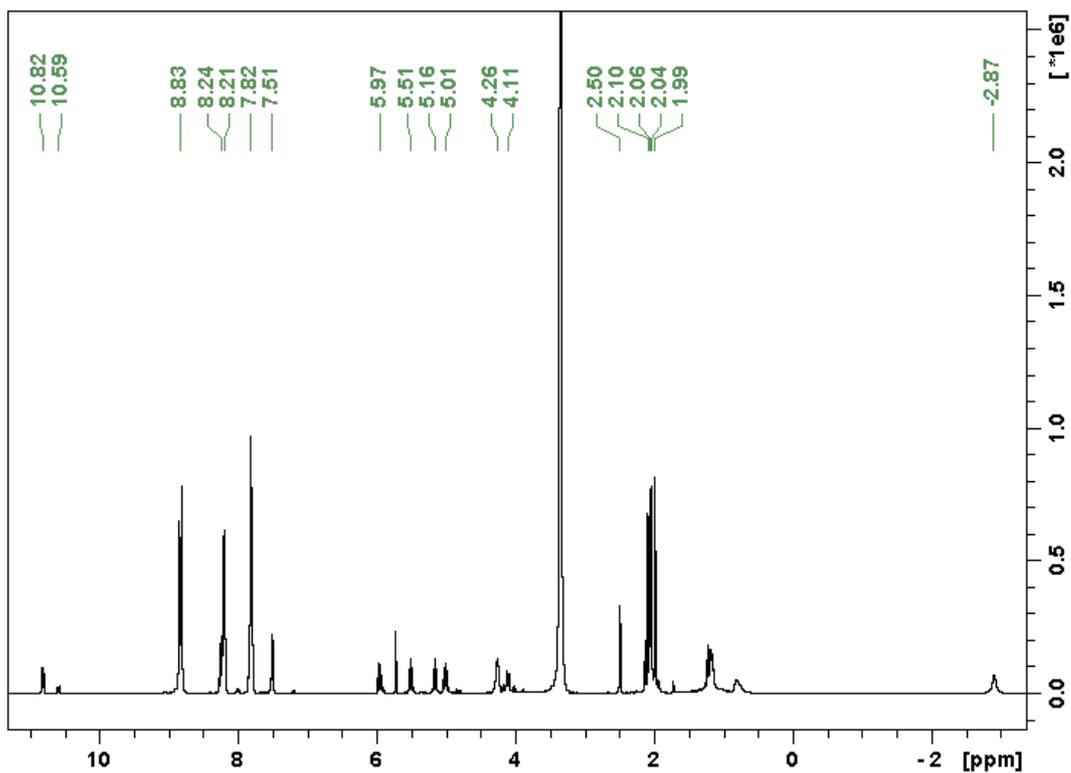


Figura 41: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **2**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 2,50 ppm pelo sinal no solvente.

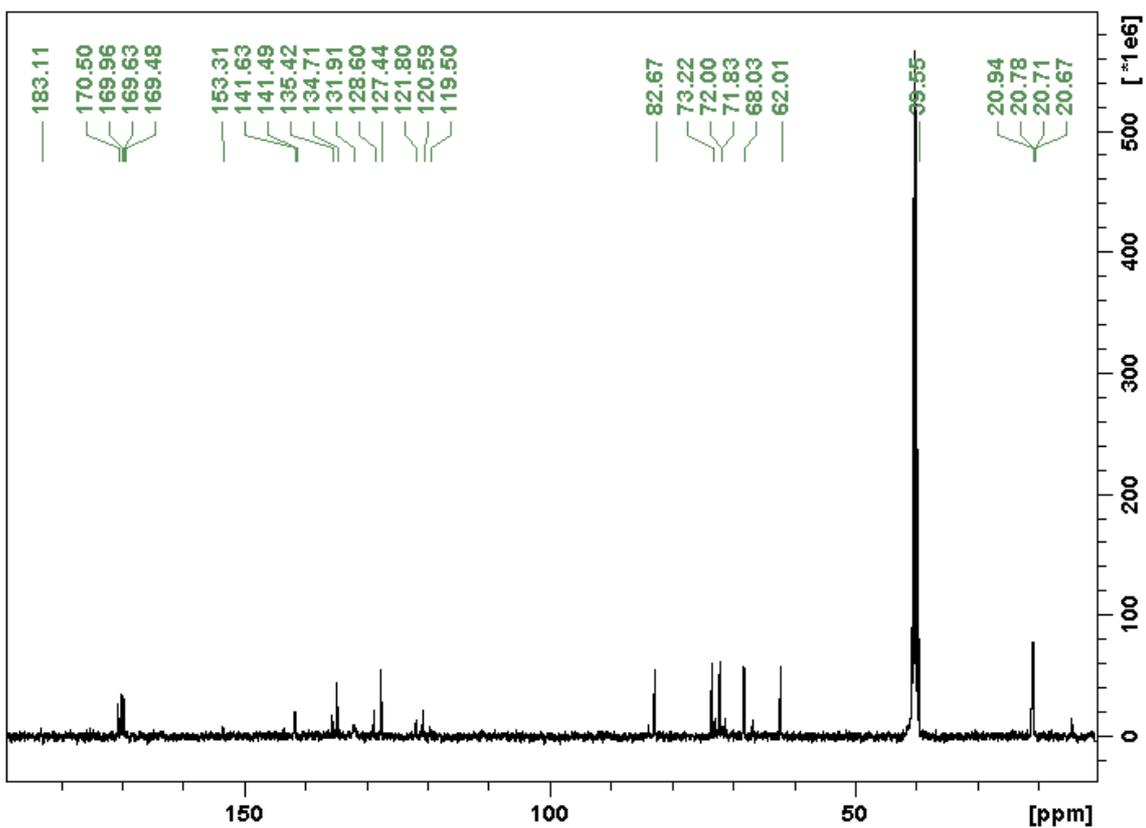
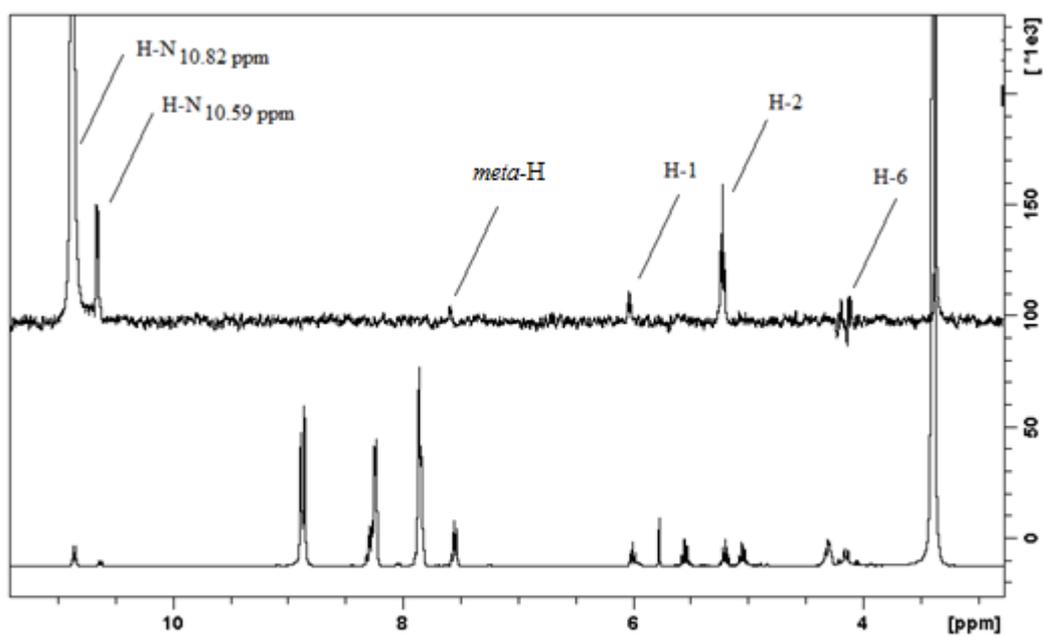


Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **2**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 39,5 ppm pelo sinal no solvente.

a.



b.

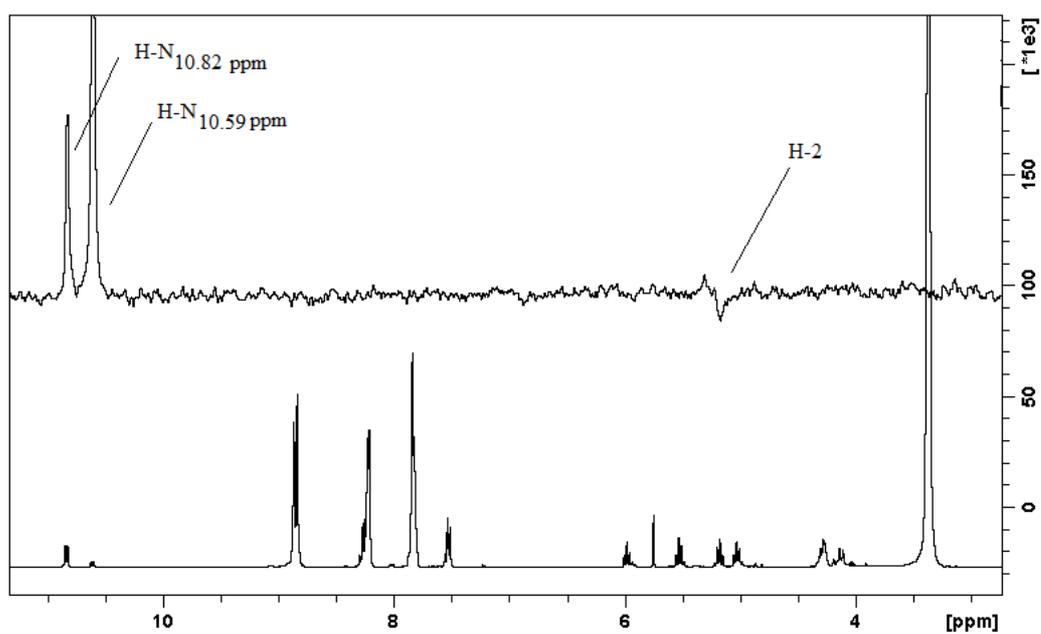
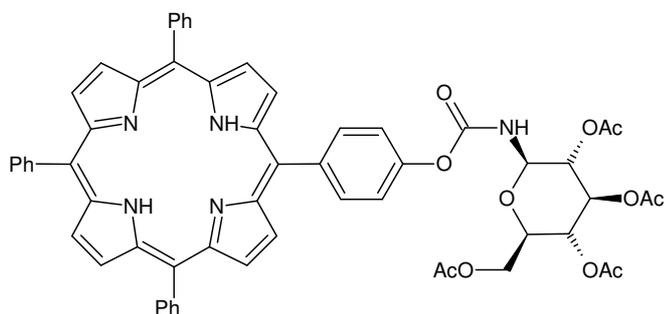


Figura 43: Espectros de RMN-NOE-1D. (a) Irradiação do sinal em 10,82 ppm. (b) Irradiação do sinal em 10,59 ppm

Anexo 15: Caracterização da porfirina 3



Monoisotopic Mass = 1003.342857 Da

$[\alpha]_D^{25} + 5,85$ (*c* 1.0, DMSO); **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 9,97 (s, 1H, N-H carbamato); 8,92 (d, $J=4,64$ Hz, 2H, β -pirrólico), 8,82 (m, 6H, β -pirrólico); 8,22 (d, $J=7,52$ Hz, 6H, *orto*-fenil); 8,02 (d, $J=8,39$ Hz; 2H, *orto*-fenil carbamato); 7,83 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); 7,22 (d, $J=8,39$ Hz; 2H, *meta*-fenil carbamato); 5,61 (d, $J=8,75$ Hz, 1H, H-1'); 5,34 (t, 1H, $J=9,57$ Hz, 1H, H-3'); 5,01 (t, $J=9,2$ Hz, 1H, H-2'); 5,00 (t, $J=9,6$ Hz, 1H, H-4'); 4,13 (m, 2H, H-5' e H-6'a); 4,05 (d, $J_{6a-6b}=11,8$ Hz, H-6'b), 2,07 - 1,97 (4s, 12H, CH_3); -2,87 (s, NH-pirrólico). **RMN ^{13}C** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 170,5; 169,9; 169,6; 169,5 (4C, C=O); 154,4 (C=O, carbamato) 138,3; 137,9; 135,9; 134,7; 131,9; 128,5; 127,5; 121,2; 120,3; 120,1; 114,4 (44C); 79,2 (C-1); 69,8 (C-2); 68,5 e 68,3 (C-3 e C-5); 64,5 (C-4); 58,5 (C-6); 20,9; 20,8; 20,72; 20,68 (4C, CH_3). ESIMS: *m/z* calc. para $\text{C}_{59}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_{11}^+$: 1004.3501 Da; encontrado: 1004.3457 Da.

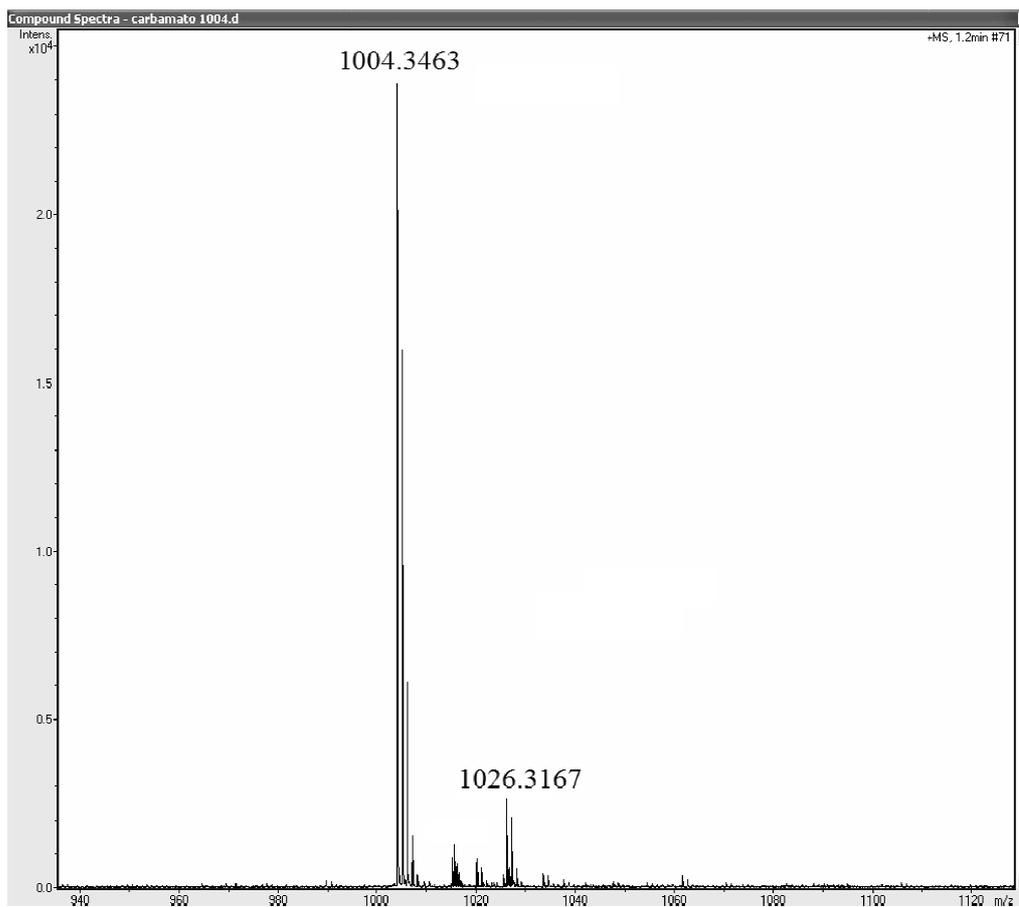


Figura 44: Espectro de massas de alta resolução da glicoporfirina **3**.
ESIMS: m/z calc. para $C_{59}H_{50}N_5O_{11}^+$: 1004.3501 Da; encontrado: 1004.3457 Da.

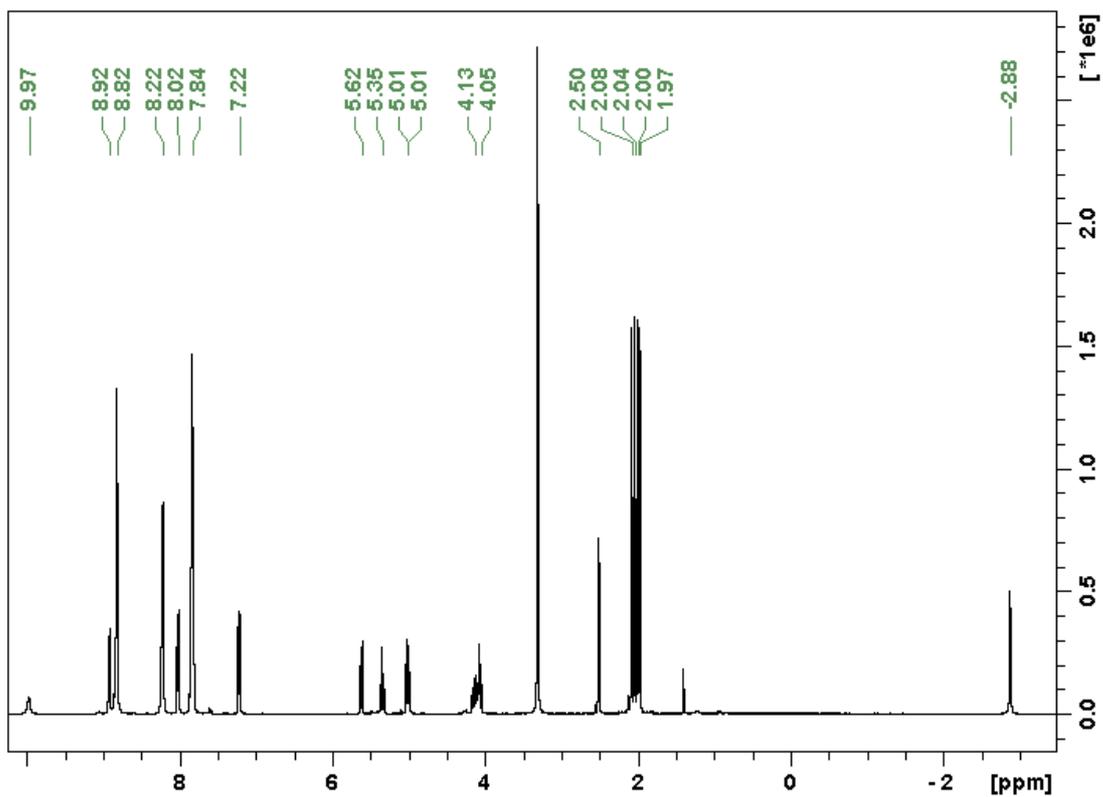


Figura 45: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **3**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 2,50 ppm pelo sinal no solvente.

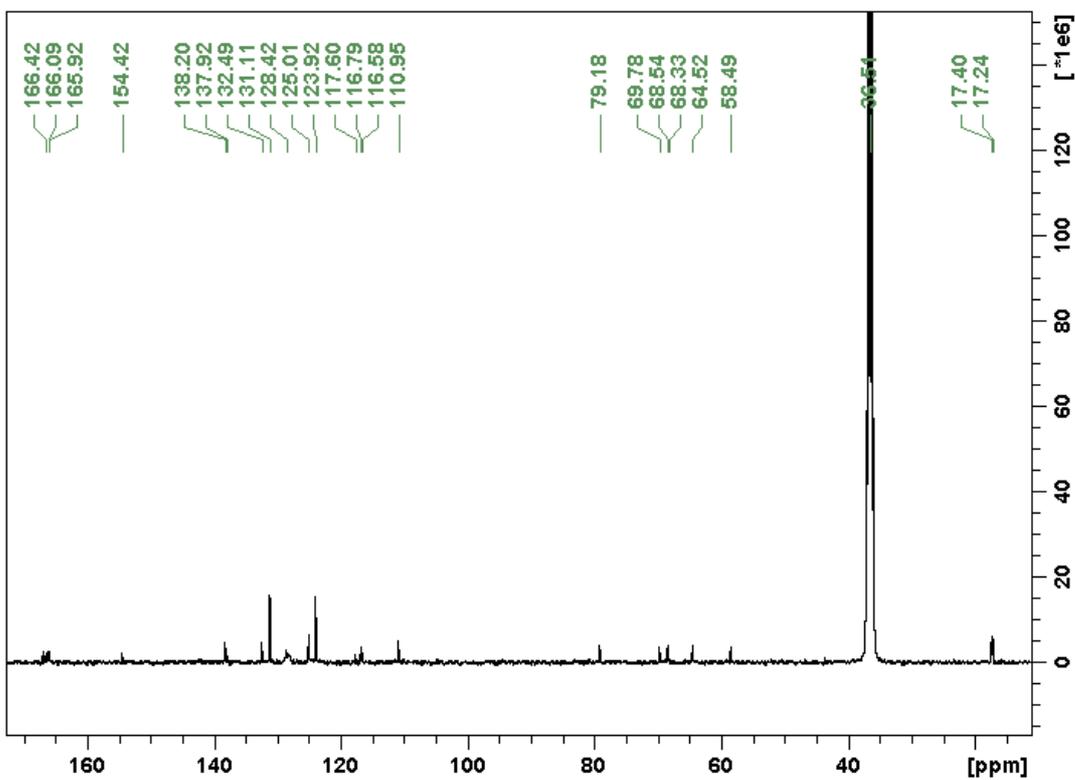


Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **3**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 39,50 ppm pelo sinal no solvente.

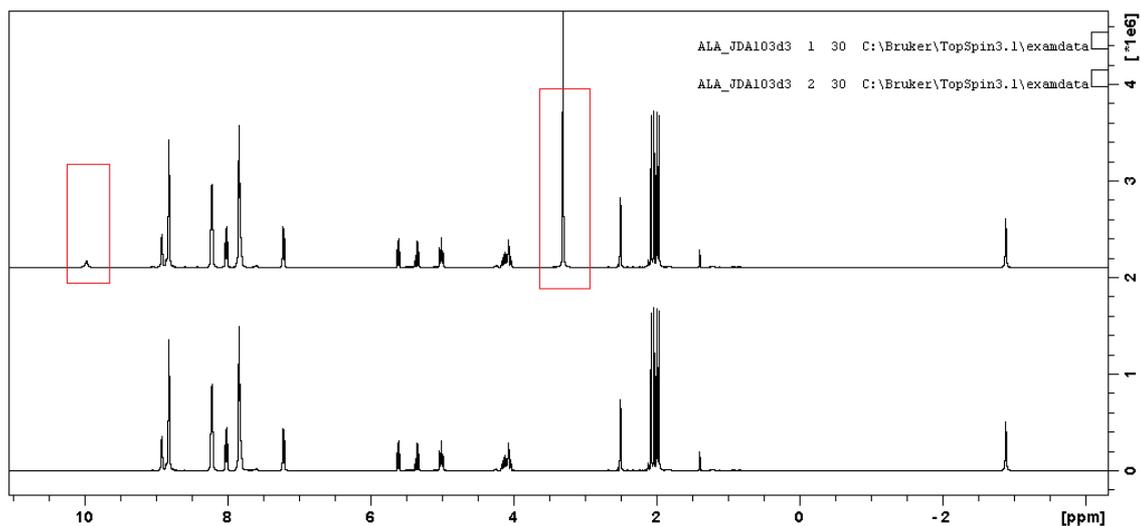


Figura 47: RMN presat ^1H – porfirina **3**, na concentração de 10 mg/ml em $\text{DMSO-}d_6$.

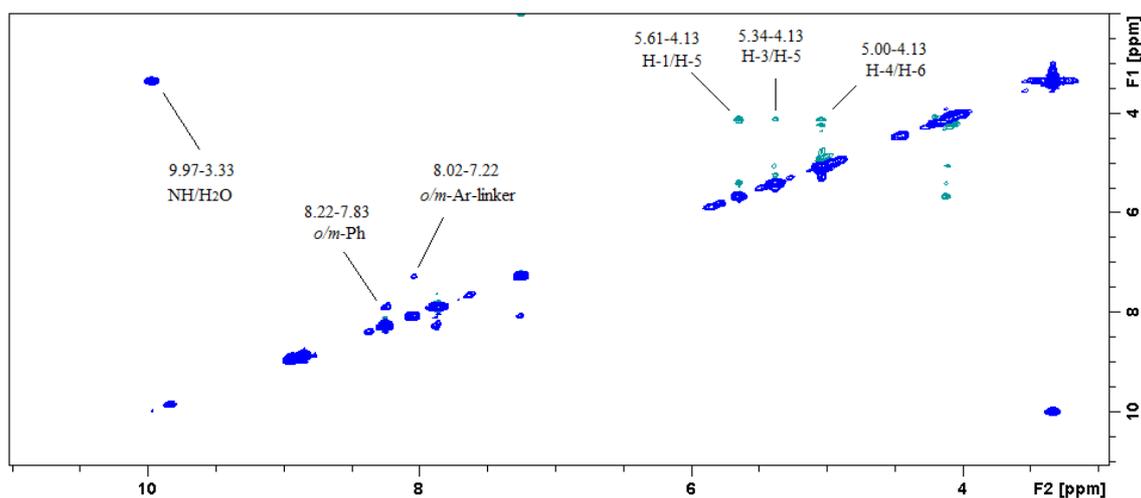


Figura 48: RMN - NOESY ^1H - ^1H porfirina **3**, em $\text{DMSO-}d_6$.

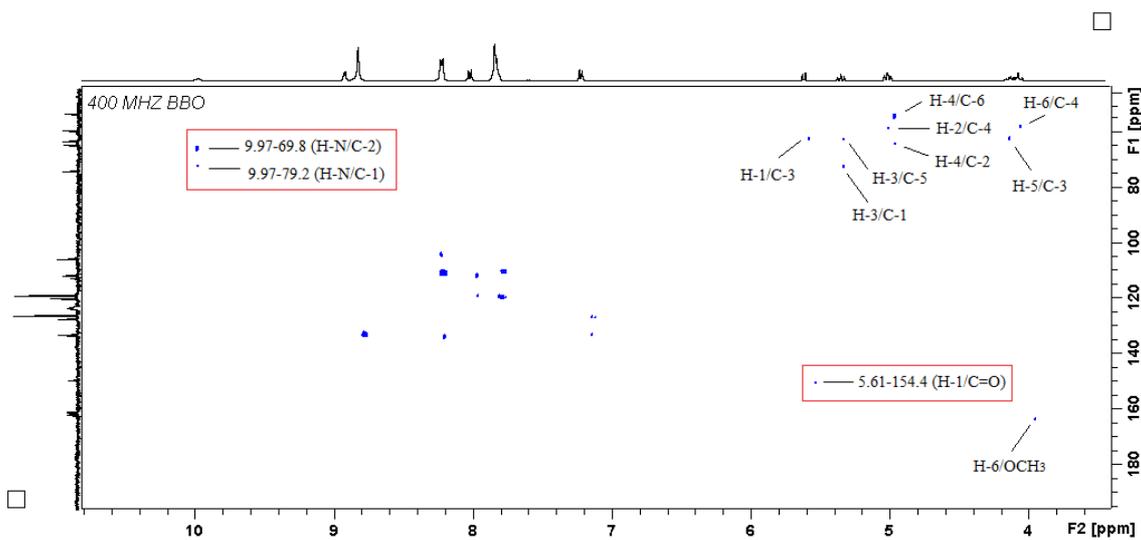
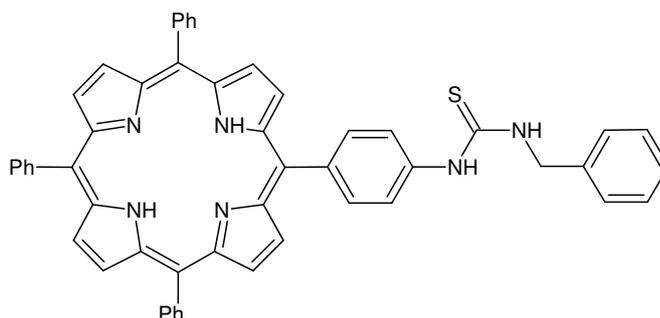


Figura 49: RMN - HMBC ^1H - ^{13}C NRM porfirina **3**, em $\text{DMSO-}d_6$.

Anexo 16: Caracterização da porfirina 4



Monoisotopic Mass = 778.287865 Da

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 10,06 (s, 1H, N-H tiourea); 8,93 (d, $J=4,3$ Hz, 2H, β -pirrólico), 8,83 (m, 6H, β -pirrólico); 8,53 (t, $J=5,3$ Hz, 1H, N'-H tiourea), 8,20 (m, 6H, *orto*-fenil); 8,17 (d, $J=8,3$ Hz; 2H, *orto*-fenil tiourea); 7,97 (d, $J=8,3$ Hz; 2H, *meta*-fenil tiourea); 7,81 (m, 9H, *meta* e *para*-fenil); 7,46 (d, $J=7,3$ Hz, 2H, *orto*-benzil); 7,40 (t, $J=7,5$ Hz, 2H, *meta*-benzil); 7,30 (t, $J=7,5$ Hz, 1H, *para*-benzil); 4,90 (d, $J=5,3$ Hz, 2H, CH_2); -2,87 (s, NH-pirrólico). **RMN ^{13}C** (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 181,0 (C=S); 141,2; 139,4; 139,0; 136,7; 134,6; 131,4; 128,4; 128,1; 127,5; 127,0; 121,0; 120,0; 119,96; 119,90 (49 C); 47,3. ESIMS: m/z calc. para $\text{C}_{52}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{S}^+$: 779.2951 Da; encontrado: 779.29517 Da.

JU_JDA_288B_130913110617 #4 RT: 0.10 AV: 1 NL: 1.43E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-2000.00]

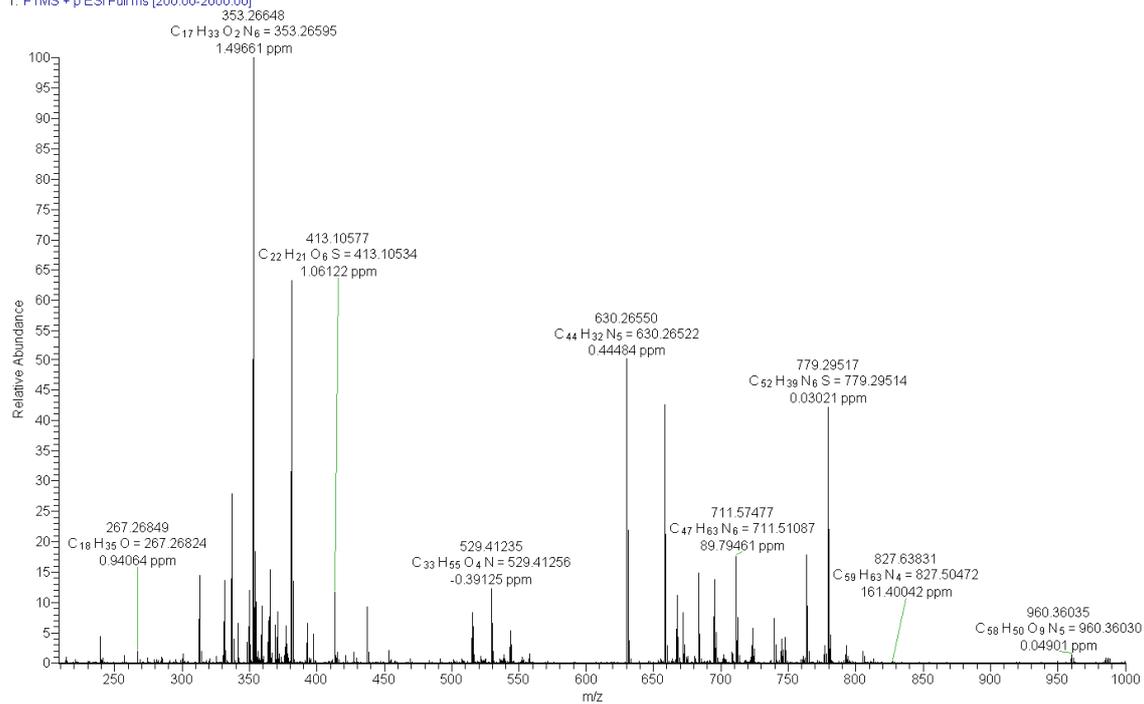


Figura 50: Espectro de massas de alta resolução da porfirina **4**.
ESIMS: m/z calc. para $C_{52}H_{39}N_6S^+$: 779.2951 Da; encontrado: 779.29517 Da.

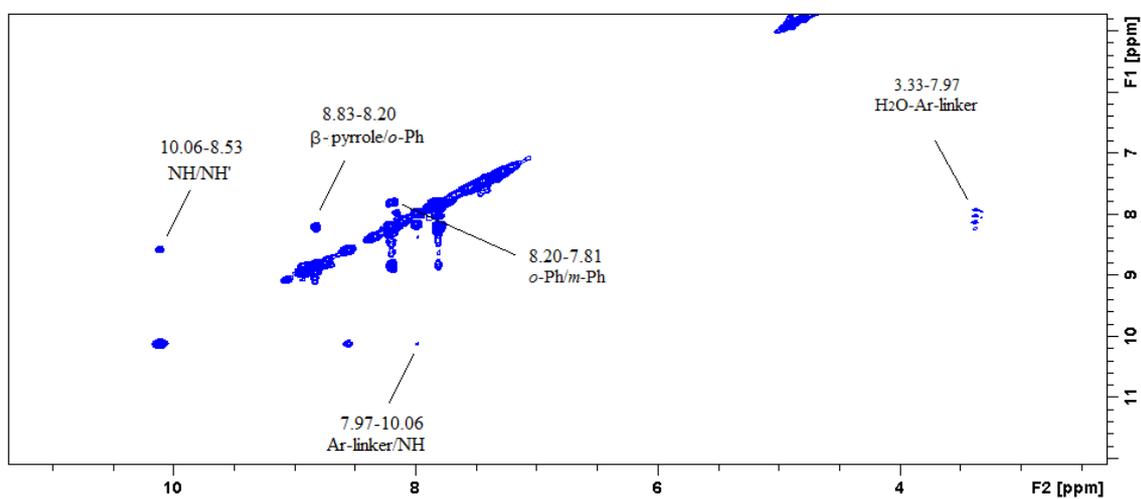


Figura 51: RMN - NOESY 1H - 1H porfirina **4**, em $DMSO-d_6$

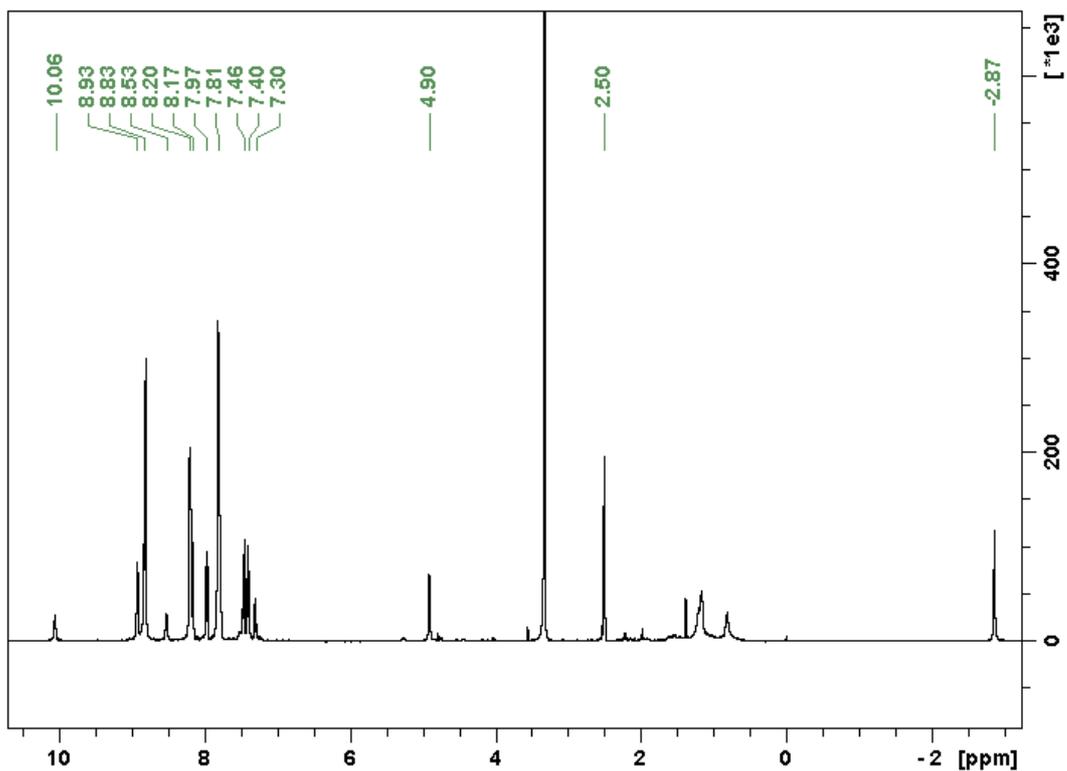


Figura 52: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **4**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 2,50 ppm pelo sinal no solvente.

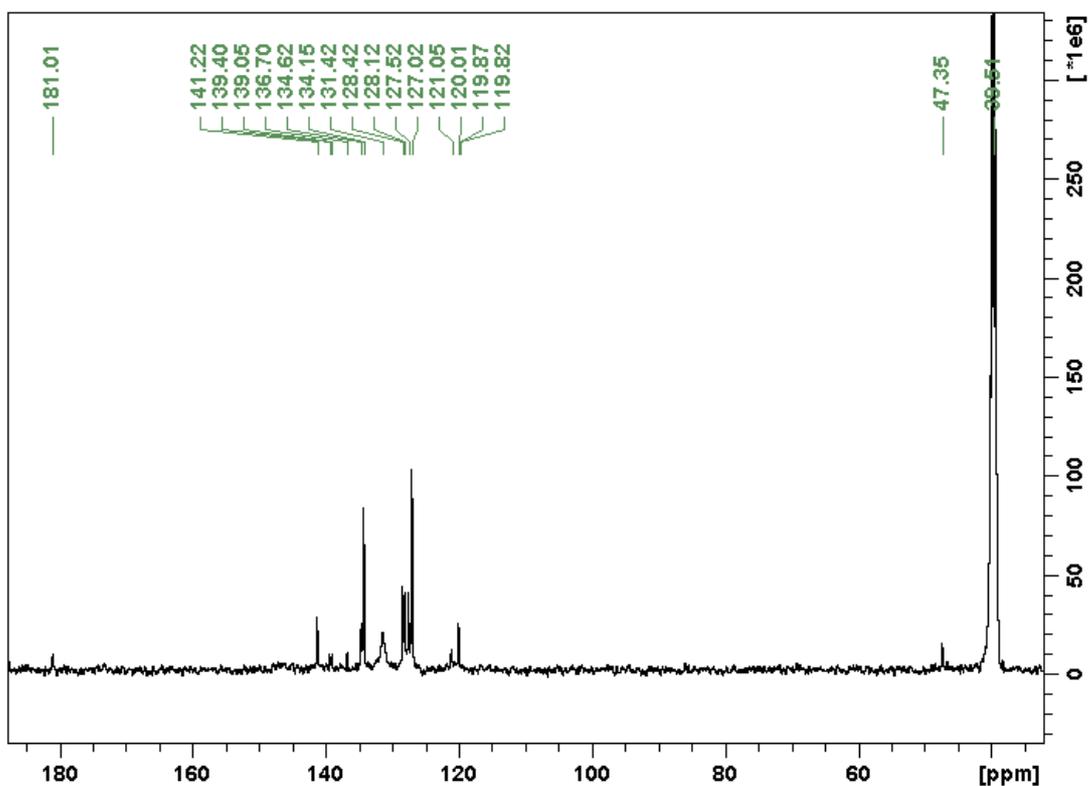
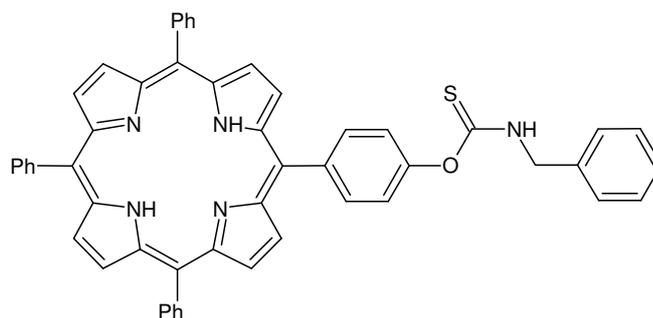


Figura 53: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **4**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 39,50 ppm pelo sinal no solvente.

Anexo 17: Caracterização da porfirina 5



Monoisotopic Mass = 779.271881 Da

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 10,55 (t, $J=5,9$ Hz, N-H tiocarbamato); 10,34 (t, $J=6,2$ Hz, N-H tiocarbamato); 8,84 (m, 8H, β -pirrólico); 8,21 (m, 8H, *orto*-fenil); 7,82 (m, 12H, *meta* e *para*-fenil); 7,54 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, *orto*-benzil); 7,48 (d, $J=7,7$ Hz, 2H, *meta*-benzil); 7,43 (t, $J=7,7$ Hz, 1H, *para*-benzil); 4,86 (d, $J=5,9$ Hz, CH_2); 4,71 (d, $J=6,2$ Hz, CH_2); -2,89 (s, NH-pirrólico). **RMN ^{13}C** (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 189,3 (C=S); 153,3; 141,2; 138,5; 137,6; 134,9; 134,2; 131,6; 128,5; 128,1; 127,6; 127,4; 127,0; 121,4; 120,1; 119,2; (49 C); 48,7. ESIMS: m/z calc. para $\text{C}_{52}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{OS}^+$: 780.2792 Da; encontrado: 780.28412 Da.

JU_JDA_288D_130913110617 #5 RT: 0.12 AV: 1 NL: 2.49E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-2000.00]

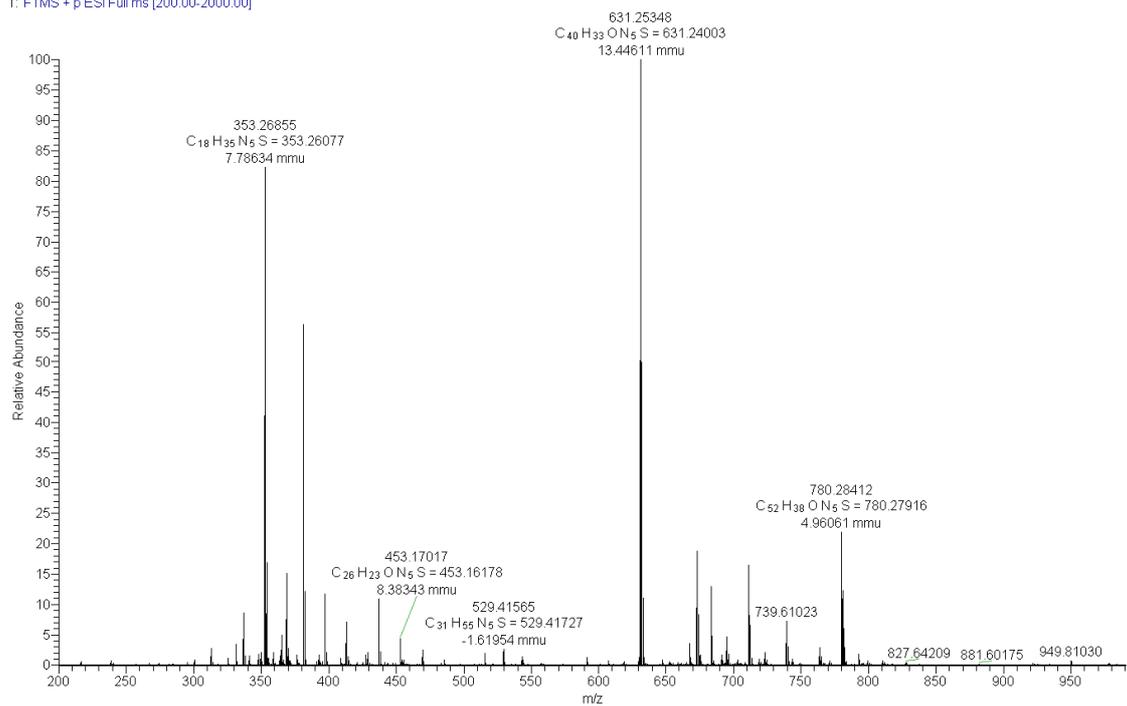


Figura 54: Espectro de massas de alta resolução da porfirina **5**.
ESIMS: m/z calc. para $C_{52}H_{38}N_5OS^+$: 780.2792 Da; encontrado: 780.28412 Da.

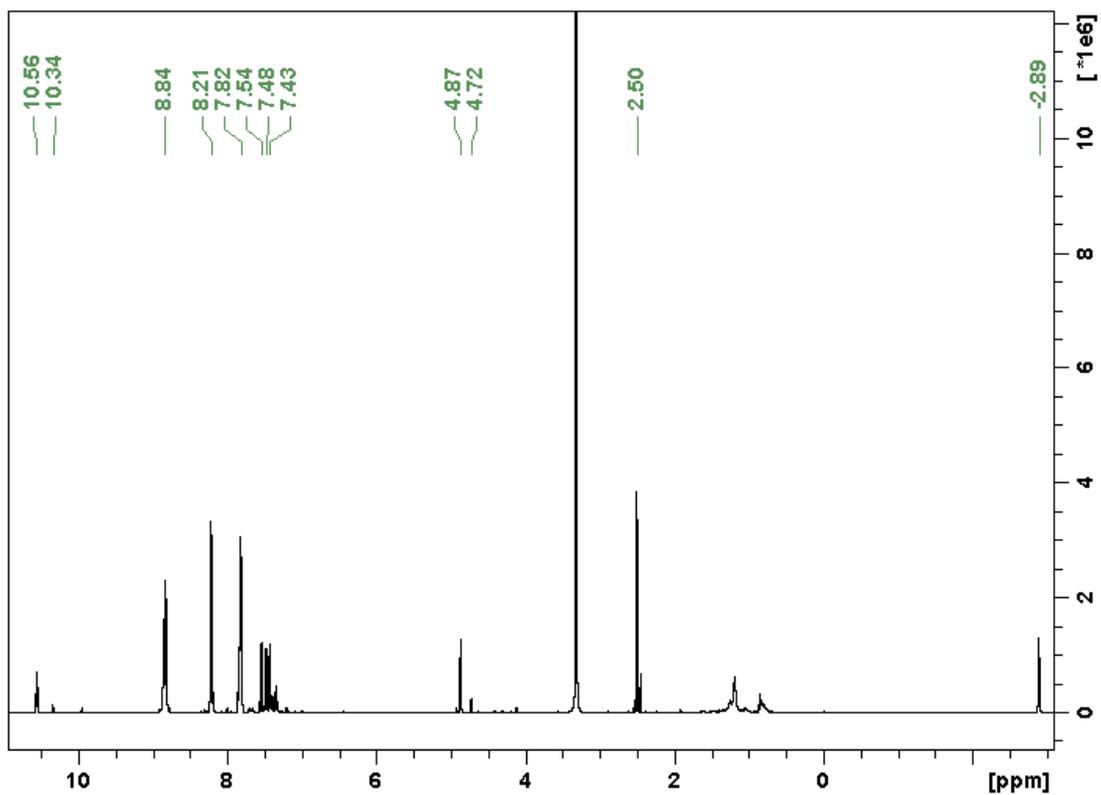


Figura 55: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **5**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO-*d*6 e calibrado em 2,50 ppm pelo sinal no solvente.

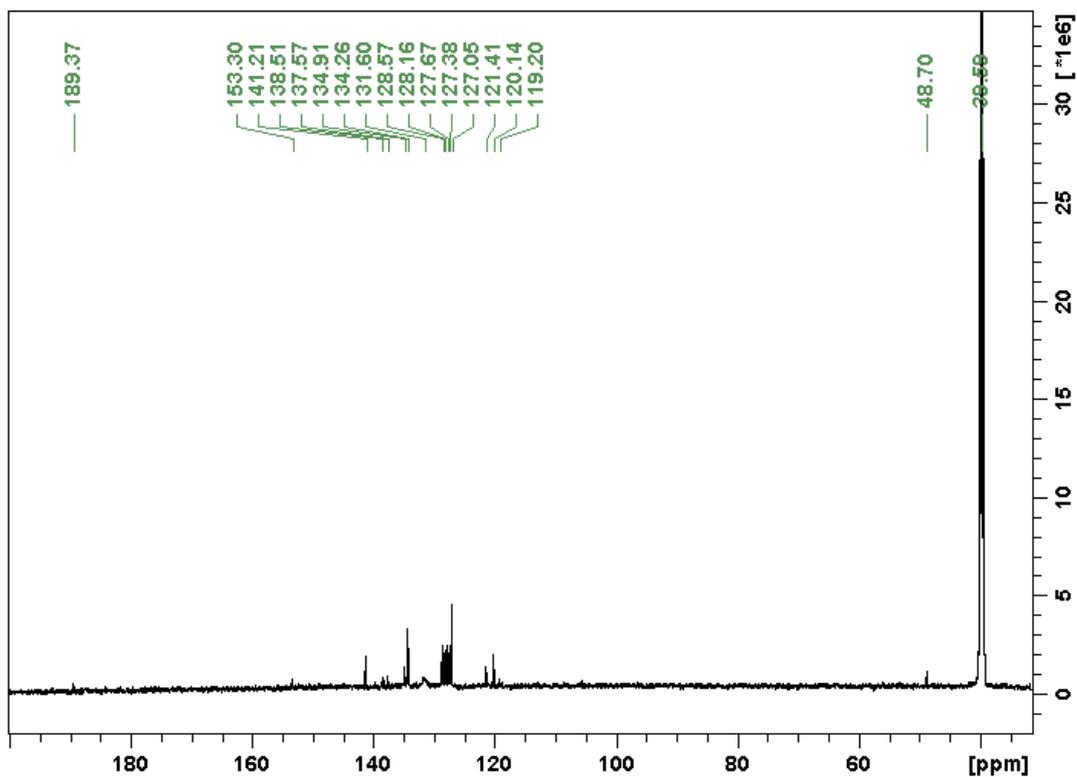


Figura 56: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **5**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO-*d*6 e calibrado em 39,50 ppm pelo sinal no solvente.

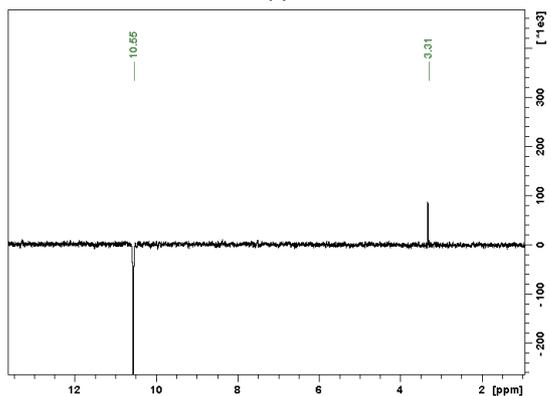
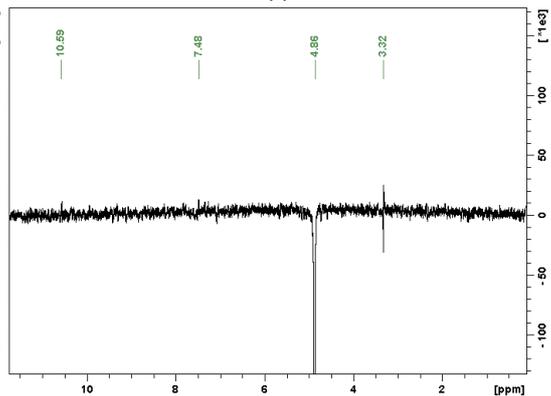
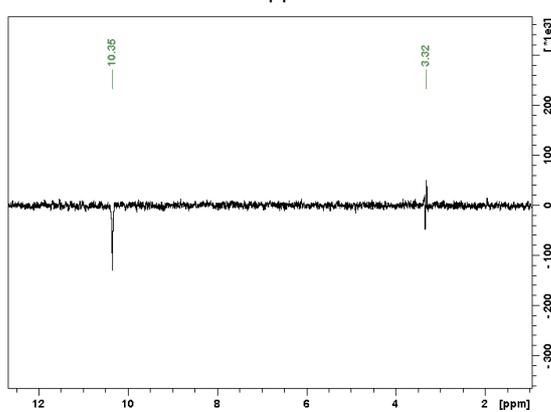
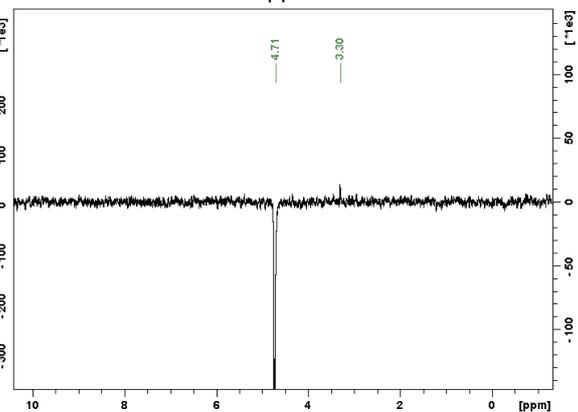
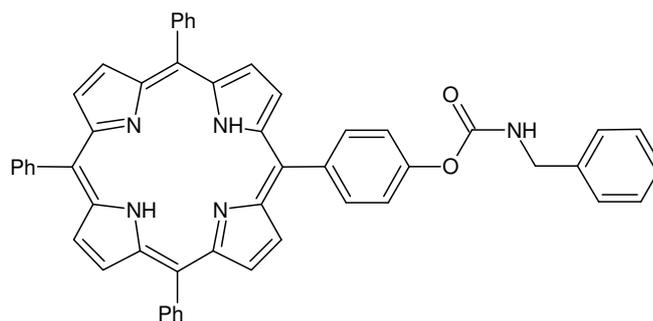
a. Irradiation of δ 10.55 ppm.b. Irradiation of δ 4.86 ppm.b. Irradiation of δ 10.34 ppm.c. Irradiation of δ 4.71 ppm.

Figura 57: Espectros de RMN-NOE-1D em DMSO-*d*6 (a) Irradiação do sinal em 10,55 ppm. (b) Irradiação do sinal em 4,86 ppm (c) Irradiação do sinal em 10,34 ppm (d) Irradiação do sinal em 4,71 ppm.

Anexo 18: Caracterização da porfirina **6**

Monoisotopic Mass = 763.294725 Da

RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 8,82 (m, 8H, β -pirrólico); 8,57 (t, $J=6,1$ Hz, 1H, N-H carbamato); 8,20 (m, 8H, *orto*-fenil); 7,82 (m, 10H, *meta* e *para*-fenil); 7,56 (d, $J=8,4$ Hz, 2H, *orto*-benzil); 7,43 (m, 2H, *meta*-benzil, 2H *meta*-fenil carbamato); 7,31 (t, $J=7,0$ Hz, 1H, *para*-benzil); 4,41 (d, $J=6,1$ Hz, 2H, CH_2); -2,91 (s, NH-pirrólico).

RMN ^{13}C (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 154,8 (C=O, carbamato); 151,2; 141,2; 139,3; 137,8; 135,0; 134,2; 128,5; 128,1; 127,3; 127,0; 120,2; 120,1; 119,3; (49 C); 44,3 (CH_2). ESIMS: m/z calc. para $\text{C}_{52}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{O}_2^+$: 764.3020 Da; encontrado: 764.30328 Da.

JU_JDA_288F_130913114304 #7 RT: 0.18 AV: 1 NL: 1.81E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-2000.00]

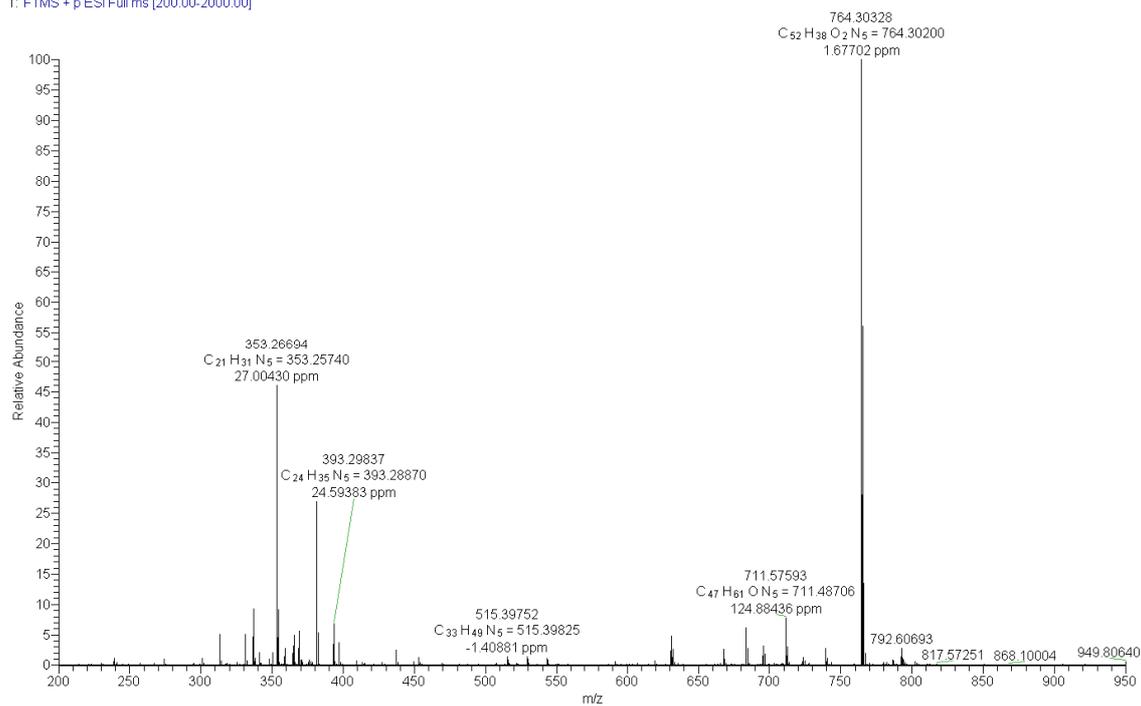


Figura 58: Espectro de massas de alta resolução da porfirina **6**.
ESIMS: m/z calc. para C₅₂H₃₈N₅O₂⁺: 764.3020 Da; encontrado: 764.30328 Da.

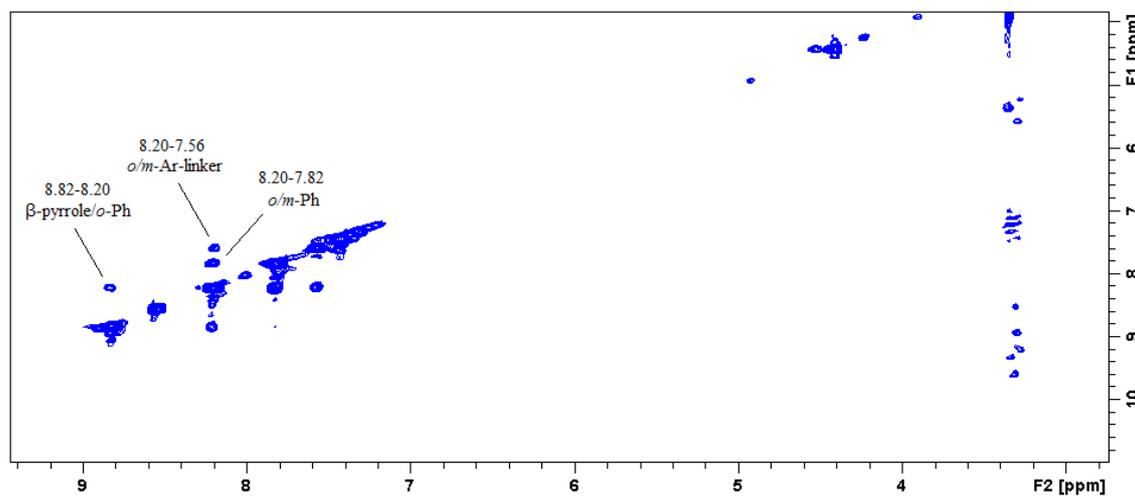


Figura 59: RMN - NOESY ¹H-¹H - porfirina **6**, em DMSO-*d*₆.

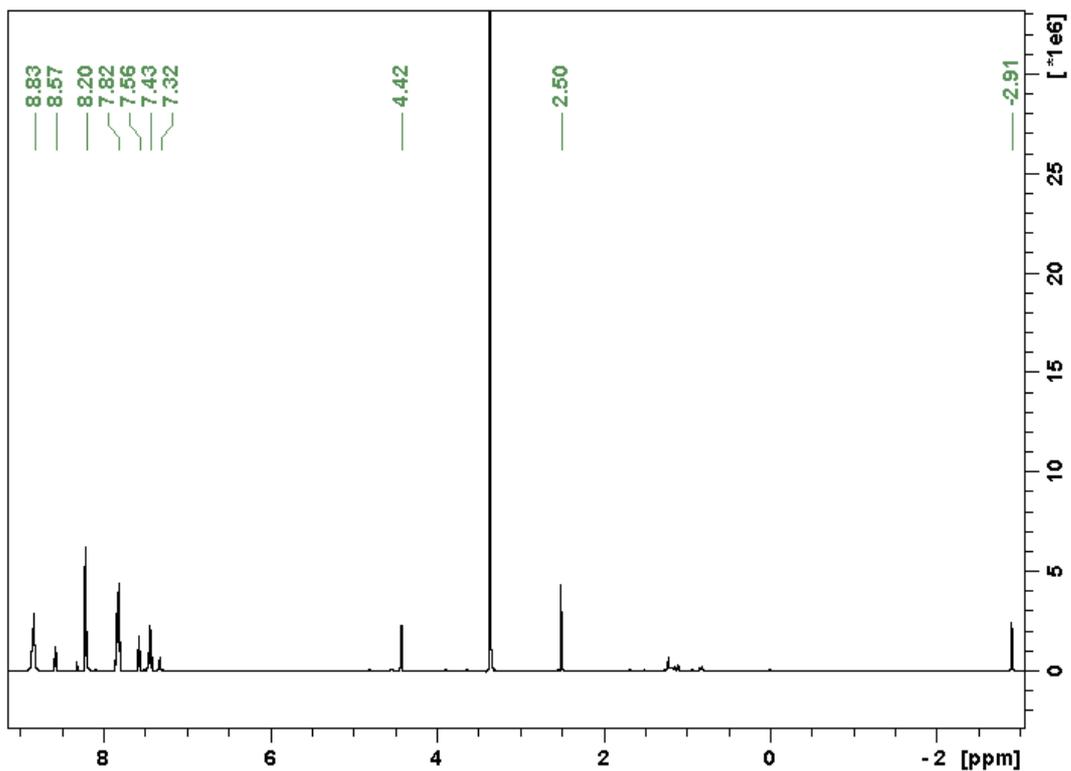


Figura 60: Espectro de RMN de ^1H da porfirina **6**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 2,50 ppm pelo sinal no solvente.

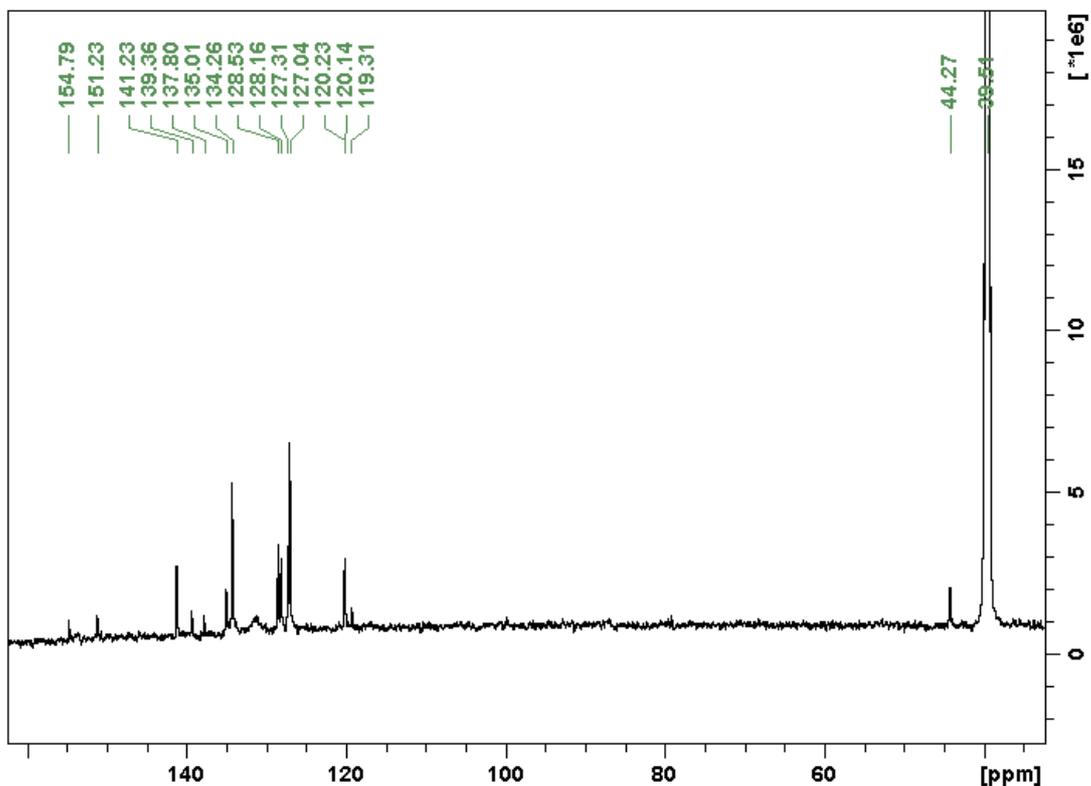


Figura 61: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **6**, na concentração de 10 mg/ml em DMSO- d_6 e calibrado em 39,50 ppm pelo sinal no solvente.