

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JAQUELINE CARNEIRO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTODINÂMICA DE FOTOSSENSIBILIZADORES E
ESTUDOS DE CONJUGAÇÃO PORFIRINA-POLISSACARÍDEO**



CURITIBA
2018

JAQUELINE CARNEIRO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTODINÂMICA DE FOTOSSENSIBILIZADORES E ESTUDOS DE CONJUGAÇÃO PORFIRINA-POLISSACARÍDEO

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos, linha de pesquisa em Síntese de Fármacos, do Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves
Co-orientador: Prof. Dr. Diogo R. B. Ducatti

CURITIBA

2018

Carneiro, Jaqueline

Síntese e avaliação fotodinâmica de fotossensibilizadores e estudos de conjugação porfirina-polissacarídeo / Jaqueline Carneiro – Curitiba, 2018.
226 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientador: Professor Dr. Alan Guilherme Gonçalves

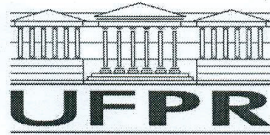
Coorientador: Professor Dr. Diogo R. B. Ducatti

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

Inclui bibliografia

1. Terapia fotodinâmica. 2. Porfirinas. 3. Clorina. 4. BODIPY. 5. Polissacarídeos. I. Gonçalves, Alan Guilherme. II. Ducatti, Diogo R. B. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 547.593



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **JAQUELINE CARNEIRO** intitulada: **SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTODINÂMICA DE FOTOSSENSIBILIZADORES E ESTUDOS DE CONJUGAÇÃO PORFIRINA-POLISSACARÍDEO**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 24 de Abril de 2018.

ALAN GUILHERME GONÇALVES
Presidente da Banca Examinadora

MIGUEL DANIEL NOSEDA
Avaliador Externo

ANGELA CRISTINA LEAL BADARÓ TRINDADE
Avaliador Externo

ADRIANO GONÇALVES VIANA
Avaliador Externo

GLÁUCIO VALDAMERI
Avaliador Externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a minha família, aos meus amigos, aos meus orientadores e a todos que possibilitaram que este trabalho acontecesse.

RESUMO

A Terapia Fotodinâmica (PDT) é um tipo de intervenção que utiliza um fotossensibilizador (FS), luz e oxigênio tecidual para destruição seletiva de células ou tecidos associados a algum processo patológico. Os FS mais aplicados na PDT são as porfirinas e essas moléculas vêm sendo estudadas e modificadas para tal função. O interesse em novos FS se deve ao fato de que porfirinas usadas na clínica, como o Photofrin[®], possuem características indesejáveis, como a geração de fotossensibilidade cutânea prolongada. Neste estudo reportou-se a síntese de novos FS das classes porfirinas, clorinas e BODIPYs (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno). As porfirinas foram sintetizadas contendo grupos passíveis de alquilação posterior, como o grupo hidroxila, e também contendo grupos cationizáveis, como o grupo piridila. As clorinas foram obtidas através de processo semissintético, sendo o material inicial (feofitina a) extraído da microalga *Spirulina pacifica*. Os BODIPYs foram sintetizados e modificados quimicamente de modo a melhorar seu potencial fotodinâmico. Dentre as moléculas sintetizadas, foram selecionadas seis diferentes porfirinas e os seis BODIPYs para avaliação *in vitro* do potencial fotodinâmico frente a células tumorais HEP2, através de ensaios de captação celular tempo-dependente, toxicidade no escuro e fototoxicidade, utilizando 1,5 J/cm² de luz. Ainda foram realizados estudo de produção de oxigênio singleto e localização intracelular para as porfirinas que se apresentaram mais promissoras. Quatro porfirinas catiônicas testadas apresentaram captação celular e fototoxicidade, sendo que os melhores resultados foram obtidos com os derivados porfirínicos catiônicos metilados. O derivado BODIPY contendo átomos de iodo e sem substituição no anel piridila demonstrou potencial para uso na PDT. Para a obtenção de materiais poliméricos com potencial aplicação na PDT, rotas sintéticas foram estudadas para preparação de conjugados porfirina-polissacarídeo, utilizando os biopolímeros agarose e *kappa*-carragenana, e porfirina previamente sintetizada contendo grupo epóxido. Através de experimentos espectroscópicos, foram observados indícios de ligação covalente.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica. Porphirina. Clorina. BODIPY. Polissacarídeo.

ABSTRACT

Photodynamic Therapy (PDT) is an intervention that uses a photosensitizer (FS), light and tissue oxygen to promote the selective destruction of cells or tissue associated with a pathological process. The most applied FS on PDT are porphyrins. New studies involving the synthesis of photosensitizing agents through chemical modifications of compounds related to porphyrins are currently a growing field. The increasing interest in synthesizing new FS is due the fact that known porphyrins used with clinical purposes, such as Photofrin[®], have shown undesirable features, such as prolonged skin photosensitivity. In this study, we report the synthesis of new FS, including porphyrins, chlorins and BODIPYs (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene). The porphyrins synthesized contained groups capable of subsiding further alkylation, such as the hydroxyl group, and cationizable groups, such as the pyridyl ring. Chlorins were obtained through semisynthesis starting with the chlorophyll extracted from microalgae *Spirulina pacifica*. BODIPYs were synthesized and chemically modified to enhance their photodynamic potential. We select six different porphyrins and six BODIPYs synthesized to conduct a biological evaluation *in vitro*, using tumor cells HEP2. The assays performed were time-dependent cellular uptake, dark cytotoxicity and phototoxicity, with 1.5 J/cm² of light dose. For the most promising porphyrins, additional assays were performed, namely, evaluation of singlet oxygen production and intracellular localization. Four porphyrins showed proper cellular uptake and phototoxicity. The best results were achieved by the methylated derivatives. The BODIPY derivative containing iodine and no substitution on pyridyl group showed high potential for PDT purposes. To obtain polymeric material with potential use on PDT we study new semi-synthetic routes to prepare conjugates porphyrin-polysaccharide, using agarose and *kappa*-carrageenan as biopolymers. The conjugation was performed using an epoxide porphyrin previously synthesized. Through spectroscopic experiments, evidence of covalent binding was observed.

Key-words: Photodynamic therapy. Porphyrin. Chlorin. BODIPY. Polysaccharide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estágios da terapia fotodinâmica (PDT).....	31
Figura 2 – Diagrama de Jablonski modificado.....	32
Figura 3 – Estruturas químicas de compostos macrocíclicos tetrapirrólicos	36
Figura 4 – Sistema de numeração do anel porfirínico segundo a IUPAC (a) e Fischer (b).....	37
Figura 5 – Espectro de absorção na região UV/Vis característico de porfirinas	38
Figura 6 – Porfirinas sintéticas avaliadas biologicamente	39
Figura 7 – Porfirinas resultantes de reação de ciclodensação utilizando aldeídos diferentes.....	41
Figura 8 – Estruturas químicas das diferentes clorofilas	43
Figura 9 – Estrutura química do Foscan [®]	44
Figura 10 – Estrutura química dos BODIPYs	45
Figura 11 – Efeito do átomo pesado	46
Figura 12 – Polímeros celulose-porfirina obtidos via <i>click chemistry</i>	50
Figura 13 – Utilização da <i>click chemistry</i> para obtenção da celulose ligada a anéis porfirínicos através do anel triazólico	50
Figura 14 – Estrutura básica repetitiva das agaranas e carragenanas	51
Figura 15 – Estrutura química da agarose	52
Figura 16 – Estrutura química da <i>kappa</i> -carragenana	53
Figura 17 – Relação entre características físico-químicas e aplicações de carragenanas	54
Figura 18 – Fluxograma das etapas experimentais.....	57
Figura 19 – Sinais de hidrogênio obtidos por RMN de ¹ H para as clorinas 25 e 26	104
Figura 20 – Sobreposição dos espectros de RMN de ¹ H na região de 2,80 ppm das clorinas 25 e 26	105
Figura 21 – Sobreposição dos espectros de RMN de ¹ H na região de 3,75 ppm das clorinas 25 e 26	105
Figura 22 – Sobreposição de região dos espectros de RMN de ¹ H da agarose 35 e do polímero agarose-porfirina 36	117
Figura 23 – Representação das possíveis estruturas a serem encontradas no material porfirina-polissacarídeo final, sendo A a porfirina 7 intacta, B a porfirina	

contendo o grupo epóxido aberto e C o polímero porfirina-polissacarídeo contendo grupo epóxido aberto atuando como <i>linker</i>	118
Figura 24 – Espectro de HSQC do polímero agarose-porfirina 36 ampliado	120
Figura 25 – Espectro de HSQC do polímero <i>kappa</i> -carragenana-porfirina 38 ampliado.....	120
Figura 26 – Estrutura do epóxido aberto ligado com grupo CH destacado	121
Figura 27 – Compostos avaliados quanto à geração de oxigênio singlete.....	124
Figura 28 – Estrutura química do azul de metileno	124
Figura 29 – Porcentagem de decaimento da absorbância em 418 nm após irradiação a 1,25 mW/cm ² das porfirinas 12 , 18 , 15 , 19 , 16 e 20 em comparação com AM e DFBF/DMSO	125
Figura 30 – Compostos avaliados quanto à propriedades celulares	126
Figura 31 – Captação celular tempo-dependente das porfirinas 12 (●), 18 (■), 15 (▲), 19 (▼), 16 (●) e 20 (●) a 10 μmol.L ⁻¹ em células HEP2	127
Figura 32 – Princípio do método Cell Titer Blue [®] Cell Viability Assay	128
Figura 33 – Toxicidade no escuro das porfirinas 12 (●), 18 (■), 15 (▲), 19 (▼), 16 (●) e 20 (●) a 10 μmol.L ⁻¹ em células HEP2.....	129
Figura 34 – Fototoxicidade (1,5 J/cm ²) das porfirinas 12 (●), 18 (■), 15 (▲), 19 (▼), 16 (●) e 20 (●) a 10 μmol.L ⁻¹ em células HEP2	130
Figura 35 – Localização intracelular da porfirina 15 em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina 15 , (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de 15 e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de 15 e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de 15 e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de 15 e LysoSensor Green. Escala: 10 μm.	133
Figura 36 – Localização intracelular da porfirina 19 em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina 19 , (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de 19 e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de 19 e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de 19 e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de 19 e LysoSensor Green. Escala: 10 μm.	134
Figura 37 – Localização intracelular da porfirina 16 em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina 16 , (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de 16 e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de 16 e BODIPY Ceramide, (g)	

MitoTracker Green, (h) sobreposição de 16 e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de 16 e LysoSensor Green. Escala: 10 μm	135
Figura 38 – Localização intracelular da porfirina 20 em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina 20 , (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de 20 e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de 20 e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de 20 e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de 20 e LysoSensor Green. Escala: 10 μm	136
Figura 39 – Compostos avaliados quanto à propriedades celulares	137
Figura 40 – Captação celular tempo-dependente dos BODIPYs 29 (●), 31 (■), 32 (▲), 30 (▼) a 10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEP2.....	138
Figura 41 – Toxicidade no escuro dos BODIPYs 29 (●), 31 (■), 32 (▲), 30 (▼), 33 (●) e 34 (●) a 10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEP2	138
Figura 42 – Fototoxicidade (1,5 J/cm^2) dos BODIPYs 29 (●), 31 (■), 32 (▲), 30 (▼), 33 (●) e 34 (●) a 10 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEP2	139
Figura 43 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 4 na concentração 12x10 ⁻⁵ mol. L ⁻¹ em DMSO	166
Figura 44 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 4	166
Figura 45 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 4 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)	167
Figura 46 – Espectro na região do infravermelho adquirido para a porfirina 4 obtido por ATR	167
Figura 47 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 5 na concentração 12x10 ⁻⁵ mol. L ⁻¹ em DMSO	168
Figura 48 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 5	168
Figura 49 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 5 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)	169
Figura 50 – Espectro na região do infravermelho adquirido para a porfirina 5 obtido por ATR	169
Figura 51 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 9 na concentração 12x10 ⁻⁵ mol. L ⁻¹ em DMSO	170
Figura 52 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 9	170
Figura 53 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 9 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)	171

Figura 54 – Espectro na região do infravermelho adquirido para a porfirina 9 obtido por ATR	171
Figura 55 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 7 na concentração 12×10^{-5} mol.L ⁻¹ em DMSO	172
Figura 56 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 7	172
Figura 57 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 7 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)	173
Figura 58 – Espectro de RMN de ¹³ C da porfirina 7 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 77,23 ppm pelo solvente (100 MHz).....	174
Figura 59 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 10	175
Figura 60 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 12	176
Figura 61 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 12 na concentração 12×10^{-5} mol. L ⁻¹ em DMSO	176
Figura 62 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina 12 na concentração 12×10^{-6} mol. L ⁻¹ em DMSO.....	177
Figura 63 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 12 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)	177
Figura 64 – Espectro de RMN de ¹³ C da porfirina 12 em CDCl ₃ (100 MHz)	178
Figura 65 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 18	179
Figura 66 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 18 na concentração 12×10^{-5} mol. L ⁻¹ em DMSO	179
Figura 67 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina 18 na concentração 12×10^{-6} mol. L ⁻¹ em DMSO.....	180
Figura 68 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 18 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)	180
Figura 69 – Espectro de RMN de ¹³ C da porfirina 18 em CDCl ₃ (100 MHz).....	181
Figura 70 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 15	182
Figura 71 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 15 na concentração 12×10^{-5} mol. L ⁻¹ em DMSO	182
Figura 72 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina 15 na concentração 12×10^{-6} mol. L ⁻¹ em DMSO.....	183
Figura 73 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina 15 em DMSO _{d6} a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)	183

Figura 74 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 15 em DMSO_{d6} , calibrado pelo solvente (100 MHz)	184
Figura 75 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 19	185
Figura 76 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 19 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO	185
Figura 77 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina 19 na concentração $12 \times 10^{-6} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO	186
Figura 78 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina 19 em DMSO_{d6} a 30°C , calibrado em 2,50 ppm pelo sinal do solvente (400 MHz)	186
Figura 79 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 19 em DMSO_{d6} calibrado pelo sinal do solvente (100 MHz)	187
Figura 80 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 16	188
Figura 81 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 16 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO	188
Figura 82 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina 16 na concentração $12 \times 10^{-6} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO	189
Figura 83 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina 16 em DMSO_{d6} a 30°C , calibrado pelo sinal do solvente (400 MHz)	189
Figura 84 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 16 em DMSO_{d6} calibrado pelo solvente (100 MHz)	190
Figura 85 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 20	191
Figura 86 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina 20 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO	191
Figura 87 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina 20 na concentração $12 \times 10^{-6} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO	192
Figura 88 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina 20 em DMSO_{d6} a 30°C pelo sinal do solvente (400 MHz)	192
Figura 89 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 20 em DMSO_{d6} calibrado pelo sinal do solvente (100 MHz)	193
Figura 90 – Espectro de massas adquirido para a clorina 21	194
Figura 91 – Espectro de RMN de ^1H da clorina 21 em CDCl_3 a 30°C , calibrado pelo solvente (400 MHz)	195
Figura 92 – Espectro de massas adquirido para a clorina 22	196

Figura 93 – Espectro de RMN de ^1H da clorina 22 em acetona _{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)	197
Figura 94 – Espectro de massas adquirido para a clorina 26	198
Figura 95 – Espectro de RMN de ^1H da clorina 26 em acetona _{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)	199
Figura 96 – Espectros de massas adquirido para a clorina 25	200
Figura 97 – Espectro de RMN de ^1H da clorina 25 em acetona _{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)	201
Figura 98 – Espectro de RMN de ^1H da clorina 27 em acetona _{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)	202
Figura 99 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 29	203
Figura 100 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 29 na concentração 12×10^{-5} mol. L ⁻¹ em DMSO	203
Figura 101 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 29	204
Figura 102 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY 29 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)	204
Figura 103 – Espectro de RMN de ^{13}C do BODIPY 29 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 77,23 ppm pelo solvente (100 MHz).....	205
Figura 104 – Espectro de RMN de ^{11}B do BODIPY 29	205
Figura 105 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 30	206
Figura 106 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 30 na concentração 12×10^{-5} mol. L ⁻¹ em DMSO	206
Figura 107 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 30	207
Figura 108 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY 30 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)	207
Figura 109 – Espectro de RMN de ^{13}C do BODIPY 30 em CDCl ₃ a 30°C, calibrado em 77,23 ppm pelo solvente (100 MHz).....	208
Figura 110 – Espectro RMN de ^{11}B do BODIPY 30	208
Figura 111 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 31	209
Figura 112 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 31 na concentração 12×10^{-5} mol. L ⁻¹ em DMSO	209
Figura 113 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 31	210
Figura 114 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY 31 em DMSO _{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)	210

Figura 115 – Espectro de RMN de ^{11}B do BODIPY 31	211
Figura 116 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 33	212
Figura 117 – Espectro de UV-Vis adquirido para o BODIPY 33 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO.....	212
Figura 118 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 33	213
Figura 119 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY 33 em DMSO_{d6} a 30°C , calibrado pelo solvente (400 MHz).....	213
Figura 120 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 32	214
Figura 121 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 32 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO.....	214
Figura 122 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 32	215
Figura 123 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 34	216
Figura 124 – Espectro a região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 34 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO.....	216
Figura 125 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 34	217
Figura 126 – Espectro na região do infravermelho adquirido para agarose reduzida por ATR.....	218
Figura 127 – Espectro de ^1H RMN da agarose reduzida em DMSO_{d6} 70°C , calibrado em 2,69 ppm pelo solvente (400 MHz).....	218
Figura 128 – Espectro de HSQC da agarose reduzida em DMSO_{d6} 70°C , calibrado em 2,69/41,53 ppm pelo solvente (400 MHz).....	219
Figura 129 – Espectro na região do infravermelho adquirido para <i>kappa</i> -carragenana por ATR.....	220
Figura 130 – Espectro de ^1H RMN da <i>kappa</i> -carragenana em D_2O 70°C , calibrado em 2,224 ppm pelo solvente (400 MHz).....	220
Figura 131 – Espectro de HSQC da agarose reduzida em D_2O 70°C , calibrado em 2,224/30,2 ppm pelo solvente (400 MHz).....	221
Figura 132 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o polímero agarose-porfirina 36 na concentração 12 mmol.L^{-1} em DMSO.....	222
Figura 133 – Espectro de ^1H RMN do polímero agarose-porfirina em DMSO_{d6} a 70°C , calibrado em 2,69 ppm pelo solvente (400 MHz).....	222
Figura 134 – Espectro de HSQC do polímero agarose-porfirina em DMSO_{d6} a 70°C , calibrado em 2,69/41,53 ppm pelo solvente (400 MHz).....	223

Figura 135 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o polímero <i>kappa</i> -carragenana-porfirina 38 na concentração 12 mmol.L ⁻¹ em DMSO	224
Figura 136 – Espectro de ¹ H RMN do polímero <i>kappa</i> -carragenana-porfirina em DMSO _{d6} a 70°C, calibrado em 2,69 ppm pelo solvente (400 MHz)	224
Figura 137 – Espectro de HSQC do polímero <i>kappa</i> -carragenana-porfirina em DMSO _{d6} a 70°C, calibrado em 2,69/41,53 ppm pelo solvente (400 MHz)	225
Figura 138 – Curva de concentração da porfirina 7 em 416 nm em DMSO	226

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Estratégia sintética para obtenção da porfirina 7	27
Esquema 2 – Estratégia sintética para obtenção da porfirina 10	27
Esquema 3 – Estratégia sintética para obtenção das porfirinas 15 e 16	28
Esquema 4 – Estratégia sintética para obtenção das porfirinas 19 e 20	28
Esquema 5 – Estratégia sintética para obtenção dos fotossensibilizadores tipo clorina 22, 25, 26 e 27	29
Esquema 6 – Estratégia sintética para obtenção dos fotossensibilizadores tipo BODIPY 29-34	29
Esquema 7 – Estratégias semissintéticas para obtenção de conjugados agarose-porfirina 36	30
Esquema 8 – Estratégias semissintéticas para obtenção de conjugados <i>kappa</i> -carragenana-porfirina 38	30
Esquema 9 – Mecanismo da reação de Adler	40
Esquema 10 – Mecanismo da reação de Lindsey	42
Esquema 11 – Síntese da porfirina 4	58
Esquema 12 – Síntese da porfirina 5	58
Esquema 13 – Síntese da porfirina 9	59
Esquema 14 – Síntese da porfirina 7	60
Esquema 15 – Síntese da porfirina 10	61
Esquema 16 – Síntese da porfirina 12	62
Esquema 17 – Síntese da porfirina 18	63
Esquema 18 – Síntese da porfirina 15	64
Esquema 19 – Síntese da porfirina 19	64
Esquema 20 – Síntese da porfirina 16	65
Esquema 21 – Síntese da porfirina 120	65
Esquema 22 – Extração e obtenção do composto 21	66
Esquema 23 – Semissíntese do composto 22	67
Esquema 24 – Síntese do composto 25	68
Esquema 25 – Síntese do composto 26	68
Esquema 26 – Síntese do composto 27	69
Esquema 27 – Síntese do BODIPY 29	70
Esquema 28 – Síntese do BODIPY 30	70

Esquema 29 – Síntese do BODIPY 31	71
Esquema 30 – Síntese do BODIPY 33	71
Esquema 31 – Síntese do BODIPY 32	72
Esquema 32 – Síntese do BODIPY 34	72
Esquema 33 – Síntese do composto 36 considerando substituição na hidroxila da posição 6 da unidade β -D-galactopiranosose	75
Esquema 34 – Síntese do composto 38 considerando substituição na hidroxila da posição 6 da unidade β -D-galactopiranosose-4-sulfato	76
Esquema 35 – Síntese do conjugado 49	78
Esquema 36 – O-alquilação da agarose utilizando epicloridrina	79
Esquema 37 – Mecanismo proposto para a abertura do anel β -ceto-éster do metilfeoforbídeo a por amina	102
Esquema 38 – Mecanismo da reação de formação do dipirrometanos 60 , seguindo-se das etapas de síntese do BODIPY 62 , via dipirrometeno 61	108
Esquema 39 – Reação entre DFBF e ${}^1O^2$ para formação de o-dibenzoilbenzeno ..	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Absorção máxima de alguns FS	35
Tabela 2 – Condições sintéticas testadas para obtenção da porfirina 7	60
Tabela 3 – Condições sintéticas testadas para obtenção da porfirina 10	61
Tabela 4 – Condições sintéticas testadas para obtenção de conjugado agarose-porfirina	77
Tabela 5 – Condições sintéticas testadas para a reação de O-alkilação da agarose utilizando epicloridrina	79
Tabela 6 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a porfirina 4 com os sinais previamente reportados na literatura	84
Tabela 7 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a porfirina 5 com os sinais previamente reportados na literatura	85
Tabela 8 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a porfirina 9 com os sinais previamente reportados na literatura	86
Tabela 9 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a porfirina 7 com os sinais previamente reportados na literatura	88
Tabela 10 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a porfirina 18 com os sinais previamente reportados na literatura	92
Tabela 11 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para as porfirinas 12, 15 e 16	96
Tabela 12 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para as porfirinas 18, 19 e 20	98
Tabela 13 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a clorina 21 com os sinais previamente reportados na literatura	99
Tabela 14 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a clorina 22 com os sinais previamente reportados na literatura	101
Tabela 15 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para a clorina 26 com os sinais previamente reportados na literatura	103
Tabela 16 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para o BODIPY 29 com os sinais previamente reportados na literatura	108
Tabela 17 - Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ¹ H para o BODIPY 30 com os sinais previamente reportados na literatura	110

Tabela 18 - Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para o BODIPY 31 com os sinais previamente reportados na literatura.....	111
Tabela 19 - Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para o BODIPY 33 com os sinais previamente reportados na literatura.....	112
Tabela 20 – Quantificação por UV-Vis em termos de % de porfirina no polímero final	116
Tabela 21 – Sinais novos identificados nos espectros de HSQC (enumerados de 1 a 10) dos polímeros 36 e 38	117
Tabela 22 – Sinais obtidos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina 7 em DMSO_{d6}	118
Tabela 23 – Rendimentos quânticos de $^1\text{O}_2$ (Φ_{Δ}).....	125
Tabela 24 – Citotoxicidade das porfirinas 12 , 15 , 16 , 18 , 19 e 20 (CellTiter Blue; 1,5 J/cm^2)	131
Tabela 25 – Localização intracelular maior (+++) ou menor (+) das porfirinas 15 , 16 , 19 e 20 em células HEp2	132
Tabela 26 – Citotoxicidade dos BODIPYs 29 , 30 , 31 , 32 , 33 e 34 (CellTiter Blue; 1,5 J/cm^2)	139

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM	- Azul de metileno
ATCC	- Coleção de cultura americana (<i>American Type Culture Collection</i>)
ATR	- Reflectância atenuada
BODIPY	- 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno
CCD	- Cromatografia em camada delgada
DAPI	- 4',6-diamidino-2-fenilindol
DDQ	- 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DFBF	- 1,3-difenilisobenzofurano
DMEM	- Meio de Eagle Modificado de Dulbecco (<i>Dulbecco's modified eagle's medium</i>)
DMF	- Dimetilformamida
DMSO	- Dimetilsulfóxido
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
ESI	- Ionização por electrospray
EUA	- Estados Unidos da América
FBS	- Soro fetal bovino (<i>Fetal bovine serum</i>)
FS	- Fotossensibilizador
GFP	- Proteína fluorescente verde (<i>Green fluorescent protein</i>)
HCCA	- ácido a-ciano-4-hidroxicinamínico
HSQC	- Correlação quântica heteronuclear única (<i>Heteronuclear single quantum correlation</i>)
IUPAC	- União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
IV	- Infravermelho
LD50	- Dose letal mediana
LDL	- Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low-density lipoprotein</i>)
m/z	- Relação massa-carga
MALDI	- Ionização e dessorção a laser assistida por matriz
PBS	- Tampão fosfato-salino (<i>Phosphate buffered saline</i>)
PDI	- Inativação Fotodinâmica (<i>Photodynamic inactivation</i>)
PDT	- Terapia Fotodinâmica (<i>Photodynamic Therapy</i>)
RMN	- Ressonância Magnética Nuclear

S0	- Estado singleto
S1	- Estado singleto excitado
T1	- Estado tripleto excitado
TEA	- Trietilamina
TF	- Transformada de Fourier
TFA	- Ácido trifluoroacético
TOF	- Tempo de vôo
UV-VIS	- Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	OBJETIVOS	26
1.1.1	Objetivo Geral.....	26
1.1.2	Objetivos Específicos	26
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	31
2.1	TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT)	31
2.2	FOTOSENSIBILIZADORES (FS).....	34
2.2.1	Porfirinas	37
2.2.1.1	<i>Síntese de porfirinas</i>	40
2.2.2	Clorinas	42
2.2.3	BODIPYs	45
2.3	FOTOSENSIBILIZADORES CONJUGADOS.....	47
2.4	POLISSACARÍDEOS LIGADOS COVALENTEMENTE A PORFIRINAS	47
2.5	POLISSACARÍDEOS DE ALGAS VERMELHAS.....	50
2.5.1	Agarose	52
2.5.2	Carragenanas.....	53
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
3.1	MÉTODOS GERAIS.....	55
3.1.1	Métodos cromatográficos	55
3.1.2	Métodos espectrométricos.....	55
3.1.3	Desenho Experimental	56
3.2	SÍNTESE DAS PORFIRINAS	57
3.2.1	Síntese da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (4).....	57
3.2.2	Síntese da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (5).....	58
3.2.3	Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-trifenilporfirina (9)	59
3.2.4	Síntese da 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina (7).....	59
3.2.5	Tentativas de síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenilporfirina (10).....	60
3.2.6	Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (12)	61
3.2.7	Síntese da 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (18)	62
3.2.8	Síntese da 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (15).....	63

3.2.9	Síntese da 5-(<i>N,N,N</i> -trimetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (19)....	64
3.2.10	Síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (16).....	64
3.2.11	Síntese da 5-(<i>N</i> -dimetilepoximetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (20).....	65
3.3	SÍNTESE DAS CLORINAS.....	66
3.3.1	Extração da feofitina a (21).....	66
3.3.2	Semissíntese do metil-feoforbídeo a (22).....	66
3.3.3	Semissíntese da 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster (25)	67
3.3.4	Semissíntese da 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (26)	68
3.3.5	Semissíntese da 13-epoximetil-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (27) ..	68
3.4	SÍNTESE DOS BODIPY	69
3.4.1	Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (29)	69
3.4.2	Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (30).....	70
3.4.3	Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (31).....	70
3.4.4	Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (33)	71
3.4.5	Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (32).....	71
3.4.6	Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (34).....	72
3.5	SÍNTESE DOS CONJUGADOS PORFIRINA-POLISSACARÍDEO	73
3.5.1	Obtenção da agarose (35).....	73
3.5.2	Obtenção da <i>kappa</i> -carragenana (37).....	73
3.5.3	Obtenção dos conjugados agarose-porfirina (36) e <i>kappa</i> -carragenana-porfirina (38) – Estratégia 1	74
3.5.4	Tentativa de obtenção do conjugado agarose-porfirina (49) – Estratégia 2 .	77
3.5.5	Tentativa de obtenção da agarose-6- <i>O</i> -epoxipropila (50)	78
3.6	AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FOTODINÂMICAS	79
3.6.1	Estudo de geração de oxigênio singleto	79
3.6.2	Avaliação <i>in vitro</i> de FS	80

3.6.2.1	<i>Informações gerais</i>	80
3.6.2.2	<i>Captação celular tempo-dependente</i>	80
3.6.2.3	<i>Citotoxicidade no escuro</i>	81
3.6.2.4	<i>Fototoxicidade</i>	81
3.6.2.5	<i>Localização intracelular</i>	82
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS PORFIRINAS	83
4.1.1	Síntese da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (4)	83
4.1.2	Síntese da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (5)	84
4.1.3	Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-trifenilporfirina (9)	85
4.1.4	Síntese da 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina (7)	87
4.1.5	Tentativa de síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenilporfirina (10)	89
4.1.6	Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (12)	90
4.1.7	Síntese da 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (18)	91
4.1.8	Síntese da 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (15)	93
4.1.9	Síntese da 5-(<i>N,N,N</i> -trimetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (19)	94
4.1.10	Síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (16)	95
4.1.11	Síntese da 5-(<i>N</i> -dimetilepoximetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (20)	97
4.2	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS CLORINAS	98
4.2.1	Extração da feofitina a (21)	98
4.2.2	Síntese do metil-feoforbídeo a (22)	100
4.2.3	Síntese da 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (26)	101
4.2.4	Síntese da 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster (25)	103
4.2.5	Síntese da 13-epoximetil-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (27)	106
4.3	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS BODIPY	107
4.3.1	Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (29)	107
4.3.2	Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (30)	109

4.3.3	Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (31).....	110
4.3.4	Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (33)	111
4.3.5	Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (32).....	112
4.3.6	Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (34).....	113
4.4	SÍNTESE DOS CONJUGADOS PORFIRINA-POLISSACARÍDEO	114
4.4.1	Obtenção da agarose (35).....	114
4.4.2	Obtenção da <i>kappa</i> -carragenana (37).....	114
4.4.3	Síntese dos conjugados agarose-porfirina (36) e <i>kappa</i> -carragenana-porfirina (38).....	115
4.4.4	Tentativa de obtenção do conjugado agarose-porfirina (49) – Estratégia 2	122
4.4.5	Tentativa de obtenção da agarose-6-O-epoxipropila (50).....	122
4.5	AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FOTODINÂMICAS	123
4.5.1	Estudo de geração de oxigênio singlete	123
4.5.2	Propriedades celulares dos FS 12, 15, 16, 18, 19, 20	126
4.5.3	Propriedades celulares dos FS 29, 30, 31, 32, 33, 34	137
5	CONCLUSÕES	141
	REFERÊNCIAS.....	143
	ANEXOS	160
	ANEXO 1 - Lista de estruturas ao longo do documento.....	161
	ANEXO 2 - Caracterização da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (4).....	166
	ANEXO 3 - Caracterização da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (5)	168
	ANEXO 4 - Caracterização da 5,10,15-trifenil-20-(4-piridil) porfirina (9)	170
	ANEXO 5 - Caracterização da 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina (7)	172
	ANEXO 6 - Caracterização da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenil porfirina (10).....	175
	ANEXO 7 - Caracterização da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil) porfirina (12).....	176
	ANEXO 8 - Caracterização da 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenil porfirina (18).....	179

ANEXO 9	- Caracterização da 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (15)	182
ANEXO 10	- Caracterização da 5-(<i>n,n,n</i> -trimetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (19)	185
ANEXO 11	- Caracterização da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (16)	188
ANEXO 12	- Caracterização da 5-(<i>n</i> -dimetilepoximetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (20)	191
ANEXO 13	- Caracterização da feofitina a (21)	194
ANEXO 14	- Caracterização do metil-feoforbídeo a (22)	196
ANEXO 15	- Caracterização da 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (26)	198
ANEXO 16	- Caracterização da 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster (25)	200
ANEXO 17	- Epoximetil-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (27)	202
ANEXO 18	- Caracterização do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (29)	203
ANEXO 19	- Caracterização do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (30)	206
ANEXO 20	- Caracterização do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (31)	209
ANEXO 21	- Caracterização do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (33)	212
ANEXO 22	- Caracterização do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (32)	214
ANEXO 23	- Caracterização do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (34)	216
ANEXO 24	- Caracterização da agarose reduzida (23)	218
ANEXO 25	- Caracterização da <i>kappa</i> -carragenana (24)	220
ANEXO 26	- Caracterização do polímero agarose - porfirina (36)	222
ANEXO 27	- Caracterização do polímero <i>kappa</i> -carragenana - porfirina (38)	224
ANEXO 28	- Curva de concentração da porfirina 7	226

1 INTRODUÇÃO

A Terapia Fotodinâmica ou PDT (*Photodynamic Therapy*) tem como mecanismo principal a destruição seletiva de células indesejáveis, através da geração de espécies reativas de oxigênio e oxigênio singlete *in situ*, utilizando oxigênio tecidual, luz em comprimento de onda adequado e um fotossensibilizador (OCHSNER, 1997). Os fotossensibilizadores mais aplicados e estudados na PDT são as porfirinas e compostos relacionados, como clorinas. Os BODIPYs também vêm sendo estudados para aplicação na PDT (KAMKAEW *et al.*, 2007).

Por décadas, o Photofrin[®], uma porfirina já aprovada e usada na clínica, tem sido aplicada no tratamento de vários tipos de câncer. Porém, essa classe de fotossensibilizadores possui certas características consideradas “não ideais”, como uma baixa absorção na região do vermelho, dificuldade de purificação e indução de fotossensibilidade prolongada ao paciente (HUANG, 2005).

Diferentes estratégias sintéticas vêm sendo utilizadas a fim de melhorar as características biológicas desses compostos. Uma forma de aumentar a solubilidade e a especificidade desses fotossensibilizadores é a ligação dos mesmos com ligantes biológicos como peptídeos, proteínas e carboidratos (ZHENG; PANDEY, 2008; UMEZAWA *et al.*, 2010). A ligação covalente do fotossensibilizador a um polímero compatível com tecidos biológicos, como por exemplo polissacarídeos, pode gerar um material polimérico com aplicações terapêuticas interessantes. Ainda, esse novo material seria de maior seletividade, com menor difusão do mesmo nos tecidos saudáveis adjacentes à sua aplicação, uma vez que a luz é sempre direcionada ao tecido tumoral e também ao tecido saudável ao seu redor (BROWN; BROWN; WALKER, 2004). Além disso, os polissacarídeos apresentam grande disponibilidade no mercado e mostram-se sinteticamente versáteis, possibilitando uma série de modificações químicas regioseletivas (GERICKE; HEINZE, 2015).

Portanto, o presente trabalho visou a obtenção e caracterização de novos fotossensibilizadores, a avaliação *in vitro* dos compostos sintetizados e o estudo de novas formas de obtenção de polímeros porfirina-polissacarídeo. Com esta finalidade, foram realizadas diferentes rotas sintéticas/semissintéticas a fim de se obter novos fotossensibilizadores da classe das porfirinas, das clorinas e dos BODIPYs. Rotas sintéticas também foram estudadas para preparação de conjugados porfirina-polissacarídeo, utilizando agarose e *kappa*-carragenana.

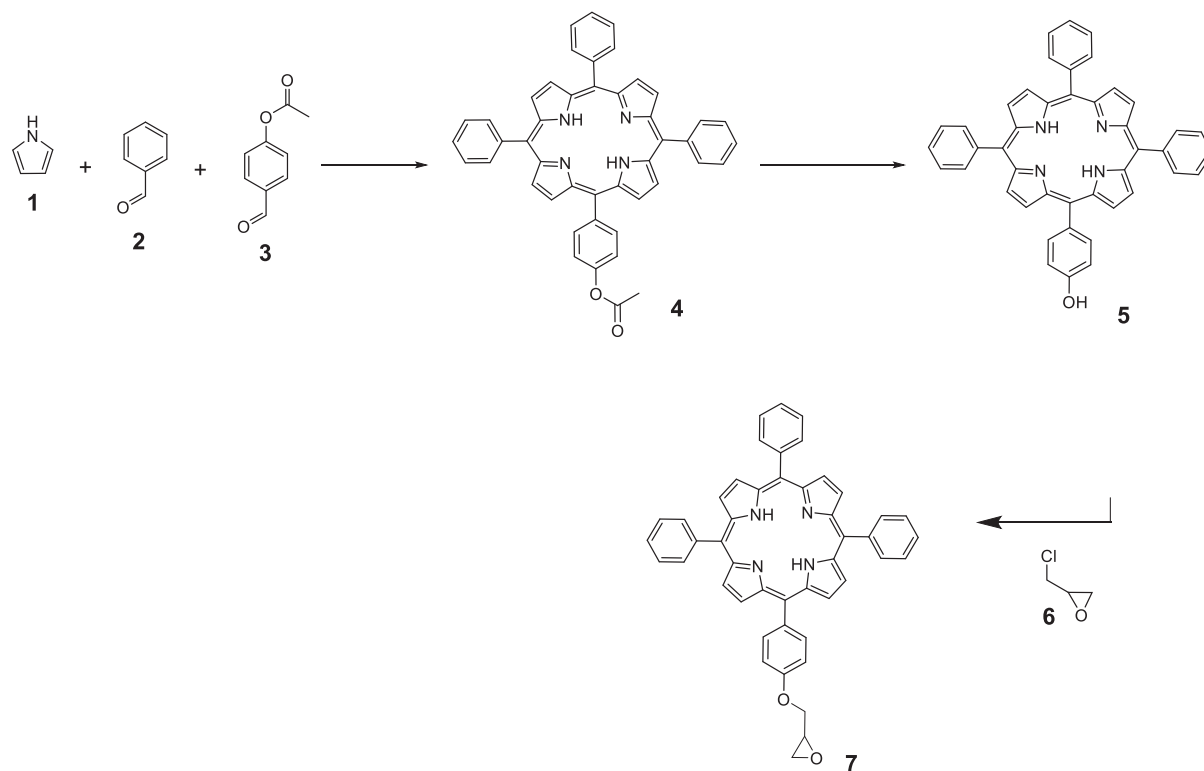
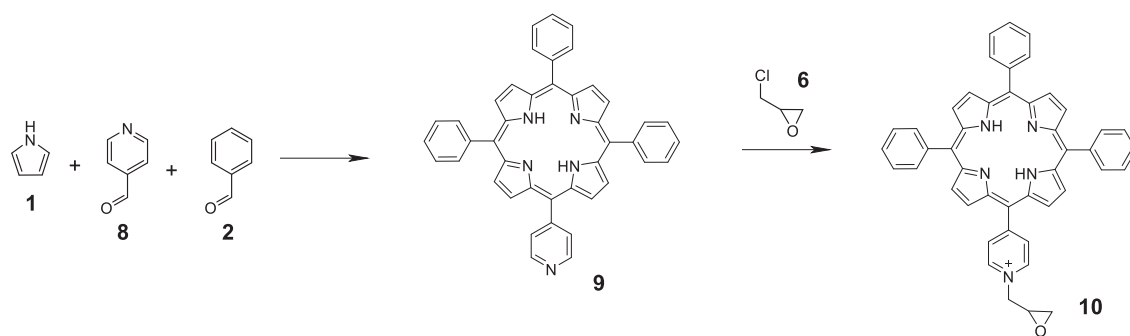
1.1 OBJETIVOS

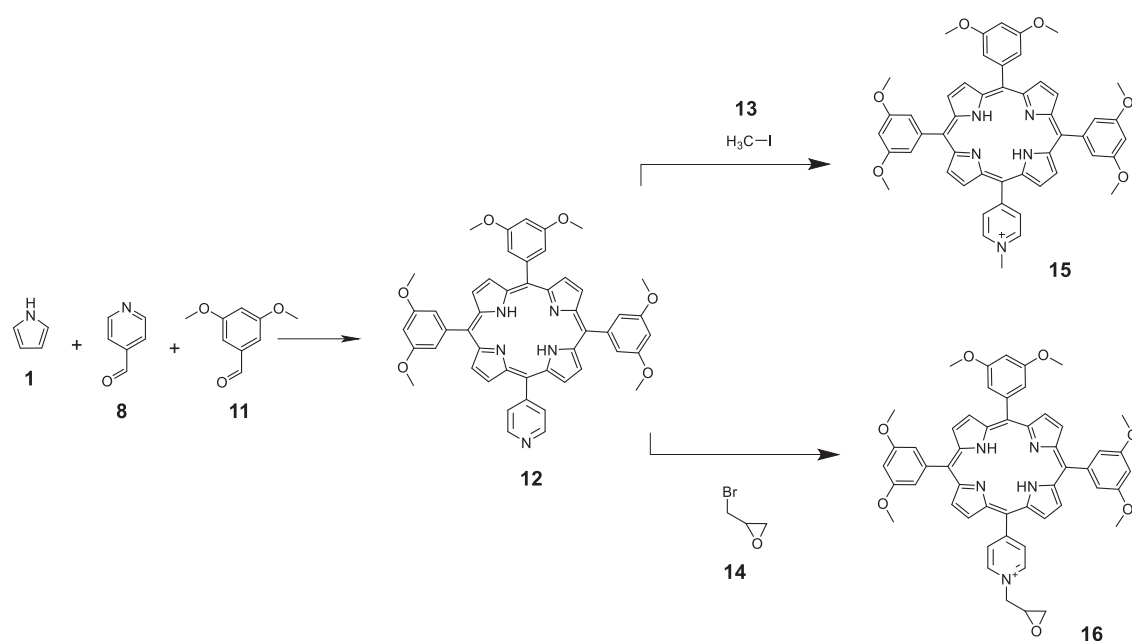
1.1.1 Objetivo Geral

Obter por processos sintéticos novos fotossensibilizadores das classes porfirina, clorina e BODIPY (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno) com potencial aplicação na Terapia Fotodinâmica.

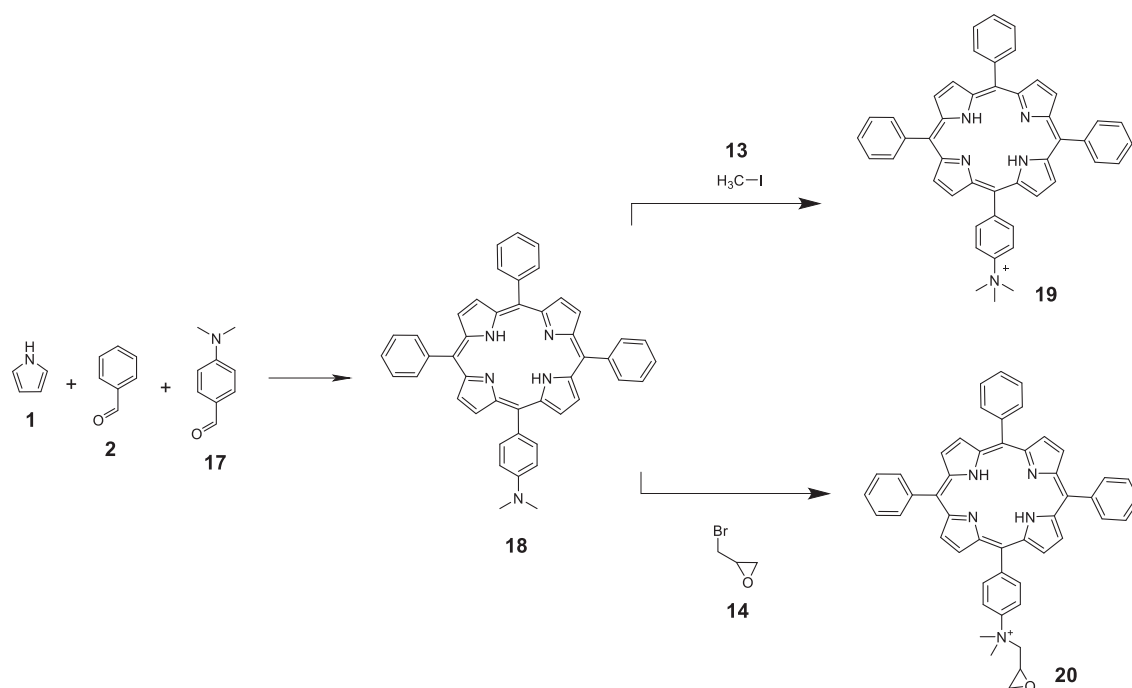
1.1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar novas porfirinas (Esquemas 1, 2, 3 e 4), incluindo porfirina-epóxido;
- Sintetizar novas clorinas (Esquema 5), incluindo clorina-epóxido;
- Sintetizar novos BODIPYs (Esquema 6), incluindo BODIPY-epóxido;
- Caracterizar os fotossensibilizadores sintetizados utilizando métodos espectroscópicos e espectrométricos;
- Avaliar as propriedades biológicas de fotossensibilizadores sintetizados através de estudos celulares de incorporação celular tempo-dependente, citotoxicidade no escuro, fototoxicidade e localização intracelular;
- Desenvolver uma rota sintética para obtenção de conjugados do tipo agarose-porfirina (Esquema 7);
- Desenvolver uma rota sintética para obtenção de conjugados do tipo *kappa*-carragenana-porfirina (Esquema 8);
- Caracterizar os conjugados porfirina-polissacarídeo utilizando métodos espectroscópicos e espectrométricos.

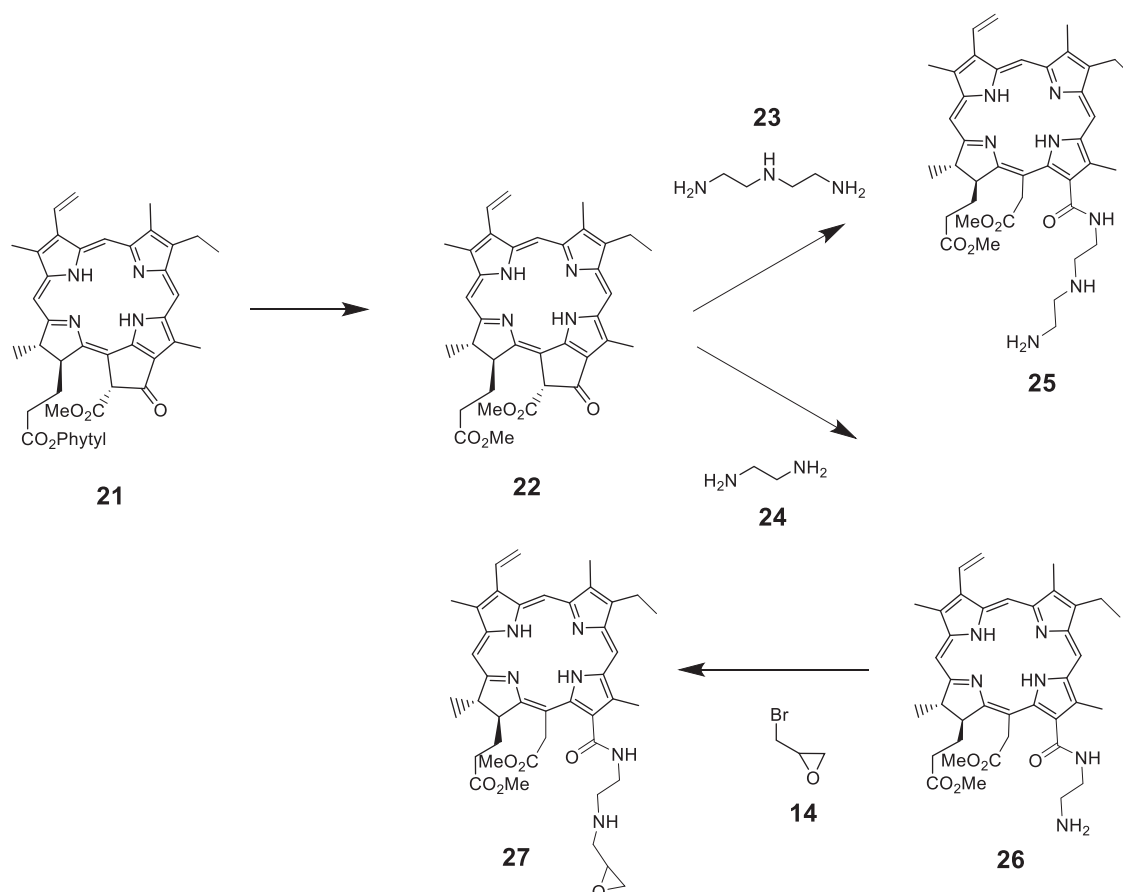
Esquema 1 – Estratégia sintética para obtenção da porfirina **7**Esquema 2 – Estratégia sintética para obtenção da porfirina **10**



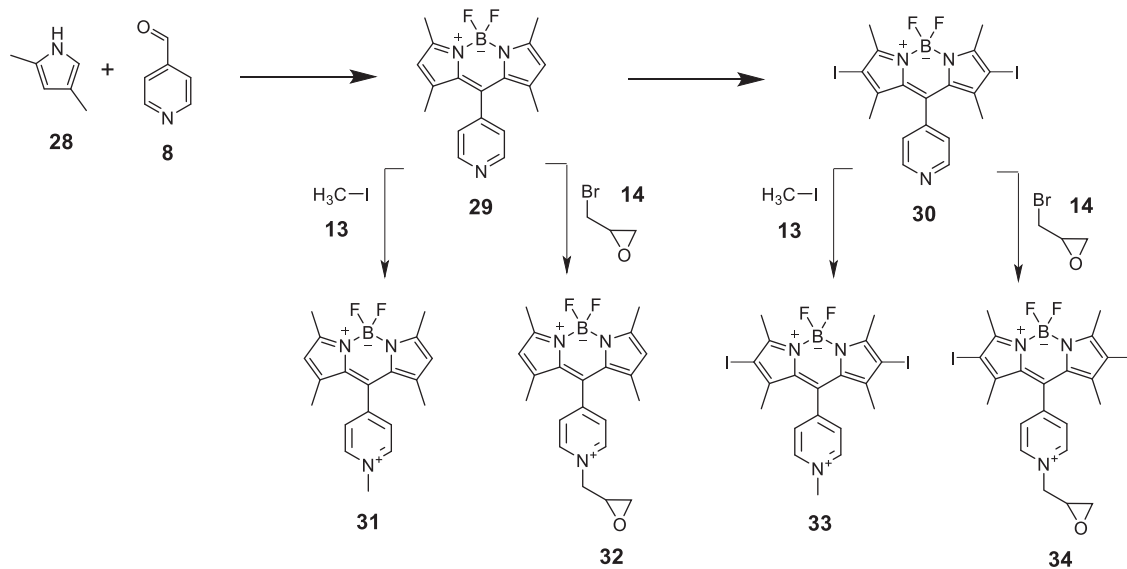
Esquema 3 – Estratégia sintética para obtenção das porfirinas **15** e **16**



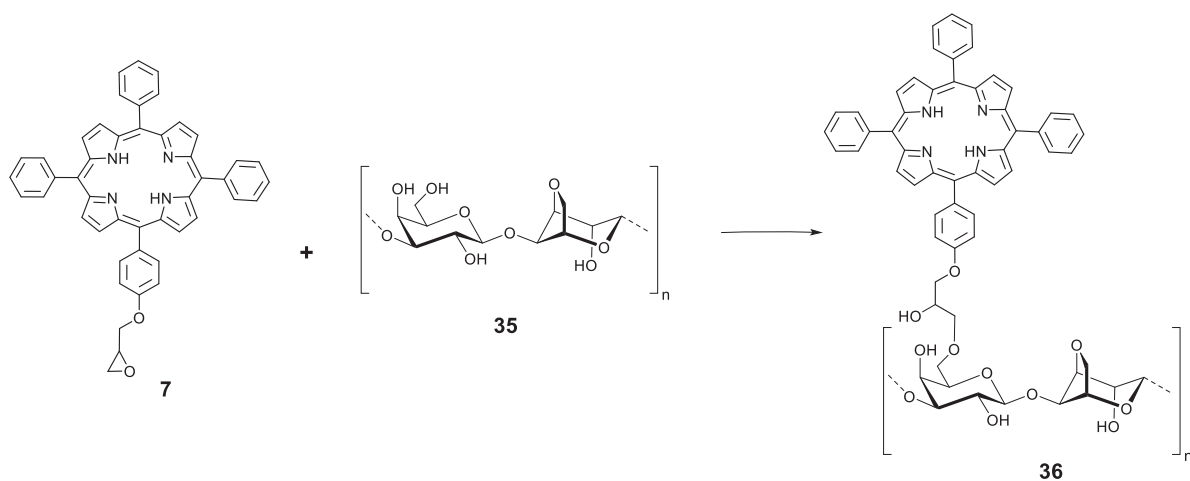
Esquema 4 – Estratégia sintética para obtenção das porfirinas **19** e **20**



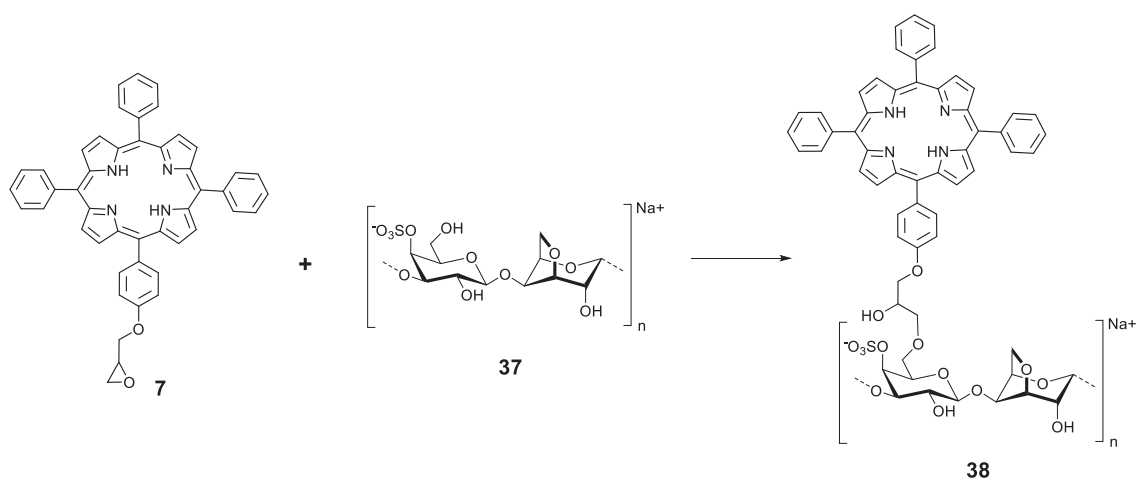
Esquema 5 – Estratégia sintética para obtenção dos fotossensibilizadores tipo clorina **22**, **25**, **26** e **27**



Esquema 6 – Estratégia sintética para obtenção dos fotossensibilizadores tipo BODIPY **29-34**



Esquema 7 – Estratégias semissintéticas para obtenção de conjugados agarose-porfirina **36**



Esquema 8 – Estratégias semissintéticas para obtenção de conjugados *kappa*-carragenana-porfirina **38**

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT)

No início do século XX foi observado que o pigmento acridina era capaz de inativar micro-organismos na presença de luz. Desde então, observou-se que não somente micro-organismos, mas também outras células e biomoléculas poderiam ser inativadas dessa maneira, o que estimulou a descoberta de diversos outros compostos com propriedades fotoinativadoras. Esse fenômeno foi denominado de fotossensibilização ou ação fotodinâmica (MOAN; PETTERSEN; CHRISTENSEN, 1979).

A terapia fotodinâmica (PDT, *Photodynamic Therapy*) é mais comumente associada ao tratamento de neoplasias, através da destruição seletiva do tecido tumoral utilizando um fotossensibilizador (FS), luz visível e oxigênio molecular (Figura 1) (DOUGHERTY *et al.*, 1998; MOREIRA *et al.*, 2008).

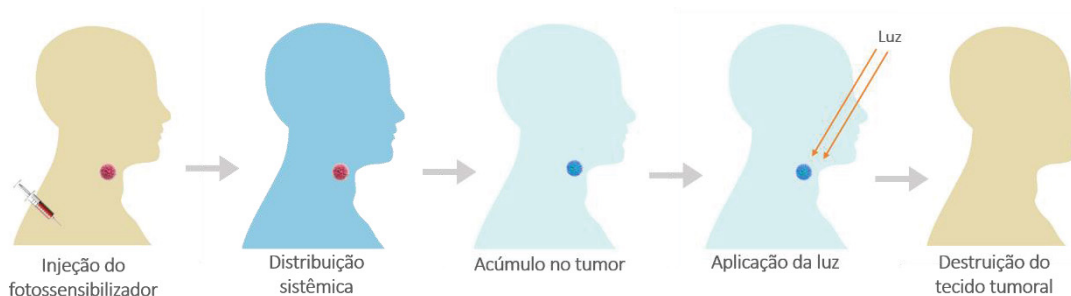


Figura 1 – Estágios da terapia fotodinâmica (PDT)
Fonte: O autor (2018)

A PDT possui vantagens sobre tratamentos cirúrgicos ou radioterapia por diversos fatores. É considerado um tratamento menos invasivo e é seletivo, devido à tendência natural dos FS de se acumularem em células tumorais. Embora ainda não se saiba o mecanismo exato como isso ocorre, esse processo parece depender de diversos fatores como características do FS, tipo de tumor e fisiologia anormal da célula tumoral, como pouca vasculatura e drenagem linfática, e composição anormal da célula (AGOSTINIS *et al.*, 2011; VICENTE, 1996). Como exemplo, sabe-se que a biodistribuição do FS está relacionada com a sua associação à receptores de lipoproteína de baixa densidade (LDL), os quais apresentam-se em maior quantidade em células tumorais. Foi demonstrado que o uso de medicamentos que

aumentam a expressão de receptores de LDL em células, como a lovastatina, aumentam a eficiência da PDT (MAZIÈRE; MORLIÈRE; SANTUS, 1991).

Ainda, a alta seletividade da PDT se dá pelo uso de lasers e fibras ópticas como fonte de luz vermelha, que permitem que uma grande quantidade de luz seja entregue à diversas partes do corpo de forma direcionada ao local desejado, ou seja, com tempo de duração e ação controlados. A luz vermelha é utilizada por ser a região onde a luz penetra mais profundamente nos tecidos (TOMÉ *et al.*, 2005; BROWN; BROWN; WALKER, 2004).

A efetividade da PDT depende de uma diversidade de processos fisiológicos e físico-químicos, principalmente os relacionadas à absorção de fótons pelo FS (Figura 2) (OCHSNER, 1997).

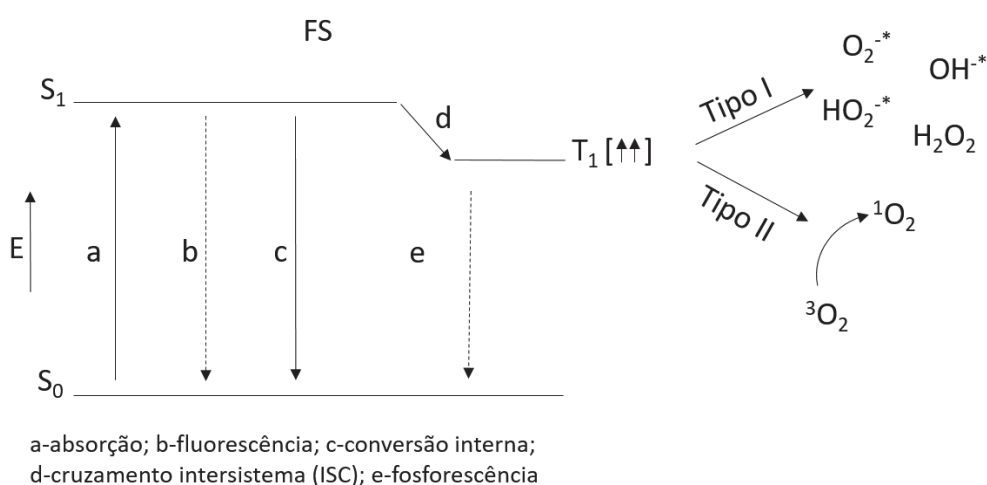


Figura 2 – Diagrama de Jablonski modificado
Fonte: O autor (2018)

O estado eletrônico fundamental de um FS, na ausência de luz, é o estado singlete (S_0). Com a absorção de luz em comprimento de onda adequado (a), o FS passa para o estado singlete excitado (S_1), que possui um baixo tempo de vida. O FS pode retornar ao seu estado fundamental através de emissão de luz (fluorescência) (b) ou por conversão interna (c) (quando um núcleo excitado fornece energia a um elétron que orbita o átomo, o que faz com que o elétron deixe-o). Ainda, o FS S_1 pode sofrer transição de estado de spin (d) (cruzamento intersistema/*intersystem crossing*-ISC) convertendo-se em estado tripleto excitado (T_1), que possui maior energia. O estado T_1 é metaestável, ou seja, possui um tempo relativamente longo de decaimento, já que, de acordo com as regras de

seleção espectroscópicas, essa transição é proibida, sendo tempo suficiente para reagir com o ambiente químico em que se encontra, transferindo energia para produzir formas de oxigênio que são letais às células. A ação fotodinâmica é então, majoritariamente mediada por FS no estado T1, e é seu tempo de vida que limita o tempo disponível para a transferência da energia de excitação, induzida por colisão, do FS T1 para o oxigênio molecular. O FS T1 também pode retornar ao estado S0 emitindo fosforescência (e), fenômeno no qual a emissão de luz visível acontece mesmo após cessar o fornecimento de energia (OCHSNER, 1997; VICENTE, 1996).

Existem dois mecanismos de reações fotodinâmicas para que ocorra a transferência de energia. O mecanismo Tipo I é uma reação de transferência de elétron ou hidrogênio entre o FS T1 e outras moléculas. Durante esse processo são formados intermediários reativos, como os radicais superóxido (O_2^*), hidroperoxila (HO_2^*), hidroxila (OH^*) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). No processo fotofísico Tipo II a energia de excitação do T1 é transferida ao oxigênio molecular no seu estado fundamental (3O_2 tripleto) para produzir o oxigênio singleto excitado (1O_2), sendo o último altamente citotóxico. Nessas reações, o FS atua de forma catalítica gerando grande quantidade de intermediários reativos, já que sua função é absorver energia e transferir para o oxigênio molecular, regenerando FS no estado S0, até que o mesmo seja degradado pela luz (VICENTE, 1996; OCHSNER, 1997; NYMAN; HYNNINEN, 2004).

Dentre os intermediários gerados, o oxigênio singleto é o principal agente citotóxico envolvido nas reações fotodinâmicas. É um potente oxidante que provoca destruição celular pela modificação de diversos componentes e funções celulares, através de reações com biomoléculas como triacilgliceróis insaturados, colesterol, fosfolípídeos, aminoácidos e ácidos nucleicos (NYMAN; HYNNINEN, 2004). Também ocorrem inibição do transporte de membrana, inativação de enzimas, diminuição de síntese proteica, dano vascular, efeitos sobre o DNA, lise da membrana e constrição vascular (VICENTE, 1996).

Como o oxigênio singleto apresenta tempo de vida curto, as reações ocorrem no seu local de formação. Os sítios de fotodano dependem do FS utilizado e dos diferentes compartimentos celulares onde se acumulam, sendo que as membranas celulares apresentam-se como um alvo frequente. O estresse oxidativo causado é antagonizado por mecanismos antioxidantes de proteção natural da célula, como as enzimas superóxido dismutase e catalase, e moléculas pequenas

como a vitamina C, o que pode levar a um maior tempo para regressão do tumor, mas não possui um alto impacto no que se refere à eficiência da PDT (SOARES *et al.*, 2016; JAKU, FARKAS, 2005). A consequente morte celular ocorre por necrose (morte degenerativa), e/ou apoptose (morte programada) (NYMAN; HYNNINEN, 2004).

O mecanismo de ação dependente de oxigênio gera um problema no que diz respeito à concentração e consumo de oxigênio molecular em alguns tumores. Como a PDT induz dano vascular, a microcirculação local pode ser danificada em poucos minutos, o que reduz o fornecimento de oxigênio local. Tumores com baixa vascularização são ainda mais sensíveis a esse processo, sendo que em alguns casos a oxigenação deve ser aumentada através de respiração de emulsão de perfluoroquímico e carbogênio (mistura gasosa composta por oxigênio e gás carbônico, que se utiliza para estimular a respiração) (OCHSNER, 1997).

Embora o tratamento de neoplasias seja o foco maior da utilização dos FS, os mesmos também podem ser utilizados no tratamento da psoríase e da acne (DEROSA, CRUTCHLEY, 2002; BONNET, 1995; STERNBERG; DOLPHIN, 1998); na fotoinativação de micro-organismos (PDI, *Photodynamic Inactivation*), como agentes fungicidas (LAMBRECHTS; AALDERS; MARLE, 2005; VANDRESEN *et al.*, 2016), virucidas (TOMÉ *et al.*, 2005) e bactericidas (CARVALHO *et al.*, 2007); e também no tratamento de doenças como arterosclerose, degeneração macular e artrite reumatoide (KOU; DOU; YANG, 2017; DORST *et al.*, 2018).

2.2 FOTOSSENSIBILIZADORES (FS)

Nos anos 60 observou-se que uma mistura de porfirinas possuía fluorescência na presença de luz vermelha em tecidos cancerosos. Essa mistura de porfirinas, que foi denominada derivado hematoporfirínico, possuía uma boa afinidade com o tecido neoplásico. Também chamados de fotossensibilizadores de primeira geração, os derivados hematoporfirínicos e suas variantes comerciais (Photofrin[®], Photosan[®], Photogem[®] e Photocarcinorin[®]) têm sido utilizados extensivamente em trabalhos experimentais e na aplicação clínica (HUANG, 2005). O Photofrin[®] é aprovado em muitos países (Brasil, EUA, Canadá, França, Japão entre outros) para tratamentos de câncer de baço, gástrico, cérvico-uterino, pulmões entre outros (YAMAMOTO *et al.*, 1999).

Entretanto, essas porfirinas apresentam alguns problemas relacionados com a sua natureza complexa e instabilidade. Esses compostos absorvem fracamente na região do vermelho ($\lambda_{\max} = 630 \text{ nm}$), que é onde a luz penetra mais profundamente nos tecidos e apresentam baixa seletividade por tecidos tumorais, o que leva à utilização de doses maiores para obtenção de efeito terapêutico desejado. Ainda, as preparações variam entre si na composição, e, por serem uma mistura complexa, não é possível isolar um único composto altamente ativo, o que faz com que a síntese e a atividade biológica sejam difíceis de serem reproduzidas. Esses FS possuem um longo tempo de retenção em tecidos saudáveis após administração sistêmica (2-3 meses), causando efeitos indesejáveis, como fotossensibilidade cutânea após o tratamento (BONNETT, 1995; BONNETT, 2000).

A fim de obterem-se FS com melhores características para PDT, FS de segunda geração foram desenvolvidos. Esses compostos absorvem luz em comprimentos de onda mais altos, com intensa absorção na região do vermelho, conseqüentemente apresentando melhor atividade. A posição da banda de maior intensidade de absorção para alguns FS de segunda geração, em comparação com o Photofrin[®], estão apresentados na Tabela 1. Outras características importantes desses compostos são a maior habilidade de geração de $^1\text{O}_2$, maior estabilidade e menor toxicidade na ausência de luz (NYMAN; HYNNINEN, 2004; VICENTE, 1996). FS de terceira geração estão sendo estudados, buscando melhores resultados para o uso na PDT, em campos de estudo como a nanotecnologia (KOU; DOU; YANG, 2017).

Tabela 1 – Absorção máxima de alguns FS

FS	λ_{\max} (nm)
Photofrin	630
Porfirinas	620-640
Porfirinas <i>meso</i> -substituídas	650
Ftalocianinas	700
Clorinas	640-700
Bacterioclorinas	780

Fonte: Adaptado de Vicente (1996)

Para obtenção de novos FS, a comunidade científica definiu diversas características consideradas ideais. Dentre elas, as mais relevantes são: ser um componente químico puro com rota sintética de baixo custo e com bom rendimento; possuir baixa toxicidade no escuro e alta toxicidade na presença de luz; possuir boa seletividade com relação às células alvo; alta absorção no comprimento de onda na região do vermelho; propriedades fotofísicas favoráveis; rápida eliminação pelo metabolismo sem produção de compostos tóxicos no processo; fácil administração por diversas vias; e seguro para o paciente (HUANG, 2005; ALLISON *et al.*, 2004; ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016; NYMAN; HYNINEN, 2004).

Os FS mais utilizados na PDT relacionam-se ao grupo químico dos macrociclos tetrapirrólicos, que são uma série de compostos classificados conforme seu grau e posição de insaturações das unidades pirrólicas (Figura 3). A redução/hidrogenação acontece sucessivamente de porfirinas para clorinas (uma dupla ligação pirrólica a menos) e bacterioclorinas (duas duplas ligações pirrólicas a menos). Estes compostos ocorrem naturalmente e possuem propriedades biológicas de alta relevância (STERNBERG; DOLPHIN 1998; MILGROM, 1997). Dentre os FS desenvolvidos ao longo dos anos, encontram-se também os análogos à porfirinas, como as porfirinas sintéticas, ácido 5-aminolevulínico e texafirinas; os análogos semissintéticos da clorofila; os pigmentos, como as ftalocianinas e naftalocianinas; e também os FS que não possuem núcleo macrocíclico tetrapirrólico como base de sua estrutura química, como nanopartículas de ouro e 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenos (BODIPY) (HUANG, 2005; GORBE *et al.*, 2015).

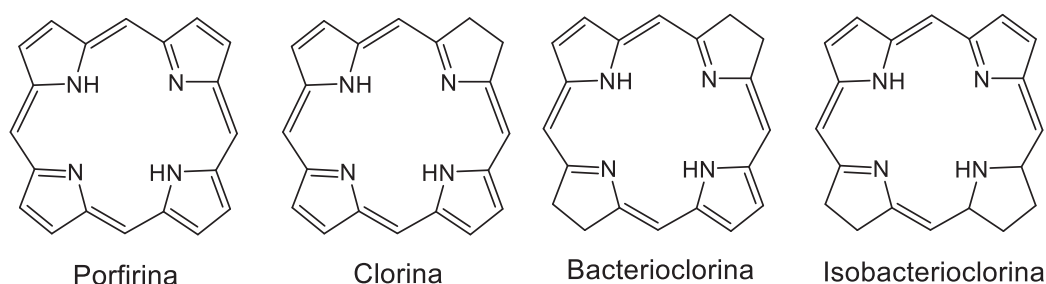


Figura 3 – Estruturas químicas de compostos macrocíclicos tetrapirrólicos
Fonte: O autor (2018)

2.2.1 Porfirinas

As porfirinas são estruturas macrocíclicas, planares e conjugadas, constituídas por quatro anéis pirrólicos ligados através de carbonos metínicos, usualmente denominados *meso* porfirínicos. Considerado o pai da química moderna das porfirinas, Hans Fischer recebeu em 1930 o Prêmio Nobel de Química pela síntese e elucidação da estrutura do heme, grupo prostético da hemoglobina (STERNBERG; DOLPHIN 1998; MILGROM, 1997).

A nomenclatura das porfirinas, segundo a IUPAC, baseia-se na numeração do macrociclo central que contém 20 átomos de carbono e 4 átomos de nitrogênio (IUPAC, 1960). Fischer desenvolveu outro sistema de nomenclatura para porfirinas muito utilizado (Figura 4). Neste sistema, as letras A, B, C e D identificam as unidades pirrólicas, sendo que cada unidade é constituída por carbonos β -pirrólicos (numerados de 1 a 8) e por carbonos α -pirrólicos (sem numeração). Os carbonos metínicos são representados por letras gregas α , β , δ , γ (MOSS, 1987; NYMAN; HYNNINEN, 2004).

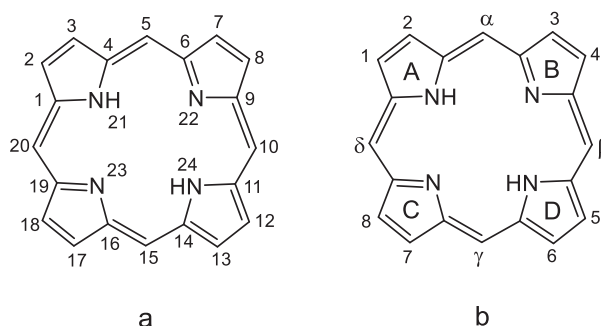


Figura 4 – Sistema de numeração do anel porfirínico segundo a IUPAC (a) e Fischer (b)
Fonte: O autor (2018)

O núcleo porfirínico é um sistema conjugado, que obedece à regra de Hückel ($4n+2$ elétrons π , $n = 0, 1, 2, 3, \dots$), constituído por 22 elétrons π ($n = 5$). Devido à sua conjugação e aromaticidade, estes compostos que são altamente corados e fluorescentes, exibem espectros de absorção e de emissão de fluorescência característicos. O espectro de absorção na região UV/Vis é caracterizado por uma banda de absorção próxima de 400 nm, de alta absorvidade molar, denominada banda Soret ou banda B ($S_0 \rightarrow S_2$), e por um conjunto de quatro

bandas menores entre 500–650 nm, de menor intensidade, denominadas bandas Q ($S_0 \rightarrow S_1$) (Figura 5) (STERNBERG; DOLPHIN 1998; MILGROM, 1997).

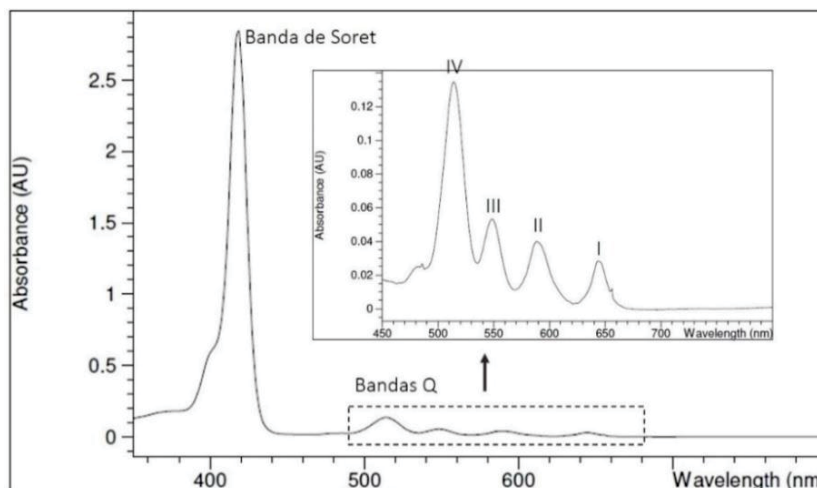


Figura 5 – Espectro de absorção na região UV/Vis característico de porfirinas
Fonte: O autor (2018)

Essas mesmas características também influenciam o espectro de RMN de ^1H das porfirinas através de efeitos anisotrópicos. No espectro de porfirinas livres existe um sinal em δ entre -2 e -4 ppm, correspondente à ressonância magnética dos hidrogênios ligados ao nitrogênio do anel porfirínico, devido à forte blindagem sofrida pela corrente eletrônica em torno do anel. Esta mesma corrente, desprotege os hidrogênios *meso* e β -pirrólicos, deslocando o sinal de ressonância dos mesmos para campos mais baixos (δ 10–11 ppm e δ 8–9 ppm) (TOMÉ, 2001; STERNBERG; DOLPHIN 1998; MILGROM, 1997).

Em mamíferos as porfirinas são biossintetizadas a partir do aminoácido glicina. Nos sistemas biológicos, atuam como cofatores em processos como: transporte de oxigênio, na hemoglobina; armazenamento de oxigênio, na mioglobina; cadeia de transporte de elétron, no citocromo C, entre outros. Metais também são comumente encontrados associados às porfirinas em sistemas biológicos, como o ferro nas hemoproteínas (NELSON; COX, 2006).

As porfirinas sintéticas e semissintéticas possuem um papel importante no desenvolvimento de áreas como a biologia, medicina e engenharia (AKSENOVA; SEBYAKIN; MIRONOV, 2003), devido às suas aplicações em diversas campos de estudo como catálise (YUAN *et al.*, 2017; SIMONNEAUX *et al.*, 2006), sensores químicos, semicondutores, supercondutores, cristais líquidos (LEE, HUPP, 2006;

PURELLO, GURRIERI, LAUCERI, 1999), tratamento de efluentes (COSTA *et al.*, 2008), modelos de sistemas fotossintéticos (SOLLADIÉ, HAMEL, GROSS, 2000), inativação fotodinâmica de micro-organismos (PERUSSI, 2007) e na terapia fotodinâmica (AICHER *et al.*, 2011).

Dentre os diversos derivados porfirínicos propostos recentemente, os derivados catiônicos têm recebido especial atenção, como no trabalho de Jensen e colaboradores (2010) no qual foi estudado e avaliado o efeito citotóxico de moléculas com diferentes graus de cargas positivas (Figura 6).

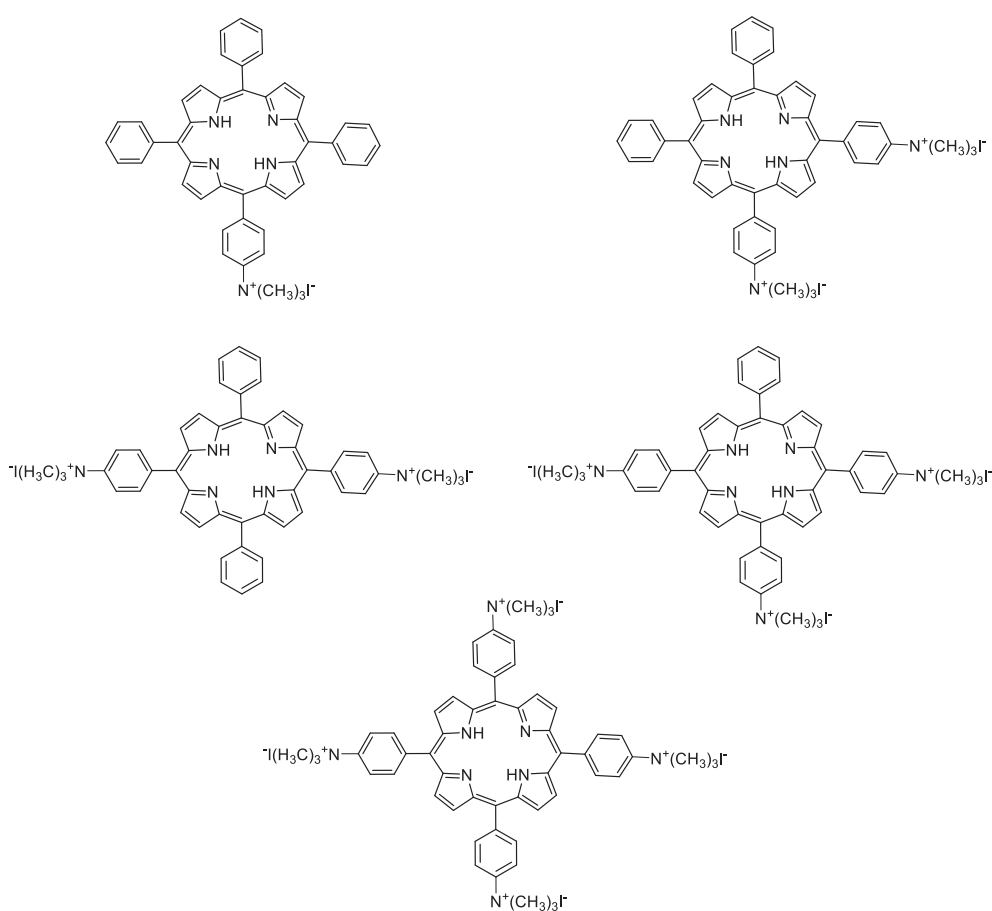


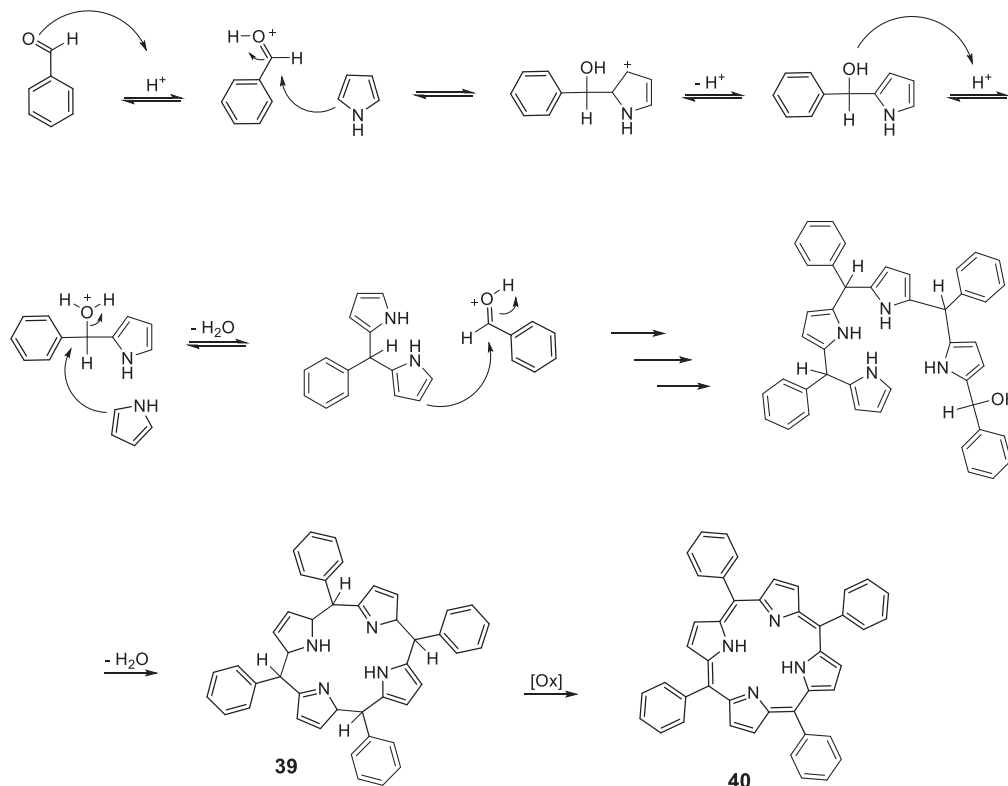
Figura 6 – Porphirinas sintéticas avaliadas biologicamente
Fonte: adaptado de JENSEN *et al.*, 2010

A melhor eficácia de compostos catiônicos está relacionada com a capacidade de interagirem com DNA e RNA, que possuem características aniônicas, causando eficiente morte celular (VILLANUEVA; JORI, 1993; McMILLIN *et al.*, 2005). Existem ainda outros alvos importantes para porfirinas catiônicas, como mitocôndria e lisossomos (KESSEL; LUGUYA; VICENTE, 2003). Moléculas anfifílicas, que

possuem ambas porções hidrofóbicas e hidrofílicas (preferencialmente carregadas), geralmente possuem melhor eficácia terapêutica, por possuir melhor permeabilidade em membranas (JENSEN *et al.*, 2010; SLOMP *et al.*, 2017).

2.2.1.1 Síntese de porfirinas

O método de ciclocondensação-oxidação de Adler e colaboradores (1967) é um dos mais utilizados na síntese de porfirinas. Esta metodologia utiliza pirrol, derivados de benzaldeído e ácido propiônico como solvente, em refluxo. A reação ocorre através da condensação do pirrol com os benzaldeídos, substituídos ou não, que resultam no porfirinogênio **39**. A reação é conduzida na presença de ar atmosférico, já que oxigênio é necessário para oxidação do porfirinogênio, resultando no núcleo estrutural característico de porfirinas, substituído nas posições *meso* pelos anéis aromáticos, substituídos ou não, derivados dos aldeídos utilizados (MILGROM, 1997; MERHI, 2013). O mecanismo de ciclocondensação é mostrado no Esquema 9.



Esquema 9 – Mecanismo da reação de Adler
Fonte: adaptado de MILGROM, 1997

Este tipo de reação tem como produtos as respectivas porfirinas com diferentes padrões de substituição (Figura 7), que são separadas cromatograficamente. Para obtenção de um desses derivados com maior rendimento, é necessária a adequação estequiométrica da reação.

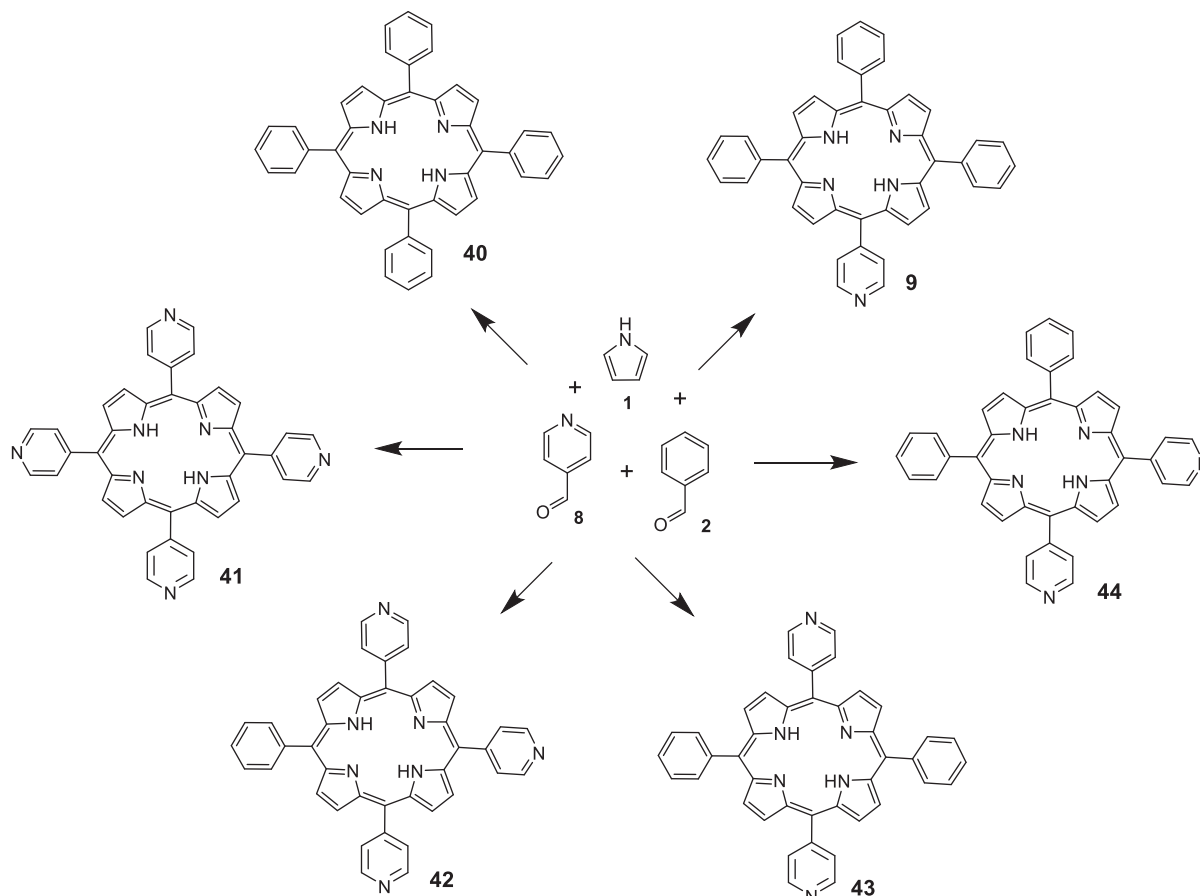
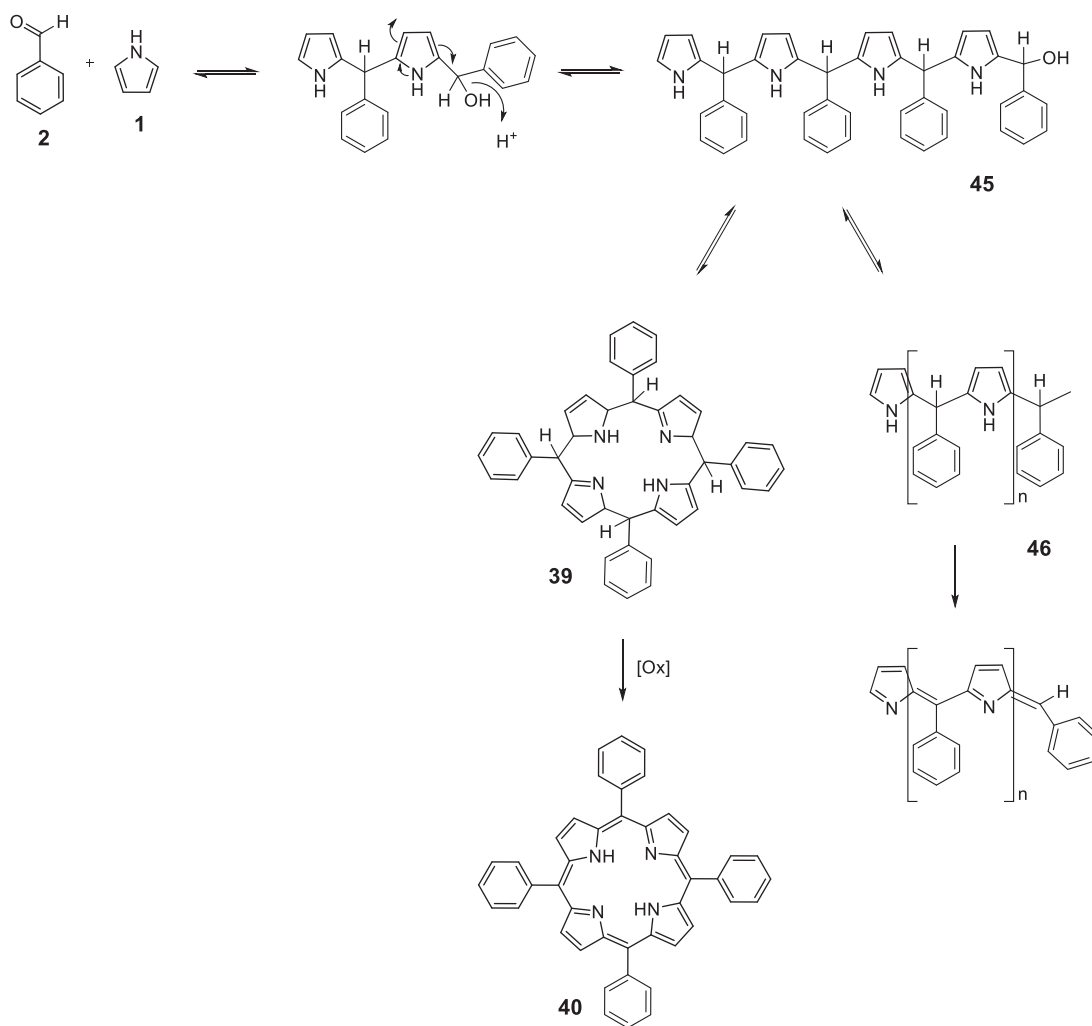


Figura 7 – Porphirinas resultantes de reação de ciclodensação utilizando aldeídos diferentes
Fonte: O autor (2018)

O método de Adler é eficiente na obtenção de porfirinas simétricas, porém existem algumas limitações. Caso os aldeídos possuam grupos sensíveis, esta metodologia não é ideal, devido à condição de refluxo em temperatura elevada (141°C) (MERHI, 2013).

Outra condição bastante aplicada na química de porfirinas é a de Lindsey e colaboradores (1987) que permite a obtenção de porfirinas em condições brandas. Para essa reação, geralmente são utilizados solventes clorados, como clorofórmio ou diclorometano. A condensação de pirrol e aldeído é catalisada por ácido de Lewis, como BF_3OEt_2 ou ácido trifluoroacético (TFA), para a formação do tetrapirrolmetano

45 (Esquema 10). Nesse ponto existe uma competição entre a formação de porfirinogênio **39**, caso ocorra ciclização, e polipirrometano **46**, caso ocorra polimerização. Oxigênio presente no ar atmosférico não é suficiente para oxidação nesse caso. Para desidrogenação do porfirinogênio é necessário o uso de agentes oxidantes, como tetracloro-1,4-benzoquinona (*p*-cloranil) ou 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (LINDSEY *et al.*, 1987; MERHI, 2013).



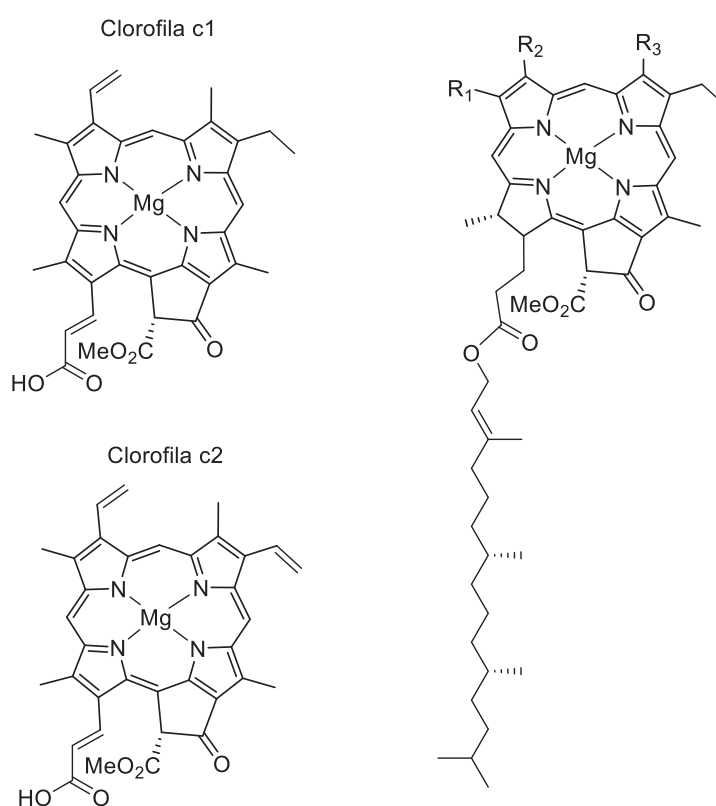
Esquema 10 – Mecanismo da reação de Lindsey
Fonte: adaptado de MERHI, 2013

2.2.2 Clorinas

A di-hidroporfirina resultante da saturação de uma dupla ligação periférica pirrólica de uma porfirina é chamada de clorina. A classe das clorinas inclui clorofilas, feofitinas e bacterioclorofilas c, d, e, f. As bacterioclorofilas a, b e g

pertencem à classe das bacterioclorinas, com duas ligações reduzidas (JINADASA *et al.*, 2011; JINADASA, 2013).

As clorofilas, encontradas nos cloroplastos, regulam a fotossíntese de plantas e cianobactérias, como catalisadores, permitindo absorção e conversão de energia da luz em energia química. A maioria das clorofilas (a, b, d, f) são da classe das clorinas e possuem um íon central de magnésio na sua composição (Figura 8). As clorofilas c1 e c2 não possuem ligação pirrólica reduzida e, portanto, são derivados porfirínicos (GRIMM *et al.*, 2006; JINADASA, 2013).



	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila d	Clorofila f
R ₁	-CH ₃	-CH ₃	-CH ₃	-CHO
R ₂	-CH=CH ₂	-CH=CH ₂	-CHO	-CH=CH ₂
R ₃	-CH ₂ CH ₃	-CHO	-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₃

Figura 8 – Estruturas químicas das diferentes clorofilas
Fonte: O autor (2018)

A redução característica de uma das posições pirrólicas periféricas provoca o aumento da banda de maior intensidade e deslocamento do $\lambda_{\text{máx}}$ para o vermelho. As clorinas, geralmente, possuem uma forte banda de absorção na região entre 640–700 nm, dependendo dos seus substituintes no macrociclo (NYMAN; HYNNINEN, 2004; SPIKES, 1990).

As clorinas são, então, superiores comparadas com as porfirinas como FS na PDT. Como exemplo, o Foscan[®] (5,10,15,20-tetraquis(3-hidroxifenil)clorina ou *m*THPC), um FS da classe das clorinas (Figura 9), é utilizado em alguns países para tratamento de câncer de cabeça e pescoço e apresenta vantagens em comparação com o Photofrin[®]. É cerca de 200 vezes mais eficiente na mesma concentração e permite a utilização de doses de luz mais baixas para alcançar resultados similares (TEITEN *et al.*, 2001; HIROHARA *et al.*, 2005; COUTIER *et al.*, 1999).

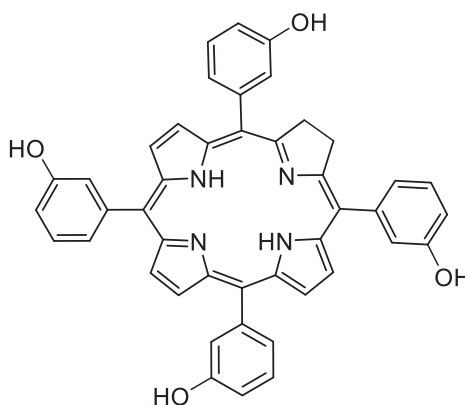


Figura 9 – Estrutura química do Foscan[®]
Fonte: O autor (2018)

Outra vantagem do uso de clorinas como FS sobre as porfirinas é o fato de que as porfirinas sintéticas são obtidas, geralmente, com rendimentos considerados baixos, utilizando diversos reagentes químicos. Já as clorinas e bacterioclorinas podem ser obtidas de fontes naturais, como plantas e algas, gerando grandes quantidades de compostos, que podem ser facilmente extraídos e purificados (HYNNINEN, 1977). Portanto, as clorinas possuem alto potencial para ser explorado dentro da PDT.

2.2.3 BODIPYs

Um tipo de FS não-porfirínico que vem se destacando na literatura são os BODIPYs. O núcleo 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, ou núcleo BODIPY, encontra-se presente em estruturas químicas formadas por duas unidades pirrólicas ligadas através de um átomo de carbono na posição *meso* e com um átomo de boro para construir a estrutura tricíclica deste composto (Figura 10). Os BODIPYs absorvem intensamente no UV, emitem picos de fluorescência, geram altos rendimentos quânticos, são foto e quimicamente estáveis e podem ser lipofílicos ou hidrofílicos, o que faz com que possuam potencial para diversas modificações e aplicações (LOUDET; BURGESS, 2010; LIM *et al.*, 2010; YOGO *et al.*, 2005).

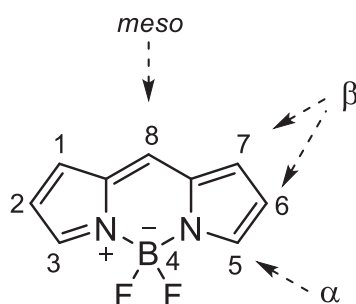


Figura 10 – Estrutura química dos BODIPYs
Fonte: O autor (2018)

O estudo de BODIPYs como FS é recente. Em 2002, o primeiro trabalho foi reportado com resultados sobre estes compostos e suas aplicações na PDT. A partir de então, novos estudos têm explorado esta classe de FS (AWUAH; YOU, 2012; ATILGAN *et al.*, 2006).

A aplicação mais estudada dos BODIPYs é como sondas fluorescentes para imagem diagnóstica, já que esses compostos apresentam alta fluorescência ($S_1 \rightarrow S_0$) (LOUDET; BURGESS, 2007; BOENS; LEEN; DEHAEN, 2012). Essa característica não é desejável para PDT, sendo que uma alta fluorescência significa uma baixa transição para o estado tripleto excitado (T1), estado no qual ocorre transferência de energia para formação de espécies reativas de oxigênio ($T_1 + O_2 \rightarrow S_0 + {}^1O_2$). Um bom FS produz T1 de forma eficiente através de cruzamento intersistema: $S_1 \rightarrow T_1$. Entretanto, essa transição de estado de spin não acontece de forma eficiente em BODIPYs, que devem ser modificados quimicamente para tornarem-se bons FS (ZHANG, 2018; ORTIZ *et al.*, 2012; KAMKAEW *et al.*, 2013).

As modificações químicas nesse caso almejam, então, a obtenção de moléculas que apresentem um cruzamento intersistema mais eficiente. Os átomos de número atômico relativamente alto (como alguns halogêneos) são capazes de facilitar o cruzamento intersistema de compostos orgânicos e aumentar a produção de oxigênio singleto, fenômeno denominado efeito do átomo pesado (Figura 11). O efeito do átomo pesado pode ser descrito como o aumento de um processo spin-proibido induzido pela presença de um átomo de alto número atômico. A conversão para o estado T1 manifesta-se pela diminuição de fluorescência e aumento da produção de oxigênio singleto (ZOU *et al.*, 2017; KÖKSOY *et al.*, 2017; ZHAO *et al.*, 2015; REY *et al.*, 2017).

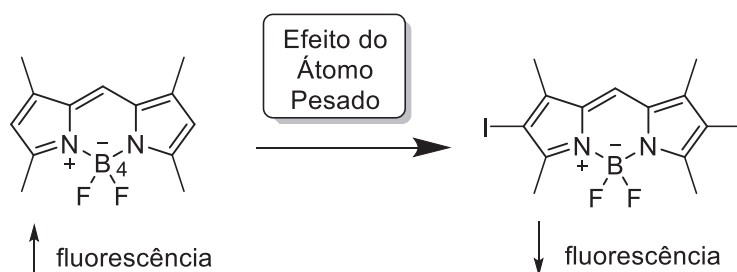


Figura 11 – Efeito do átomo pesado
Fonte: O autor (2018)

Existem três formas para obter um BODIPY halogenado: halogenação do pirrol ou do dipirrometano precursor, ou substituição eletrofílica no BODIPY já sintetizado. No último caso, as posições 2 e 6 apresentam-se mais susceptíveis a esta reação. As reações mais exploradas na literatura são a bromação e a iodação. Na maioria dos casos a incorporação de iodo mostra-se mais eficaz que o bromo (AWUAH; YOU, 2012; KAMKAEW *et al.*, 2013 ; LI; HUANG; HU, 2012; YOGO *et al.*, 2005; ORTIZ *et al.*, 2012).

Outra modificação química que se mostra interessante, adicional à halogenação, é a cationização. Nesse caso, os BODIPYs halogenados e cationizados possuem potencial como FS na PDT de micro-organismos, especialmente fungos e bactérias, que apresentam maior sensibilidade à estas cargas (CARUSO *et al.*, 2012).

2.3 FOTOSSENSIBILIZADORES CONJUGADOS

A conjugação consiste na ligação covalente entre duas ou mais moléculas distintas a fim de se atingir uma função específica. Essa técnica tem sido explorada para obtenção de moléculas para diversas aplicações biomédicas (AHADIAN *et al.*, 2015). Para aprimorar sua atividade, a conjugação de fotossensibilizadores com outras moléculas que acrescentem alguma função biológica ao mesmo é bastante utilizada. A conjugação pode ser com elementos que aumentem seu reconhecimento celular (*targeting*) (BIGEY *et al.*, 1997), que melhorem sua solubilidade (MBAKIDI *et al.*, 2013) ou que aumentem sua eficácia biológica (HIROHARA *et al.*, 2005).

As moléculas mais utilizadas para conjugação são os carboidratos (HIROHARA *et al.*, 2005; DALLAGNOL *et al.*, 2014), proteínas (SUTTON *et al.*, 2002; HAMBLIN; MILLER; ORTEL, 2000), peptídeos (KAMARULZAMAN *et al.*, 2015; SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2005), oligonucleotídeos (BIGEY *et al.*, 1997) e anticorpos monoclonais (VROUENRAETS *et al.*, 2000), utilizando diferentes técnicas de conjugação. Também, diversos sistemas poliméricos têm sido investigados, utilizando, por exemplo, polietilenoglicol e PF127 (HAMBLIN *et al.*, 2001; PARK; NA, 2013). Nesse caso, o uso de biopolímeros, polímeros que ocorrem naturalmente, possui a vantagem de contornar questões relativas a citotoxicidade, que podem acontecer com polímeros sintéticos (SHRESTHA; KISHEN, 2012).

Estudos anteriores demonstraram que as porfirinas mantiveram suas propriedades mesmo quando conjugadas com nanotubos de carbono, quitosana ou celulose e que estes polímeros modificados podem ser utilizados sozinhos ou na forma de membranas ou filmes (MBAKIDI *et al.*, 2013).

2.4 POLISSACARÍDEOS LIGADOS COVALENTEMENTE A PORFIRINAS

Materiais baseados em polissacarídeos são estudados em campos como ciência de materiais, farmácia, medicina, química verde e outros (HASEGAWA *et al.*, 2006).

A obtenção e investigação de materiais baseados em polissacarídeos e FS, como as porfirinas, para fins terapêuticos pode ser interessante pelas seguintes razões:

(a) A fácil exposição da pele à luz faz com que o uso da PDT seja frequente em afecções dermatológicas. Queratose actínica e outros tipos de tumores, assim como doenças não malignas, como psoríase e infecções, demonstraram resposta clínica positiva ao tratamento com PDT (RISALITI *et al.*, 2018; SLOMP *et al.*, 2017). A utilização de FS ligado a um polissacarídeo é interessante nesse contexto pois poderia facilitar a aplicação local, aumentar a seletividade do tratamento e preservar o tecido saudável adjacente à lesão, ao evitar a difusão do FS no tecido saudável.

(b) Lesões cutâneas podem acontecer por diversas razões como trauma mecânico, procedimentos cirúrgicos, queimaduras ou mesmo em atividades diárias. A maioria dessas lesões são capazes de se regenerar mesmo sem maiores intervenções, porém lesões extensas e/ou irreversíveis precisam de auxílio para que o processo regenerativo aconteça. Esse auxílio ocorre na forma de curativos, por exemplo filmes poliméricos (*wound dressing*). Esses filmes atuam como materiais de revestimento que evitam perda de fluidos e entrada de patógenos (ANTUNES *et al.*, 2015). Diversos polissacarídeos são utilizados na elaboração de *wound dressing*, pois possuem as características ideais de permeabilidade, transporte de fluidos, propriedades mecânicas e compatibilidade com a pele (SYNYTSYA *et al.*, 2012). A colonização bacteriana em lesões é alvo de grande preocupação. Especialmente em queimaduras, a invasão sistêmica de patógenos através da lesão é causa primária de complicações sérias e morte. O uso de antibiótico tópico profilático é comum, mas existem relatos de ineficiência, assim como com o uso de antibióticos orais (ORENSTEIN *et al.*, 1998). Nesse sentido, o uso de polissacarídeos juntamente com porfirinas em *wound dressing* é interessante ao passo que sua atividade é comprovada na inativação de diversos micro-organismos (PDI) (DI POTO *et al.*, 2009; COLLINS *et al.*, 2010).

(c) A incidência de doenças originadas devido à água contaminada é cada vez maior especialmente em países em desenvolvimento. É importante a remoção de micro-organismos patógenos como bactérias, vírus, protozoários e ainda vetores artrópodes de patógenos. Dentre os métodos utilizados para desinfecção da água, como filtração e tratamento com ultravioleta, os agentes químicos são os mais utilizados, como cloro e ozônio (BONNETT *et al.*, 2006). O uso de agentes químicos faz com que aumente o número de micro-organismos resistentes. A capacidade fotoinativadora de porfirinas sobre uma extensa variedade de micro-organismos, juntamente com luz solar disponível sem custo em países tropicais em

desenvolvimento, despertou o interesse de grupos de pesquisa pela utilização de PDI no tratamento de água. A PDI é eficaz inclusive contra patógenos resistentes e não produz resistência por processo mutagênico no tratamento contínuo (CARVALHO *et al.*, 2008). Alguns FS já foram estudados para tratamento de água mas com a sua utilização na forma de solução. Essa forma não é adequada para esta finalidade já que pode haver resíduos de FS na água, o que não é aceitável. O uso de porfirinas imobilizadas por adsorção em suportes poliméricos, como a celulose, foi explorado em alguns trabalhos demonstrando alta eficiência. Nesse caso, o FS estaria atuando pela geração de espécies reativas de oxigênio na superfície do filme e causando danos aos micro-organismos próximos, ou haveria a liberação lenta do FS do filme polimérico na água. O segundo caso não seria aceitável pois, assim como no uso de FS em solução, o FS contaminaria a água (BONNETT *et al.*, 2006; COPPELLOTTI *et al.*, 2012). Nesse sentido, o estudo de um novo sistema de desinfecção de água baseado em polissacarídeo-porfirina ligados covalentemente de forma irreversível faz-se interessante.

É importante destacar a existência de poucos trabalhos explorando a ligação covalente entre porfirinas e polissacarídeos (HASEGAWA *et al.*, 2006; FEESE *et al.*, 2011; CARPENTER *et al.*, 2012; CHAUHAN, *et al.*, 2013). Estes trabalhos, de um modo geral, basearam-se na ligação entre a cadeia polissacarídica e as porções porfirínicas através do grupo triazol, via *click chemistry*. Esta estratégia é demonstrada nos estudos de Carpenter e colaboradores (2012) e de Feese e colaboradores (2011) que avaliaram a capacidade de fotoinativação bacteriana de porfirinas ligadas à celulose via anel triazol (Figuras 12 e 13). Entretanto, já foi reportado que a associação do grupo triazol a anéis porfirínicos pode levar à diminuição da atividade fotodinâmica da molécula resultante (LAFONT *et al.*, 2013). Desta forma o estudo de novas formas de se associar porfirinas a polissacarídeos representa um campo científico ainda inexplorado.

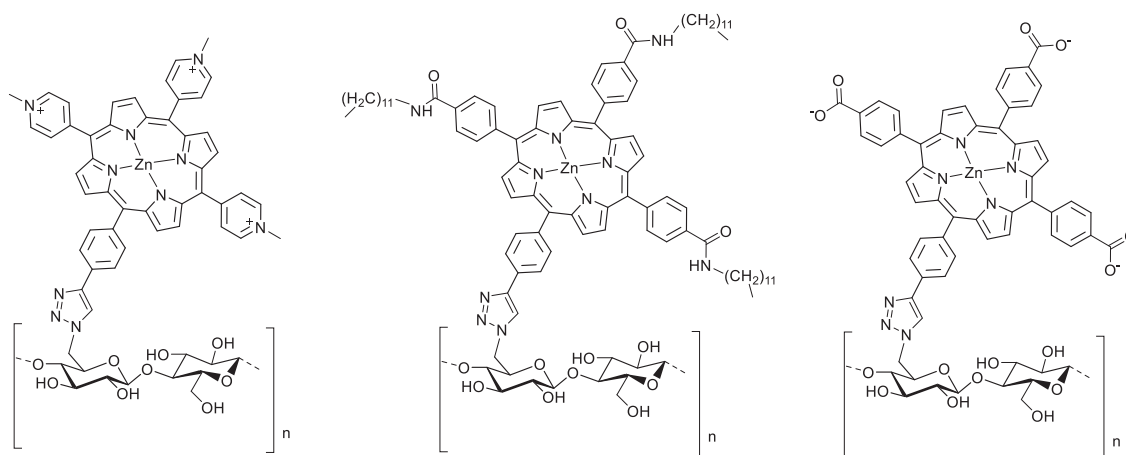


Figura 12 – Polímeros celulose-porfirina obtidos via *click chemistry*
 Fonte: adaptado de CARPENTER *et al.* 2012

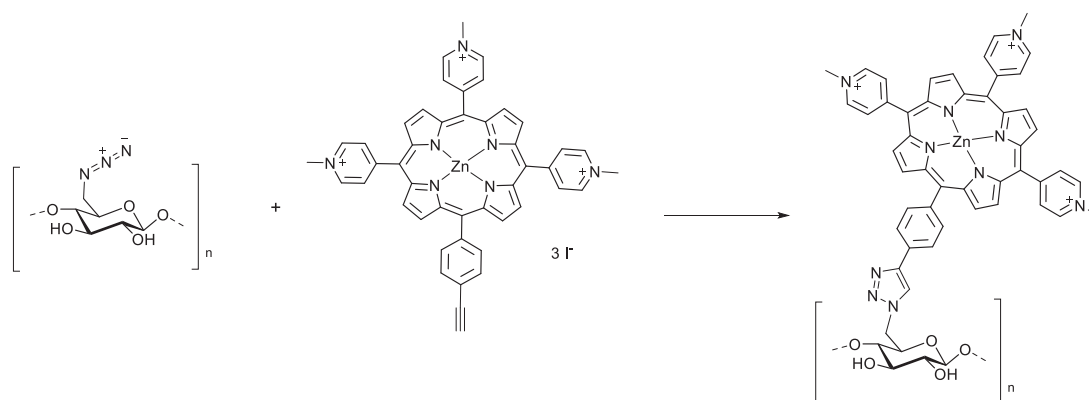


Figura 13 – Utilização da *click chemistry* para obtenção da celulose ligada a anéis porfirínicos através do anel triazólico
 Fonte: adaptado de FEESE *et al.*, 2011

2.5 POLISSACARÍDEOS DE ALGAS VERMELHAS

As algas vermelhas, assim denominadas devido à sua coloração característica, são formadas por 5 a 6 mil espécies diferentes, sendo a maioria de águas marinhas (GRAHAM; WILCOX, 2000). A parede celular dessas algas é composta por uma porção microfibrilar de celulose e uma porção mucilaginosa amorfa (BOLD; WYNNE, 1985). Da porção mucilaginosa são extraídos os polissacarídeos, principalmente galactanas sulfatadas (GRAHAM; WILCOX, 2000).

As galactanas possuem como estrutura química básica repetitiva uma unidade de β -D-galactopiranosose (A), ligada glicosidicamente através dos carbonos 1 e 3, e uma unidade de α -galactopiranosose (B), ligada através dos carbonos 1 e 4.

A estereoquímica da unidade B apresenta grande importância na classificação das galactanas de algas vermelhas. Se a unidade B pertencer à série D-, esta galactana é classificada como carragenana. Se a unidade B pertencer à série L-, esta galactana é classificada como agarana (PAINTER, 1983). Ainda, a unidade B pode estar presente em ambas as formas D- e L- e essas galactanas são denominadas DL-híbridas (STORTZ; CERESO, 2000). A unidade B das galactanas pode ou não formar uma estrutura cíclica formando um anel de 3,6-anidrogactopirranose (Figura 14).

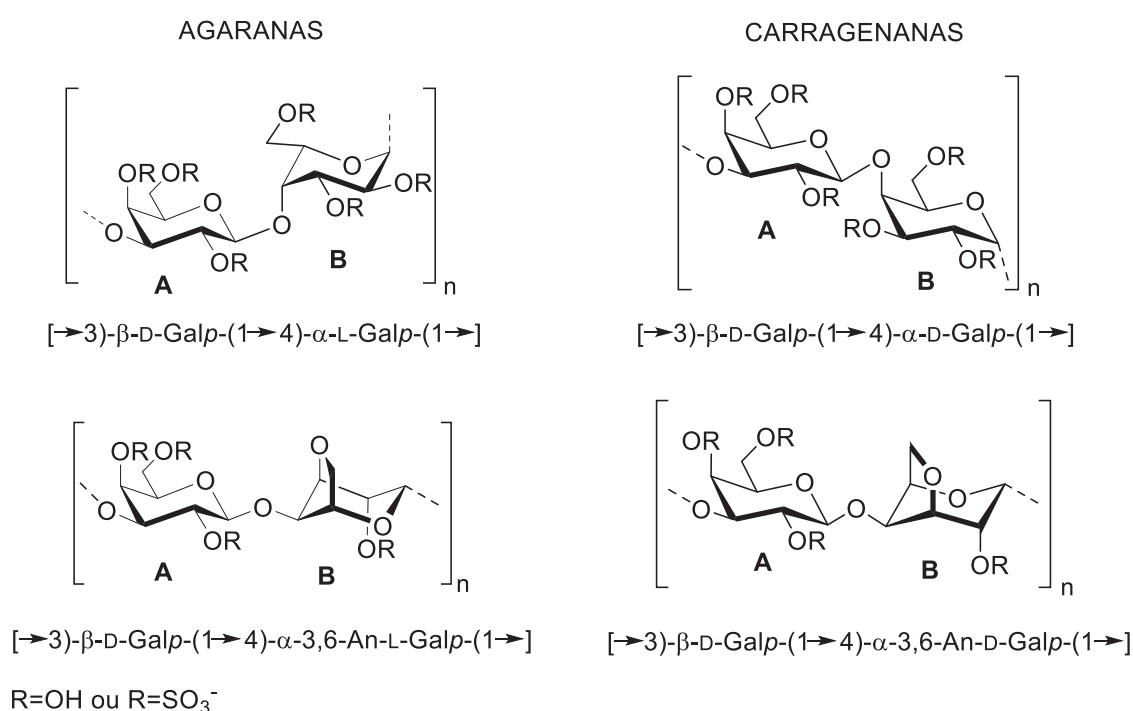


Figura 14 – Estrutura básica repetitiva das agaranas e carragenanas
 Fonte: O autor (2018)

Apesar de muitas destas galactanas apresentarem estruturas químicas complexas, devido às possíveis variações das unidades B e das diversas possibilidades em termos de padrão de substituição, existem algumas carragenanas e agaranas que apresentam um padrão estrutural bastante repetitivo, como as unidades dissacarídicas repetitivas que constituem a agarose $[\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-Galp-(1}\rightarrow 4)\text{-}3,6\text{-Ani-}\alpha\text{-L-Galp-(1}\rightarrow]$ e a *kappa*-carragenana $[\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-Galp-4-sulfato-(1}\rightarrow 4)\text{-}3,6\text{-Ani-}\alpha\text{-D-Galp-(1}\rightarrow]$. O caráter repetitivo destes polissacarídeos representa uma oportunidade para a obtenção de materiais iniciais destinados a processos semissintéticos (GONÇALVES, *et al.*, 2005; GONÇALVES, *et al.*, 2007; DUCATTI, *et al.* 2009).

2.5.1 Agarose

A agarose (Figura 15) é um heteropolissacarídeo, produzido por algas marinhas da ordem Rhodophyta (algas vermelhas), com massa molecular de aproximadamente $120.000 \text{ g.mol}^{-1}$ (NELSON; COX, 2006).

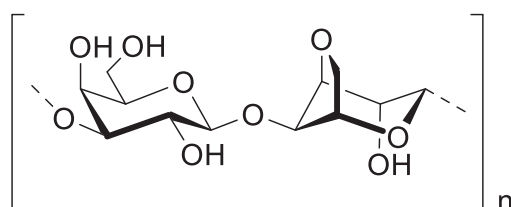


Figura 15 – Estrutura química da agarose
Fonte: O autor (2018)

A agarose possui a capacidade de formar géis devido à relativa hidrofobicidade de sua unidade repetitiva básica e sua substituição por grupos polares como a hidroxila, o que a faz útil em diversos campos de pesquisa (LAHAYE; ROCHAS, 1991). Como exemplo, géis de agarose são empregados como suporte inerte para separação eletroforética de ácidos nucleicos (BAS *et al.*, 2014; SHUKLA *et al.*, 2014), para meio de cultivo sólido de micro-organismos (ARMISEN, 1991), para melhorar a superfície de sistemas nanoparticulados (DE ROSA *et al.*, 2011), na liberação controlada de fármacos (*drug delivery*) (MARRAS-MARQUEZ, PEÑA; VEIGA-OCHOA, 2014) e na área biomédica (ROSSI *et al.*, 2011).

Sua característica inerte, biocompatível, com propriedades físico-químicas e mecânicas interessantes a fizeram um alvo para obtenção de biomateriais, na forma de gel ou filme, para aplicação em regeneração de tecidos e cicatrização de lesões (THET *et al.*, 2016). Ainda, possui alta capacidade de absorção de água, útil para o crescimento, diferenciação e proliferação celular. Biomateriais de agarose demonstraram permeação adequada de oxigênio e nutrientes para eficiente crescimento celular (BAO *et al.*, 2010; NINAN *et al.*, 2016; ZARRINTAJ *et al.*, 2018). Awadhiya e colaboradores (2017) desenvolveram um filme de agarose com porosidade e características mecânicas apropriadas para uso como *wound dressing*. As mesmas características físico-químicas e de adesão levaram Tripathi e colaboradores (2011) a desenvolverem um biomaterial utilizando agarose para diversas aplicações, como no processo de filtração para tratamento de água.

2.5.2 Carragenanas

As carragenanas são classificadas em diversos grupos como λ (lambda), κ (kappa), ι (iota), ν (nu), μ (mu), θ (theta) e ξ (Ksi), contendo entre 22-35% de grupos sulfato. A classificação atribuída reflete o grau de sulfatação em posições específicas do polímero e a presença ou ausência da unidade 3,6-anidro- α -D-galactopiranosose (STORTZ; CERESO, 1992; CAMPO *et al.*, 2009). As diferentes estruturas químicas de carragenanas estão relacionadas com a alga de que são extraídas, a fase do ciclo de vida da alga no momento da extração e o procedimento de extração. Dentre as mais de 15 diferentes estruturas reportadas, as formas *kappa* (κ), *iota* (ι) e *lambda* (λ) são as mais relevantes e utilizadas na indústria. A *kappa*-carragenana (Figura 16) apresenta um grupo sulfato por unidade dissacarídica na posição C4 da unidade β -D-galactopiranosose e é extraída de *Kappaphycus spp.* (NECAS; BARTOSIKOVA, 2013; CUNHA; GRENHA, 2016; KNUTSEN *et al.*, 1994).

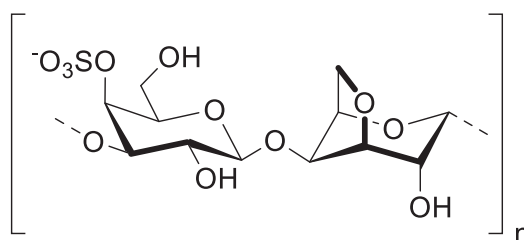


Figura 16 – Estrutura química da *kappa*-carragenana
Fonte: O autor (2018)

A composição e a conformação das carragenanas são responsáveis pelas suas propriedades físico-químicas e biológicas. As carragenanas comerciais apresentam-se na forma de sais de sódio e cálcio, que também influenciam as suas propriedades físicas, como formação de gel. Suas aplicações mais estudadas estão relacionadas com suas propriedades gelificantes e espessantes, na indústria alimentícia, cosmética, farmacêutica e têxtil (ZACHAROPOULOS; PHILLIPS, 1997; CUNHA; GRENHA, 2016).

Suas aplicações na área biomédica são atribuídas às suas propriedades químicas e físico-químicas (Figura 17). Como biomateriais, as carragenanas são biocompatíveis e utilizadas para melhorar dissolução de formulações farmacêuticas, na liberação controlada de fármacos de forma inespecífica e pH/temperatura

específica e na regeneração de tecidos (LIU *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2014; NECAS; BARTOSIKOVA, 2013).

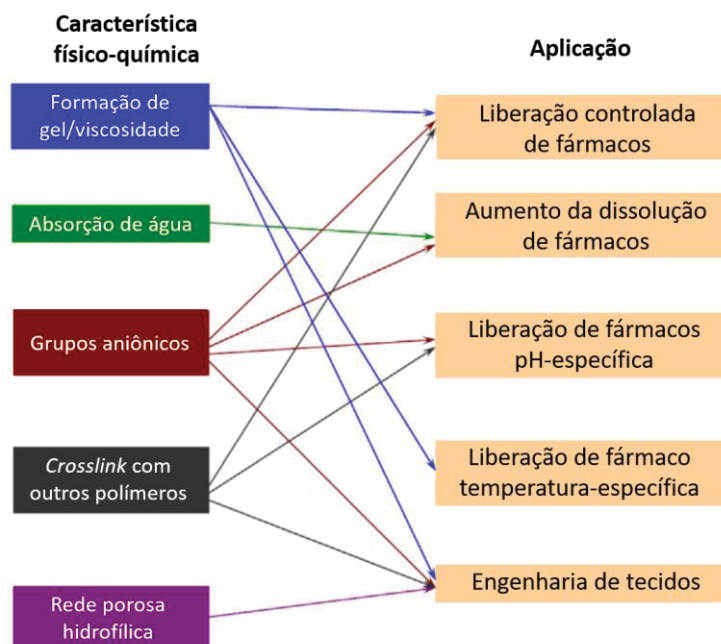


Figura 17 – Relação entre características físico-químicas e aplicações de carragenanas
Fonte: adaptado de Liu *et al.*, 2015

Nair e colaboradores (2016) prepararam nova formulação contendo carragenana para utilização como *wound dressing*. Estudos de suas propriedades mecânicas e biológicas *in vivo* demonstraram alto potencial do novo material para tratamento de lesões. Outros trabalhos também reportaram resultados similares relativos à aplicação de carragenanas nesse campo de estudo, destacando a importância de suas características similares aos glicosaminoglicanos dos tecidos (MIHAILA *et al.*, 2013; PAWAR; TETTEH; BOATENG, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MÉTODOS GERAIS

Os processos sintéticos foram realizados com o uso de reagentes e solventes de grau de pureza apropriados. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD). A purificação dos FS obtidos foi realizada por cromatografia em coluna de sílica “flash”, CCD preparativa e/ou por processos de recristalização. Os polímeros foram purificados por diálise, utilizando-se sacos de diálise com porosidade apropriada. Após o processo de diálise, os polímeros foram liofilizados. Os compostos obtidos foram caracterizados estruturalmente por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{11}B (mono e bidimensionais), espectroscopia na região do infravermelho, espectrometria de massas (MALDI-TOF; ESI-TOF) e/ou UV-Visível.

3.1.1 Métodos cromatográficos

Para as análises de CCD foram utilizadas cromatoplasmas de alumínio com revestimento em sílica gel 60. Para a CCD preparativa foram utilizadas placas de vidro revestidas em sílica gel 60. A aplicação dos compostos de interesse foi realizada com o uso de capilares de vidro ou pipeta Pasteur e as placas foram eluídas com diferentes misturas de solventes, em câmaras de vidro cobertas. A visualização dos compostos foi realizada sem uso de reveladores e/ou por meio de visualização em câmara de ultravioleta.

Os experimentos de cromatografia em coluna foram realizados utilizando sílica gel 60 (230–400 mesh) como fase estacionária e diferentes misturas de solventes como fases móveis.

3.1.2 Métodos espectrométricos

Os experimentos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizados em espectrômetros da marca BRUKER operando nas frequências de 200 MHz, 400 MHz e 600 MHz para o ^1H (Universidade Federal do Paraná e *Louisiana State University* - EUA). As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,6 mL de solventes deuterados (CDCl_3 ou DMSO_{d6}) e

aconditionadas em tubos de RMN de 5 mm de diâmetro. Como padrão interno, para a calibração dos espectros, foi usado o tetrametilsilano (TMS) ou o sinal residual característico do solvente deuterado utilizado (GOTTLIEB; KOTLYAR; NUDELMAN, 1997). Os espectros adquiridos foram processados e interpretados com o auxílio do software TopSpin versão 3.1.

A obtenção dos espectros na região do infravermelho foi realizada com o uso de um espectrômetro ALPHA Bruker, com Transformada de Fourier (TF). A análise direta das amostras foi realizada utilizando acessório de reflectância atenuada - ATR (Centro de Estudos em Biofarmácia - UFPR). O processamento e a interpretação dos espectros deram-se com auxílio do software Opus Viewer.

A caracterização por espectrometria de massas foi realizada utilizando ionização por dessorção a laser assistida por matriz acoplada a analisador de massas de tempo de voo (MALDI-TOF) ou ionização por Eletrospray acoplada a analisador de massas de tempo de voo (ESI-TOF). Para os espectros obtidos por MALDI-TOF foi utilizado espectrômetro MALDI-TOF/MS modelo Autoflex II-Bruker Daltonics (Universidade Federal do Paraná), com o software FlexControl 2.0. As amostras foram adicionadas em placa juntamente com a matriz HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinamínico). A análise e tratamento dos espectros foram realizados com o auxílio do programa FlexAnalysis 2.0. O equipamento utilizado para obtenção dos espectros de ESI foi um Agilent Technologies 6210 ESI-TOF (*Louisiana State University* - EUA).

Para a caracterização por Ultravioleta-Visível (UV-Vis) as amostras foram solubilizadas em DMSO ou CH_2Cl_2 e diluídas para concentração de $12 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Os espectros foram obtidos no espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 (Universidade Federal do Paraná) ou Agilent Cary50 (*Louisiana State University* - EUA). A curva de concentração obtida para a porfirina 7 foi realizada utilizando concentrações entre $0,1$ - $1,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em 414 nm. Os espectros de fluorescência foram obtidos em espectrofotômetro Perkin Elmer LS-55 com as amostras em concentração de $2 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ em DMSO (*Louisiana State University* - EUA).

3.1.3 Desenho Experimental

Os experimentos deste trabalho foram desenvolvidos em parte no laboratório de Síntese de Heterociclos e Glicoconjugados (SinHeGli), na Universidade Federal

do Paraná (UFPR), e parte no laboratório do Dr. Kevin Smith e Dra. Maria da Graça Vicente, do Programa de Pós-Graduação em Química, durante estágio sanduíche na *Louisiana State University* (LSU), EUA.

As porfirinas **4**, **5**, **7** e **9** foram sintetizadas na UFPR, assim como os estudos de conjugação porfirina-polissacarídeo. As porfirinas **12**, **15**, **16**, **18**, **19** e **20**, as clorinas e os BODIPYs foram sintetizados na LSU. A avaliação de propriedades fotodinâmicas de FS foi realizada também na LSU, com a colaboração de Kaitlin E. Griffin e Nichole E. Kaufman para os estudos de geração de oxigênio singlete e da Dra. Zehua Zhou para os testes celulares.

A Figura 18 apresenta o fluxograma das etapas experimentais realizadas.

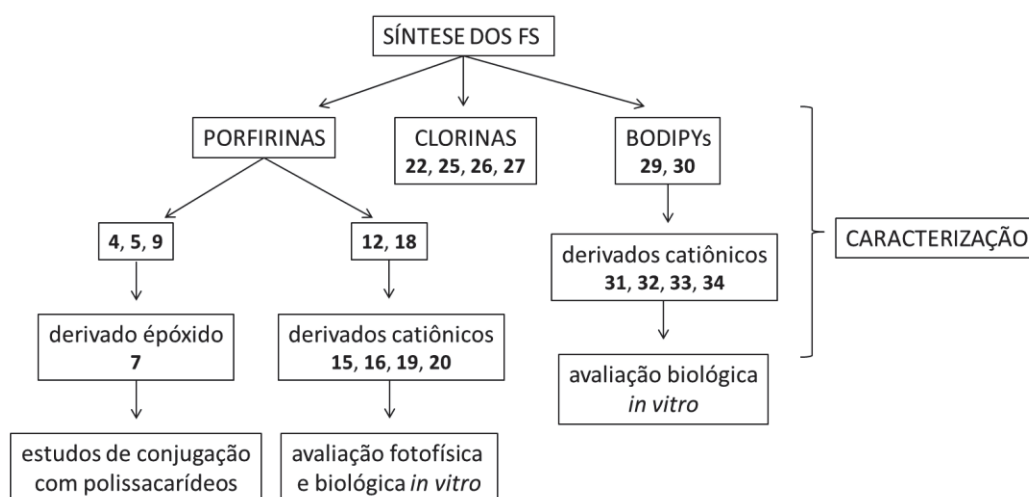


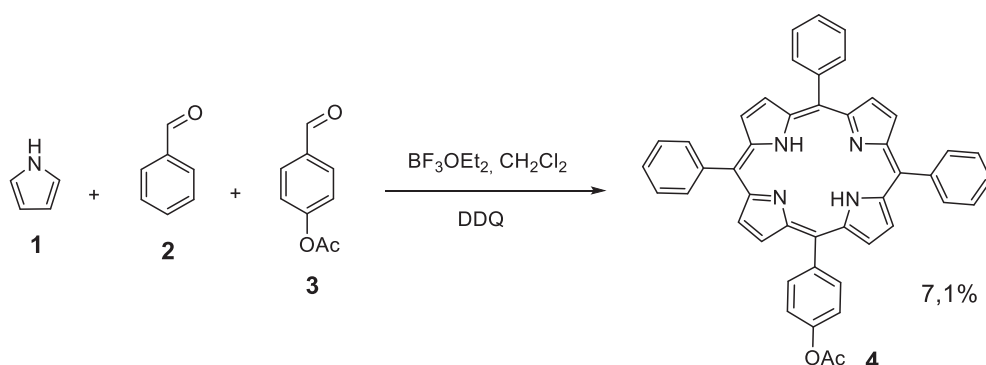
Figura 18 – Fluxograma das etapas experimentais
Fonte: o autor (2018)

3.2 SÍNTESE DAS PORFIRINAS

3.2.1 Síntese da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**4**)

A porfirina **4**, 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina, foi sintetizada baseada na metodologia de Lindsey e colaboradores (1987). Num balão de fundo redondo contendo 40 mL de CH_2Cl_2 foram adicionados pirrol (4 mmol), benzaldeído (3 mmol) e *p*-acetoxibenzaldeído (1 mmol). Gota a gota foi também adicionado o catalisador ácido BF_3OEt_2 (0,3 mmol) (36 μL em 2 mL de CH_2Cl_2). O meio reacional permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 30 min e então iniciou-se a etapa de oxidação, adicionando-se três equivalentes (3 mmol) de DDQ (2,3-dicloro-

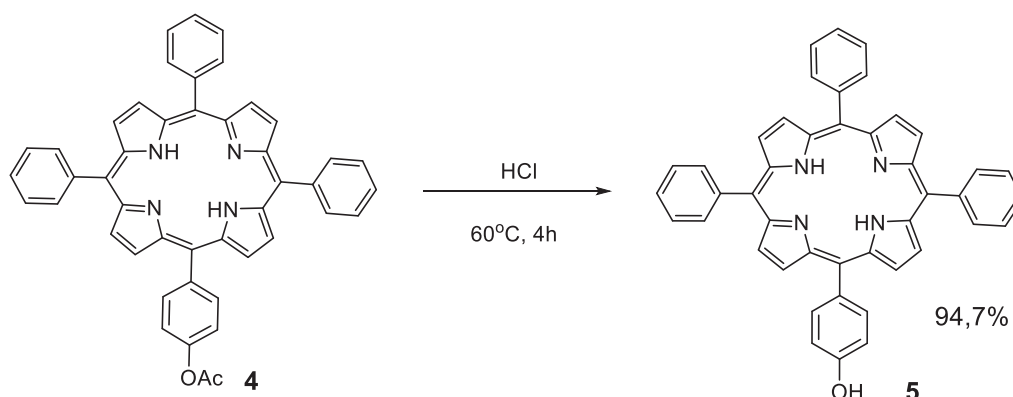
5,6-dicianobenzoquinona). A reação foi mantida sob agitação por mais 1 h. O meio reacional foi filtrado em celite e Florisil[®] e então concentrado em rotaevaporador. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica utilizando como fase móvel CH₂Cl₂/hexano (1:1), obtendo-se rendimento de 7,1% (0,07 mmol) (Esquema 11).



Esquema 11 – Síntese da porfirina **4**

3.2.2 Síntese da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**5**)

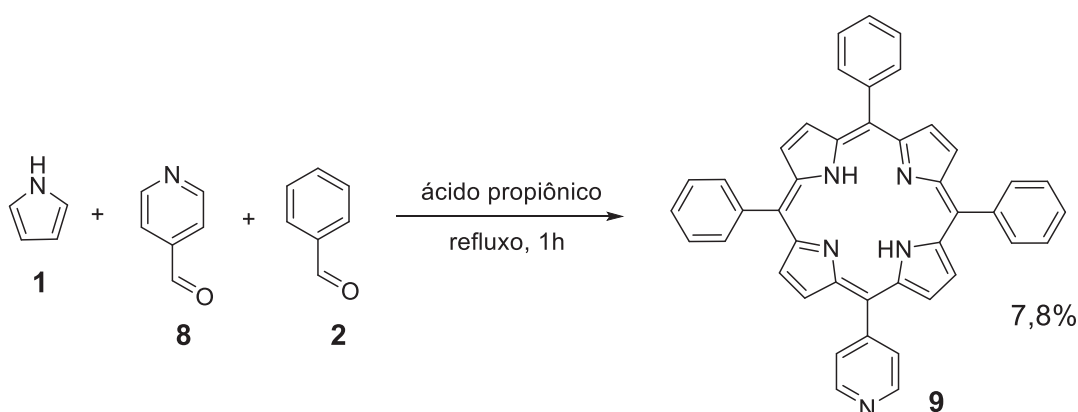
Para a síntese da porfirina **5**, 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina, através de reação de desacetilação, foram adicionados 0,5 mmol da porfirina **4** num balão com 3,5 mL de solução de HCl concentrado (37% p/p). A reação permaneceu por 5 h sob agitação a 60°C. Após resfriar a temperatura ambiente, foram adicionados 50 mL de CH₂Cl₂ e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de Na₂CO₃. O material resultante foi purificado em cromatografia em coluna utilizando como fase móvel CH₂Cl₂/hexano (3:1), obtendo-se 94,7% (0,23 mmol) de rendimento (Esquema 12).



Esquema 12 – Síntese da porfirina **5**

3.2.3 Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-trifenilporfirina (**9**)

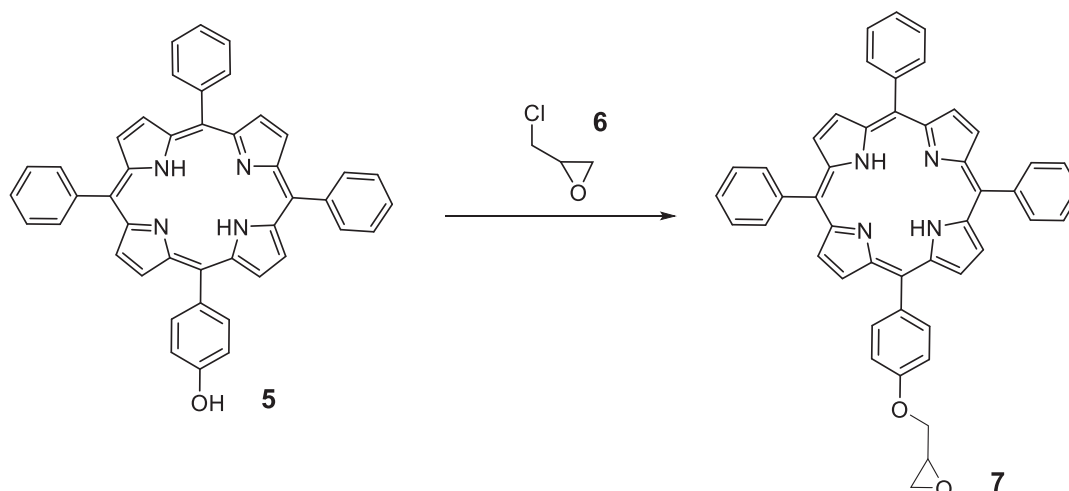
A porfirina **9**, 5-(4-piridil)-10,15,20-trifenilporfirina, foi sintetizada utilizando o método de Adler e colaboradores (1967), com modificações (VANDRESEN, 2013) (Esquema 13). Em um balão de fundo redondo (50 mL), foram adicionados 5 mL de ácido propiônico (solvente e catalisador), 4 mmol de pirrol, 3 mmol de benzaldeído e 1 mmol de piridina-4-carboxaldeído. O meio reacional foi, então, mantido em refluxo (145°C) sob agitação por 1 h. Após este período, 5 mL de acetona foram adicionados para precipitação do produto. Posteriormente, o meio reacional passou por processo de filtração, obtendo-se um sólido roxo que foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como fase móvel $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (98:2). O rendimento obtido para **9** foi de 7,8% (0,07 mmol).



Esquema 13 – Síntese da porfirina **9**

3.2.4 Síntese da 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina (**7**)

Para obtenção do composto **7**, 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina, reações de *O*-alquilação dos grupos hidroxila da porfirina **5** foram realizadas testando condições com epícloridrina (**6**), variando o solvente e a base, e utilizando ou não brometo de tetrabutilamônio (Esquema 14). A mistura de reagentes foi mantida sob refluxo por 5 h e o produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica utilizando fase móvel $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (7:1). Os rendimentos encontrados para **4** encontram-se na Tabela 2.



Esquema 14 – Síntese da porfirina 7

Tabela 2 – Condições sintéticas testadas para obtenção da porfirina 7

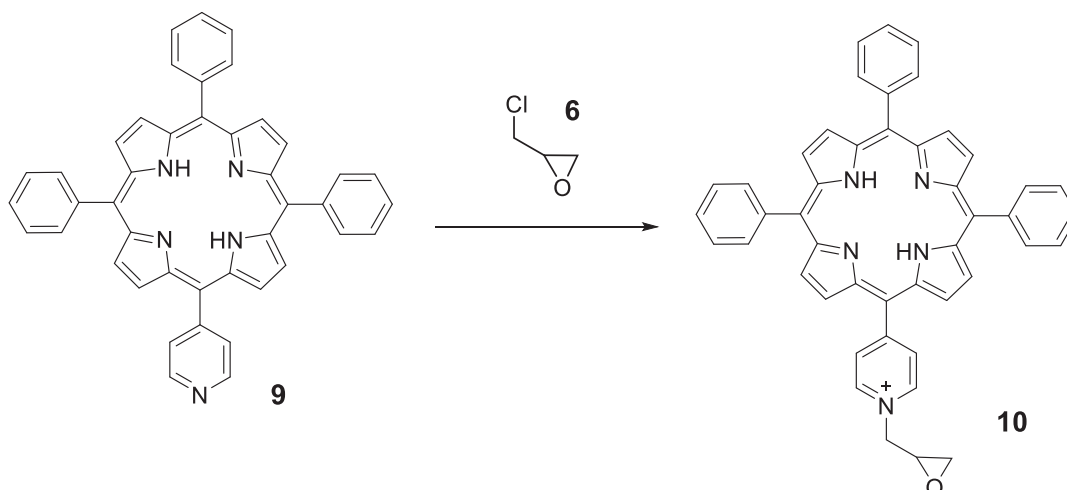
Entrada	Condições Testadas								
	5 (EQ)	EPI (EQ)	Na ₂ CO ₃ (EQ)	NaOH (EQ)	TRIET. (EQ)	BrTBA (EQ)	DMF (mL)	CH ₂ Cl ₂ (mL)	R (%)
1	1	160	-	5	-	-	-	2	61,5
2	1	160	-	5	-	-	1	-	88,1
3	1	160	2,5	2,5	-	-	1	-	50,9
4	1	160	5	-	-	-	1	-	18,6
5	1	160	-	-	5	-	1	-	22,4
6	1	160	-	5	-	0,1	1	-	44,2
7	1	160	-	5	-	1	1	-	66,0
8	1	160	-	5	-	5	1	-	39,5

EPI= epiclorigrina; TRIET= trietilamina; BrTBA= brometo de tetrabutilamônio; EQ=equivalente.

3.2.5 Tentativas de síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenilporfirina (10)

Para obtenção da porfirina **10**, 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenilporfirina, reações de *N*-alquilação da porfirina **9** foram realizadas baseado no estudo de cationização de porfirinas de Casas e colaboradores (1993) (Esquema 15). Diferentes condições foram testadas em DMF, utilizando epiclorigrina (**6**), com e sem base e em temperaturas diferentes (Entradas 1, 2 e 3 da Tabela 3). Também foi testada uma condição com brometo de tetrabutilamônio (Entrada 4).

Outra metodologia para alquilação de piridilporfirinas foi testada, utilizando xilol, ácido clorídrico e banho de ultrassom (ZHAO *et al.*, 2008). A condição da entrada 5 foi realizada em 40°C por 1,5 h. A condição da entrada 6 foi realizada em 50°C por 3,5 h. Foram obtidos somente traços do composto **10**.



Esquema 15 – Síntese da porfirina **10**

Tabela 3 – Condições sintéticas testadas para obtenção da porfirina **10**

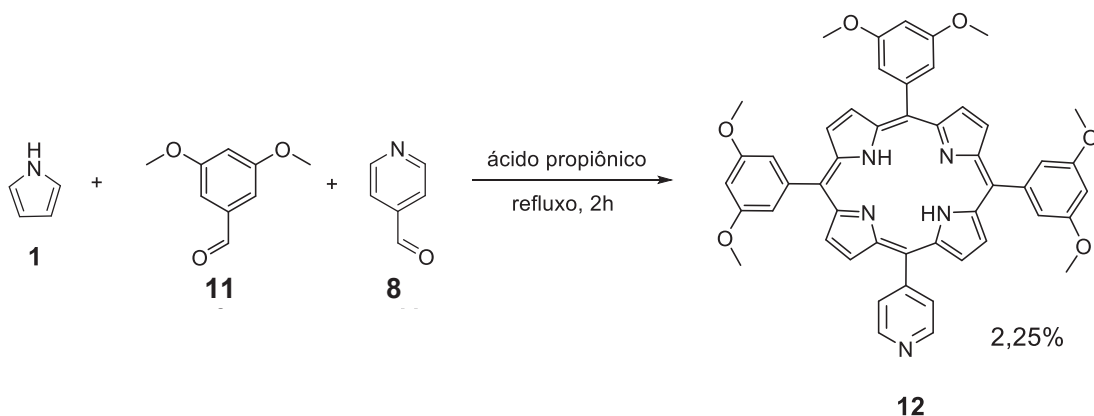
Entrada	Condições Testadas							
	9 (EQ)	EPI (μ L)	HCl (μ L)	TRIET (μ L)	BrTBA (EQ)	NaOH (EQ)	DMF (mL)	Xilol (mL)
1	1	120	-	-	-	-	1	-
2	1	120	-	100	-	-	2	-
3	1	120	-	100	-	-	2	-
4	1	120	-	-	80	5	2	-
5	1	120	200	-	-	-	-	1
6	1	120	200	-	-	-	-	1

EQ = equivalente; EPI= epiclorigrina; TRIET= trietilamina; BrTBA= brometo de tetrabutilamônio. 1 e 2 - Temperatura ambiente; *overnight*. 3 e 4 - 65°C; *overnight*. 5 - Banho de ultrassom; 40°C; 1,5 h. 6 - Banho de ultrassom; 50°C; 3,5 h.

3.2.6 Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**12**)

A porfirina **12**, 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina, foi sintetizada utilizando o método de Adler e colaboradores (1967), com modificações (Esquema 16). Em um balão adequado, foram adicionados 25 mL de ácido propiônico (solvente e catalisador), 12 mmol (780 μ L) de pirrol, 9 mmol (1,245 g) de 3,5-dimetoxibenzaldeído e 3 mmol (280 μ L) de piridina-4-carboxaldeído. A mistura foi mantida sob agitação e refluxo por 2 h. Após este período, 25 mL de acetona

foram adicionados para precipitação e o sólido obtido foi filtrado no dia seguinte. O processo de purificação foi realizado por cromatografia em coluna de sílica utilizando $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (98:2) como fase móvel, obtendo-se **12** com 2,3% de rendimento (0,07 mmol).



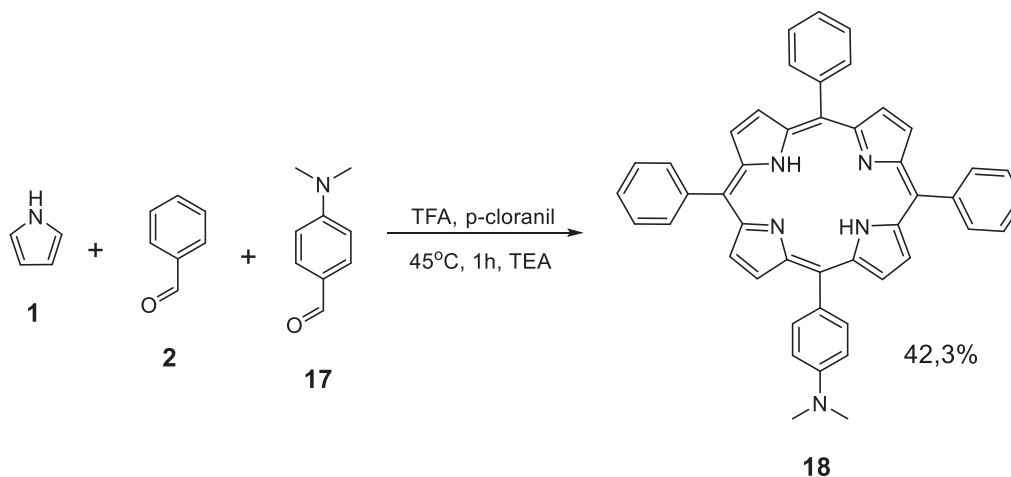
Esquema 16 – Síntese da porfirina **12**

3.2.7 Síntese da 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**18**)

A porfirina **18**, 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina, foi previamente sintetizada utilizando a mesma metodologia da porfirina **12**. Em um balão adequado, foram adicionados 25 mL de ácido propiônico, 12 mmol (780 μL) de pirrol, 9 mmol (1 mL) de benzaldeído e 3 mmol (45 μL) de 4-(dimetilamino)benzaldeído e foi mantido sob agitação e refluxo por 2 h. Após este período, 25 mL de acetona foram adicionados para precipitação do produto e o sólido foi filtrado no dia seguinte. O processo de purificação foi realizado por cromatografia em coluna de sílica utilizando CH_2Cl_2 :hexano (2:1) como fase móvel, para obtenção de 0,5% de rendimento (0,015 mmol).

Outra metodologia foi utilizada para obtenção da porfirina **18** (Esquema 17), seguindo estudo previamente realizado (OJADI *et al.*, 1993). Uma mistura de 12 mmol de pirrol (173 μL), 0,62 mmol de 4-(dimetilamino)benzaldeído (93 mg) e 1,90 mmol benzaldeído (190 μL) foram solubilizados em 250 mL de diclorometano. Em seguida, ácido trifluoroacético (970 μL) foi adicionado e a mistura foi mantida sob agitação por 20 min em temperatura ambiente. O próximo passo foi a adição de *p*-cloranil (490 mg) e a mistura foi mantida a 45°C por 1 h. Trietilamina (1,80 mL) foi, então, adicionada e a solução foi concentrada. O processo de purificação foi

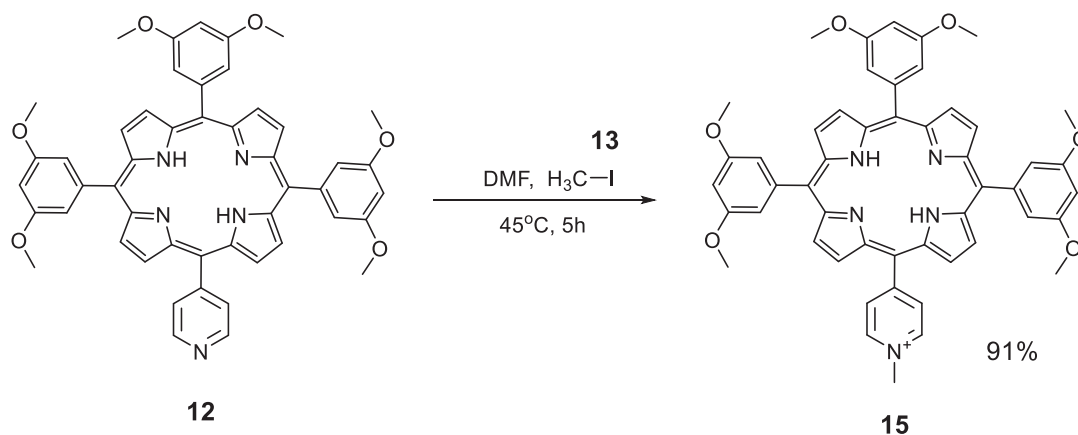
realizado por cromatografia em coluna de sílica utilizando CH_2Cl_2 :hexano (2:1) como fase móvel, para obtenção de 42,3% de rendimento (0,26 mmol).



Esquema 17 – Síntese da porfirina **18**

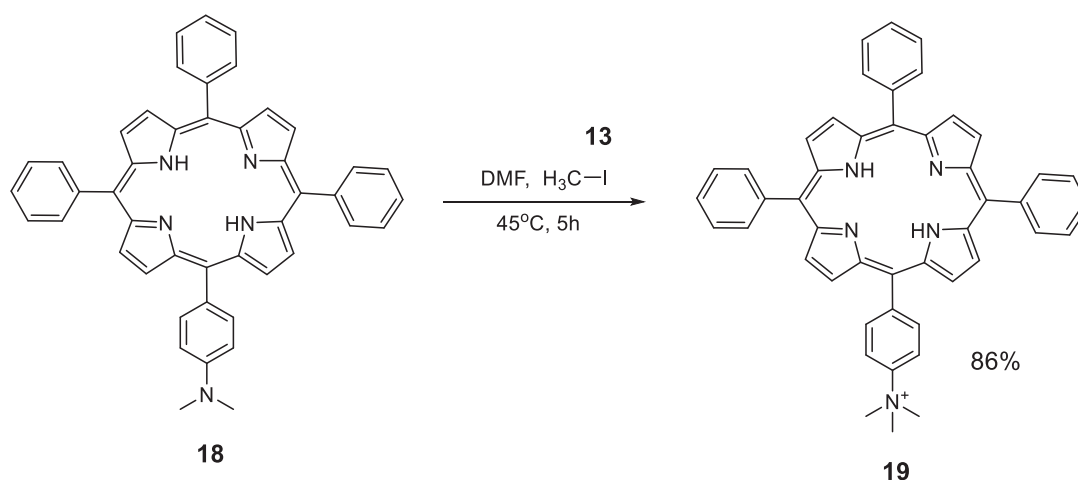
3.2.8 Síntese da 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**15**)

A porfirina **15**, 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina, foi sintetizada utilizando metodologia de metilação por iodeto de metila (Esquema 18) (CHEN *et al.*, 2003). Uma mistura de 20 mg da porfirina **12** (0,025 mmol) e 1 mL de iodeto de metila **13** (16 mmol) foram adicionados em 5 mL de DMF. A reação foi mantida sob agitação por 5 h a 45°C. O produto desejado foi recuperado do meio reacional adicionando 25 mL de diclorometano com posterior lavagem com água e solução saturada de NaCl. A porção orgânica foi, então, filtrada em Na_2SO_4 anidro, para remoção de água residual, e evaporada. A purificação foi feita por cristalização utilizando CH_2Cl_2 - Et_2O . O rendimento obtido foi de 91% (0,02 mmol).

Esquema 18 – Síntese da porfirina **15**

3.2.9 Síntese da 5-(*N,N,N*-trimetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**19**)

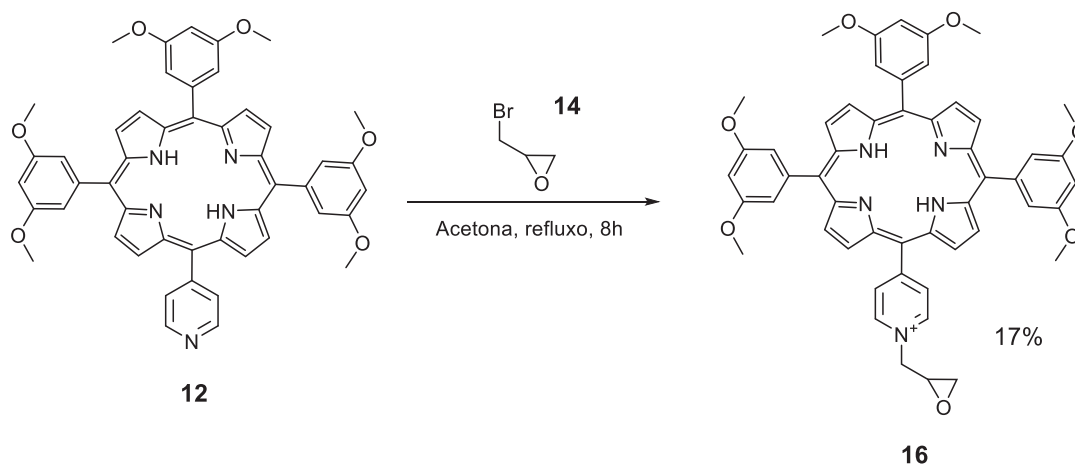
A síntese da porfirina **19** seguiu mesma metodologia aplicada para a síntese da porfirina **15**. Como porfirina inicial foi utilizado o composto **18** (Esquema 19). O rendimento obtido foi de 86% (0,05 mmol).

Esquema 19 – Síntese da porfirina **19**

3.2.10 Síntese da 5-(1-epoximetilpiridinio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**16**)

A alquilação da porfirina **12** para resultar na porfirina epoxidada **16**, 5-(1-epoximetilpiridinio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina, foi realizada através do seguinte procedimento: uma mistura de 20 mg da porfirina **12** (0,025 mmol) e 2 mL de epibromoidrina **14** (23,37 mmol) foram adicionados em 5 mL de acetona. A reação foi mantida em refluxo por 8 h. O processo de purificação foi realizado

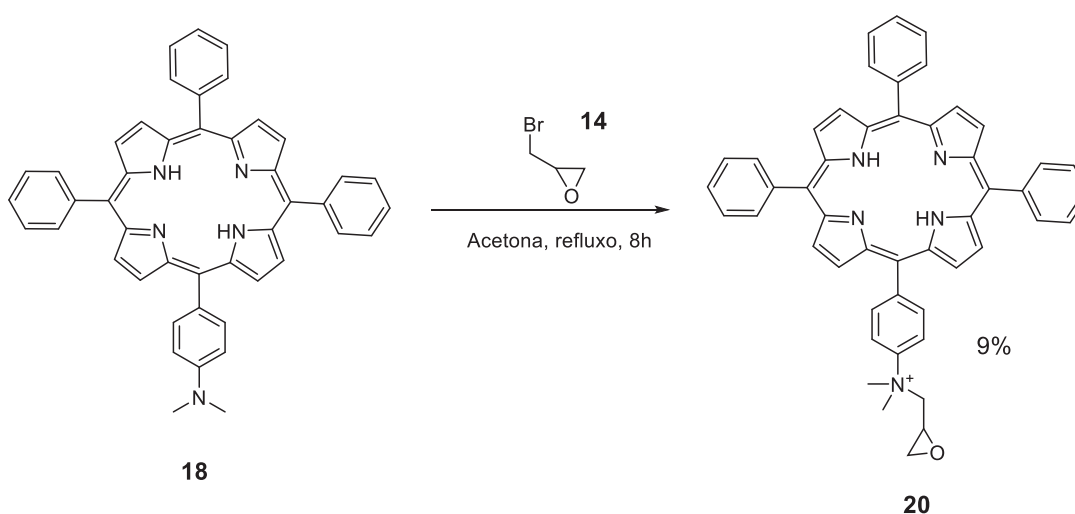
através de CCD preparativa utilizando como fase móvel $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (6:4:1). O produto foi retirado da sílica utilizando o sistema de solventes $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (6:4:1), com posterior filtração e evaporação dos solventes (Esquema 20). O rendimento obtido foi de 17% (0,02 mmol).



Esquema 20 – Síntese da porfirina **16**

3.2.11 Síntese da 5-(*N*-dimetilepoximetil-4-amôniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**20**)

A síntese da porfirina **20** seguiu mesma metodologia aplicada para a síntese da porfirina **16**. Como porfirina inicial foi utilizado o composto **18** (Esquema 21). O rendimento obtido foi de 9% (0,03 mmol).

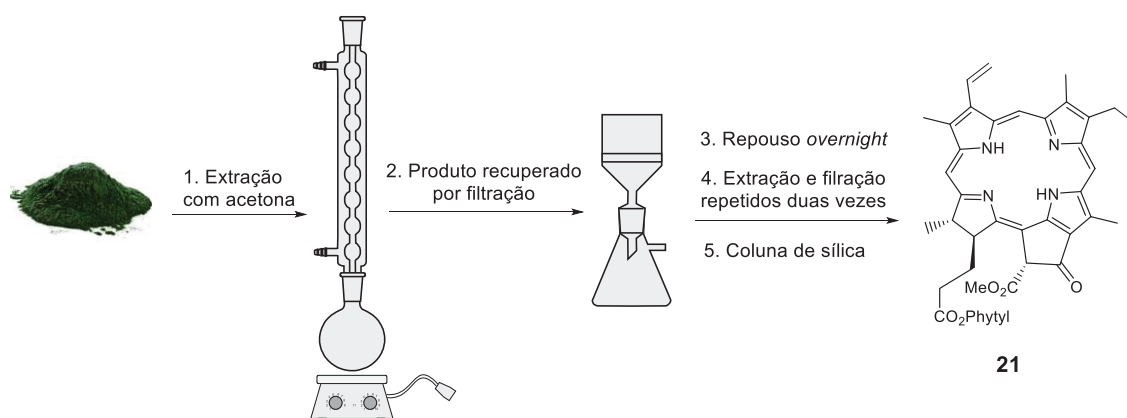


Esquema 21 – Síntese da porfirina **20**

3.3 SÍNTESE DAS CLORINAS

3.3.1 Extração da feofitina a (**21**)

Aproximadamente 300 g de *Spirulina pacifica* (obtida comercialmente na forma de pó seco por *spray dryer* - Cyanotech, Hawaii) foram divididos em três balões diferentes com 2 L de acetona em cada um. Os balões foram aquecidos e mantidos sob refluxo com agitação por 3 h. O sobrenadante foi, então, separado por filtração e mais acetona foi adicionada ao sólido residual. A pasta formada foi mantida em repouso *overnight*. O processo de extração e filtração foi repetido duas vezes. Os filtrados foram combinados e a acetona foi evaporada para posterior purificação do resíduo por cromatografia em coluna de sílica utilizando somente diclorometano e, então, CH₂Cl₂:acetona (95:5) como fase móvel para recuperação de 1 g (1,14 mmol) da clorina feofitina a **21** (Esquema 22) (JINADASA, 2013).

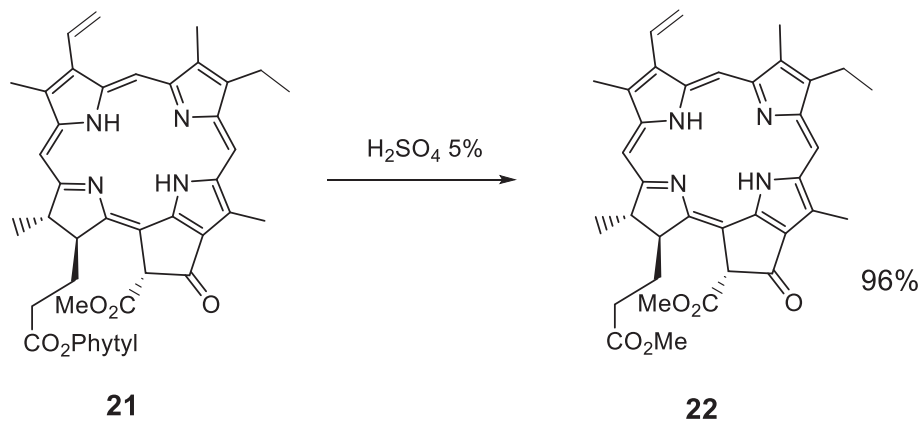


Esquema 22 – Extração e obtenção do composto **21**

3.3.2 Semissíntese do metil-feoforbídeo a (**22**)

A feofitina a (**21**) foi tratada com solução de ácido sulfúrico a 5% em metanol (m/v)^b, protegida da luz, em temperatura ambiente, *overnight*. Posteriormente, diclorometano foi adicionado e a solução foi lavada com água e solução de NaHCO₃ a 10% (p/v). Após filtração da fase orgânica em Na₂SO₄ anidro, o solvente foi evaporado. A purificação do resíduo foi realizada por cromatografia em coluna de sílica utilizando CH₂Cl₂:acetona (95:5) como fase móvel, para obtenção da clorina

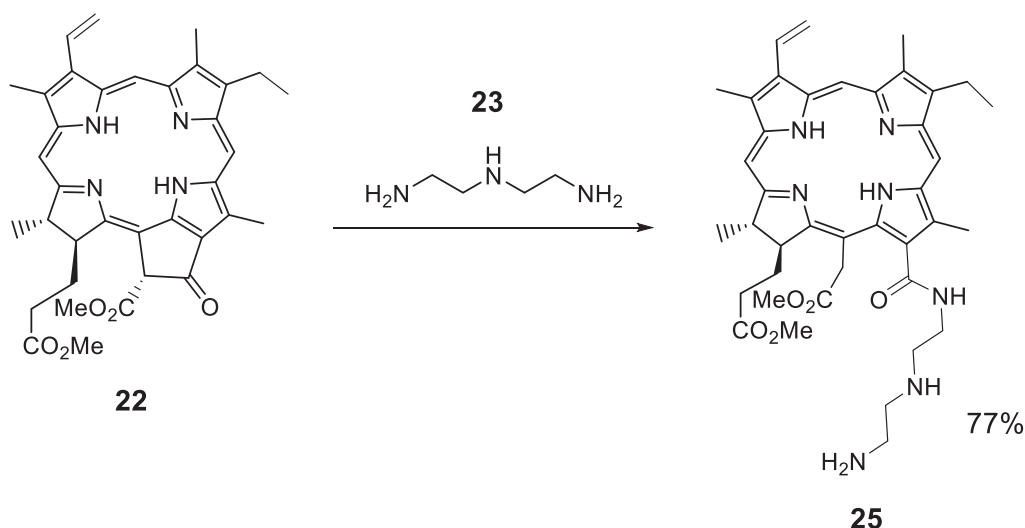
metil-feoforbídeo a **22** com 96% de rendimento (1,08 mmol) (Esquema 23) (JINADASA, 2013; JINADASA *et al.*, 2011).



Esquema 23 – Semissíntese do composto **22**

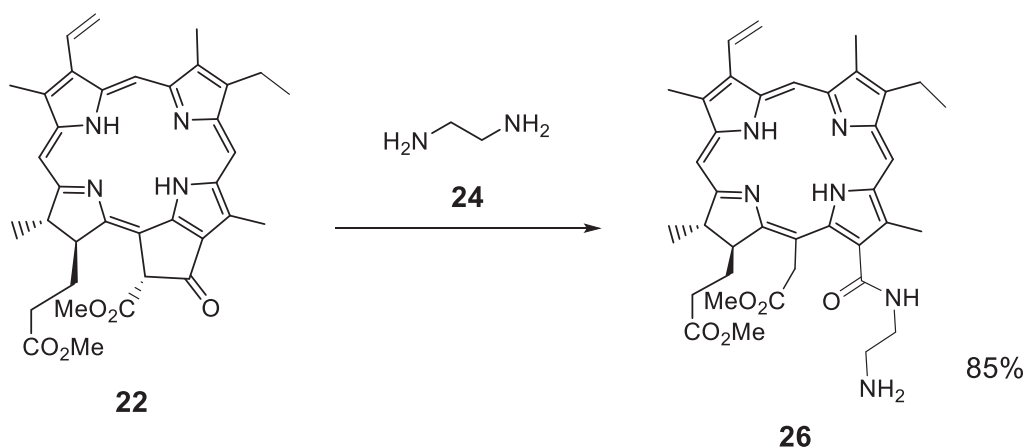
3.3.3 Semissíntese da 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster (**25**)

O composto **25**, 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster, foi obtido a partir do composto **22** (Esquema 24). Em um balão de fundo redondo, 100 mg (0,16 mmol) do composto **22** foi solubilizado em 3 mL de clorofórmio, previamente seco, e manteve-se a mistura sob agitação e atmosfera de nitrogênio por 10 min. Então, 200 mL (1,85 mmol) de dietilenotriamina (**23**) foram adicionados e a reação permaneceu sob agitação *overnight*. O solvente foi evaporado e o resíduo solubilizado em solução de MeOH:CH₂Cl₂ (2,5:97,5). A purificação foi realizada por cromatografia em coluna de sílica utilizando MeOH:CH₂Cl₂ (2,5:97,5), depois MeOH:CH₂Cl₂ (20:80) como fase móvel para obtenção do derivado aminado (JINADASA, 2013). O rendimento obtido foi de 77% (0,12 mmol).

Esquema 24 – Síntese do composto **25**

3.3.4 Semissíntese da 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (**26**)

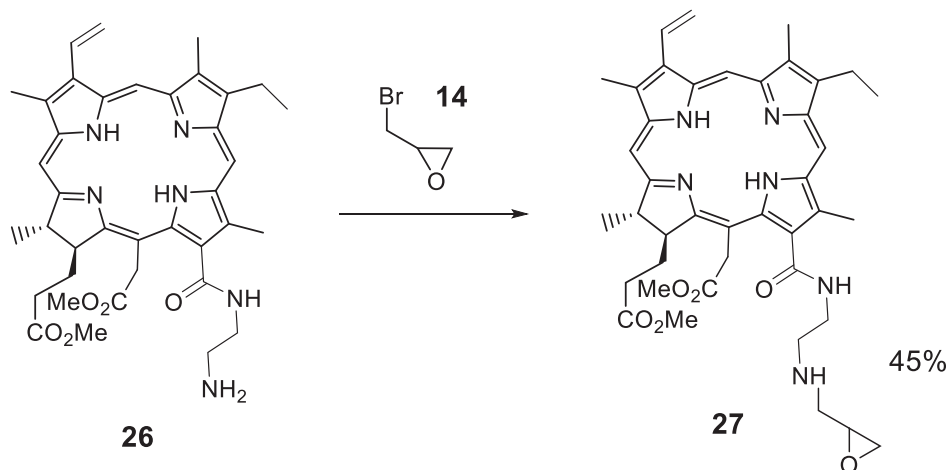
A síntese do composto **26**, 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster, seguiu a mesma metodologia aplicada para a síntese do composto **25**, utilizando 200 mL (3 mmol) de etilenodiamina (**24**). O rendimento obtido foi de 85% (0,14 mmol) (Esquema 25).

Esquema 25 – Síntese do composto **26**

3.3.5 Semissíntese da 13-epoximetil-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (**27**)

A síntese do composto **27** foi realizada adicionando 20 mg (0,03 mmol) da clorina **26** e 1 mL (11 mmol) de epibromoidrina em 3 mL de acetona, previamente seca. A reação foi mantida sob agitação e refluxo por 5 h. Depois de evaporado o solvente, o meio reacional foi solubilizado em solução MeOH:CH₂Cl₂ (2,5:97,5). A

purificação foi realizada por CCD preparativa, utilizando $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (1:1) como fase móvel (Esquema 26). O rendimento obtido foi de 45% (0,013 mmol).

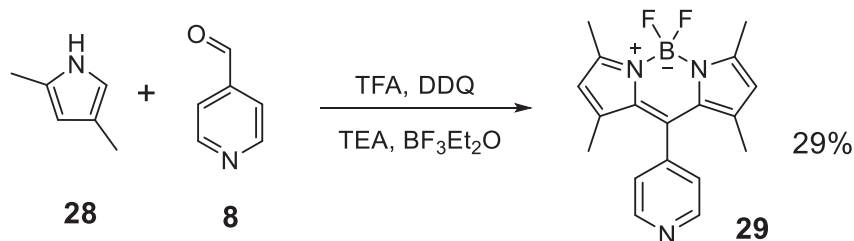


Esquema 26 – Síntese do composto **27**

3.4 SÍNTESE DOS BODIPY

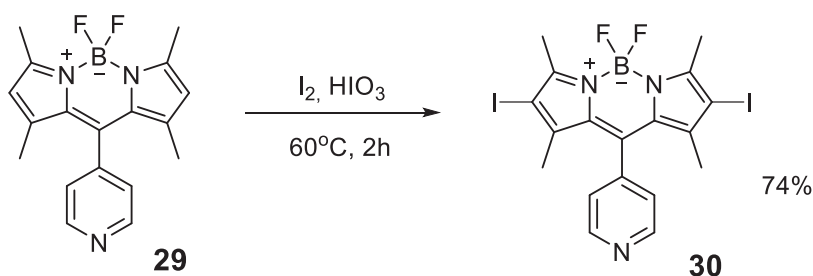
3.4.1 Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**29**)

Para a síntese do composto **29**, 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, 2 mL de 2,4-dimetilpirrol (20 mmol) e 0,9 mL de piridina-4-carboxaldeído (10 mmol) foram diluídos em 150 mL de diclorometano anidro. Então, 50 μL de ácido trifluoroacético (0,6 μmol) foram adicionados e a reação foi mantida sob agitação por 50 min. Adicionou-se 20 mL de uma solução de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (2,27 g; 10 mmol) em diclorometano e deixou-se sob agitação por 50 min, seguido de adição de trietilamina (20 mL; 14 mol). Após agitar por 30 min, BF_3OEt_2 (20 mL; 16 mol) foi adicionado à reação, que foi mantida sob agitação por mais 2 h, em temperatura ambiente (Esquema 27). Após evaporação dos solventes, o material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica, utilizando acetato de etila:hexano (1:1) como fase móvel para obtenção do composto **29**, com rendimento de 29% (0,02 mmol) (BARBA-BON *et al.*, 2014).

Esquema 27 – Síntese do BODIPY **29**

3.4.2 Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**30**)

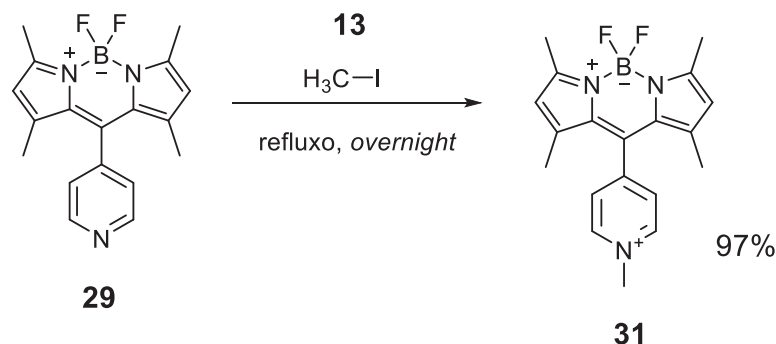
O composto **30**, 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, foi obtido através de reação de iodação (Esquema 28). Em balão adequado, ácido iódico (12 mg, 0,06 mmol) foi solubilizado em quantidade mínima de água e, então, gotejado numa solução contendo 10 mg do composto **29** (0,03 mmol) e 15,6 mg de iodo (0,06 mmol), solubilizados em 10 mL de EtOH:CH₂Cl₂ (1:1). O meio reacional foi mantido a 60°C por 2 h. Após resfriamento, os solventes foram evaporados e o produto foi purificado através de coluna de sílica utilizando CH₂Cl₂:hexano (1:1) como fase móvel, obtendo-se rendimento de 74% (0,03 mmol) (HAYES, 2014).

Esquema 28 – Síntese do BODIPY **30**

3.4.3 Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridinio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**31**)

Para síntese do composto **31**, 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridinio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, 20 mg (0,06 mmol) do BODIPY **29** foram adicionados em 5 mL de acetonitrila. Posteriormente, 1 mL (16 mmol) de iodeto de metila foi gotejado sobre esta solução, que foi mantida em refluxo *overnight*. A recuperação do produto deu-se através de evaporação do solvente, sem

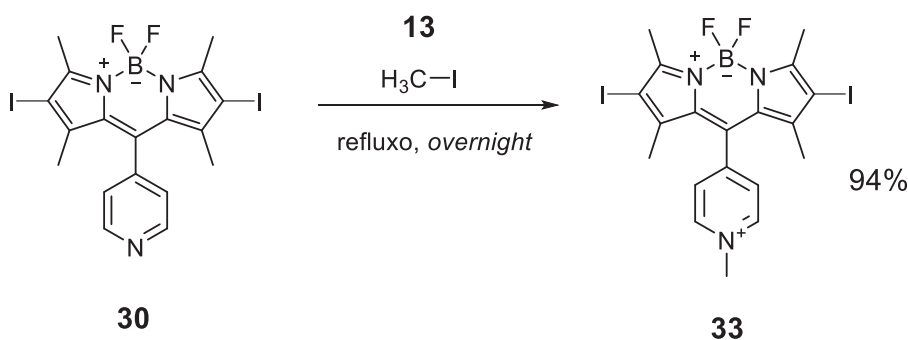
necessitar de etapas de purificação adicionais (Esquema 29). O rendimento obtido foi de 97% (0,06 mmol).



Esquema 29 – Síntese do BODIPY **31**

3.4.4 Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**33**)

A síntese do BODIPY **33**, 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, seguiu mesma metodologia aplicada para a síntese do composto **31**. Como BODIPY inicial foi utilizado o composto **30** (0,03 mmol) (Esquema 30). O rendimento obtido foi de 94% (0,03 mmol).

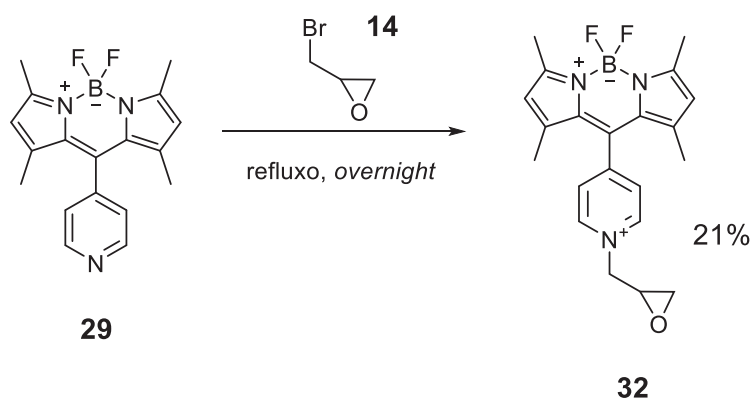


Esquema 30 – Síntese do BODIPY **33**

3.4.5 Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**32**)

O composto **32**, 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, foi sintetizado segundo o seguinte procedimento: 20 mg (0,06 mmol) do BODIPY **29** foram adicionados em 5 mL de acetonitrila.

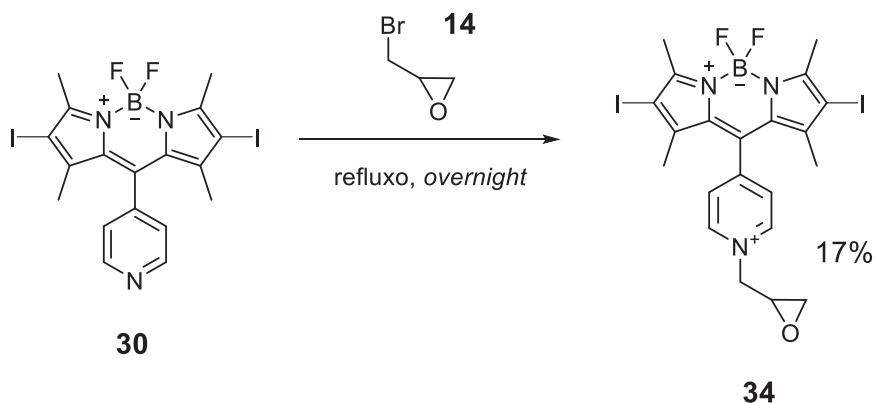
Posteriormente, 1 mL (11 mmol) de epibromoidrina foi gotejado sobre esta solução, que foi mantida sob refluxo *overnight*. A recuperação do produto deu-se através de evaporação do solvente. O produto foi purificado através de CCD preparativa, utilizando o sistema de solventes acetato de etila:hexano (1:1) como fase móvel, e CHCl_3 :MeOH:H₂O (6:4:1) para recuperar o produto da sílica (Esquema 31). O rendimento obtido foi de 21% (0,012 mmol).



Esquema 31 – Síntese do BODIPY **32**

3.4.6 Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**34**)

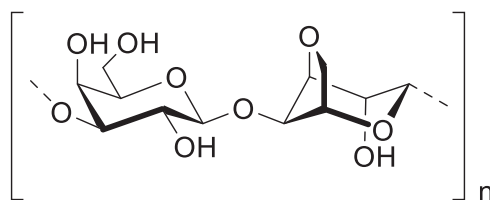
A síntese do BODIPY **34**, 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, seguiu mesma metodologia aplicada para a síntese do composto **32**. Como BODIPY inicial foi utilizado o composto **30** (0,03 mmol) (Esquema 32). O rendimento obtido foi de 17% (0,006 mmol).



Esquema 32 – Síntese do BODIPY **34**

3.5 SÍNTESE DOS CONJUGADOS PORFIRINA-POLISSACARÍDEO

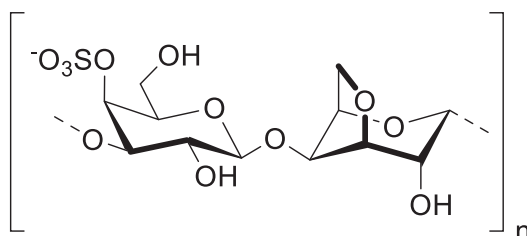
3.5.1 Obtenção da agarose (**35**)



35

A agarose **35** foi obtida comercialmente da empresa Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Para as reações de conjugação, o polissacarídeo foi previamente submetido à redução dos terminais redutores de acordo com método já descrito na literatura (ARAÚJO *et al.*, 2013). Para tal, 10 g de agarose comercial foram solubilizados em 500 mL de água destilada a 90°C. Após resfriamento em banho de gelo, foram adicionados 1,5 g de NaBH₄ (40 mmol) e homogeneizada manualmente. A solução gelificada permaneceu em repouso *overnight*. Ao final da reação, o pH foi reduzido de 10,0 para 4,5, com ácido acético glacial. O processo de purificação foi realizado através de diálise contra água destilada para eliminação do excesso de NaBH₄. Após diálise, a solução foi concentrada e liofilizada, para recuperação de 9,5 g do produto reduzido com 95% de rendimento (HEUKO, 2015).

3.5.2 Obtenção da *kappa*-carragenana (**37**)



37

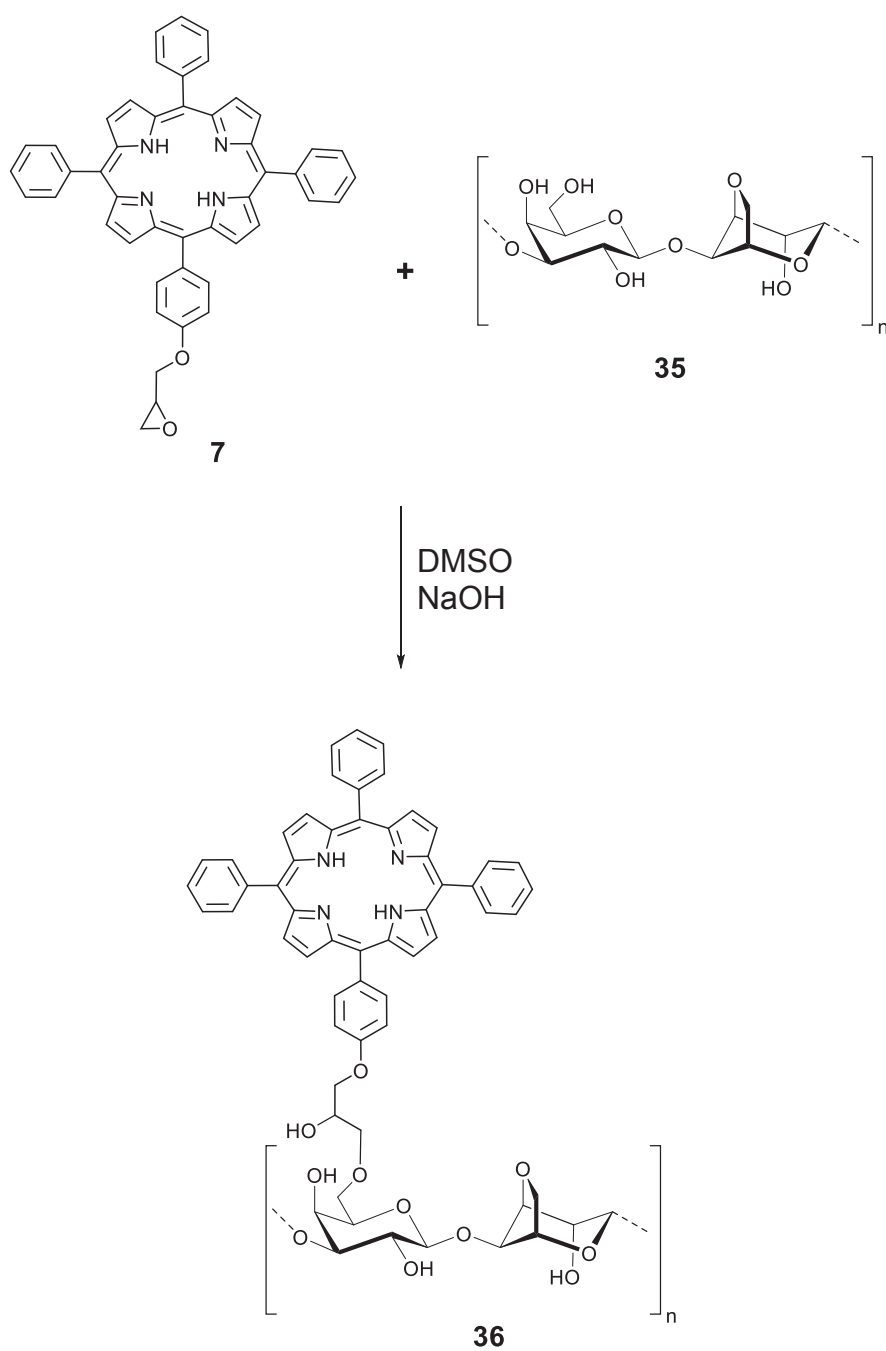
A alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* foi obtida comercialmente da empresa MM algas (Angra dos Reis-RJ). A *kappa*-carragenana **37** foi, então,

extraída através de metodologia já descrita (DUCATTI *et al.*, 2009; ARAÚJO, 2012; OHNO; NANG; HIRASE, 1996) e cedida por Santos, 2015.

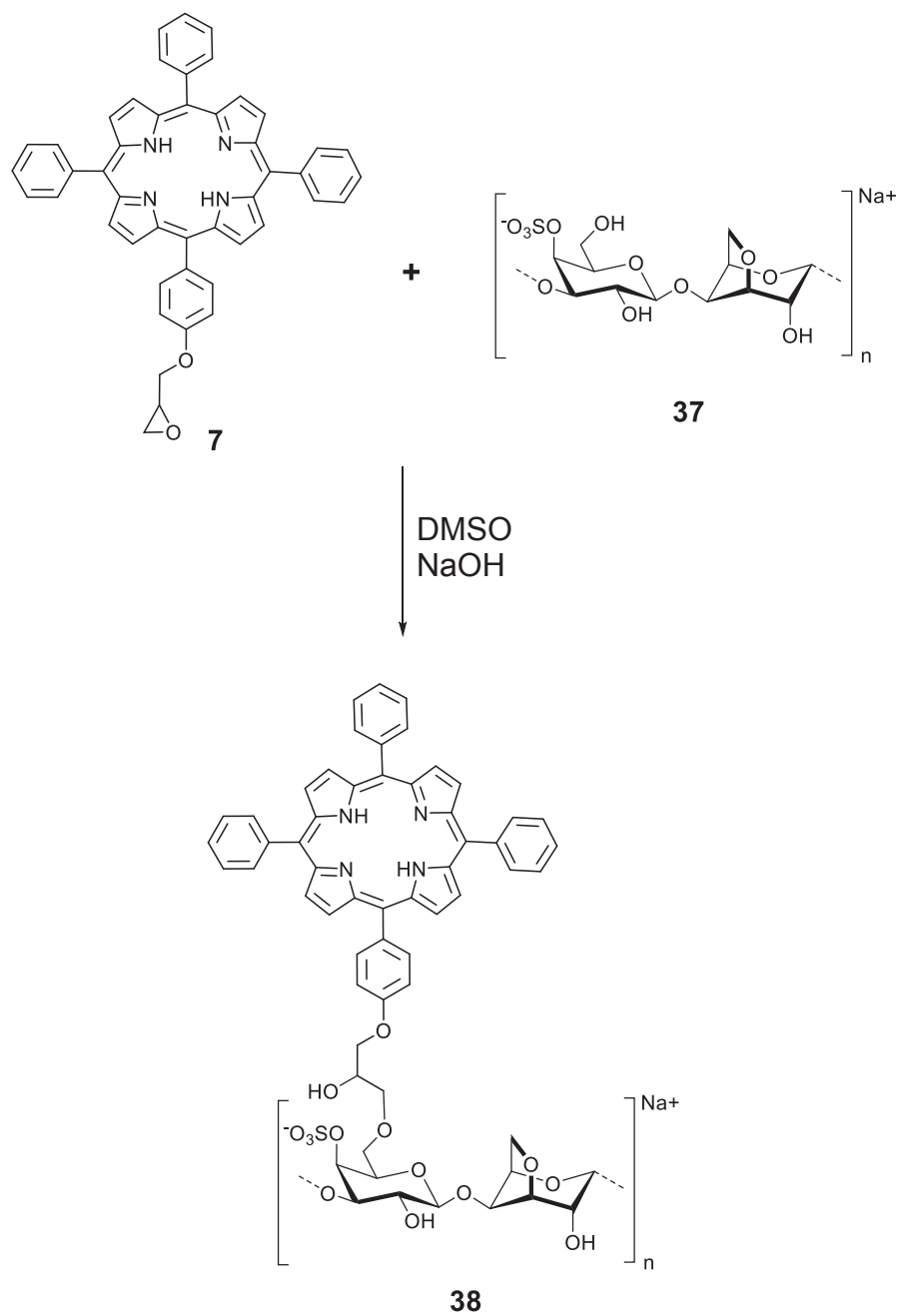
3.5.3 Obtenção dos conjugados agarose-porfirina (**36**) e *kappa*-carragenana-porfirina (**38**) – Estratégia 1

Método A: o polissacarídeo **35** (13,7 mg, 44 μmol) ou **37** (13,7 mg, 35 μmol) foram solubilizados em dimetilsulfóxido sob agitação. Quando solubilizado, hidróxido de sódio (54,8 mg, 137 μmol) foi adicionado. Depois de 30 min, o composto **7** (15 mg, 21,8 μmol) foi adicionado e manteve-se agitação por 1,5 h. Então, 1 mL HCl 0,1 mol.L⁻¹ foi adicionado ao meio reacional para neutralizar e parar a reação. O produto foi, então, recuperado por partição água/clorofórmio e posterior diálise para obtenção dos conjugados **36** (15 mg) e **38** (9,5 mg), respectivamente (Esquemas 33 e 34) (CIUCANU; KEREK, 1984).

Método B: após solubilizar o polissacarídeo e adicionar hidróxido de sódio, como no Método A, o composto **7** (15 mg, 21,8 μmol) foi adicionado e manteve-se sob agitação por 30 min. Então, mais composto **7** (15 mg, 21,8 μmol) e hidróxido de sódio (54,8 mg, 137 μmol) foram adicionados mantendo sob agitação por mais 1,5 h. A recuperação foi realizada da mesma forma que no método anterior para obtenção dos conjugados **36** (19,7 mg) e **38** (11,6 mg).



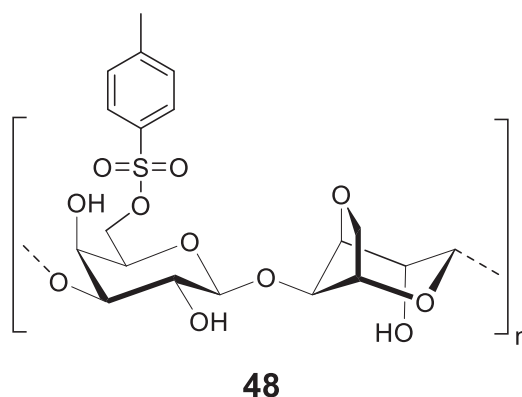
Esquema 33 – Síntese do composto **36** considerando substituição na hidroxila da posição 6 da unidade β-D-galactopiranosse



Esquema 34 – Síntese do composto **38** considerando substituição na hidroxila da posição 6 da unidade β -D-galactopiranosose-4-sulfato

3.5.4 Tentativa de obtenção do conjugado agarose-porfirina (**49**) – Estratégia 2

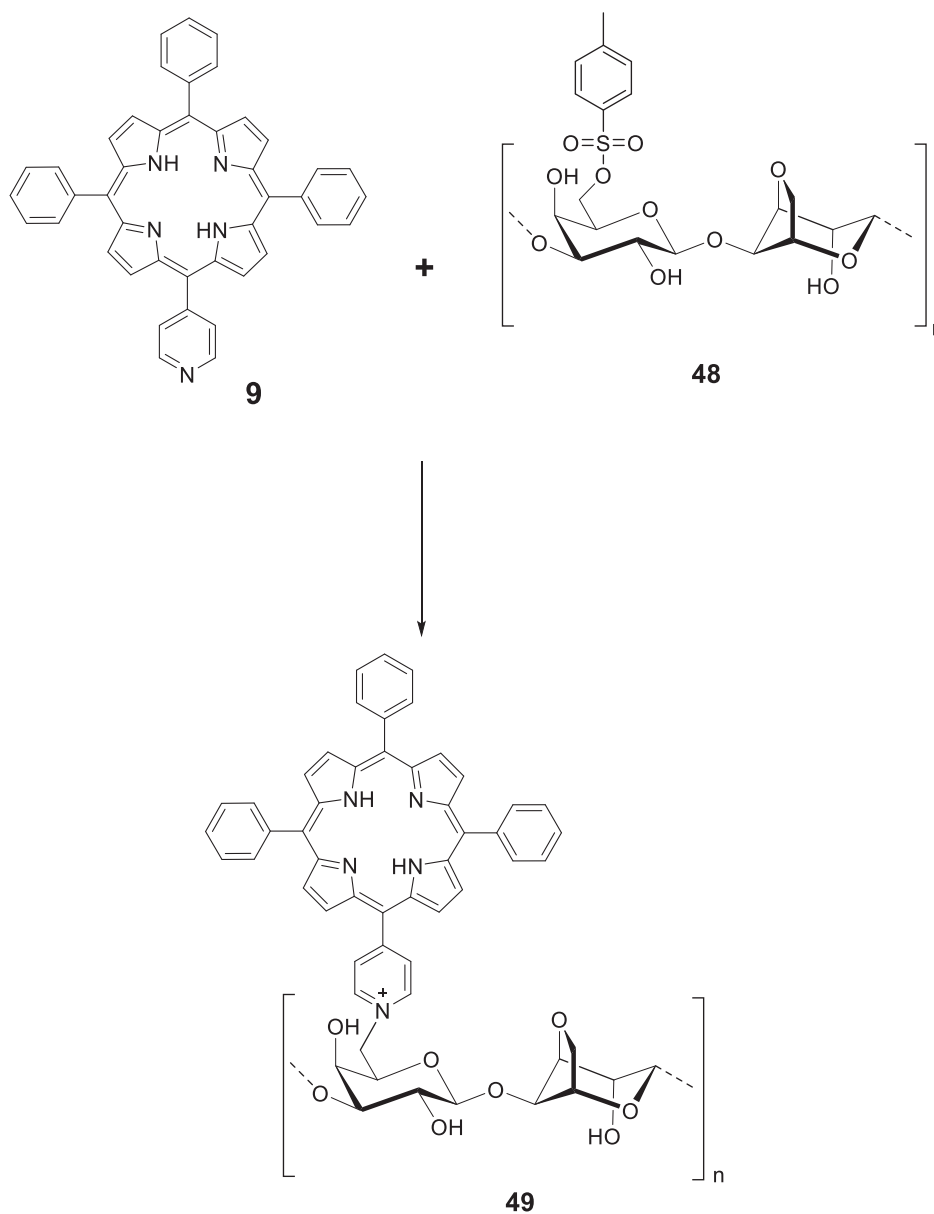
O éster sulfonato da agarose **48** foi preparada e cedida por Heuko, 2015.



A preparação do conjugado agarose-porfirina **49** seguiu o seguinte procedimento: a agarose éster de sulfonato **48** foi primeiramente suspensa em água, seguindo-se de adição de NaOH 50% (p/v). Subsequentemente, foi adicionada porfirina contendo anel piridila **9**, variando-se as condições conforme a Tabela 4. O material resultante foi recuperado por partição água/clorofórmio, purificado por diálise e então liofilizado (Esquema 35).

Tabela 4 – Condições sintéticas testadas para obtenção de conjugado agarose-porfirina

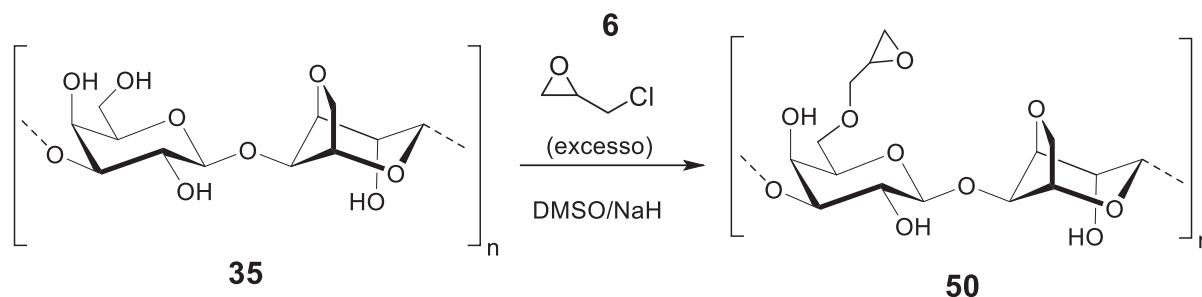
Entrada	Condições Testadas					
	48 (mg)	Na ₂ CO ₃ (mg)	Água (mL)	9 (mg)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
1	30	3,5	3	40	100	18
2	30	-	3	50	100	18
3	30	1,5	2	50	100	18
4	30	3	1	25	100	18



Esquema 35 – Síntese do conjugado **49**

3.5.5 Tentativa de obtenção da agarose-6-O-epoxipropila (**50**)

A preparação da agarose-6-O-epoxipropila (Esquema 36) seguiu o seguinte procedimento: a agarose **35** foi primeiramente suspensa em água, seguindo-se de adição de NaOH 50%. Subsequentemente, foi adicionada epicloridrina para a funcionalização resultante desejada, variando-se as condições conforme a Tabela 5. O material resultante foi purificado por diálise e então liofilizado.



Esquema 36 – O-alkilação da agarose utilizando epiclorigrina

Tabela 5 – Condições sintéticas testadas para a reação de O-alkilação da agarose utilizando epiclorigrina

Condições Testadas						
Entrada	35 (mg)	Água (mL)	DMSO (mL)	6 (μL)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo (h)
1	100	5	-	100	25	12
2	100	2,5	2,5	100	25	12
3	100	-	5	100	25	12
4	100	50	-	100	25	12
5	100	25	25	100	25	12
6	100	-	50	100	25	12
7	100	50	-	100	25	12
8	100	-	50	100	25	12
9	100	1,5	-	300	40	2

3.6 AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FOTODINÂMICAS

3.6.1 Estudo de geração de oxigênio singleto

Para o estudo de geração de oxigênio singleto foram preparadas soluções estoque de azul de metileno ($10 \mu\text{mol.L}^{-1}$) (substância de referência), 1,3-difenilisobenzofurano (DFBF) ($100 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e das porfirinas **12**, **15**, **16**, **18**, **19** e **20** ($10 \mu\text{mol.L}^{-1}$), utilizando como solvente DMSO. Em placas com poços foram adicionadas, em cada poço, 3 mL de solução estoque de porfirina ou de azul de metileno, além de 3 mL de DMSO. Então, foram adicionados 3 mL da solução estoque contendo DFBF. A placa foi irradiada com luz em intensidade $1,25 \text{ mW/cm}^2$ por 1 h. A absorvância foi medida em 418 nm nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 min. As absorvâncias foram plotadas *versus* tempo para obtenção das curvas para o teste branco (sem amostra, somente DFBF e DMSO), substância de referência e cada uma das porfirinas testadas. A produção de oxigênio singleto foi avaliada pelo

declínio da absorvância de DFBBF ao longo do tempo. A equação da reta obtida para cada amostra foi utilizada para determinação do rendimento quântico de oxigênio singleto, utilizando a equação:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{AM} \frac{R}{R^{AM}}$$

Onde Φ_{Δ} representa o rendimento quântico da amostra; Φ_{Δ}^{AM} representa o rendimento quântico do padrão utilizado (azul de metileno = 0,52); R e R^{AM} são os coeficientes angulares do consumo de DFBBF para a amostra e para o azul de metileno, respectivamente (HADJUR *et al.*, 1998; HAYES, 2014).

3.6.2 Avaliação *in vitro* de FS

3.6.2.1 Informações gerais

As células tumorais da linhagem HEp-2, originadas de tumores epiteliais de laringe, utilizadas neste estudo, foram obtidas comercialmente da ATCC. O meio de cultura e demais reagentes foram comprados da Life Technologies. As células HEp-2 foram cultivadas em mistura 1:1 dos meios DMEM:Advanced (meio DMEM enriquecido que requer 50-90% menos suplementação de FBS) contendo 10% FBS e 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina).

Uma solução estoque de 32 mmol.L⁻¹ para cada composto testado foi preparada solubilizando cada qual em mistura 95:5 de DMSO:Cremophor (aditivo para facilitar a solubilidade). As concentrações finais foram obtidas por diluição da solução estoque com meio de crescimento. Foram realizadas cinco repetições para cada concentração testada nos ensaios de captação intracelular, citotoxicidade no escuro e fototoxicidade.

3.6.2.2 Captação celular tempo-dependente

Foram cultivadas 15.10³ células em cada poço de placa com 96 poços Costar (BD biosciences) e estas permaneceram em crescimento *overnight*. As células foram tratadas com as soluções de trabalho (100 µL/poço; 10 µmol.L⁻¹) adicionadas em diferentes períodos de tempo: 0, 1, 2, 4, 8 e 24 h. O meio foi

removido no final dos tratamentos. As células foram lavadas com 1X PBS e solubilizadas adicionando Triton X-100 0,25% (Sigma-Aldrich) em 1X PBS. Uma curva padrão de cada composto foi obtida diluindo a solução estoque com Triton X-100 0,25% em 1X PBS, nas concentrações de 10, 5, 2,5, 1,25 e 0,625 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Uma curva padrão de células foi preparada usando 10.000, 20.000, 40.000, 60.000, 80.000 e 100.000 células por poço. As células foram quantificadas usando CyQuant Cell Proliferation Assay (Life Technologies).

Os compostos e o número de células foram determinados utilizando leitor de microplaca FluoStar Optima (BMG LRBTEH), com comprimentos de onda 584/650 nm para os compostos e 485/520 nm para as células. A absorção celular foi expressa em termos de concentração do composto (pmol.L^{-1}) por célula.

3.6.2.3 *Citotoxicidade no escuro*

As células foram cultivadas em placas de 96 poços, como descrito no experimento anterior, e tratadas com os compostos a serem testados nas concentrações de 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ para, então, serem encubadas a 37°C. Após 24 h de incubação os compostos foram removidos por lavagem com 1X PBS e foi acrescentado meio contendo 20% Cell Titer Blue® Cell Viability Assay (Promega). As células foram incubadas por mais 4 h a 37°C. As células viáveis foram avaliadas através de fluorescência a 570/615 nm, utilizando leitor de microplaca FluoStar Optima. A citotoxicidade no escuro foi expressa em termos de porcentagem de células viáveis.

3.6.2.4 *Fototoxicidade*

Para os experimentos de fototoxicidade, as concentrações utilizadas para os FS testados foram 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125 e 0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. As células foram cultivadas em placas de 96 poços como descrito anteriormente, tratadas com os compostos e incubadas por 24 h a 37°C. Após 24 h, o meio foi removido, as células foram lavadas com 1X PBS e novo meio foi adicionado. As células foram expostas à luz por 20 min para atingir um total de aproximadamente 1,5 J/cm^2 de luz. Após exposição, as células foram incubadas por mais 24 h. Então, o meio foi removido e substituído por meio contendo 20% Cell Titer Blue® Cell Viability Assay. As células foram incubadas por mais 4 h e então avaliadas por sua fluorescência a 570/615 nm

utilizando leitor de microplaca FluoStar Optima. A fototoxicidade foi expressa em termos de porcentagem de células viáveis.

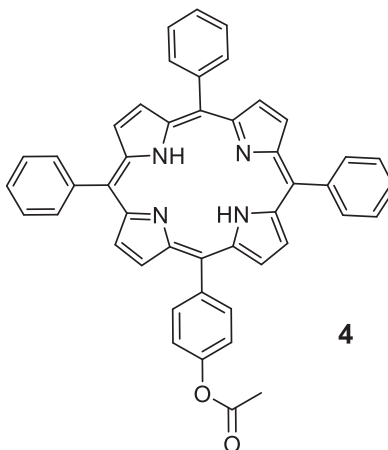
3.6.2.5 *Localização intracelular*

As células foram cultivadas em placas de seis poços, permaneceram em repouso *overnight* e, então, foram expostas a $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ de cada composto por 6 h. Após esse período, foram adicionados os marcadores de organelas (Invitrogen) ER Tracker Blue/White (100 nmol.L^{-1}) (retículo endoplasmático), BODIPY C5 Ceramide (complexo de Golgi) (50 nmol.L^{-1}), MitoTracker Green (250 nmol.L^{-1}) (mitocôndria) e LysoSensor Green (50 nmol.L^{-1}) (lisossomos) e permitiu-se reagir por 30 min incubadas a 37°C . As células foram lavadas com 1X PBS três vezes e novamente adicionado 1X PBS 5 mL/poço. A distribuição dos compostos foi observada através de microscópio de fluorescência Leica DM6B equipado com objetiva de imersão e conjunto de filtros cúbicos Texas Red, GFP e DAPI (Chroma Technologies).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS PORFIRINAS

4.1.1 Síntese da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**4**)



RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,85 (*m*, 8H, β -pirrólico); 8,22 (*d*, 8H, *o*-fenil); 7,75 (*m*, 9H, *m* e *p*-fenil); 7,48 (*d*, 2H, *m*-acetoxifenil); 2,48 (*s*, 3H, CH_3); -2,79 (*s*, 2H, *N*-pirrólicos). **MALDI-TOF**: m/z calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_2^+$: 673,2598 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 673,815 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A porfirina acetilada **4** foi sintetizada como etapa inicial para obtenção da porfirina hidroxilada **5**, utilizando metodologia de Lindsey (1987) otimizada por Dallagnol (2014).

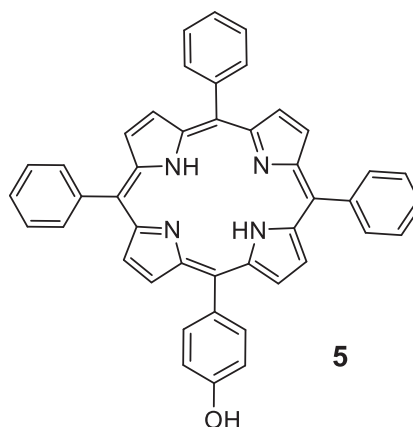
A obtenção do composto foi confirmada através de caracterização por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H , na região do UV-VIS e do IV (Anexo 2, pg. 166). Observou-se espectro de UV-VIS com características espectrais padrão de porfirinas, com a banda Soret próxima a 400 nm, e quatro bandas Q, de menor intensidade, entre 500–650 nm.

A relação m/z de 673,815 observada no espectro de massas foi compatível com a massa esperada para o composto obtido. No espectro na região do IV foi possível observar banda característica de estiramento de carbonila do grupo acetila em $1752,49\text{ cm}^{-1}$. O espectro de RMN de ^1H apresentou-se em concordância com os sinais previamente reportados (Tabela 6). O rendimento obtido (7,1%) foi próximo ao descrito (8,8%) (DALLAGNOL, 2014).

Tabela 6 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina **4** com os sinais previamente reportados na literatura

4	Dallagnol (2014)
8,85	8,89
8,22	8,25
7,75	7,78
7,48	7,52
2,48	2,50
-2,79	-2,71

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



RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,87 (*d*, 2H, β -pirrólico); 8,84 (*m*, 6H, β -pirrólico); 8,24 (*dd*, 6H, *o*-fenil); 8,03 (*d*, 2H, *o*-hidroxifenil); 7,74 (*m*, 9H, *m* e *p*-fenil); 7,02 (*d*, 2H, *m*-hidroxifenil); -2,78 (*s*, 2H, *N*-pirrólicos). **MALDI-TOF**: *m/z* calculado para $\text{C}_{44}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}^+$: 631,2492 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; *m/z* obtido: 631,923 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A porfirina hidroxilada **5** foi obtida a partir de reação de hidrólise do grupo acetila com solução de HCl 37% (p/p) da porfirina **4**, conforme descrito previamente. O rendimento obtido de 94,7% foi superior ao descrito (70%) (DALLAGNOL, 2014).

As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H , na região do UV-VIS e do IV confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 3, pg. 168), com espectro de UV-VIS padrão de porfirinas e relação *m/z* de 631,923.

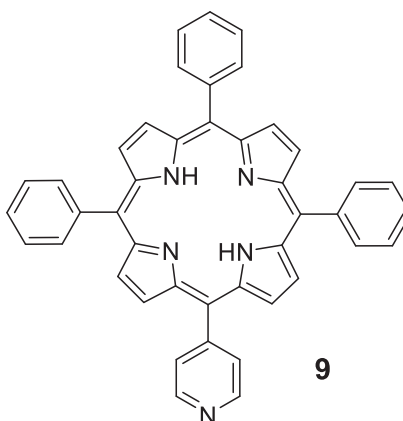
A desacetilação pôde ser verificada no espectro na região do IV, com a observação de bandas próximas a 3000 cm^{-1} para a porfirina hidroxilada **5**, referente

ao estiramento da ligação O-H do grupo hidroxila, anteriormente ausente no espectro da porfirina acetilada **4**. O espectro de RMN de ^1H apresenta-se em concordância com os sinais previamente reportados (Tabela 7) e nota-se a ausência do sinal referente aos hidrogênio CH_3 do grupo acetila em 2,48 ppm (DALLAGNOL, 2014).

Tabela 7 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina **5** com os sinais previamente reportados na literatura

5	Dallagnol (2014)
8,87	8,90
8,84	8,87
8,24	8,24
8,03	8,08
7,74	7,78
7,02	7,17
-2,78	-2,72

4.1.3 Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-trifenilporfirina (**9**)



RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 9,02 (*d*, 3,5-piridil); 8,89 (*d*, pirrol); 8,85 (*s*, pirrol); 8,81 (*d*, pirrol); 8,21 (*m*, 2,6-fenil); 8,17 (*d*, 2,6-piridil); 7,78 (*d*, 3,4,5-fenil); -2,80 (*s*, *N*-pirrólicos). **MALDI-TOF**: *m/z* calculado para $\text{C}_{43}\text{H}_{29}\text{N}_5^+$: 616,2495 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; *m/z* obtido: 617,615 $[\text{M}+2\text{H}]^+$.

A porfirina contendo anel piridila **9** foi obtida a partir de reação de ciclocondensação-oxidação de Adler e colaboradores (1967). O rendimento obtido de 7,8% foi superior ao descrito para a mesma porfirina em estudo anterior (4,8%)

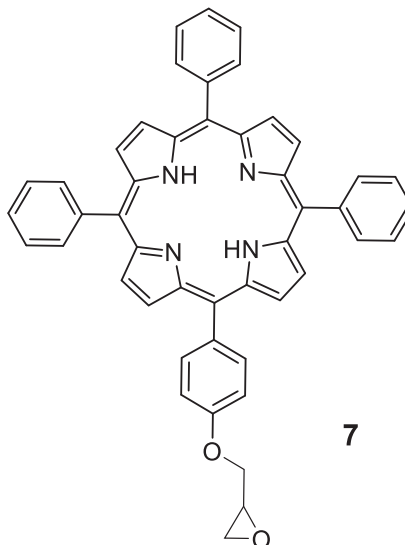
(VANDRESEN, 2013). Houve a formação de porfirinas com outros padrões de substituição que foram separados no processo de purificação.

As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H , na região do UV-VIS e do IV confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 4, pg. 170). O espectro de UV-VIS mostrou características espectrais padrão de porfirinas e obteve-se no espectro de massas o pico de relação massa/carga (m/z) de 617,6, de alta intensidade, corresponde ao íon molecular $[\text{M}+2]$, relativo a massa do composto formado ($615,72 \text{ g.mol}^{-1}$) mais dois hidrogênios.

No espectro obtido na região do infravermelho, observou-se bandas características de estiramentos $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de anel piridínico entre 1400 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} . Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios da porfirina **9** no espectro de RMN de ^1H encontraram-se de acordo com a literatura (Tabela 8) (VANDRESEN, 2013), apresentando os sinais característicos de anel piridila em 9,02 ppm e 8,17 ppm.

Tabela 8 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina **9** com os sinais previamente reportados na literatura

9	Vandresen (2013)
9,02	9,04
8,89	8,91
8,85	8,88
8,81	8,81
8,21	8,23
8,17	7,79
7,78	7,76
-2,80	-2,76

4.1.4 Síntese da 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina (**7**)

RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,84 (8H, d, J 2,41 Hz, β -pirrólico); 8,21 (6H, m, *o*-fenil); 8,12 (2H, dd, 2J 6,17 Hz, 3J 2,00 Hz, *m*-propiloxifenil); 7,75 (9H, dd, 2J 5,26 Hz, 3J 1,75 Hz, *m* e *p*-fenil); 7,30 (2H, dd, 2J 6,13 Hz, 3J 2,04 Hz, *o*-propiloxifenil); 4,53 (1H, dd, 2J 11,00 Hz, 3J 3,18 Hz, H1-propiloxifenil); 4,25 (1H, dd, 2J 11,31 Hz, 3J 5,63 Hz, H2-propiloxifenil); 3,56 (1H, m, H3-propiloxifenil); 3,05 (1H, dd, 2J 5,04 Hz, 3J 4,18 Hz, H4-propiloxifenil); 2,94 (1H, dd, 2J 4,90 Hz, 3J 2,66 Hz, H5-propiloxifenil); -2,77 (2H, s, NH). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 158,5; 142,4; 135,8; 135,3; 134,7; 131,2; 127,9; 126,8; 120,3; 120,0; 113,0; 69,3; 50,5; 45,0; 29,9. **MALDI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{47}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2^+$: 687,2754 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 687,497 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A reação entre a porfirina **5** e epícloridrina **6** foi estudada e algumas condições foram avaliadas, conforme Tabela 2 (pg. 58). Nas condições das entradas 1 e 2, foi avaliado o solvente a ser empregado, sendo que a condição utilizando dimetilformamida teve um melhor resultado, apresentando 88% de rendimento, comparado com a condição utilizando diclorometano, que teve como rendimento 61% para porfirina **7**.

Na tentativa de avaliar a melhor base a ser empregada, foram testadas as condições das entradas 3, 4 e 5, variando entre carbonato de sódio, hidróxido de sódio e trietilamina. A melhor base a ser empregada continuou sendo hidróxido de sódio, da entrada 2, que continuou apresentando o melhor rendimento.

A fim de melhorar a reatividade da epiclorigrina, também foram testadas condições com brometo de tetrabutilamônio (entradas 6, 7 e 8). Esperava-se que o bromo, ao se ligar com o cloro, aumentasse a reatividade do mesmo. Ao final do estudo com oito reações diferentes, a condição da entrada 2 foi a que apresentou melhor rendimento para a porfirina **7** (88%), o qual apresentou-se maior que o rendimento reportado para porfirina-epóxido com estrutura similar (73%) (SONGCA; MBATHA, 2000).

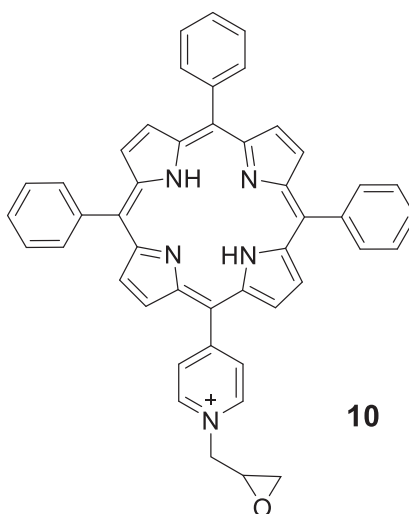
O composto obtido foi caracterizado por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H , de ^{13}C e na região do UV-VIS (Anexo 5, pg. 172). O comportamento padrão de porfirinas foi observado no espectro de UV-VIS. A relação m/z de 687,497 observada no espectro de massas foi compatível com a massa esperada para o composto obtido.

O espectro de RMN de ^1H obtido para porfirina **7** apresentou os sinais referentes aos hidrogênios da porfirina inicial utilizada **5** e também sinais novos referentes ao grupo alquila adicionado à molécula. Os sinais referentes aos hidrogênios do grupo epóxido inserido apresentaram-se na região entre 4,60 ppm e 2,90 ppm. Os mesmos assinalamentos foram observados em estudo anterior de obtenção de porfirinas contendo grupo epóxido (Tabela 9) (SONGCA; MBATHA, 2000).

Tabela 9 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina **7** com os sinais previamente reportados na literatura

	H	7	Songca; Mbatha (2000)
	1	4,53	4,52
	2	4,25	4,21
	3	3,56	3,53
	4	3,05	3,05
	5	2,94	2,88

4.1.5 Tentativa de síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenilporfirina (10)



MALDI-TOF: m/z calculado para $C_{46}H_{34}N_5O^+$: 673,2830 $g \cdot mol^{-1}$; m/z obtido: 673,986 $[M+H]^+$.

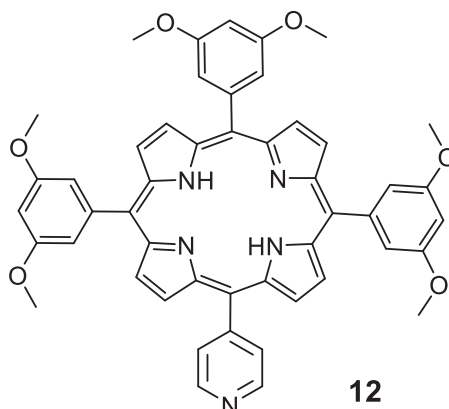
A porfirina **9** foi submetida à reações de *N*-alquilação conforme as condições da Tabela 2 (pg. 59). Na condição da entrada 1 não foi verificada formação do produto esperado. A condição da entrada 2 teve como resultado indícios de formação de produto por CCD, pela visualização de uma mancha, com coloração de porfirina, no ponto de aplicação da placa cromatográfica, que ocorre devido à interação da molécula cationizada formada com a sílica.

A obtenção do composto **10** foi confirmado por espectrometria de massas, porém o pico referente a relação massa-carga correspondente apresentou-se com fraca intensidade, provavelmente devido a formação de pequenas quantidades do produto. Para aumentar o consumo de material inicial, na entrada 3, foi testada a mesma condição com temperatura de 65°C. Ainda assim não houve diferença significativa conforme observado na CCD ao final da reação. Avaliou-se também condição utilizando brometo de tetrabutilamônio (entrada 4), porém não foi observada formação de produto para essa condição.

Para as condições utilizando ácido clorídrico e banho de ultrassom, entradas 5 e 6, os resultados foram similares entre si e com as condições anteriores. Também foi possível observar a ausência de migração da banda cromatográfica na CCD e a

formação do produto no espectro de massas. Nesse caso observou-se tanto o produto esperado, quanto o subproduto com o grupamento epóxido aberto, devido à presença de ácido. Foram obtidos somente traços da porfirina **10**, confirmado por espectrometria de massas (Anexo 6, pg. 175).

4.1.6 Síntese da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**12**)



RMN de ^1H (CDCl_3) δ 8,95 (d, $J = 5,14$ Hz, 2H); 8,91 (d, $J = 4,65$ Hz, 2H); 8,87 (s, 4H); 8,70 (d, $J = 4,65$ Hz, 2H); 8,08 (d, $J = 5,31$ Hz, 2H); 7,31 (d, $J = 1,99$ Hz, 6H); 6,82 (s, 3H); 3,88 (s, 18H); -2,92 (s, 2H). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 159,1; 150,6; 148,5; 144,0; 129,7; 120,7; 120,4; 116,5; 114,1; 100,3; 55,9; 31,3. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_6^+$: 796,3129 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 796,3116 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

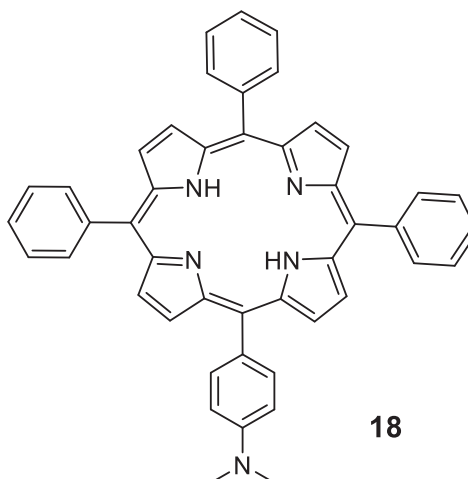
A porfirina **12** contendo o grupo piridila foi sintetizada pelo método de Adler e colaboradores (1967), utilizando os aldeídos piridina-4-carboxaldeído e 3,5-dimetoxibenzaldeído. Os grupos metoxila favorecem a solubilidade e o processo de purificação quando comparado com a porfirina **9**, que também contém um grupo piridina, o que pode ser percebido pelo rendimento de 25% encontrado frente ao rendimento de 7,8%.

A reação demonstrou-se eficiente em termos de rendimentos quando comparado com piridil porfirinas previamente reportadas. No trabalho de Vandresen e colaboradores (2016) os rendimentos obtidos variaram de 0,9 a 3,1%. Outros trabalhos demonstraram rendimentos entre 1–9% (MENG; JAMES, 1994) e 6,5% (SUN *et al.*, 2012).

As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência confirmaram a estrutura do composto obtido e encontram-se no Anexo 7 (pg. 176). O espectro de UV-VIS mostrou as características espectrais padrão de porfirinas e o espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 647 nm.

A relação m/z de 796,3116 observada no espectro de massas foi condizente com a massa esperada para o composto obtido. O espectro de RMN de ^1H apresentou sinais correspondentes aos grupos metila das metoxilas em 3,88 ppm e de anel piridínico em 8,95 ppm e 8,08 ppm.

4.1.7 Síntese da 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**18**)



RMN de ^1H (CDCl_3) δ 8,87 (d, $J = 4,50$ Hz, 2H, β -pirrólicos); 8,74 (m, 6H, β -pirrólicos); 8,14 (m, 5H, *o*-fenil); 8,00 (m, 2H, *o*-dimetilaminofenil); 7,67 (m, 10H, *m*- e *p*-fenil); 7,02 (m, 2H, *m*-dimetilaminofenil); 3,14 (s, 6H, CH_3); -2,77 (s, 2H, NH). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 150,26; 142,63; 136,01; 134,84; 130,42; 127,89; 126,92; 121,66; 120,20; 119,81; 110,96; 41,05. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{35}\text{N}_5^+$: 658,2965 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 658,2972 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Uma tentativa de sintetizar a porfirina **18** utilizando a metodologia de Adler foi realizada. O rendimento obtido de 0,47% demonstrou que esta condição não é eficiente nesse caso. A porfirina **18** foi, então, sintetizada utilizando condição de

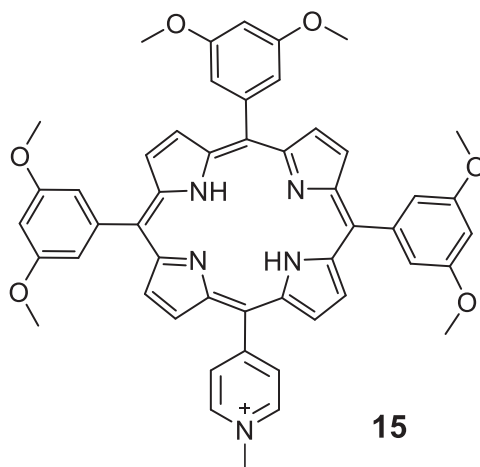
Lindsey e colaboradores (1987) que já foi empregada anteriormente para síntese da mesma porfirina (OJADI *et al.*, 1993) e obteve-se rendimento de 42,3%.

O composto obtido foi caracterizado por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência (Anexo 8, pg. 179). Padrão característico de porfirinas foi observado no espectro de UV-VIS e o espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 654 nm. A relação m/z de 658,2972 observada no espectro de massas corresponde à massa calculada de 658,2965 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Os assinalamentos dos hidrogênios da porfirina **18** no espectro de RMN de ^1H foram comparados com sinais previamente reportados (Tabela 10). Foram observados deslocamentos ligeiramente diferentes para os hidrogênio β -pirrólicos e de anel aromático, pela influência de resíduos de TFA no deslocamento dos mesmos, fenômeno que foi observado também por outros pesquisadores (WALTER; OJADI; LINSCHITZ, 1993).

Tabela 10 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina **18** com os sinais previamente reportados na literatura

18	Walter; Ojadi; Linschitz (1993)
8,99	8,87
8,86	8,74
8,25	8,14
8,10	8,00
7,78	7,67
7,04	7,02
3,14	3,14
-2,68	-2,77

4.1.8 Síntese da 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**15**)

RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 9,44 (d, $J = 6,68$ Hz, 2H); 9,05 (d, $J = 4,60$ Hz, 2H); 8,98 (m, 8H); 7,38 (d, $J = 2,21$ Hz, 6H); 7,02 (dd, $J = 2,20$ Hz, $J_7 = 4,62$ Hz, 3H); 4,70 (2, 3H); 3,94 (s, 18H); -2,96 (s, 2H). **RMN de ^{13}C** (DMSO_{d6}) δ 158,7; 157,5; 143,9; 142,7; 132,2; 121,1; 120,45; 113,6; 113,0; 100,0; 55,5; 47,7; 30,6; 29,7. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{50}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_6^+$: 810,3280 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 810,3293 [M] $^+$.

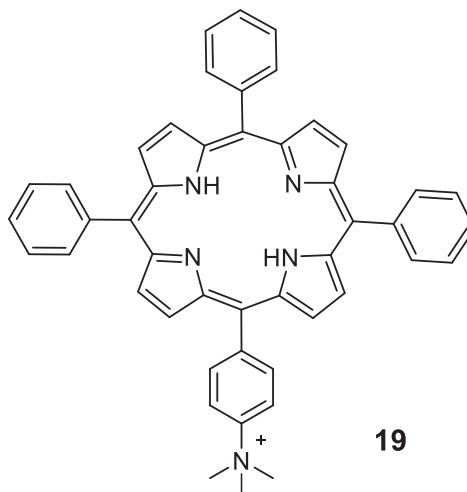
O derivado catiônico metilado do composto **12**, a porfirina **15**, foi sintetizado através de reação de metilação utilizando excesso de iodeto de metila. A purificação por cristalização resultou em cristais de alta pureza para posterior caracterização. Os rendimentos obtidos demonstraram que a reação e a purificação foram eficientes (91%). Na literatura, porfirinas contendo anel piridila metilado mostraram rendimentos variando de 27–90% (JENSEN *et al.*, 2010; VANDRESEN *et al.*, 2016; CASAS, *et al.*, 1993; MENG; JAMES, 1994).

As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência, confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 9, pg. 182). Observou-se espectro de UV-VIS padrão de porfirinas para o composto **15** e o espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 651 nm. A relação m/z de 810,3293 observada no espectro de massas corresponde a massa calculada de 810,3280 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

A cationização da porfirina **12** pôde ser observada no espectro de RMN de ^1H pelo deslocamento do sinal dos hidrogênios 3,5-piridina da porfirina **15**

para maiores deslocamentos químicos (9,44 ppm). Também observou-se um novo sinal, referente ao grupo metila inserido, em 4,70 ppm.

4.1.9 Síntese da 5-(*N,N,N*-trimetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**19**)



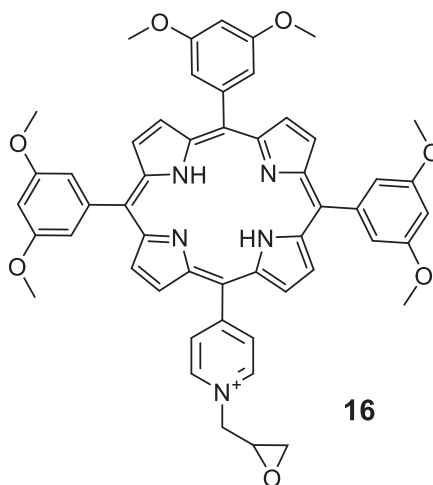
RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 8,84 (8H, β -pirrólicos); 8,51 (2H, *o*-trimetilamoniofenil); 8,42 (2H, *m*-trimetilamoniofenil); 8,22 (6H, *o*-fenil); 7,85 (9H, *m*- e *p*-fenil); 3,92 (9H, CH_3); -2,91 (2H, NH). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 206,5; 147,0; 144,0; 142,8; 141,1; 135,2; 134,2; 128,2; 127,0; 120,6; 120,3; 119,2; 56,75; 54,9; 30,7. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{47}\text{H}_{38}\text{N}_5^+$: 672,3116 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 672,3133 $[\text{M}]^+$.

A porfirina **19** foi sintetizada e purificada da mesma forma que a porfirina **15**, com rendimento de 86%. A porfirina **19** foi reportada previamente com rendimentos de 40% e 70% (CHEN, *et al.* 2003; JENSEN *et al.*, 2010).

O composto obtido foi caracterizado por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência, confirmando a estrutura do composto obtido (Anexo 10, pg. 185). O espectro de UV-VIS mostrou características espectrais padrão de porfirinas, enquanto o espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 652,5 nm. A relação m/z de 672,3133 observada no espectro de massas foi condizente com a massa esperada para o composto obtido.

A caracterização da porfirina **19** por RMN de ^1H foi coerente com o encontrado na literatura (JENSEN *et al.*, 2010; CHEN, *et al.* 2003), com sinal em 3,92 ppm referente aos hidrogênios do grupo metila inserido.

4.1.10 Síntese da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina
(16)



RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 9,45 (d, $J = 6,21$ Hz, 2H); 9,04-8,95 (m, 10H); 7,38 (d, $J = 1,94$ Hz, 6H); 7,01 (m, 3H); 6,45 (d, $J = 4,35$ Hz, 1H); 5,20 (d, $J = 12,57$ Hz, 1H); 4,84 (m, 1H); 4,55 (s, 1H); 3,93 (s, 18H); 3,82 (dd, $J = 6,03$ Hz, $J_1 = 10,46$ Hz, 1H); -2,96 (s, 2H). **RMN de ^{13}C** (DMSO_{d6}) δ 158,9; 148,8; 142,7; 132,2; 120,4; 113,6; 112,8; 100,0; 72,4; 70,8; 63,3; 63,0; 62,7; 59,5; 55,4; 37,1; 28,8. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{52}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_7^+$: 852,3386 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 852,3392 $[\text{M}]^+$.

A porfirina **12** foi submetida à reação de alquilação utilizando epibromoidrina como agente alquilante. O composto obtido **16**, contendo grupo epóxido, apresenta assim alta potencialidade para ser ligado a biomoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos (FERRIS *et al.*, 2011; LOTZ *et al.*; 2012; JANISSEN; OBERBARNSCHEIDT; OESTERHELT, 2009; KANG *et al.*, 2012).

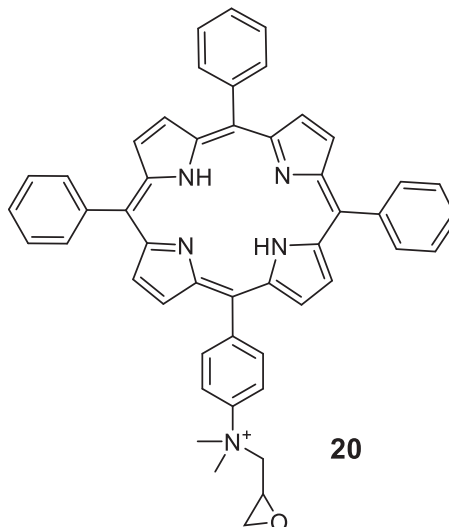
Devido ao baixo rendimento obtido (17%) houve dificuldade na purificação destes compostos. Não foi possível a sua cristalização considerado o procedimento ideal para porfirinas catiônicas. A purificação foi realizada, então, através de CCD preparativa. Apesar do pouco consumo do material inicial, a porfirina **16** foi obtida com maior rendimento do que o derivado alquilado da porfirina **9** (onde também houve tentativa de alquilação do anel piridila), possivelmente pelo uso de epibromidrina no lugar de epicloridrina, já que o bromo constitui um melhor grupo abandonador do que o cloro.

As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 11, pg. 188). O espectro de UV-VIS mostrou características espectrais padrão de porfirinas. O espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 651 nm. A relação m/z de 852,3392 observada no espectro de massas condiz com a massa esperada para o composto obtido.

O espectro de RMN de ^1H mostrou novos sinais relativos aos hidrogênios do grupo epóxido na região entre 3,80 e 6,50 ppm. Apresentou também deslocamento dos sinais dos hidrogênios do anel piridila substituídos para 9,45 ppm, cujos deslocamentos são similares aos observados para a porfirina **15** que possui substituinte metila (Tabela 11).

Tabela 11 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para as porfirinas **12**, **15** e **16**

Porfirina precursora 12	Derivado metilado 15	Derivado epóxido 16	Atribuição
8,95	9,44	9,45	<i>m</i> -piridil
8,70-8,87-8,91	8,98	8,95	β -pirrólico
8,08	9,05	9,04	<i>o</i> -piridil
7,31	7,38	7,38	<i>o</i> -dimetoxifenil
6,82	7,02	7,01	<i>p</i> -dimetoxifenil
-	-	6,45	H1 – epóxido
-	-	5,20	H2 – epóxido
-	-	4,84	H3 – epóxido
-	-	4,55	H4 – epóxido
	4,70	-	CH ₃
3,88	3,94	3,93	CH ₃ metoxila
-	-	3,82	H5 – epóxido
-2,92	-2,96	-2,96	NH

4.1.11 Síntese da 5-(*N*-dimetilepoximetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**20**)

RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 8,84 (m, 8H); 8,51 (d, $J = 8,82$ Hz, 2H); 8,42 (d, $J = 8,82$ Hz, 2H); 8,22 (d, $J = 6,71$ Hz, 6H); 7,84 (m, 9H); 5,13 (m, 1H); 4,71 (s, 1H); 4,14 (s, 1H); 3,92 (s, 6H); 3,62 (m, 2H); -2,92 (s, 2H). **RMN de ^{13}C** (DMSO_{d6}) δ 206,4; 141,1; 135,3; 134,3; 127,1; 120,3; 70,9; 63,4; 56,7; 37,2; 31,2; 30,6; 28,9. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}^+$: 714,3214 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 714,3221 [M] $^+$.

A porfirina **20** foi sintetizada e purificada da mesma forma que a porfirina **16** com rendimento de 6%, apresentando mesmo potencial reativo de compostos contendo grupo epóxido.

O composto foi caracterizado por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência (Anexo 12, pg. 191). O espectro de UV-VIS característico de porfirinas foi observado e o espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 651 nm. A relação m/z de 714,3221 observada no espectro de massas corresponde a massa esperada para o composto obtido.

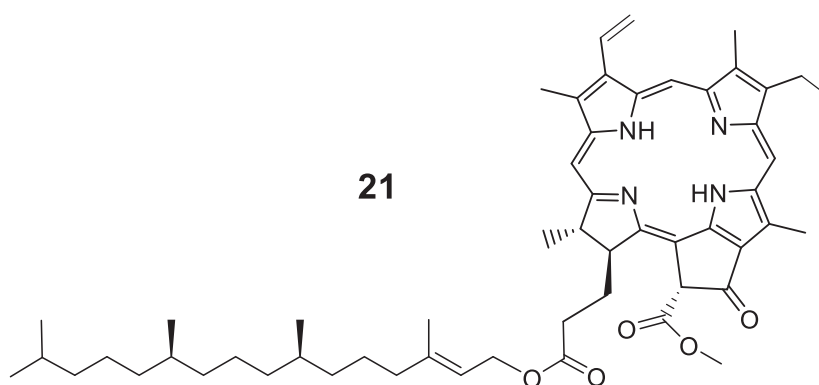
O espectro de RMN de ^1H mostrou novos sinais relativos aos hidrogênios do grupo epóxido na região entre 3,50 e 5,50 ppm. Apresentou também deslocamento dos sinais dos hidrogênios do anel aminofenil substituído para 8,51 ppm e 8,42 ppm, cujos deslocamentos foram similares aos observados para a porfirina **19** que possui substituinte metila (Tabela 12).

Tabela 12 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para as porfirinas **18**, **19** e **20**

Porfirina precursora 18	Derivado metilado 19	Derivado epóxido 20	Atribuição
8,87-8,74	8,84	8,84	β -pirrólico
8,00	8,51	8,51	<i>o</i> -aminofenil
7,02	8,42	8,42	<i>m</i> -aminofenil
8,14	8,22	8,22	<i>o</i> -fenil
7,67	7,85	7,84	<i>m</i> - e <i>p</i> -fenil
-	-	5,13	H1 – epóxido
-	-	4,71	H2 – epóxido
-	-	4,14	H3 – epóxido
3,14	3,92	3,92	CH_3
-	-	3,62	H4 e H5 – epóxido
-2,77	-2,91	-2,92	NH

4.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS CLORINAS

4.2.1 Extração da feofitina a (**21**)



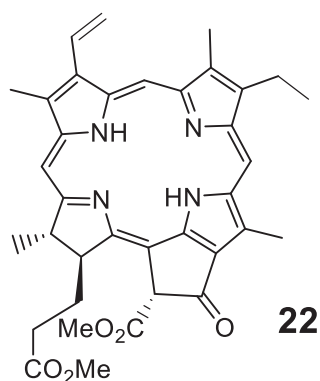
RMN de ^1H (CDCl_3) δ 9,49 (s, 1H, H10); 9,36 (s, 1H, H5); 8,53 (s, 1H, H20); 7,96 (dd, $J=11,50/17,86$ Hz, 1H, H3a); 6,26 (d, $J=17,70$ Hz, 1H, H3b); 6,23 (s, 1H, H3b); 6,15 (d, $J=11,45$ Hz, 1H, H3a); 5,11 (m, 1H, phytol); 4,47 (1H, H18); 4,42 (m, H17); 4,27 (m, 1H, phytol); 4,19 (m, 1H, phytol); 3,86 (s, 3H, H13d); 3,66 (s, 3H, H12a); 3,63 (m, 2H, H8a); 3,38 (s, 3H, H7a); 3,21 (s, 3H, H2a); 2,60-2,46-2,33 (m, 4H, H17a,b); 1,85 (m, 2H, phytol); 1,78 (d, $J=7,18$ Hz, 3H, H18a); 1,67 (m, 3H, phytol); 1,58 (m, 2H, phytol); 1,55 (s, 3H, phytol); 1,48 (m, 1H, phytol); 1,29 (m, 2H, phytol); 1,24 (s, 14H, phytol); 0,82 (d, $J=6,54$ Hz, 6H, phytol); 0,78 (d, $J=6,65$ Hz, 3H, phytol); 0,76 (d, $J=6,55$ Hz, 3H, phytol); -1,63 (2H, NH). **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{55}\text{H}_{74}\text{N}_4\text{O}_5^+$: 871,5731 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 871,5749 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

A feofitina a **21** (clorofila a sem o íon de magnésio central) é conhecida por possuir alta eficácia como FS na PDT. A *Spirulina pacifica* é a fonte ideal para extração desse composto, pois possui somente clorofila a, com ausência de clorofila b (JINADASA *et al.*, 2011). A extração ocorreu de forma eficiente para a recuperação de 1 g de produto.

As caracterizações por espectrometria de massas e espectroscopia de RMN de ^1H confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 13, pg. 194). Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios da clorina **21** no espectro de RMN de ^1H foram comparados com assinalamento encontrados na literatura (Tabela 13) (KURIHARA *et al.*, 2014).

Tabela 13 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a clorina **21** com os sinais previamente reportados na literatura

21	Kurihara (2014)	21	Kurihara (2014)
9,49	9,49	3,21	3,21
9,36	9,36	2,60	2,83
8,53	8,53	2,46	2,73
7,96	7,97	2,33	2,45
6,26	6,27	1,85	1,85
6,23	6,24	1,78	1,78
6,15	6,15	1,67	1,67
5,11	5,10	1,58	1,60
4,47	4,46	1,55	1,55
4,42	4,44	1,48	1,48
4,27	4,27	1,29	1,29
4,19	4,19	1,24	1,23
3,86	3,86	0,82	0,82
3,66	3,66	0,78	0,78
3,63	3,63	0,76	0,76
3,38	3,38	-1,63	-

4.2.2 Síntese do metil-feoforbídeo a (**22**)

RMN de ^1H (acetona- d_6) δ 9,54 (s, 1H); 9,23 (s, 1H); 8,74 (s, 1H); 7,94 (m, 1H); 6,19 (dd, $J=17,82/1,20$ Hz, 1H); 6,18 (s, 1H); 6,03 (dd, $J=11,5/1,20$ Hz, 1H); 4,50 (m, 1H); 4,08 (m, 1H); 3,73 (s, 3H); 3,67 (s, 3H); 3,50 (s, 3H); 3,43 (s, 2H); 2,71 (m, 1H); 2,68 (m, 1H); 2,43 (m, 2H); 1,95 (s, 3H); 1,50 (m, 3H); -1,90 (s, 2H). **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_5^+$: 607,2914 g.mol $^{-1}$; m/z obtido: 607,2917 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

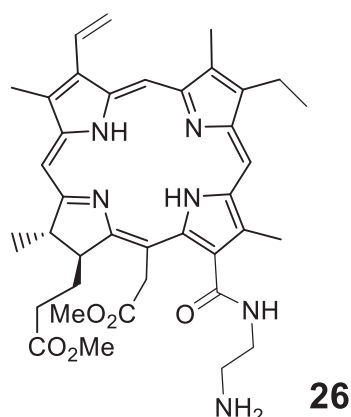
Com a metanólise do grupo éster fitila da clorina **21**, obteve-se a clorina **22** com rendimento de 96%, sem afetar o anel externo ao macrociclo. O metil-feoforbídeo a **22** é mais estável que a clorofila a, sendo então utilizado como material inicial para obtenção de derivados de clorofila (MAL'SHAKOVA; BELYKH; KUCHIN, 2007).

Foram realizadas caracterizações por espectrometria de massas e espectroscopia de RMN de ^1H para confirmar a estrutura do composto obtido (Anexo 14, pg. 196). Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios da clorina **22** no espectro de RMN de ^1H encontraram-se em concordância com os assinalamento encontrados na literatura (Tabela 14) (JINADASA, 2013).

Tabela 14 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a clorina **22** com os sinais previamente reportados na literatura

22	Jinadasa (2013)	22	Jinadasa (2013)
9,54	9,33	3,67	3,62
9,23	9,11	3,50	3,58
8,74	8,61	3,43	3,44
7,94	7,83	2,71	2,66
6,19	6,21	2,68	2,56
6,18	6,19	2,43	2,32
6,03	6,09	1,95	1,85
4,50	4,50	1,50	1,59
4,08	4,19	-1,90	-1,80
3,73	3,90		

4.2.3 Síntese da 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (**26**)

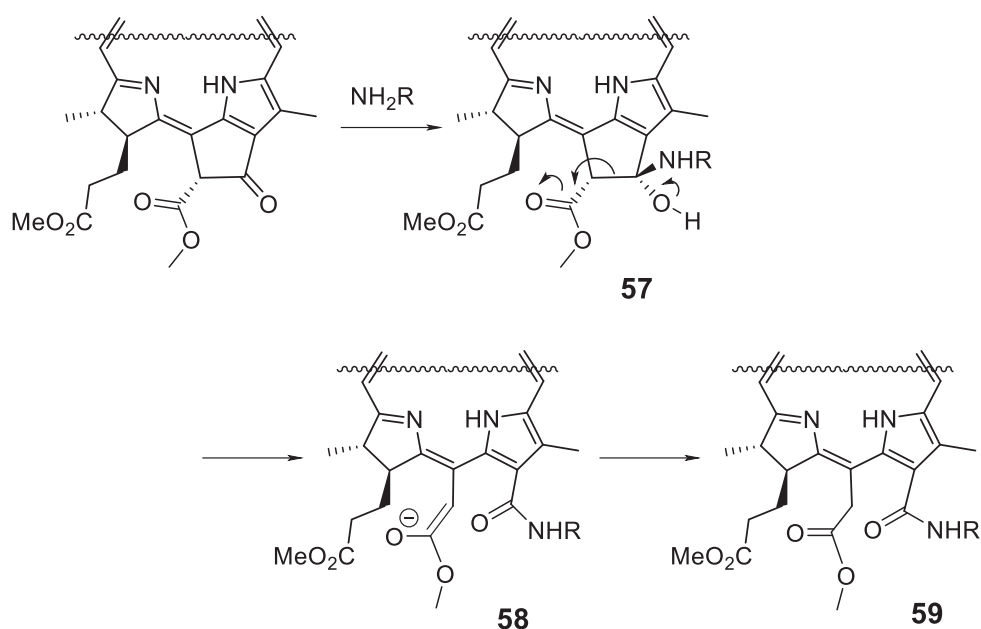


RMN de ^1H (acetona- d_6) δ 9,70 (s, 1H); 9,63 (s, 1H); 9,09 (s, 1H); 8,10 (dd, $J=17,5/11,55$ Hz, 1H); 8,08 (s, 1H); 6,30 (d, $J=17,86$ Hz, 1H); 6,03 (d, $J=11,63$ Hz, 1H); 5,67 (d, $J=19,01$ Hz, 1H); 5,39 (d, $J=19,01$ Hz, 1H); 4,66 (m, 1H); 4,51 (d, $J=10,05$ Hz, 1H); 4,02 (m, 2H); 3,87 (m, 2H); 3,75 (s, 3H); 3,68 (m, 2H); 3,61 (s, 3H); 3,51 (s, 3H); 3,46 (s, 3H); 3,21 (s, 2H); 2,70 (m, 1H); 2,31 (m, 2H); 1,96 (m, 1H); 1,81 (m, 1H); 1,72 (d, $J=7,22$, 3H); 1,64 (t, $J=7,45$, 3H); -1,63 (s, 1H); -1,92 (s, 1H). **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_5^+$: 667,3602 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 667,3614 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Para obtenção de novos derivados de clorofila a, o método de abertura do anel externo ao macrociclo do metil-feofobídeo a **22** pela ação de aminas é bastante

utilizado. Pela variação do substituinte no átomo do nitrogênio da amina, uma série de derivados amida diferentes podem ser obtidos (BELYKH *et al.*, 2005).

A reação de aminas primárias e secundárias com o β -ceto-éster cíclico é considerada uma substituição nucleofílica no carbono carbonílico (Esquema 37). A amina livre ataca o carbono carbonílico do ciclo para formar um hemiaminal **57**. Em seguida, a clivagem do anel acontece para formação do intermediário **58**. A facilidade com que essa abertura acontece se deve à liberação da tensão de deformação do anel para formação, então, do derivado mais estável **59** (JINADASA, 2013).



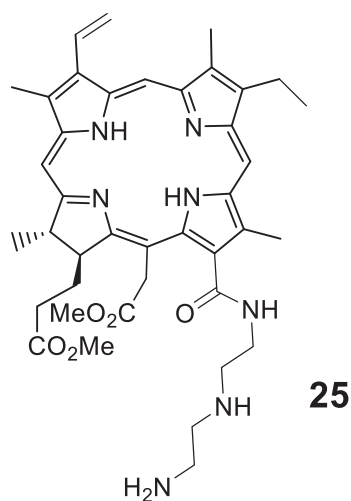
Esquema 37 – Mecanismo proposto para a abertura do anel β -ceto-éster do metil-feoforbideo a por amina

A clorina **26** foi obtida por abertura do anel do metil-feoforbideo a utilizando etilenodiamina, conforme proposto anteriormente (JINADASA, 2013). As caracterizações por espectrometria de massas e espectroscopia de RMN de ^1H confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 15, pg. 198). Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios da clorina **26** no espectro de RMN de ^1H encontraram-se em concordância com os assinalamento encontrados na literatura (Tabela 15) (JINADASA, 2013). A amida secundária formada apresenta no espectro de RMN de ^1H sinal de hidrogênio NH em 9,09 ppm, antes ausente, sinais dos grupos CH_2 entre os átomos de nitrogênio em 3,87-4,02 ppm e dos dois hidrogênios referentes ao NH_2 em 3,21 ppm (MAL'SHAKOVA; BELYKH; KUCHIN, 2007).

Tabela 15 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a clorina **26** com os sinais previamente reportados na literatura

26	Jinadasa (2013)	26	Jinadasa (2013)
9,70	9,69	3,68	3,66
9,63	9,63	3,61	3,61
9,09	9,09	3,51	3,50
8,10	8,09	3,46	3,45
8,08	8,07	3,21	3,20
6,30	6,29	2,70	2,71
6,03	6,02	2,31	2,31
5,67	5,67	1,96	1,95
5,39	5,39	1,81	1,80
4,66	4,66	1,71	1,72
4,51	4,51	1,65	1,64
4,02	4,01	-1,63	-1,65
3,87	3,87	-1,92	-1,93

4.2.4 Síntese da 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster (**25**)



RMN de ^1H (acetona- d_6) δ 9,75 (s, 1H); 9,70 (s, 1H); 9,10 (s, 1H); 8,18 (dd, $J=17,85/11,54$ Hz, 1H); 8,09 (s, 1H); 6,36 (dd, $J=17,93/1,13$ Hz, 1H); 6,09 (dd, $J=11,65/1,21$ Hz, 1H); 5,67 (d, $J=18,78$ Hz, 1H); 5,39 (d, $J=19,30$ Hz, 1H); 4,65 (m, 1H); 4,49 (d, $J=10,04$ Hz, 1H); 4,05 (m, 1H); 3,92 (m, 1H); 3,74 (m, 7H); 3,60 (s, 3H); 3,55 (s, 3H); 3,49 (s, 3H); 3,26 (s, 3H); 2,80 (m, 1H); 2,70 (m, 1H); 2,30 (m, 2H); 2,08 (m, 1H); 1,81 (m, 1H); 1,65-1,72 (m, 6H); -1,62 (s, 1H); -1,71 (s, 1H). **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{51}\text{N}_7\text{O}_5^+$: 710,4024 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 710,4030 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Para obtenção de um novo derivado amida da clorofila a, 13-dietilenotriamínclorina e6 dimetil éster **25**, foi realizada reação de abertura do anel β -ceto-éster utilizando dietilenotriamina, seguindo a mesma metodologia utilizada para obtenção da clorina **26**.

As caracterizações por espectrometria de massas e espectroscopia de RMN de ^1H confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 16, pg. 200). Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios da clorina **25** no espectro de RMN de ^1H revelaram os sinais conhecidos referentes à abertura do anel e formação de amida, coincidentes com os sinais obtidos para a clorina **26**. Ainda, observaram-se novos sinais referentes ao hidrogênio NH em 2,80 ppm e aos grupos CH_2 em 3,74 ppm (Figura 19). Estes novos sinais puderam ser confirmados por sobreposição dos espectros das clorinas **25** e **26**.

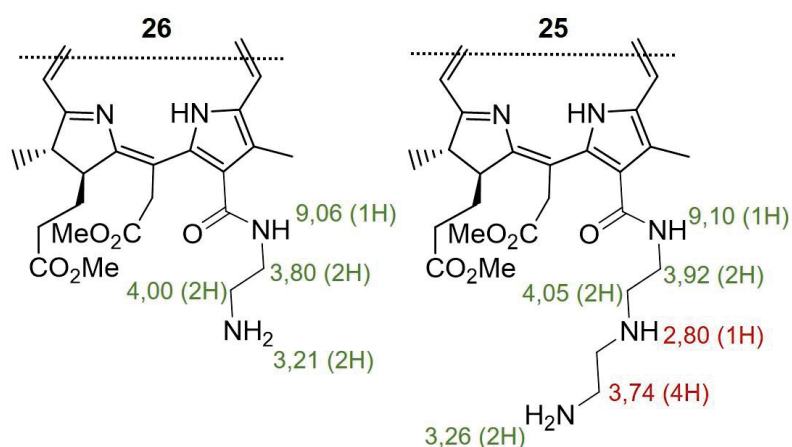


Figura 19 – Sinais de hidrogênio obtidos por RMN de ^1H para as clorinas **25** e **26**

Na Figuras 20, é possível observar, com a sobreposição dos espectros de **25** e **26**, o sinal em 2,80 ppm e na Figura 21 está apresentada a sobreposição dos espectros na região de 3,74 ppm. Nota-se que o sinal dos grupos CH_2 está sobreposto com sinal presente nos dois compostos (hidrogênio do macrociclo) e, portanto, o sinal foi comprovado pelo número de hidrogênios atribuídos por integração.

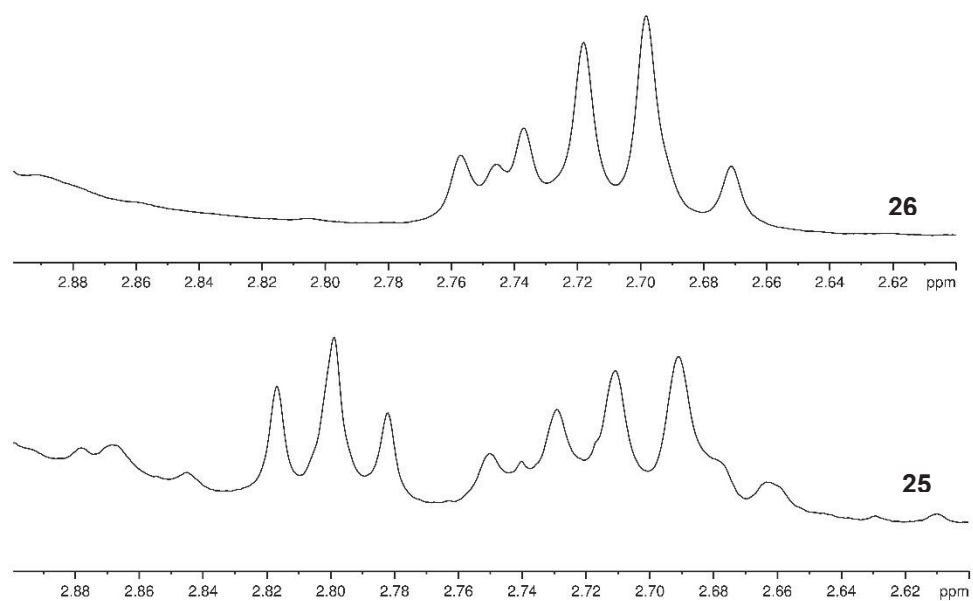


Figura 20 – Sobreposição dos espectros de RMN de ¹H na região de 2,80 ppm das clorinas **25** e **26**

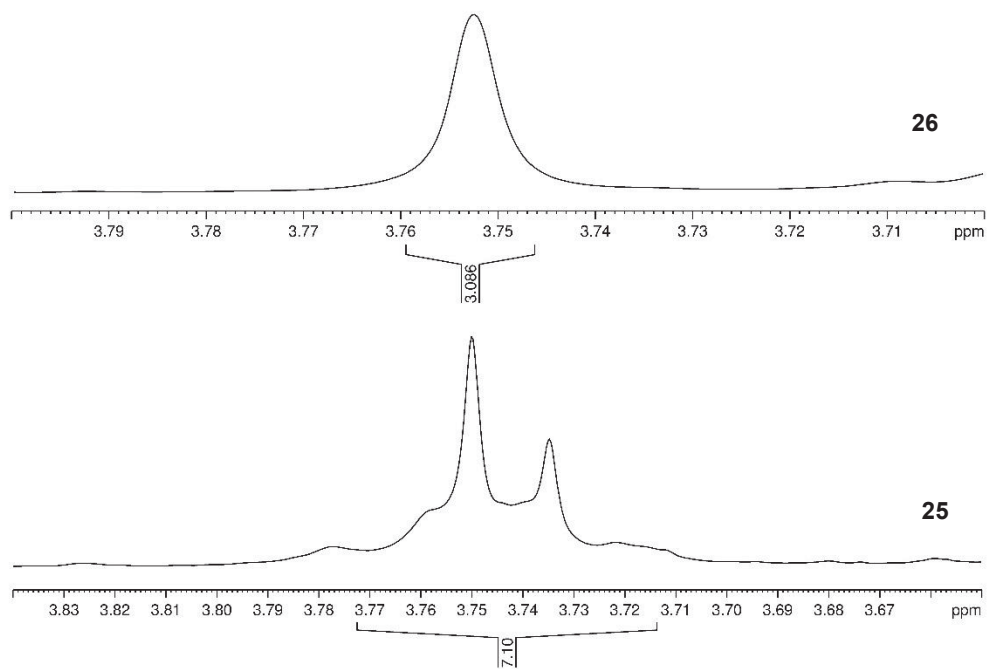
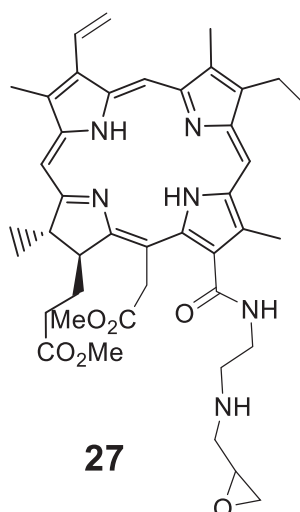


Figura 21 – Sobreposição dos espectros de RMN de ¹H na região de 3,75 ppm das clorinas **25** e **26**

4.2.5 Síntese da 13-epoximetil-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (**27**)

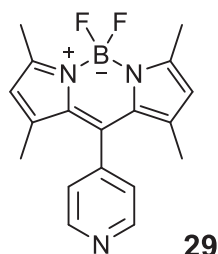
RMN de ^1H (acetona- d_6) δ 9,83 (s, 1H); 9,78 (s, 1H); 9,12 (s, 1H); 8,27 (dd, $J=17,76/11,59$ Hz, 1H); 8,03 (s, 1H); 6,44 (d, $J=17,92$ Hz, 1H); 6,16 (d, $J=11,62$ Hz, 1H); 5,66 (m, 1H); 5,39 (d, $J=18,77$ Hz, 1H); 4,82 (s, 2H); 4,67 (d, $J=7,36$ Hz, 1H); 4,51 (d, $J=10,09$ Hz, 1H); 4,03 (m, 1H); 3,85 (m, 1H); 3,75 (m, 7H); 3,60 (s, 3H); 3,55 (s, 3H); 3,46 (m, 1H); 3,34 (s, 3H); 3,20 (m, 2H); 2,78 (m, 1H); 2,31 (m, 2H); 2,08 (m, 1H); 1,71 (m, 1H); -1,59 (s, 1H); -1,90 (s, 1H).

O composto **27** foi sintetizado a partir da clorina **26**. A reação de *N*-alquilação teve como objetivo a obtenção de derivado epóxido, cuja alta reatividade apresenta potencial para ligação com outras moléculas.

A caracterização por espectroscopia de RMN de ^1H sugere a obtenção do composto obtido (Anexo 17, pg. 202). Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios da clorina **27** no espectro de RMN de ^1H revelaram sinal em 2,80 ppm referente ao hidrogênio NH substituído, com mesmo deslocamento encontrado para o hidrogênio NH intermediário da clorina **25**. O mesmo sinal foi reportado anteriormente para o composto 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster substituído por grupo alquila (MAL'SHAKOVA; BELYKH; KUCHIN, 2007). Ainda, novos sinais de hidrogênio foram atribuídos ao grupo epóxido com deslocamentos em 3,20 ppm, 3,46 ppm e 4,82 ppm.

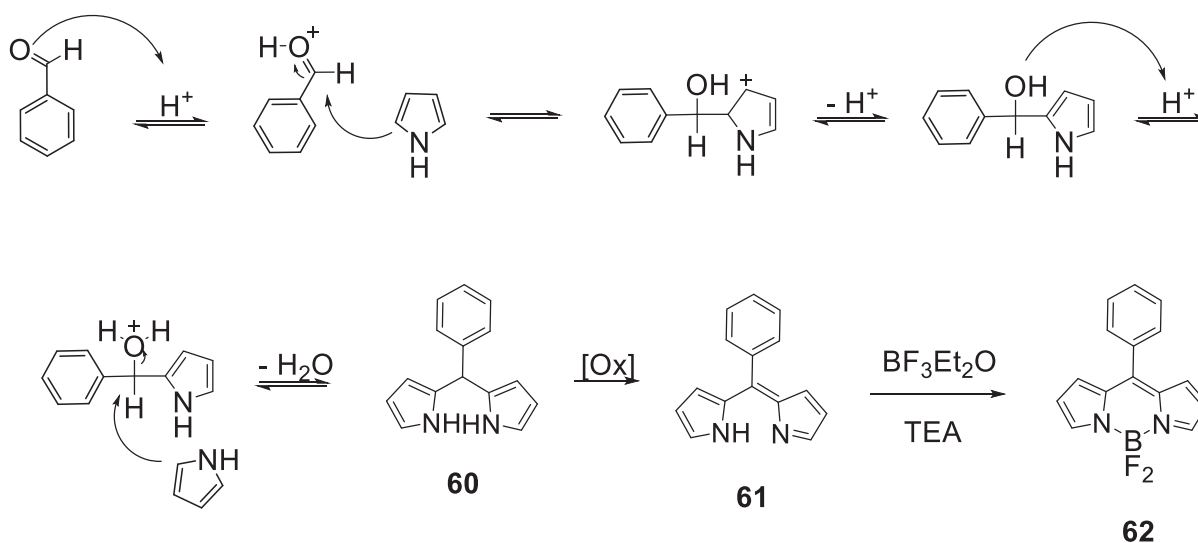
4.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS BODIPY

4.3.1 Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**29**)



RMN de ^1H (CDCl_3) δ 8,71 (2H, *m*-piridil); 7,23 (2H, *o*-piridil); 5,90 (2H, posições 2 e 6); 2,49 (6H, CH_3); 1,34 (6H, CH_3). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 156,7; 150,9; 143,8; 142,8; 137,9; 130,6; 123,5; 122,0; 14,8. **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BF}_2\text{N}_3^+$: 326,1634 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 326,1652 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

O BODIPY contendo anel piridila **29** foi obtido utilizando metodologia conhecida (BARBA-BON *et al.*, 2014), com rendimento de 29%. Em trabalhos anteriores foram obtidos para o composto **29**, rendimentos entre 13-30% (CARUSO *et al.*, 2012; BARTELMESS; WEARE, 2013). A reação para obtenção de BODIPYs inicia pela obtenção de dipirrometano *meso*-substituído (**60**) pelo método de Lindsey (LINDSEY *et al.*, 1987). A etapa seguinte envolve a oxidação do dipirrometano em dipirrometeno (**61**), geralmente utilizando DDQ ou cloranil (Esquema 38). Nessa etapa pode ocorrer a polimerização do pirrol que afeta a purificação e o rendimento do composto final. É possível utilizar de excesso de pirrol ou do uso de unidades pirrônicas com substituintes na posição α (menos propícias à polimerização) para melhorar o rendimento. Por fim, a reação de complexação com $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ é realizada para obtenção do BODIPY final.



Esquema 38 – Mecanismo da reação de formação do dipirrometanos **60**, seguindo-se das etapas de síntese do BODIPY **62**, via dipirrometeno **61**

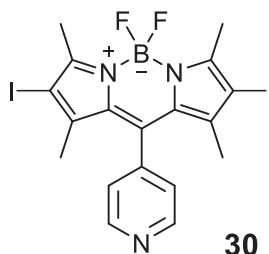
As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de 1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 18, pg. 203). O espectro de RMN de ^{11}B mostrou sinal característico da presença de átomo de boro no composto. O espectro de UV-VIS mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 505 nm e no espectro de fluorescência o pico de intensidade máxima foi no comprimento de onda de 515,5 nm. A relação m/z observada no espectro de massas condiz com a massa esperada para o composto obtido.

Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios do BODIPY **29** no espectro de RMN de 1H encontraram-se de acordo com a literatura (Tabela 16) (CARUSO *et al.*, 2012), apresentando os sinais característicos de anel piridila em 8,71 ppm e 7,23 ppm.

Tabela 16 – Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de 1H para o BODIPY **29** com os sinais previamente reportados na literatura

29	Caruso (2012)
8,71	8,70
7,23	7,22
5,90	5,93
2,49	2,48
1,34	1,33

4.3.2 Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**30**)



RMN de ^1H (CDCl_3) δ 8,75 (2H, *m*-piridil); 7,22 (2H, *o*-piridil); 2,58 (6H, CH_3); 1,35 (6H, CH_3). **RMN de ^{13}C** (CDCl_3) δ (ppm) 158,1; 151,0; 145,0; 143,7; 137,3; 130,4; 123,4; 86,6; 17,6. **ESI-TOF:** *m/z* calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BF}_2\text{I}_2\text{N}_3^+$: 577,9567 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; *m/z* obtido: 577,9576 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Devido à evidências científicas sobre a importância de átomos como o iodo na estrutura química dos BODIPYs para atividade na PDT (ORTIZ *et al.*, 2012), o BODIPY **30** foi sintetizado através de reação de halogenação de suas posições 2 e 6. O rendimento encontrado de 74% é satisfatório, sendo que resultados de halogenação anteriores reportam rendimentos entre 14–72% (PALAO *et al.*, 2016; ORTIZ *et al.*, 2012).

O efeito do átomo pesado foi constatado após a introdução dos átomos de iodo nas posições 2 e 6 livres do BODIPY **29**. A alta fluorescência apresentada pelo BODIPY **29**, que corresponde ao processo de cruzamento intersistema ineficiente, não foi observada para o BODIPY **30** (pico de fluorescência em 557,0 nm de baixa intensidade). Os valores de absorvância na região do UV-VIS demonstraram que os átomos de iodo produzem um efeito batocrômico do $\lambda_{\text{máx}}$ (de 505 nm para 541 nm).

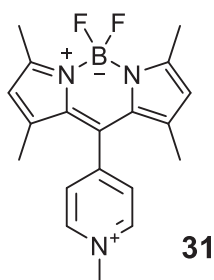
O BODIPY obtido foi caracterizado por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C , na região do UV-VIS e de fluorescência (Anexo 19, pg. 206). O espectro de RMN de ^{11}B mostrou sinal característico da presença de átomo de boro no composto e a relação *m/z* de 577,9576 observada no espectro de massas corresponde a massa calculada de 577,9567 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Os assinalamentos dos sinais dos hidrogênios do BODIPY **30** no espectro de RMN de ^1H encontraram-se de acordo com a literatura (Tabela 17) (CARUSO *et al.*, 2012),

com ausência do sinal em 5,94 ppm referente aos hidrogênios substituídos pelo iodo.

Tabela 17 - Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para o BODIPY **30** com os sinais previamente reportados na literatura

30	Caruso (2012)
8,75	8,66
7,22	7,19
2,58	2,55
1,35	1,39

4.3.3 Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**31**)



RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 9,20 (2H, *m*-piridil); 8,40 (2H, *o*-piridil); 6,28 (2H, posições 2 e 6); 4,47 (3H, CH_3); 2,28 (6H, CH_3); 1,42 (6H, CH_3). **ESI-TOF:** *m/z* calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{BF}_2\text{N}_3^+$: 340,1785 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; *m/z* obtido: 340,1805 $[\text{M}]^+$.

A reação de metilação foi realizada utilizando iodeto de metila em excesso como agente metilante, para obtenção do derivado **31**. A dificuldade de cristalização fez com que o processo de purificação escolhido fosse a CCD preparativa. O rendimento obtido de 97% foi próximo ao encontrado na literatura (98%) (BARTELMESS; WEARE, 2013).

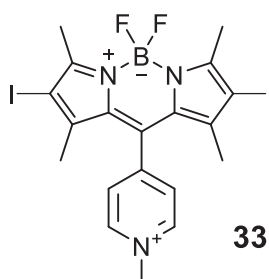
A caracterização do BODIPY obtido foi realizada por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H , na região do UV-VIS e de fluorescência (Anexo 20, pg. 209). A relação *m/z* de 340,1805 observada no espectro de massas foi condizente com a massa esperada para o composto obtido.

Deslocamento batocrômico do $\lambda_{\text{máx}}$ também foi observado pela cationização do anel piridila, como reportado anteriormente (BARTELMESS; WEARE, 2013), com deslocamento do pico de absorção de 505 nm para 510 nm. O espectro de fluorescência mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 570 nm. O espectro de RMN de ^{11}B mostrou sinal característico da presença de átomo de boro no composto. A substituição do anel piridínico pelo grupo metila pôde ser constatado nos espectros de RMN de ^1H para o compostos obtido, onde foi observado deslocamento de sinais característicos de anel piridínico para $\sim 9,20$ ppm e sinais novos dos hidrogênios do grupo metila em $\sim 4,40$ ppm. Os assinalamentos encontraram-se de acordo com a literatura (Tabela 18) (BARTELMESS; WEARE, 2013).

Tabela 18 - Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para o BODIPY **31** com os sinais previamente reportados na literatura

31	Bartelmess (2013)
9,20	9,63
8,40	8,02
6,28	6,07
4,47	4,92
2,28	2,57
1,42	1,47

4.3.4 Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**33**)



RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 9,28 (2H, *m*-piridil); 8,43 (2H, *o*-piridil); 4,49 (3H, CH_3); 2,58 (6H, CH_3); 1,43 (6H, CH_3). **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{I}_2\text{N}_3^+$: 591,9718 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$; m/z obtido: 591,9727 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

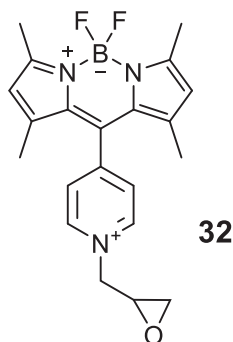
O BODIPY **33** foi sintetizado e purificado da mesma forma que o BODIPY **31**, com rendimento de 94%. Na literatura foi encontrado valor de rendimento de 58% (CARUSO *et al.*, 2012).

As caracterizações por espectrometria de massas, espectroscopia de RMN de ^1H , na região do UV-VIS e de fluorescência confirmaram a estrutura do composto obtido (Anexo 21, pg. 212). O espectro de UV-VIS mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 515 nm, e o de fluorescência em 556 nm, de menor intensidade. A relação m/z de 591,9727 observada no espectro de massas foi condizente com a massa esperada para o composto obtido. No espectro de RMN de ^1H foram observados os sinais característicos de anel piridínico substituído, os novos sinais dos hidrogênios do grupo metila ligados ao anel piridínico e a ausência do sinal do hidrogênio substituído pelo iodo. Os assinalamentos encontraram-se de acordo com a literatura (Tabela 19) (CARUSO *et al.*, 2012).

Tabela 19 - Comparação de deslocamentos químicos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para o BODIPY **33** com os sinais previamente reportados na literatura

33	Caruso (2012)
9,28	9,34
8,43	8,89
4,49	5,98
2,58	2,62
1,43	1,53

4.3.5 Síntese do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**32**)

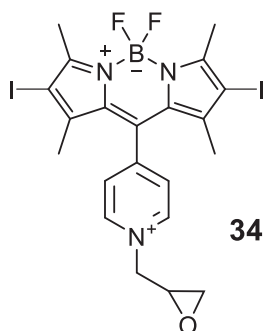


ESI-TOF: m/z calculado para $C_{21}H_{23}BF_2N_3O^+$: 382,1891 $g.mol^{-1}$; m/z obtido: 382,1897 $[M]^+$.

O composto **32** foi sintetizado a partir do BODIPY **29**, utilizando epibromidrina como agente alquilante. Da mesma forma que ocorreu com os derivados metilados, o processo de purificação escolhido foi CCD preparativa devido à dificuldade de cristalização. O rendimento obtido foi de 21%. A reação de *N*-alquilação teve como objetivo a obtenção de derivado epóxido para uso em futuras reações com outras moléculas.

A caracterização por espectrometria de massas foi compatível com a obtenção do BODIPY **32** (Anexo 22, pg. 214). O espectro de UV-VIS mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 509 nm, e o de fluorescência em 516 nm.

4.3.6 Síntese do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**34**)



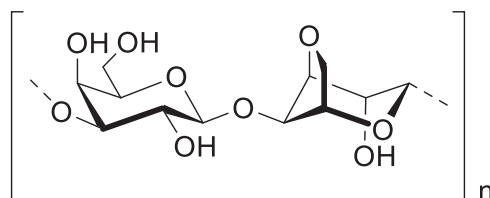
ESI-TOF: m/z calculado para $C_{21}H_{21}BF_2I_2N_3O^+$: 633,9823 $g.mol^{-1}$; m/z obtido: 633,9852 $[M]^+$.

O composto **34** foi sintetizado a partir do BODIPY **30**, utilizando mesma metodologia e purificação realizados para obtenção do composto **32**. Obteve-se como rendimento 17%.

A caracterização por espectrometria de massas sugere a obtenção do BODIPY **34** (Anexo 23, pg. 216). O espectro de UV-VIS mostrou pico de intensidade máxima no comprimento de onda de 514 nm, e o de fluorescência em 528 nm, de menor intensidade.

4.4 SÍNTESE DOS CONJUGADOS PORFIRINA-POLISSACARÍDEO

4.4.1 Obtenção da agarose (**35**)



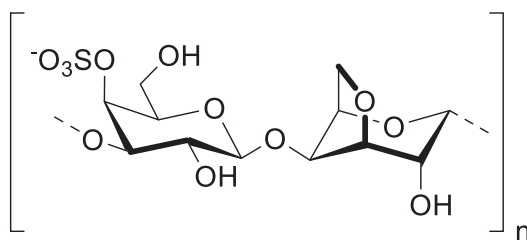
35

RMN de ^1H (DMSO_{d6}) δ 5,27 (A1); 4,73 (A4); 4,54 (A5); 4,49 (G1); 4,40 (A3); 4,09 (A6); 4,01 (A2 e G4); 3,75 (G3 e G6); 3,63 (G5 e G2)

A preparação da agarose reduzida **23** foi realizada através de reação de redução das pontas reductoras com NaBH_4 . A redução torna-se necessária para evitar β -eliminação catalisada por base e consequente degradação do polissacarídeo, uma vez que meio básico foi utilizado nas próximas etapas (ASPINALL, 1982). O produto obtido com 95% de rendimento, a partir da agarose comercial, foi caracterizado por espectroscopia na região do IV e de RMN de ^1H e HSQC (experimento de correlação heteronuclear) (Anexo 24, pg. 218).

No espectro obtido na região do infravermelho foram observadas bandas características da agarose, como em 3318 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação O-H das hidroxilas, em 1148 cm^{-1} e 1037 cm^{-1} referentes à deformação axial da ligação C-O. O espectro de RMN de ^1H apresentou-se em concordância com os sinais previamente reportados (HEUKO, 2015).

4.4.2 Obtenção da *kappa*-carragenana (**37**)



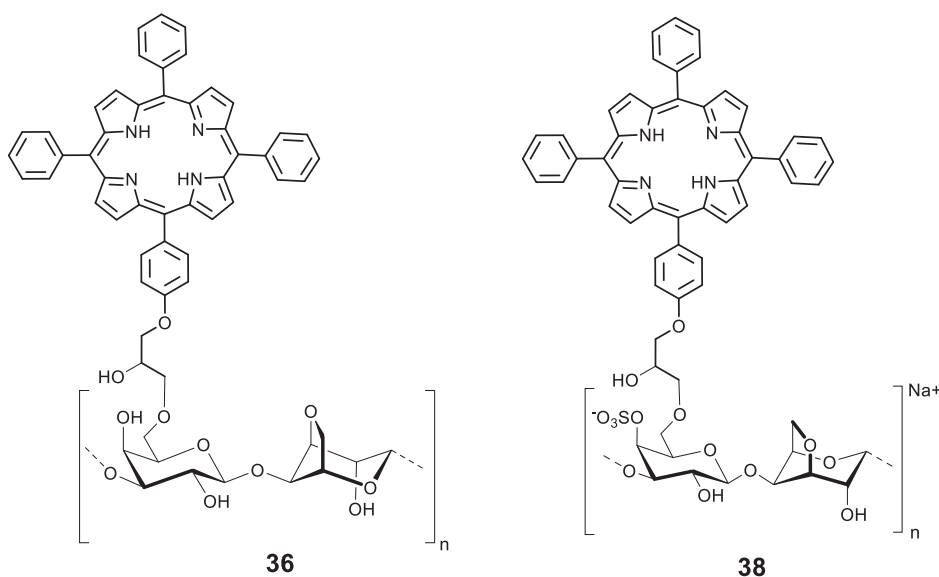
37

RMN de ^1H (D_2O) δ 5,10 (DA1); 4,83 (G4S4); 4,64 (DA5 e G4S1); 4,61 (DA4); 4,52 (DA3); 4,20 (DA6); 4,14 (DA2); 4,06 (DA6); 3,97 (G4S3); 3,81 (G4S6); 3,60 (G4S2)

A fração polissacarídica contendo majoritariamente *kappa*-carragenana **37** foi extraída da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* e, então, foi seca e moída. O produto obtido com 51,2% de rendimento foi caracterizado por espectroscopia na região do IV e de RMN de ^1H e HSQC (Anexo 25, pg. 220).

No espectro obtido na região do infravermelho foram observadas bandas referentes aos grupos presentes no polissacarídeo como a banda de estiramento da ligação O-H das hidroxilas em 3386 cm^{-1} . O espectro de RMN de ^1H apresentou-se em concordância com os sinais previamente reportados (SANTOS, 2015).

4.4.3 Síntese dos conjugados agarose-porfirina (**36**) e *kappa*-carragenana-porfirina (**38**)



Para síntese dos novos polímeros foi utilizada metodologia de metilação de polissacarídeos clássica (CIUCANU; KEREK, 1984), com modificações. A porfirina **7** foi utilizada como agente alquilante, devido à maior acessibilidade sintética. O material resultante apresentou consistência similar ao dos polímeros iniciais e coloração arroxeadada característico de porfirinas.

A fim de eliminar o excesso de porfirina não ligada (somente fisicamente aderida) foi realizada uma partição exaustiva utilizando água/clorofórmio, antes da

caracterização. O comportamento hidrofóbico da porfirina, combinado com a hidrossolubilidade do polissacarídeo, faz com que a separação por partição seja adequada para esse caso. O processo de partição foi repetido até que a fase orgânica se apresentasse sem coloração arroxeadada.

A análise por UV-VIS da fração polissacarídica foi realizada e os espectros mostraram padrão característico de porfirinas (Anexos 26 e 27, pg. 222 e 224). Afim de avaliar o total de porfirina presente no material final, os compostos **36** e **38** foram quantificados por UV-VIS, utilizando curva de concentração obtida para a porfirina **7** em 414 nm ($\lambda_{\text{máx}}$) (Anexo 28, pg. 226).

Observou-se que, para o Método A, onde houve uma etapa de alquilação, houve uma baixa substituição nos polímeros precursores pela porfirina **7**, sendo que 0,9% do produto final **36** e 4,2% do material **38** consistia de porfirina (Tabela 20). Já com a adição de **7** em duas etapas, no Método B, houve um maior grau de substituição (17,8% e 14,1% de porfirina), com a maior substituição ocorrendo na agarose.

Tabela 20 – Quantificação por UV-Vis em termos de % de porfirina no polímero final

Método	36 (%)	38 (%)
A	0,9	4,2
B	17,8	14,1

Apesar dos indícios de ligação entre porfirina e polissacarídeo após partição exaustiva e caracterização/quantificação por UV-VIS, a análise por RMN de ^1H e ^{13}C seria fundamental para comprovação de ligação covalente formada. Como polissacarídeos são compostos químicos de alta complexidade, a análise espectral detalhada faz-se necessária.

Foram obtidos espectros de RMN de ^1H e HSQC para os polímeros **36** e **38** (Anexos 26 e 27, pgs. 226 e 228). No espectro de RMN de ^1H , para ambos os polímeros, foram observados os sinais correspondentes à porfirina utilizada, acima de 8,00 ppm e em -2,50 ppm, sem deslocamento quando comparado à porfirina inicial. Os sinais observados em 3,0-3,2, 4,1 e 4,8 ppm sugerem a presença do grupo epóxido da porfirina **7**, porém aparecem na mesma região dos sinais referentes aos hidrogênios do polissacarídeo, como pode ser observado na

sobreposição do espectro da agarose **35** com o polímero agarose-porfirina **36** (Figura 22).

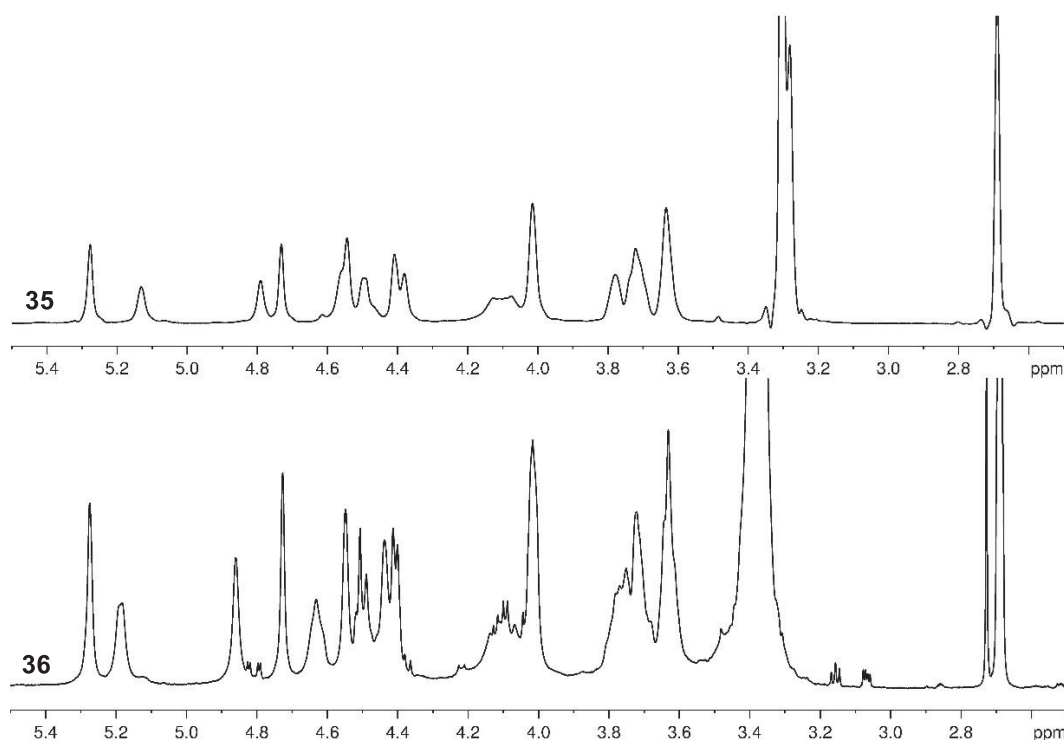


Figura 22 – Sobreposição de região dos espectros de RMN de ^1H da agarose **35** e do polímero agarose-porfirina **36**

Para melhor entendimento desses sinais, os espectros de HSQC obtidos foram analisados. Através de análise por sobreposição dos espectros dos produtos com os seus respectivos polissacarídeos iniciais foi possível a identificação dos sinais correspondentes ao material inicial e dos sinais novos. Os sinais novos encontrados estão reunidos na Tabela 21.

Tabela 21 – Sinais novos identificados nos espectros de HSQC (enumerados de 1 a 10) dos polímeros **36** e **38**

Polímero	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
36	*	*	3,71/ 51,1	4,02/ 48,1	3,76/ 71,2	4,09/ 48,3	4,37/ 70,7	4,44/ 70,3	4,51/ 70,3	4,79/ 70,92
38	3,09/ 45,0	3,10/ 45,0	3,65/ 51,0	3,97/ 47,4	-	4,04/ 47,7	4,32/ 70,2	4,40/ 70,1	4,45/ 70,6	4,75/ 70,3

*Sem sinal de correlação no HSQC mas aparecem sinais no RMN de ^1H em 3,06 ppm e 3,15 ppm

Partindo desses novos sinais, a primeira hipótese a ser avaliada foi se, de fato, a porfirina **7** reagiu com o polissacarídeo através da abertura do grupo epóxido ou se continuava intacta. Essa análise seria possível pela comparação direta com os sinais obtidos no RMN de ^1H da porfirina **7** para os hidrogênios do grupo epóxido. Porém, como o espectro da porfirina **7** foi obtido em CDCl_3 e o espectro do polímero em DMSO_{d6} , não seria adequada a comparação direta. Obteve-se, então, um espectro da porfirina **7** em DMSO_{d6} no qual foi possível observar os sinais do grupo epóxido em 3,06 ppm, 3,16 ppm, 4,33 ppm e 4,83 ppm (Tabela 22). Esperava-se ainda um quinto sinal referente aos hidrogênios de epóxido, porém, um forte sinal contaminante de água em 3,38-3,76 ppm estava, provavelmente, o sobrepondo. Com essa análise, pôde-se sugerir que os sinais 1, 2, 3, 7 e 10 apresentados na Tabela 21, referentes aos polímeros **36** e **38**, são sinais dos hidrogênios do grupo epóxido intacto da porfirina **7** (Estrutura **A**, Figura 23). Portanto, sugeriu-se que existe porfirina não-ligada no material final.

Tabela 22 – Sinais obtidos (ppm) no espectro de RMN de ^1H para a porfirina **7** em DMSO_{d6}

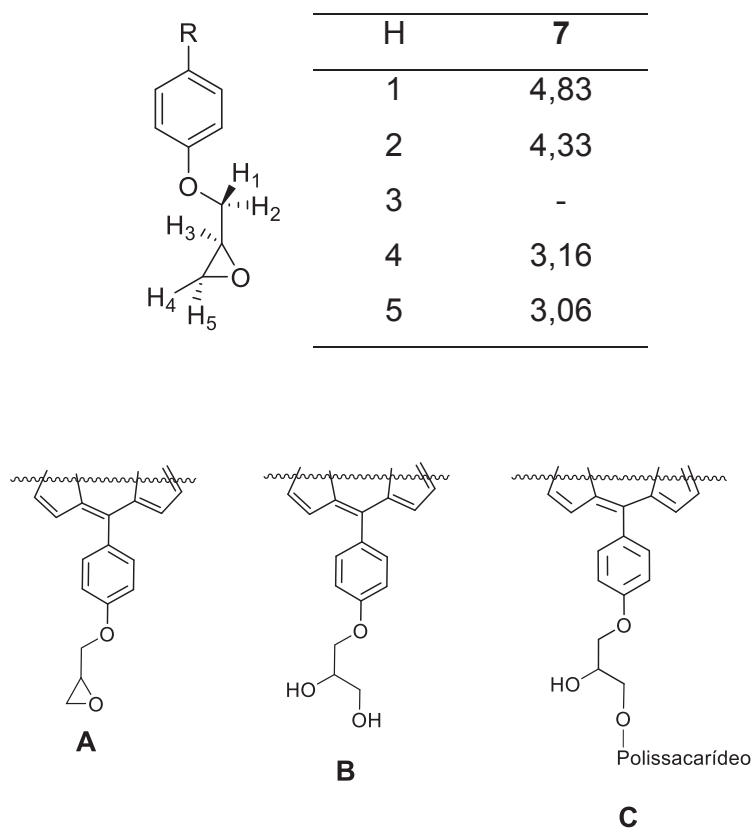


Figura 23 – Representação das possíveis estruturas a serem encontradas no material porfirina-polissacarídeo final, sendo **A** a porfirina **7** intacta, **B** a porfirina contendo o grupo epóxido aberto e **C** o polímero porfirina-polissacarídeo contendo grupo epóxido aberto atuando como *linker*

Partindo-se desta conclusão, voltou-se a analisar os espectros de RMN de ^1H dos polímeros obtidos a fim de avaliar se toda a porfirina contida no material final tratava-se da porfirina **7** intacta. Os hidrogênios porfirínicos foram integrados e observou-se que o total de porfirina (quantificado pelos sinais em -2,60 ppm e entre 7,50-9,00 ppm) não é somente porfirina contendo epóxido fechado (quantificado pelos sinais referentes ao grupo epóxido 1, 2 e 10 - Tabela 21). Portanto, concluiu-se que existe outra estrutura porfirínica além da porfirina **7** intacta no material final, o que sugere a presença das estruturas **B** e/ou **C** representadas na Figura 23.

A segunda hipótese a ser avaliada foi se a estrutura **B** estava presente no material final. A literatura reporta sinais para o grupo epóxido aberto não-ligado em 3,83 ppm (CH) e 3,59 ppm (CH₂) (TSUJIGAMI; SUGAI; OHTA, 2001), em 3,91 ppm (CH) e 3,97 ppm (CH₂) (AKANKSHA *et al.*, 2011) e em 3,74 ppm (CH₂), 4,03 ppm (CH) e 4,18 ppm (CH₂) (SONGCA; MBATHA, 2000). Com essa análise, concluiu-se que os sinais 4 e 6 da Tabela 21 correspondem à sinais de hidrogênio da estrutura **B**.

As correlações observadas nos espectros de HSQC dos materiais **36** e **38** ainda sem atribuições foram os sinais 5, 8 e 9 (Tabela 21) que podem ser observados nas Figuras 24 e 25.

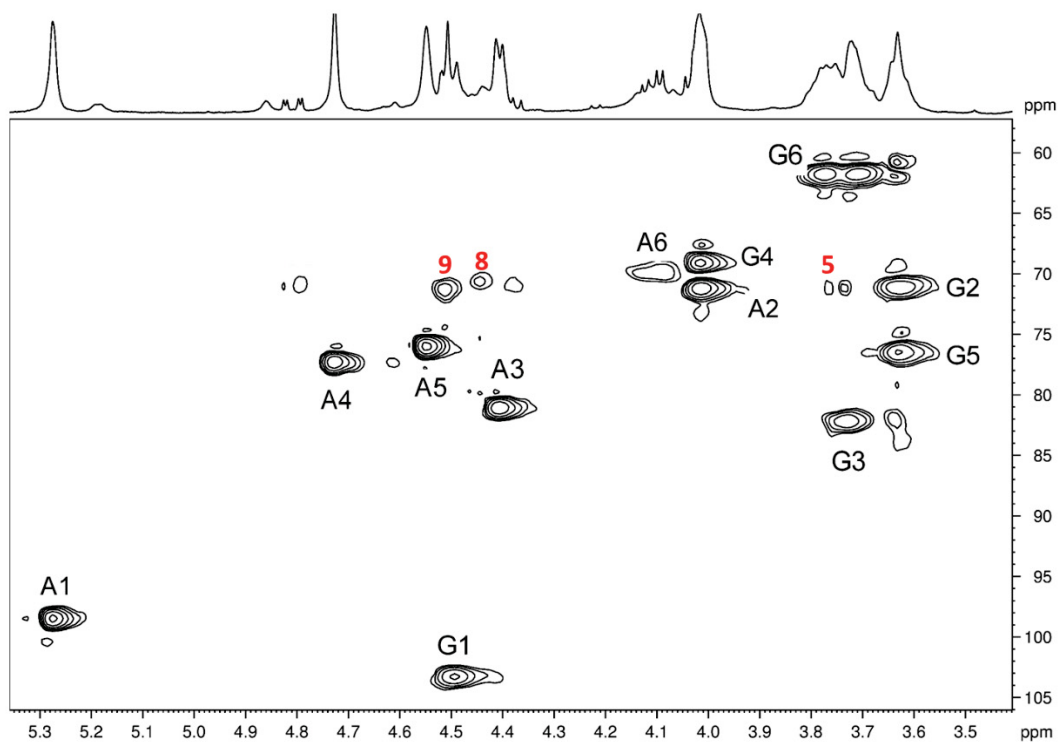


Figura 24 – Espectro de HSQC do polímero agarose-porfirina **36** ampliado

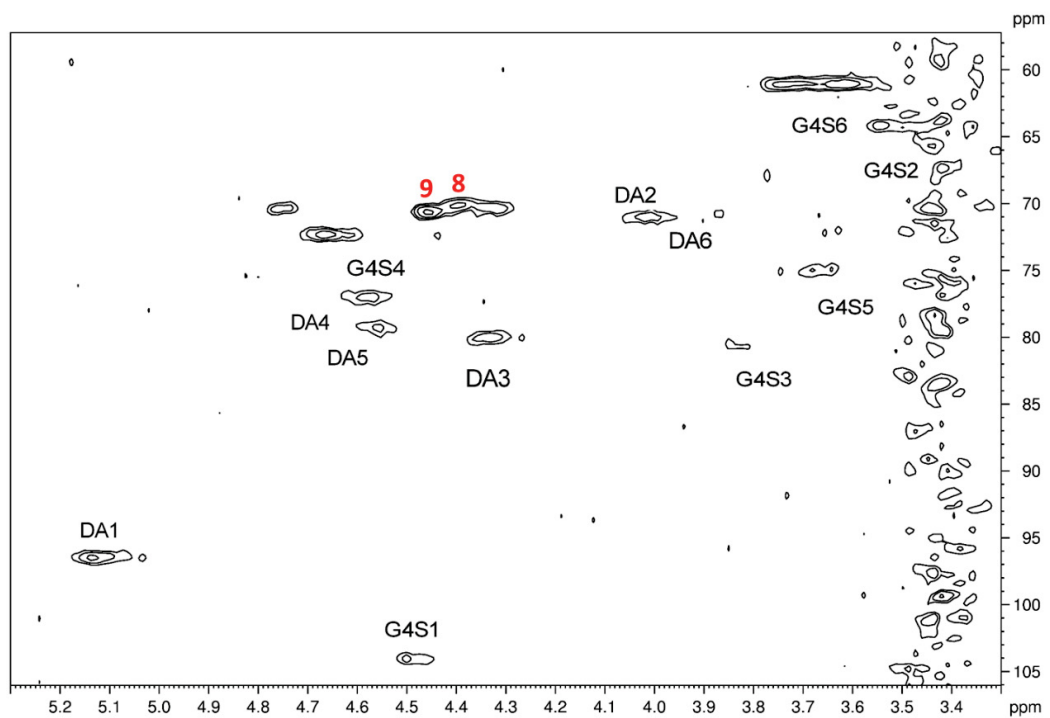


Figura 25 – Espectro de HSQC do polímero *kappa*-carragenana-porfirina **38** ampliado

Por fim, a última hipótese avaliada foi a obtenção do polímero porfirina-polissacarídeo (estrutura **C**, Figura 23). As correlações encontradas na literatura para compostos contendo grupo epóxido aberto e ligado são em 4,10-4,25/68,6 ppm e 4,40-4,47/68,8 ppm (ZVAGULIS *et al.*, 2010; TOMASIC *et al.*, 2014). Destaca-se a correlação em ~4,40/68,8 ppm, que, na literatura, se refere ao sinal do hidrogênio do grupo CH do epóxido aberto e ligado ressaltado na Figura 26. Após essa análise, concluiu-se que a correlação 8 encontrada para os polímeros **36** (4,44/70,3 ppm) e **38** (4,40/70,1 ppm) sugere que a estrutura **C** está presente no material final, portanto haveria ligação covalente entre porfirina e polissacarídeo. Ainda, o mesmo sinal 8 aparece no espectro de HSQC editado como não sendo um grupo CH₂, ou seja, corrobora o que está sendo proposto, de que ele seria referente a um grupo CH.

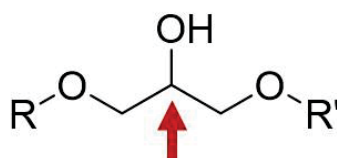


Figura 26 – Estrutura do epóxido aberto ligado com grupo CH destacado

O sinal 9 que aparece na região de ~4,50 ppm em ambos os polímeros não foi atribuído a hidrogênios da estrutura **A** ou **B**. Como se trata de um grupo CH₂ (interpretado pelo HSQC editado) sugere-se que o mesmo seja sinal de hidrogênios de grupo CH₂ da estrutura **C**. Os valores encontrados na literatura para esses hidrogênios são de 4,10-4,25/68,6 ppm e 4,40-4,47/68,8 ppm (ZVAGULIS *et al.*, 2010; TOMASIC *et al.*, 2014). Entretanto, na presença de grupos retiradores de elétrons pode haver deslocamento do sinal, como apresentado em exemplos de Zvagulis e colaboradores (2010), onde a presença de grupo NO₂ no anel aromático ligado ao epóxido desloca o sinal referido para 4,30 ppm. Esse efeito poderia estar sendo observado pela presença da porfirina como retiradora de elétrons.

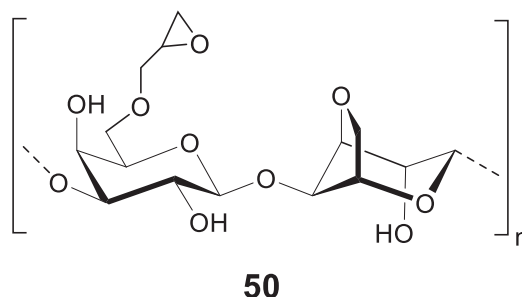
Por fim, o último sinal a ser analisado foi o sinal 5, que aparece somente no espectro de HSQC do polímero agarose-porfirina como um sinal de hidrogênio de grupo CH₂. A hipótese que foi avaliada para este sinal é de que seria um sinal referente à posição G6 da unidade β-D-galactopiranosose da agarose substituída. Na literatura, foi observado para polissacarídeos metilados na posição C6 um deslocamento no sinal em RMN de ¹³C de 61,4 ppm para 71,9 ppm (CHIOVITTI *et al.*, 2001) e de 61,5 ppm para 71,8 ppm (BARROS *et al.*, 2013). Chiovitti e

colaboradores (2004) relataram a correlação para este sinal em 3,70-3,77/71,9 ppm no espectro de HSQC. Ainda, foi reportado sinal para o C6 de 6-O-metil- β -D-galactose em 71,4 ppm (VIANA, 1999). O deslocamento observado para esta posição da agarose reduzida para o polímero agarose-porfirina (de 3,71-3,78/61,74 ppm para 3,76/71,23 ppm) foi próximo ao encontrado na literatura, o que sugere a substituição de C6 da unidade β -D-galactopiranosose na estrutura da agarose pela porfirina. Entretanto, outros experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C seriam necessários para confirmar a substituição nesta posição.

4.4.4 Tentativa de obtenção do conjugado agarose-porfirina (**49**) – Estratégia 2

A agarose tosilada foi cedida por Heuko, 2015, para os experimentos de conjugação com porfirina. As diferentes condições testadas resultaram em produto com características físicas visualmente parecidas com o do polissacarídeo inicial e coloração de porfirina. Porém, na análise por RMN de ^1H foram observados sinais dos materiais iniciais, sem indícios de que ocorreu a ligação.

4.4.5 Tentativa de obtenção da agarose-6-O-epoxipropila (**50**)



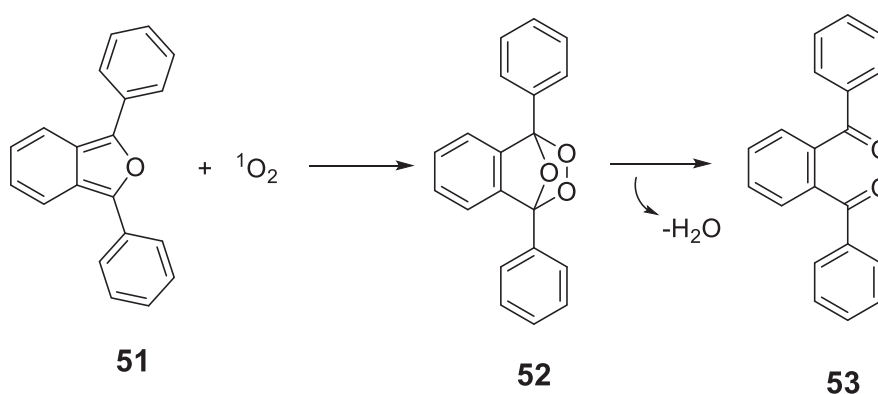
Diferentes parâmetros foram testados para a reação de introdução do grupo epóxido na agarose reduzida. Nenhuma das condições testadas apresentou indícios da formação do composto desejado, frente à dificuldade na análise por métodos espectrométricos.

4.5 AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FOTODINÂMICAS

4.5.1 Estudo de geração de oxigênio singleto

O mecanismo conhecido de PDT correlaciona a produção de oxigênio singleto com a toxicidade do FS, uma vez que sua produção é resultado direto da transferência de energia do FS para o oxigênio tecidual após absorção de luz irradiada (MÜLLER; PREUB; RÖDER, 2018).

A geração de $^1\text{O}_2$ foi determinada pelo grau de oxidação do 1,3-difenilbenzofurano (DFBF) **51**. Furanos, em geral, apresentam-se como bons substratos para reação de cicloadição com $^1\text{O}_2$. O DFBF reage com $^1\text{O}_2$ gerando endoperóxido **52** que se decompõe facilmente em temperatura ambiente gerando *o*-dibenzoilbenzeno **53** (Esquema 39). Sendo que o composto **51** apresenta forte absorção no comprimento de onda de 418 nm e o composto **53** não apresenta absorção, essa metodologia é bastante empregada para avaliação de geração de $^1\text{O}_2$ de compostos orgânicos (HOWARD; MENDENHALL, 1975; HADJUR *et al.*, 1998).



Esquema 39 – Reação entre DFBF e $^1\text{O}_2$ para formação de *o*-dibenzoilbenzeno
Fonte: adaptado de HOWARD; MENDENHALL, 1975

Nesse estudo foram avaliadas as porfirinas **12**, **15**, **16**, **18**, **19** e **20** (Figura 27). Além dos ensaios com os FS indicados, foram também realizados ensaios na ausência de derivados porfirínicos (DFBF e DMSO), como controle negativo, e com o azul de metileno (AM) **54**. O AM (Figura 28) foi utilizado como substância de referência para comparação do decaimento de absorção e para os cálculos de

rendimento quântico, sendo que apresenta rendimento quântico próximo a 100% ($\Phi_{\Delta} = 0,52$) (HAYES, 2014).

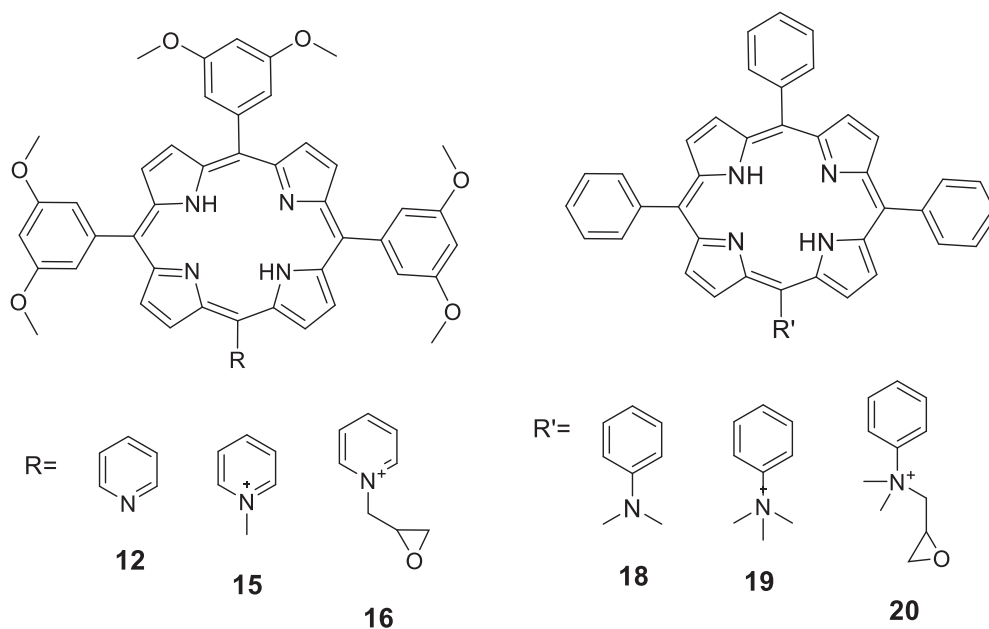


Figura 27 – Compostos avaliados quanto à geração de oxigênio singlete

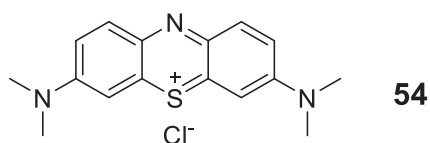


Figura 28 – Estrutura química do azul de metileno

Usando a metodologia descrita, um maior decaimento na intensidade de absorvância em 418 nm representa maior geração de 1O_2 . Na Figura 29 está apresentado o gráfico de absorvância *versus* tempo para os compostos avaliados. Por interpretação visual do gráfico, foi possível atribuir a seguinte ordem do maior para o menor produtor de 1O_2 : **15**>**16**>**19**>**20**>**18**>**12**. Ao final de 1 h de irradiação as porfirinas precursoras neutras apresentaram decaimento de absorvância entre 5-15% e os derivados catiônicos entre 40-70%.

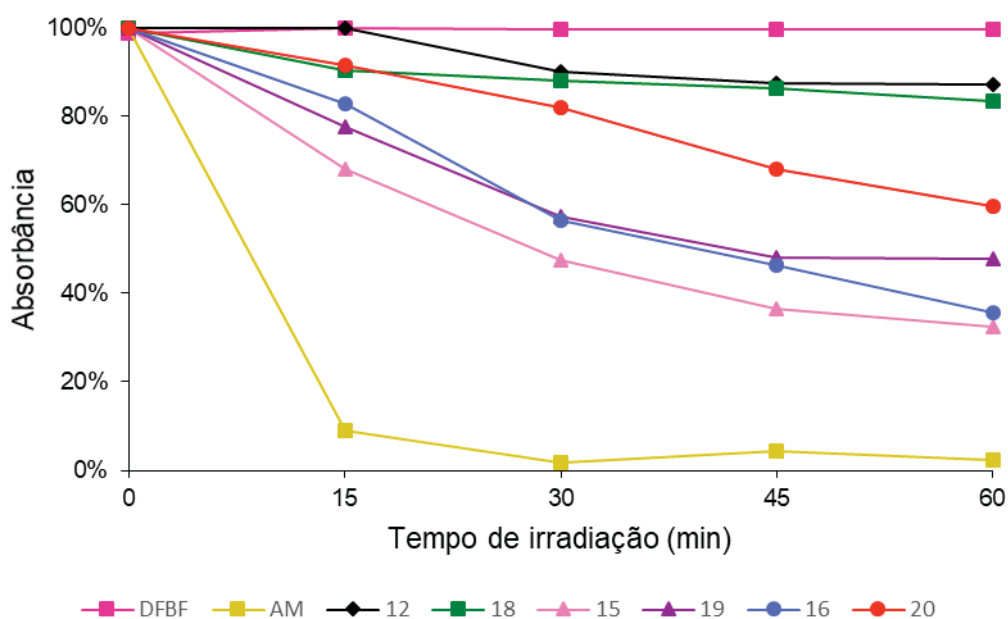


Figura 29 – Porcentagem de decaimento da absorvância em 418 nm após irradiação a 1,25 mW/cm² das porfirinas **12**, **18**, **15**, **19**, **16** e **20** em comparação com AM e DFBF/DMSO

Na Tabela 23 estão apresentados os valores encontrados para o rendimento quântico de ¹O₂ calculados segundo a equação $\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{AM} \cdot R/R^{AM}$.

Tabela 23 – Rendimentos quânticos de ¹O₂ (Φ_{Δ})

Porfirina	Φ_{Δ}
12	0,20
15	0,61
16	0,59
18	0,20
19	0,52
20	0,35

Esses dados também refletem maiores valores de rendimento quântico de ¹O₂ para as porfirinas catiônicas do que para os seus precursores neutros. Dentre os catiônicos, os derivados **15**, **16** e **19** foram os mais eficazes com resultado entre 0,52 e 0,61, embora todas as porfirinas se enquadrem dentro da faixa relacionada à alta toxicidade *in vitro* (0,1-0,76) (HAYES, 2014). Esses resultados são coerentes com relatos anteriores sobre a geração de ¹O₂ singlete de porfirinas catiônicas (SLOMP *et al.*, 2017; VANDRESEN *et al.*, 2016; DEDA *et al.*, 2012).

4.5.2 Propriedades celulares dos FS **12**, **15**, **16**, **18**, **19**, **20**

Foi realizado estudo de propriedades celulares com as porfirinas **12**, **15**, **16**, **18**, **19**, **20** (Figura 30).

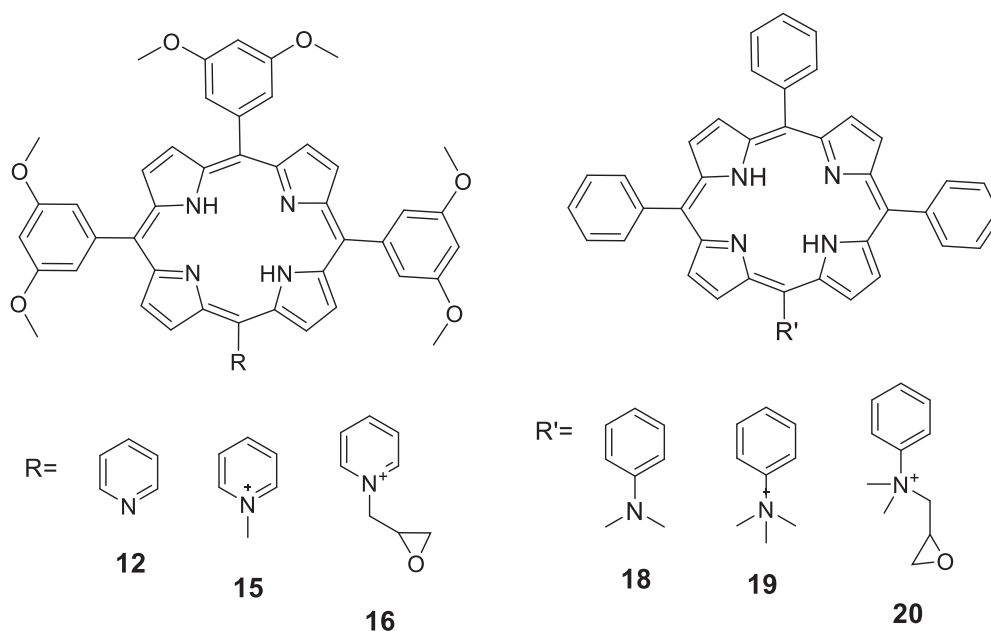


Figura 30 – Compostos avaliados quanto à propriedades celulares

A captação celular tempo-dependente foi avaliada na concentração de $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ durante um período de até 24 h e foram observados diferentes padrões de captação. As porfirinas metiladas, **15** e **19**, foram as que acumularam mais rapidamente nas primeiras 4 h, com o composto **19** sendo ligeiramente mais rápido (Figura 31). Após este período, um platô foi alcançado. Comparados com as suas porfirinas precursoras **12** e **18**, esses derivados metilados catiônicos acumularam nas células quatro vezes mais durante todo o tempo observado. Em geral, como seria esperado, e também como já foi reportado em estudos anteriores, a captação celular aumenta com a presença de cargas positivas, provavelmente pela interação com membranas celulares, que possuem cargas negativas (HAO; JENSEN; VICENTE, 2009; MENG; JAMES, 1994; SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2012).

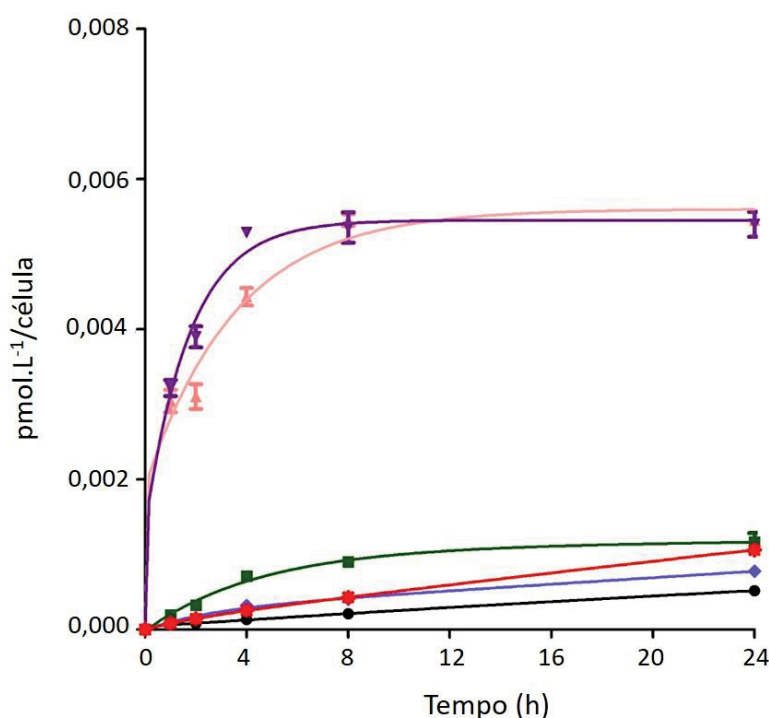


Figura 31 – Captação celular tempo-dependente das porfirinas **12** (●), **18** (■), **15** (▲), **19** (▼), **16** (●) e **20** (★) a $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEp2

A porfirina **18** e seu derivado epóxido **20**, acumularam ligeiramente mais rápido do que a porfirina **12** e seu derivado epóxido **16**. Foi determinada a seguinte ordem de captação celular depois de 24 h: **15~19**>>**18~20**>**16**>**12**. Os derivados catiônicos contendo grupo epóxido apresentaram baixo acúmulo intracelular quando comparados com os derivados catiônicos metilados. Essa observação possivelmente reflete a diferença na forma com a qual essas porfirinas interagem com a membrana celular. A característica reativa do grupo epóxido, presente nas porfirinas **16** e **20**, poderia dificultar o acesso intracelular através de sua imobilização em componentes do meio, como proteínas, sendo que relatos anteriores demonstraram a reatividade de grupo epóxido com sítios nucleofílicos de proteínas (CHEN *et al.*; 2003; LEE *et al.*, 2005).

As mesmas porfirinas também foram avaliadas em termos de suas propriedades fotodinâmicas em células de câncer HEp2, utilizando ensaio Cell Titer Blue. O Cell Titer Blue[®] Cell Viability Assay é um método fluorimétrico utilizado para determinação da viabilidade celular. A metodologia é baseada na habilidade de células viáveis em converterem o composto resazurina **55** no composto fluorescente resorufina **56** (Figura 32). Uma vez que essa conversão é

realizada somente por células metabolicamente ativas, a fluorescência produzida é proporcional ao número de células viáveis (RISS; MORAVEC, 2003)

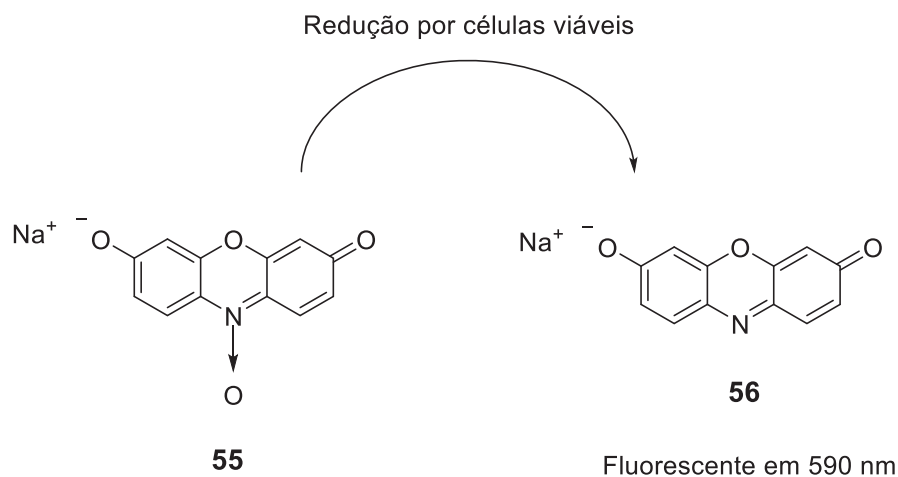


Figura 32 – Princípio do método Cell Titer Blue® Cell Viability Assay
 Fonte: adaptado de RISS; MORAVEC, 2003

A fim de detectar a existência de toxicidade na ausência de luz, o teste de toxicidade no escuro foi realizado. As células foram incubadas com concentrações crescentes dos compostos a serem avaliados, na ausência de luz, com posterior determinação de viabilidade celular. Os resultados mostraram baixa toxicidade para todas as porfirinas em concentrações abaixo de $200 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ($\text{LD}_{50} > 200 \mu\text{mol.L}^{-1}$) (Figura 33). Porfirinas catiônicas já reportadas na literatura apresentaram LD_{50} no escuro variando entre $25\text{--}445 \mu\text{mol.L}^{-1}$ para diferentes linhagens celulares (JENSEN *et al.*, 2010; EASSON *et al.*, 2008; SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2005; SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2012).

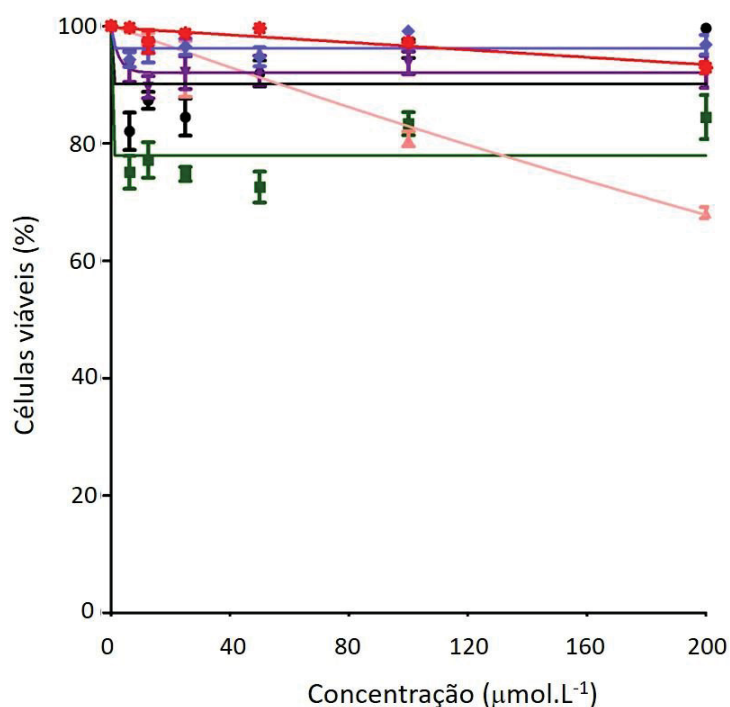


Figura 33 – Toxicidade no escuro das porfirinas **12** (●), **18** (■), **15** (▲), **19** (▼), **16** (◆) e **20** (✱) a $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEP2

A fototoxicidade foi determinada após exposição das células a 20 min de irradiação de luz, para obter o total de aproximadamente $1,5 \text{ J/cm}^2$ de luz, após o tratamento das células com os compostos em concentração até $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ (Figura 34). A seguinte ordem de fototoxicidade foi determinada, do mais tóxico para o menos tóxico: **19**>**15**>**20**>**16**>>**18**~**12**.

As porfirinas metiladas **15** e **19** apresentaram alta fototoxicidade, possivelmente pelas suas alta captação celular e eficiente geração de oxigênio singleto. A porfirina **19** foi a mais tóxica com LD_{50} de $2,4 \mu\text{mol.L}^{-1}$. O composto **15** também apresentou alta toxicidade com LD_{50} de $7,4 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Estudos anteriores obtiveram como resultado de fototoxicidade para porfirinas catiônicas concentrações de LD_{50} variando entre $3\text{--}8 \mu\text{mol.L}^{-1}$, com dose de luz de 1 J/cm^2 (JENSEN *et al.*, 2010, SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2012).

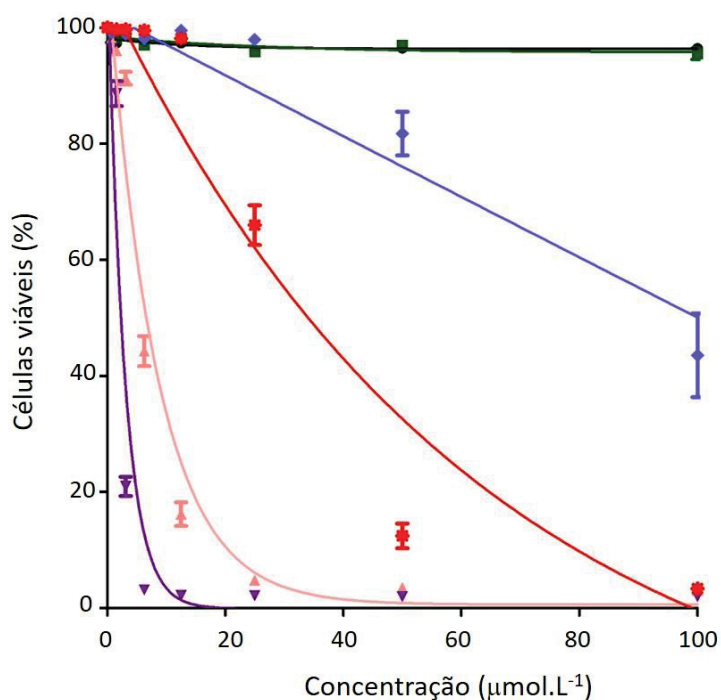


Figura 34 – Fototoxicidade ($1,5 \text{ J/cm}^2$) das porfirinas **12** (●), **18** (■), **15** (▲), **19** (▼), **16** (●) e **20** (◆) a 10 μmol.L^{-1} em células HEp2

Como anteriormente mencionado, a introdução do grupo epoxipropila para a quaternização de nitrogênios de algumas das porfirinas catiônicas aqui estudadas mostra-se uma abordagem interessante, pois as mesmas podem ser ligadas covalentemente a diversas macromoléculas. Além disso, a investigação das propriedades fotodinâmicas de porfirinas catiônicas, com cadeias diferentes do grupo metila como grupo cationizante, também torna-se uma abordagem interessante, uma vez que o tamanho da cadeia ligada à porfirina possui influência na sua eficiência como FS. Estudos anteriores demonstraram que porfirinas com substituinte de cadeia longa possuem melhor atividade por ligarem-se melhor às células-alvo (RICCHELI *et al.*, 2005; REDDI *et al.*, 2001; STALLIVIERI *et al.*, 2015).

As porfirinas catiônicas contendo grupo epóxido **16** e **20**, entretanto, mostraram-se menos tóxicas, em contraste com a alta efetividade de porfirinas catiônicas previamente observada (HAO; JENSEN; VICENTE, 2009; MENG; JAMES, 1994; SIBRIAN-VAZQUEZ *et al.*, 2012). Isso pode ter ocorrido devido à baixa captação celular e/ou à alta reatividade do grupo epóxido com outras estruturas e/ou a relação hidro/lipofilicidade inadequados, que tem consequências na solubilização e na interação da porfirina com as estruturas celulares (SLOMP

et al., 2017). Os valores de LD₅₀ para **16** e **20** foram de 100 µmol.L⁻¹ e 38 µmol.L⁻¹, respectivamente. Percebe-se que o composto **20** apresentou baixa captação celular, porém mostrou-se um eficiente produtor de oxigênio singlete, o que reflete-se na sua fototoxicidade moderada.

As porfirinas neutras **12** e **18** não demonstraram fototoxicidade nas concentrações investigadas.

As propriedades celulares dos compostos **12**, **15**, **16**, **18**, **19** e **20** encontram-se condensadas na Tabela 24.

Tabela 24 – Citotoxicidade das porfirinas **12**, **15**, **16**, **18**, **19** e **20** (CellTiter Blue; 1,5 J/cm²)

FS	Toxicidade no escuro (LD ₅₀)	Fototoxicidade (LD ₅₀)	Captação celular (2 h) (10 ⁻³ *)	Captação celular (4 h) (*)	Captação celular (8 h) (*)	Captação celular (24 h) (*)
12	>200	>100	0,080±0,002	0,134±0,007	0,210±0,011	0,518±0,011
18	>200	>100	0,326±0,035	0,710±0,027	0,901±0,053	1,170±0,013
15	>200	7,4	3,10±0,052	4,43±0,093	5,45±0,088	5,45±0,076
19	>200	2,4	3,90±0,024	5,29±0,085	5,36±0,072	5,40±0,330
16	>200	100	0,142±0,091	0,322±0,012	0,403±0,018	0,778±0,023
20	>200	38	0,142±0,016	0,252±0,002	0,429±0,004	1,06±0,038

* = pmol.L⁻¹/célula
LD₅₀ em µmol.L⁻¹

A determinação da localização intracelular de FS é um fator determinante para investigação detalhada do caminho de morte celular na PDT (KESSEL, 2004). A localização preferencial intracelular dos derivados catiônicos **15**, **16**, **19** e **20** foi investigada por microscopia de fluorescência. Foram utilizados os fluoróforos específicos para organelas: ER Tracker Blue/White (retículo endoplasmático), BODIPY C5 Ceramide (complexo de Golgi), MitoTracker Green (mitocôndria) e LysoSensor Green (lisossomos) nos experimentos de sobreposição. Os padrões de fluorescência para as células contendo cada rastreador de organela, para as células com os compostos e as sobreposições estão apresentados nas Figuras 35-38 e os resultados estão condensados na Tabela 25.

Nas figuras apresentadas, as colorações roxa (para o marcador de retículo endoplasmático) e alaranjada (para os demais marcadores) indicaram a localização simultânea de porfirina e de marcador de organela. Todas as porfirinas avaliadas

demonstraram localização principalmente em lisossomos, complexo de Golgi e retículo endoplasmático. As porfirinas **19** e **20** também foram encontradas em mitocôndrias. Todas essas organelas são importantes alvos para PDT, sendo que levam à morte celular após irradiação.

Tabela 25 – Localização intracelular maior (+++) ou menor (+) das porfirinas **15**, **16**, **19** e **20** em células HEP2

FS	Retículo endoplasmático	Complexo de Golgi	Mitocôndria	Lisossomos
15	+++	+++	-	+++
19	+++	+++	+	++
16	+++	+++	-	+++
20	++	+	+	+++

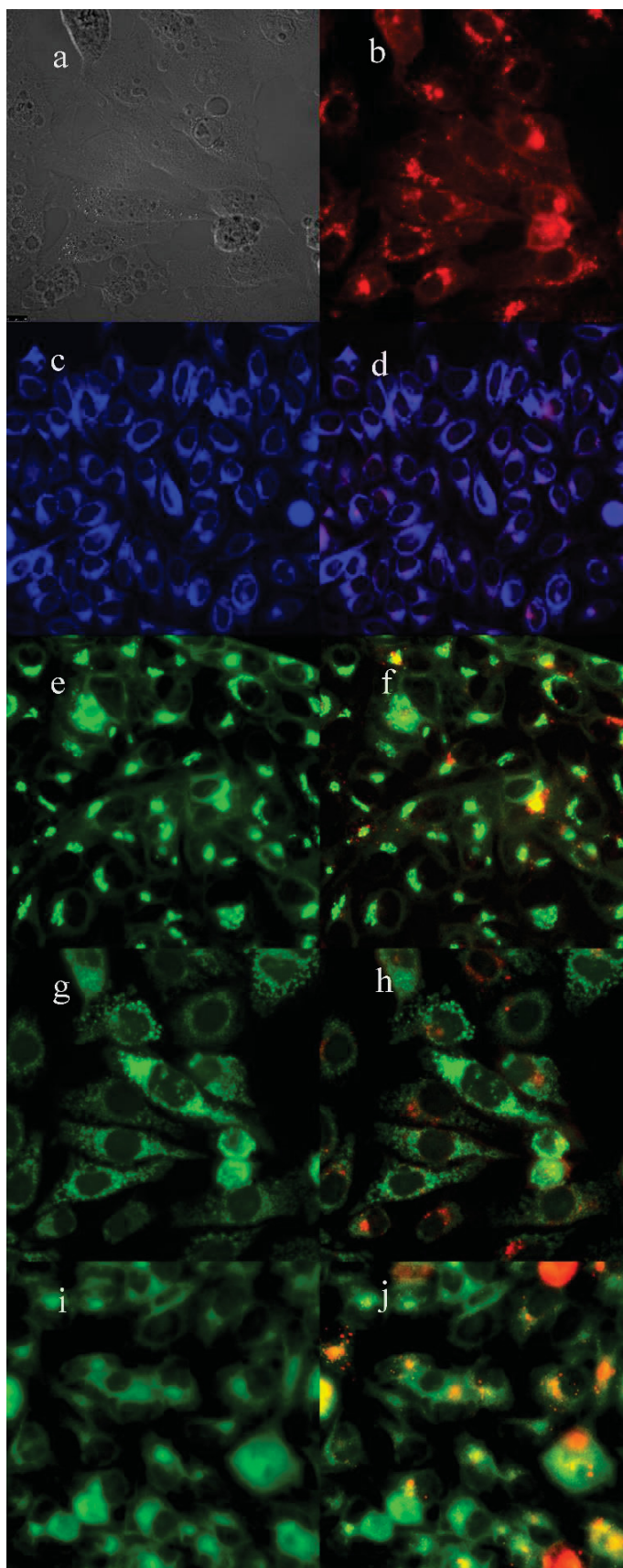


Figura 35 – Localização intracelular da porfirina **15** em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina **15**, (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de **15** e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de **15** e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de **15** e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de **15** e LysoSensor Green. Escala: 10 μm .

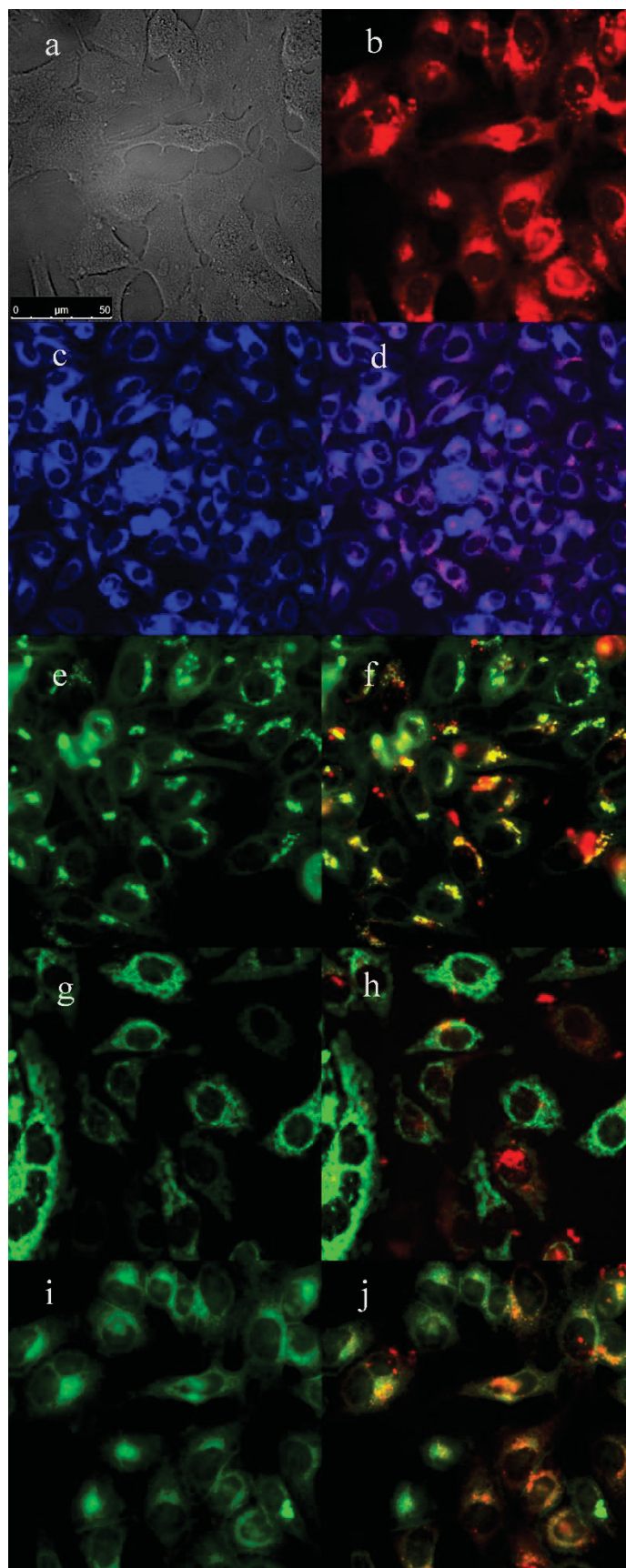


Figura 36 – Localização intracelular da porfirina **19** em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina **19**, (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de **19** e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de **19** e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de **19** e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de **19** e LysoSensor Green. Escala: 10 µm.

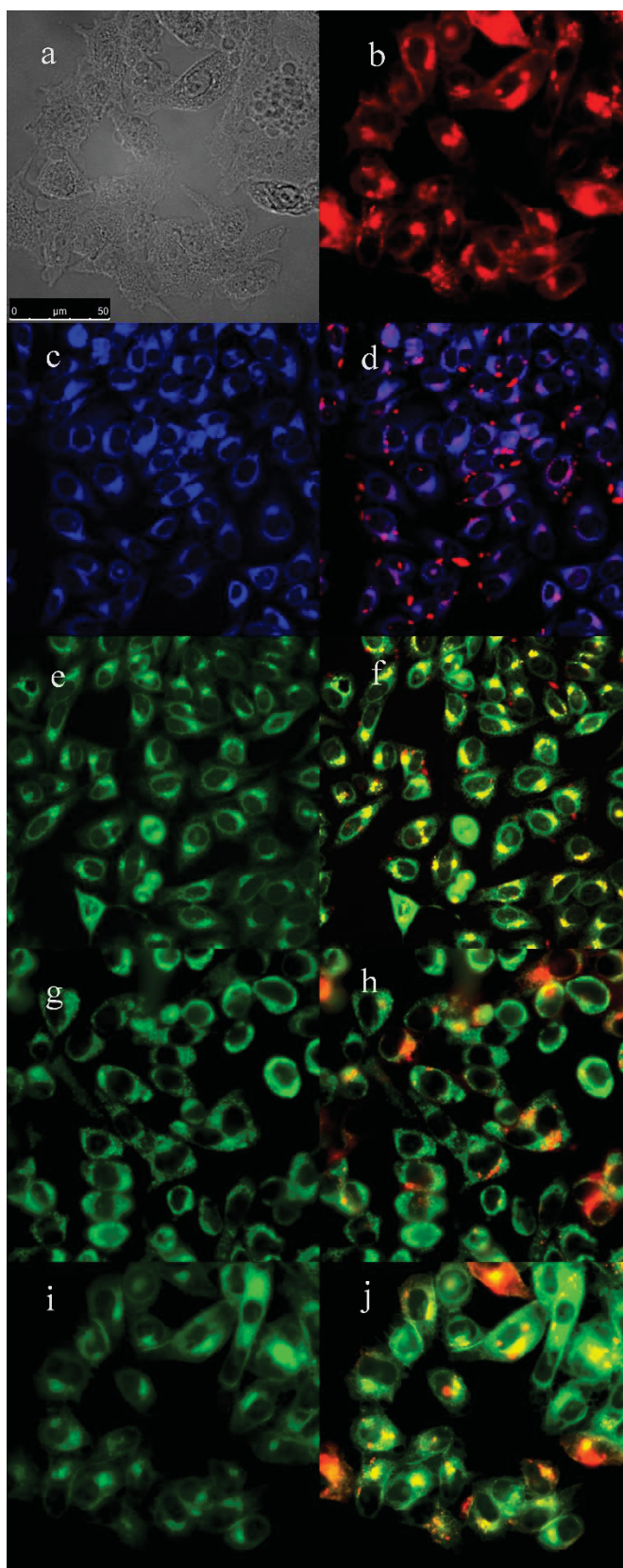


Figura 37 – Localização intracelular da porfirina **16** em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina **16**, (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de **16** e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de **16** e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de **16** e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de **16** e LysoSensor Green. Escala: 10 µm.

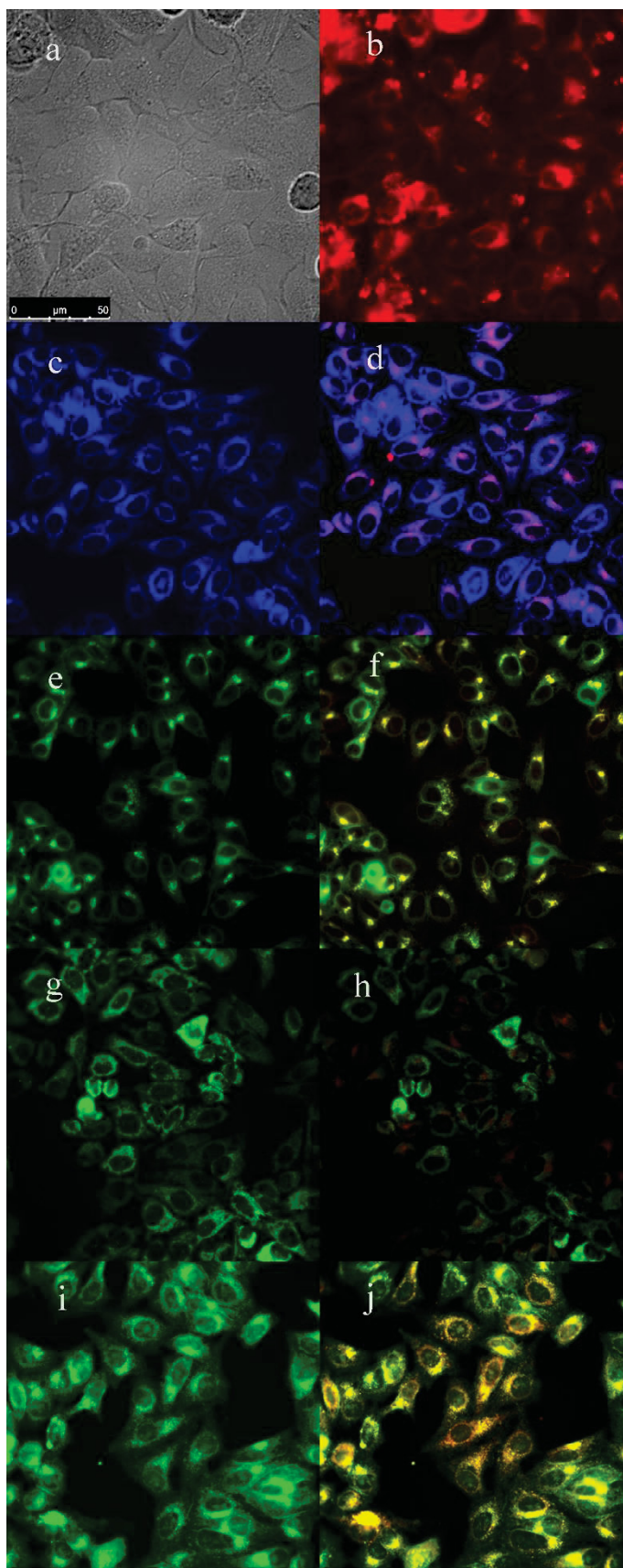


Figura 38 – Localização intracelular da porfirina **20** em células HEP2. (a) Contraste de fase, (b) porfirina **20**, (c) ER Tracker Blue/White, (d) sobreposição de **20** e ER Tracker, (e) BODIPY Ceramide, (f) sobreposição de **20** e BODIPY Ceramide, (g) MitoTracker Green, (h) sobreposição de **20** e MitoTracker, (i) LysoSensor Green, and (j) sobreposição de **20** e LysoSensor Green. Escala: 10 μm .

4.5.3 Propriedades celulares dos FS **29**, **30**, **31**, **32**, **33**, **34**

Adicionalmente aos FS porfirínicos, foi realizado o estudo de propriedades celulares dos BODIPYs **29**, **30**, **31**, **32**, **33**, **34** (Figura 39).

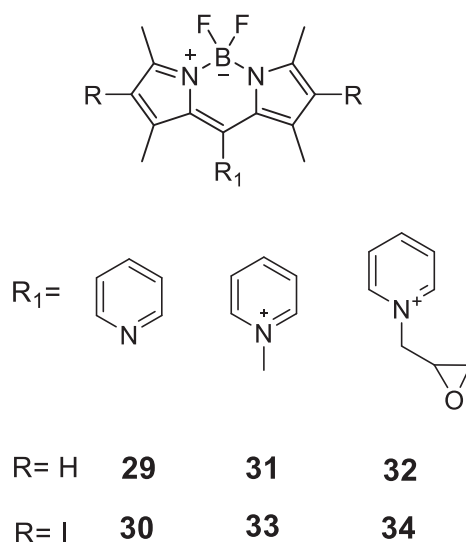


Figura 39 – Compostos avaliados quanto à propriedades celulares

A captação celular tempo-dependente foi avaliada na concentração de $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ durante um período de 24 h. O composto **30** apresentou captação celular ligeiramente maior que os demais BODIPYs (Figura 40). Não foram observadas grandes diferenças nos padrões de captação dos outros compostos avaliados. Os compostos **33** e **34** não foram detectados, portando não existem valores de captação para os mesmos.

Os BODIPYs também foram avaliados em termos de suas propriedades fotodinâmicas frente a células de câncer HEP2, utilizando ensaio Cell Titer Blue[®] Cell Viability Assay. A toxicidade na ausência de luz foi determinada com concentrações crescentes dos compostos avaliados, sem irradiação, com posterior determinação de viabilidade celular. Observou-se baixa toxicidade para todos os BODIPYs em concentrações abaixo de $200 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ($\text{LD}_{50} > 200 \mu\text{mol.L}^{-1}$) (Figura 41). BODIPYs avaliados anteriormente para toxicidade no escuro apresentaram resultados similares utilizando mesma linhagem celular e dose de luz (HAYES, 2014).

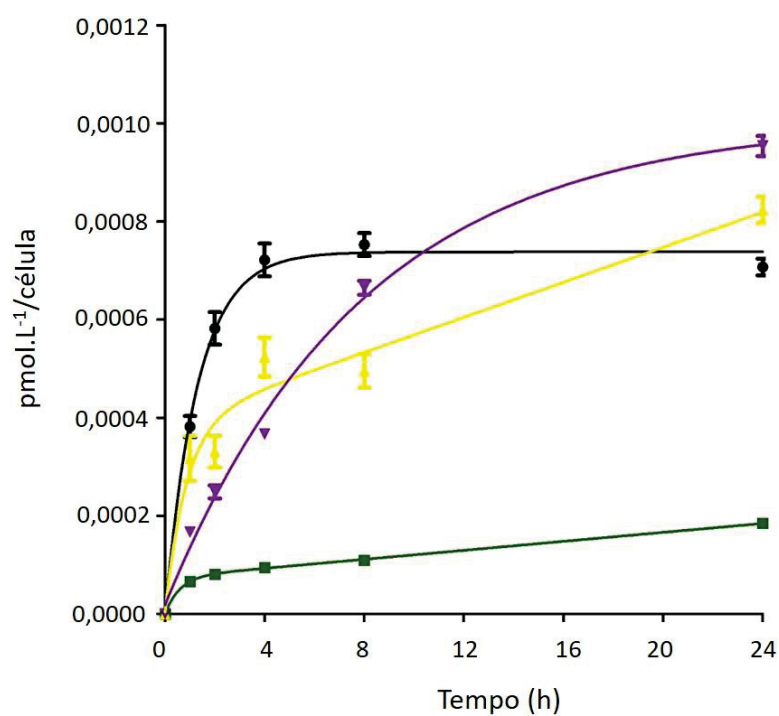


Figura 40 – Captação celular tempo-dependente dos BODIPYs 29 (●), 31 (■), 32 (▲), 30 (▼) a $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEp2

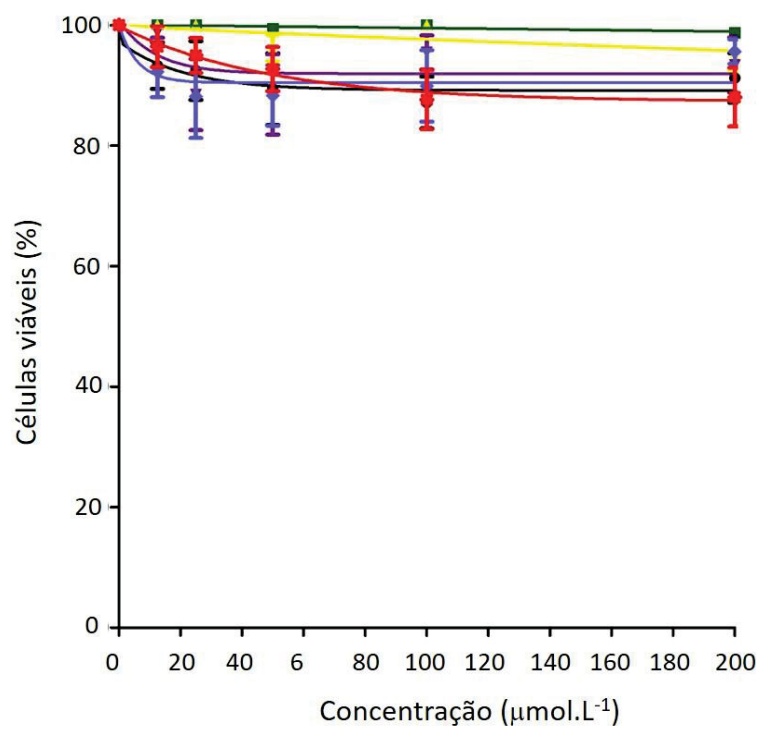


Figura 41 – Toxicidade no escuro dos BODIPYs 29 (●), 31 (■), 32 (▲), 30 (▼), 33 (●) e 34 (●) a $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEp2

A fototoxicidade foi determinada após exposição das células a 20 min de irradiação, para obter o total de aproximadamente $1,5 \text{ J/cm}^2$ de luz, após o tratamento das células com os compostos em concentração até $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ (Figura 42, Tabela 26). O composto que demonstrou fototoxicidade foi o BODIPY **30** ($\text{LD}_{50} = 3,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$), o qual também apresentou a melhor captação celular.

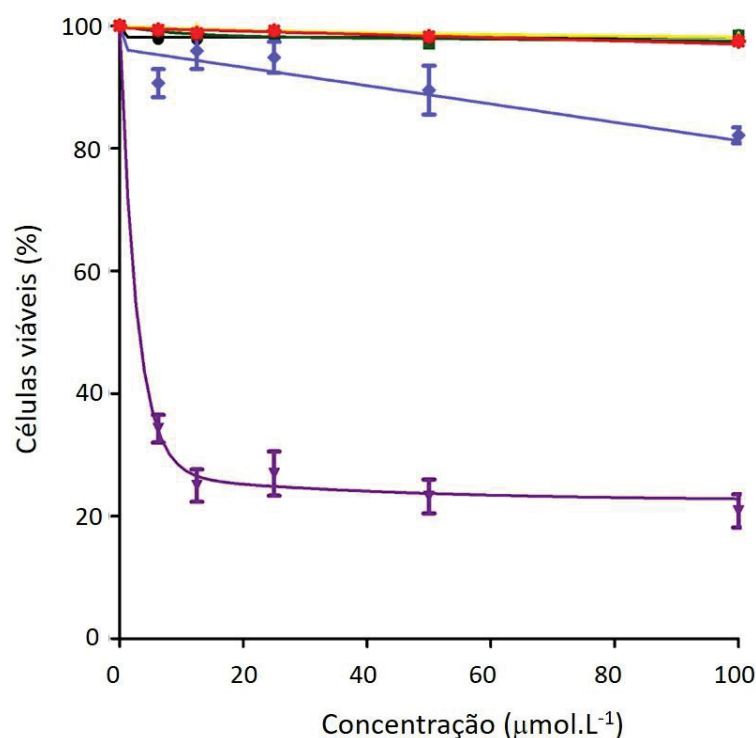


Figura 42 – Fototoxicidade ($1,5 \text{ J/cm}^2$) dos BODIPYs **29** (●), **31** (■), **32** (▲), **30** (▼), **33** (●) e **34** (★) a $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ em células HEP2

Tabela 26 – Citotoxicidade dos BODIPYs **29**, **30**, **31**, **32**, **33** e **34** (CellTiter Blue; $1,5 \text{ J/cm}^2$)

FS	Toxicidade no escuro ($\text{LD}_{50} \mu\text{mol.L}^{-1}$)	Fototoxicidade ($\text{LD}_{50} \mu\text{mol.L}^{-1}$)
29	>200	>100
31	>200	>100
32	>200	>100
30	>200	3,5
33	>200	>100
34	>200	>100

A falta de toxicidade dos BODIPYs **33** e **34** foi inesperada, uma vez que 2,6-di-iodo-BODIPYs descritos na literatura demonstraram alta fototoxicidade

atribuída ao efeito do átomo pesado (AWUAH; YOU, 2012; CARUSO *et al.*, 2012). BODIPYs contendo átomos de iodo nas posições 2 e 6 e substituintes catiônicos foram avaliados previamente para PDI (inativação de micro-organismos) com sucesso (CARUSO *et al.*, 2012). Os compostos **33** e **34**, que se mostraram ineficazes contra células tumorais, apresentam-se, então, como bons candidatos para PDI.

5 CONCLUSÕES

No presente trabalho foram estudados novos FS com potencial aplicação na PDT. Foram sintetizadas porfirinas hidroxilada e contendo grupos cationizáveis, para obtenção de derivados metilados e alquilados. Foram obtidos também FS da classe de clorinas e BODIPYs, que também foram submetidos à reações de alquilação. Observou-se que a *N*-alquilação para obtenção de derivados epóxido foi eficiente quando utilizando epibromoidrina ao invés de epicloridrina. Os compostos obtidos foram todos caracterizados estruturalmente, utilizando técnicas espectrométricas e espectroscópicas. No total foram obtidas nove moléculas inéditas com potencial como FS (**7, 12, 15, 16, 20, 25, 27, 32, 34**).

Quatro porfirinas catiônicas contendo grupos *meso*-piridila ou amônia quaternária (**15, 16, 19, 20**) foram selecionadas para avaliação biológica *in vitro* em células tumorais HEP2 e comparadas com seus precursores neutros. Todas as porfirinas foram não-tóxicas na ausência de luz. As porfirinas metiladas **15** e **19** mostraram-se compostos com alta captação intracelular e fototoxicidade, enquanto as porfirinas-epóxido não foram captadas adequadamente pelas células, e não demonstraram fototoxicidade adequada. Acredita-se que o grupo epóxido, altamente reativo, possa estar inviabilizando a atividade, pela interação diferenciada com estruturas biológicas e do meio. As porfirinas catiônicas mostraram-se, ainda, eficientes produtores de oxigênio singleto quando comparadas aos seus precursores neutros e apresentaram localização intracelular preferencial em retículo endoplasmático, complexo de Golgi e lisossomos. Também foram avaliados *in vitro* os BODIPYs (**29, 30, 31, 32, 33, 34**). O composto **30** apresentou a melhor captação celular e alta fototoxicidade.

Os derivados epóxido de porfirinas foram sintetizados pelo seu uso potencial como *linker* para formação de conjugados com outras moléculas. Esse potencial foi estudado em reações de conjugação com polissacarídeos. As estratégias de ativação do polissacarídeo agarose utilizando epicloridrina e de conjugação agarose-tosila com porfirina contendo grupo piridila não foram eficientes. A rota sintética desenvolvida para conjugação da porfirina **7** com os polissacarídeos agarose e *kappa*-carragenana mostrou-se promissora. A análise espectral dos polímeros obtidos sugere indícios de ligação covalente entre porfirina e polissacarídeo. Entretanto, o baixo grau de substituição dificultou a visualização dos sinais e por isso

mais experimentos são necessários para confirmar a substituição, bem como a posição modificada na estrutura do polissacarídeo.

Os FS sintetizados mostraram-se interessantes e abrem caminho para obtenção de novos FS contendo grupo epóxido para conjugação com outras moléculas. A rota sintética apresentada para obtenção de polímero porfirina-polissacarídeo mostrou-se promissora para construção de novos materiais para aplicação biológica, como filmes poliméricos curativos. Ainda, os dados apresentados devem auxiliar estudos mais aprofundados de obtenção de filmes poliméricos porfirínicos para uso na PDT.

REFERÊNCIAS

ABRAHAMSE, H.; HAMBLIN, M. R. New photosensitizers for photodynamic therapy. **Biochemical Journal**, Doornfontein, v. 473, n. 4, p. 347-364, Feb. 2016.

ADLER, A. D.; LONGO, F. R.; FINARELLI, J. D.; GOLDMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSKOFF, L. A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine. **The Journal of Organic Chemistry**, Philadelphia, v. 32, n. 2, p. 476, Feb. 1967.

AGOSTINIS, P.; BERG, K.; CENGEL, K. A.; FOSTER, T. H.; GIROTTI, A. W.; GOLLNICK, S. O.; HAHN, S. M.; HAMBLIN, M. R.; JUZENIENE, A.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; MROZ, P.; NOWIS, D.; PIETTE, J.; WILSON, B. C.; GOLAB, J. Photodynamic therapy of cancer: an update. **CA: A Cancer Journal For Clinicians**, Pennsylvania, v. 64, n. 4, p. 250-281, July 2011.

AHADIAN, S.; SADEGHIAN, R. B.; SALEHI, S.; OSTROVIDOV, S.; BAE, H.; RAMALINGAM, M.; KHADEMHOSEINI, A. Bioconjugated hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine. **Bioconjugate Chemistry**, Sendai, v. 26, p. 1984-2001, Aug. 2015.

AICHER, D.; GRÄFE, S.; STARK, C., B., W.; WIEHE, A. Synthesis of b-functionalized temoporfin derivatives for an application in photodynamic therapy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Leipzig, v. 21, p. 5808-5811, Aug. 2011.

AKANKSHA; YADAV, P. P; SRIVASTAVA, A. K.; MAURYA, R. Synthesis of analogues of antihyperglycemic lead karanjin. **Medicinal Chemistry Research**, Lucknow, v. 20, p. 1465-1472, 2011.

AKSENOVA, A. A.; SEBYAKIN, Y. L.; MIRONOV, A. F. Conjugates of porphyrins with carbohydrates. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, Moscow, v. 29, n. 3, p. 201-219, May. 2003.

ALLISON, R. R.; DOWNIE, G. H.; CUENCA, R.; HU, X.; CHILDS, C. J. H.; SIBATA, C. H. Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Greenville, v. 1, p. 27-42, 2004.

ANTUNES, B. P.; MOREIRA, A. F.; GASPAR, V. M.; CORREIA, I. J. Chitosan/arginine–chitosan polymer blends for assembly of nanofibrous membranes for wound regeneration. **Carbohydrate Polymers**, Covilhã, v. 130, p. 104-112, 2015.

ARAÚJO, C. A; **Modificações químicas em carragenanas: estudo comparativo de diversos padrões de sulfatação na atividade anticoagulante**. 124 p, Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

ARAÚJO, C. A DE; NOSEDA, M. D.; CIPRIANI, T. R.; GONÇALVES, A. G.; DUARTE, M. E. R.; DUCATTI, D. R. B. Selective sulfation of carrageenans and the influence of sulfate regiochemistry on anticoagulant properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 2, p. 483–91, 2013.

ARMISEN, R. Agar and agarose biotechnological applications. **Hydrobiologia**, Burgos, v. 221, p. 157-166, 1991.

ASPINALL, G. O. Chemical characterization and structure determination of polysaccharides. **The polysaccharides**, v. 1, p. 2330-2338, 2011.

ATILGAN, S.; EKMEKCI, Z.; DOGAN, L.; GUC, D.; AKKAYA, E. U. Water soluble distyryl-boradiazaindacenes as efficient photosensitizers for photodynamic therapy. **Chemical Communications**, Ankarav, v. 42, p. 4398-4400, Sep. 2006.

AWADHIYA, A.; TYEB, S.; RATHORE, K.; VERMA, V. Agarose bioplastic-based drug delivery system for surgical and wound dressings. **Engineering in Life Sciences**, Kanpur, v. 17, p. 204-214, Aug. 2017.

AWUAH, S. G.; YOU, Y. Boron dipyrromethene (BODIPY)-based photosensitizers for photodynamic therapy. **RSC Advances**, Oklahoma, v. 2, p. 11169-11183, Sep. 2012.

BAO, X.; HAYASHI, K.; LI, Y.; TERAMOTO, A.; ABE, K. Novel agarose and agar fibers: Fabrication and characterization. **Materials Letters**, Nagano, v. 64, p. 2435-2437, Aug. 2010.

BARBA-BON, A.; COSTERO, A. M.; GIL, S.; HARRIMAN, A.; SANCENÓN, F. Highly selective detection of nerve-agent simulants with BODIPY dyes. **Chemistry - A European Journal**, Valencia, v. 20, p. 6339-6347, 2014.

BARTELMESS, J.; WEARE, W. W.; LATORTUE, N.; DUONG, C.; JONES, D. S. *meso*-pyridyl BODIPYs with tunable chemical, optical and electrochemical properties. **New Journal of Chemistry**, Raleigh, v. 37, p. 2663-2668, June 2013.

BARROS, F. C. N.; SILVA, D. C.; SOMBRA, V. G.; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A.; FREITAS, A. L. P.; PAULA, R. C. Structural characterization of polysaccharide obtained from red seaweed *Gracilaria caudata* (J Agardh). **Carbohydrate Polymers**, Fortaleza, v. 92, p. 598-603, Sep. 2013.

BAS, S. Z.; MALTAS, E.; SENNIK, B.; YILMAZ, F.; VURAL, H. C. Design of a probe based on poly(glycidyl methacrylate-covinylferrocene)-coated Pt electrode for electrochemical detection of PTEN Gene in PCR amplified samples from prostate tissues. **Journal of Applied Polymer Science**, Konya, v. 131, p. 1-9, Feb. 2014.

BELYKH, D. V.; KARMANOVA, L. P.; SPIRIKHIN, L. V.; KUCHIN, A. V. Synthesis of amide derivatives of chlorin e6. **Russian Journal of Organic Chemistry**, Bashkortostan, v. 43, n. 1, p. 126-134, Oct. 2007.

BIGEY, P.; SÖNNICHSEN, S. H.; MEUNIER, B.; NIELSEN, P. E. DNA binding and cleavage by a cationic manganese porphyrin-peptide nucleic acid conjugate. **Bioconjugate Chemistry**, Copenhagen, v. 8, p. 267-270, Nov. 1997.

BOENS, N. I.; LEEN, V.; DEHAEN, W. Fluorescent indicators based on BODIPY. **Chemical Society Reviews**, Heverlee, v. 41, p. 1130-1172, May 2012.

BOLD, H.C.; WYNNE, M.J. **Introduction to the Algae**. Englewood Cliffs, N.J: Prentice-Hall, 1985. 720p.

BONNETT, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. **Chemical Society Reviews**, London, v. 24, p. 19-33, Jan. 1995.

BONNETT, R.; KRYSSTEVA, M. A.; LALOV, I. G.; ARTARSKY, S. V. Water disinfection using photosensitizers immobilized on chitosan. **Water Research**, London, v. 40, p. 1269-1275, Jan. 2006.

BONNETT, R. **Chemical aspects of photodynamic therapy**. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 2000.

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

CAMPO, V. L.; KAWANO, D. F.; BRAZ, D.; CARVALHO, I. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. **Carbohydrate Polymers**, Ribeirão Preto, v. 77, n. 2, p. 167–180, 2009.

CARPENTER B. L.; FEESE, E.; SADEGHIFAR, H.; ARGYROPOULOS, D. S.; GHILADI, R. A. Porphyrin-cellulose nanocrystals: a photobactericidal material that exhibits broad spectrum antimicrobial activity. **Photochemistry and Photobiology**, Raleigh, v. 88, n. 3, p. 527-536, May/June. 2012.

CARUSO, E.; BANFI, S.; BARBIERI, P.; LEVA, B.; ORLANDI, V. T. Synthesis and antibacterial activity of novel cationic BODIPY photosensitizers. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. Varese, v. 114. p. 44-51, May 2012.

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. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 88, p. 112-118, 2007.

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.; COSTA, L.; ALVES, E.; OLIVEIRA, A.; CUNHA, A.; ALMEIDA, A. Antimicrobial photodynamic activity of porphyrin derivatives: potential application on medical and water disinfection. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, Aveiro, v. 13, p. 574-577, 2009.

CASAS, C.; SAINT-JALMES, B.; LOUP, C.; LACEY, C. J. ; MEUNIER, B. Synthesis of cationic metalloporphyrin precursors related to the design of DNA cleavers. **Journal of Organic Chemistry**, França, v. 58, p. 2913-2917, 1993.

CHAUHAN, P.; HADAD, C.; SARTORELLI, A.; ZARATTINI, M.; HERREROS-LÓPEZ, A.; MBA, M.; MAGGINI, M.; PRATO, M.; CAROFIGLIO, T. Nanocrystalline cellulose-porphyrin hybrids: synthesis, supramolecular properties, and singlet-oxygen production. **Chemical Communications**, Padova, v. 49, p. 8525-8527, July. 2013.

CHEN, B.; WANG, W. Q. P.; TIAN, T.; MA, H. M.; CAO, X.; WU, X.; ZHOU, X. L.; LIU, F.; ZHENG, F.; LI, X. Synthesis of β -substituted cationic porphyrins and their interactions with DNA. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Hubei Wuhan, v. 13, p. 3731-3733, Sep. 2003.

CHEN, G.; HEIM, A.; RIETHER, D.; YEE, D.; MILGROM, Y.; GAWINOWICZ, M. A.; SAMES, D. Reactivity of functional groups on the protein surface: development of epoxide probes for protein labeling. **Journal of the American Chemical Society**, New York, v. 125, p. 8130-8133, Jun. 2003.

CHIOVITTI, A.; KRAFT, G. T.; BACIC, A.; CRAIK, D. J.; LIAO, M-L. Chemistry, properties, and phylogenetic implications of the methylated carrageenans from red algae of the genus *Areschougia* (areschougiaceae, gigartinales, rhodophyta). **Journal of Phycology**, Victoria, v. 37, p. 1127-1137, Aug. 2001.

CHIOVITTI, A.; BACIC, A.; CRAIK, D. J.; KRAFT, G. T.; LIAO, M-L. A nearly idealized 6₀-O-methylated i-carrageenan from the Australian red alga *Claviconium ovatum* (Acrotylaceae, Gigartinales). **Carbohydrate Research**, Victoria, v. 339, p. 1459-1466, Mar. 2004.

CIUCANU, I.; KEREK, F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. **Carbohydrate Research**, Timișoara, v. 131, n. 2, p. 209-217, Mar. 1984.

COLLINS, T. L.; MARKUS, E. A.; HASSETT, D. J.; ROBINSON, J. B. The effect of a cationic porphyrin on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Current Microbiology**, Dayton, v. 61, p. 411-416, Apr. 2010.

COPPELLOTTI, O.; FABRIS, C.; SONCIN, M.; MAGARAGGIA, M.; CAMERIN, M.; JORI, G.; GUIDOLIN, L. Porphyrin photosensitized processes in the prevention and treatment of water-and vector-borne diseases. **Current Medicinal Chemistry**, Padova, v. 19, p. 808-819, 2012.

COSTA, L.; ALVES, E.; CARVALHO, C. M.; TOMÉ, J. P.; FAUSTINO, M. A.; NEVES, M. G.; TOMÉ A. C.; CAVALEIRO, J. A.; CUNHA, A.; ALMEIDA, A. Sewage bacteriophage photoinactivation by cationic porphyrins: a study of charge effect. **Photochemical & Photobiological Sciences**, Aveiro, v. 7, p. 415-422, 2008.

COUTIER, S.; BEZDETNAYA, L.; MARCHAL, S.; MELNIKOVA, V.; BELITCHENKO, I.; MERLIN, J. L.; GUILLEMIN, F. Foscan® (*m*THPC) photosensitized macrophage activation: enhancement of phagocytosis, nitric oxide release and tumour necrosis factor- α -mediated cytolytic activity. **British Journal of Cancer**, Brabois, v. 81, n. 1, p. 37-41, 1999.

CUNHA, L.; GRENHA, A. Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. **Marine drugs**, Faro, v. 14, p. 1-42, Feb. 2016.

DALLAGNOL, J. C. **Síntese e avaliação fotofísica de derivados porfirínicos conjugados através dos grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato**. 155 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

DALLAGNOL, J. C. C.; DUCATTI, D. R. B.; BARREIRA, S. M. W.; NOSEDA, M. D.; DUARTE, M. E. R.; GONÇALVES. Synthesis of porphyrin glycoconjugates bearing thiourea, thiocarbamate and carbamate connecting groups: Influence of the linker on chemical and photophysical properties. **Dyes and Pigments**, Curitiba, v. 107, p. 69-80, Mar. 2014.

DEDA, K. D.; PAVANI, C.; CARITÁ, E; BAPTISTA, M. S.; TOMA, H. E.; ARAKI, K. Correlation of photodynamic activity and singlet oxygen quantum yields in two series of hydrophobic monocationic porphyrins. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, Sao Paulo, v. 16, p. 55-63, July 2012.

DE ROSA, E.; CHIAPPINI, C.; FAN, X.; LIU, X.; FERRARI, M.; TASCIOTTI, E. Agarose surface coating influences intracellular accumulation and enhances payload stability of a nano-delivery system. **Pharmaceutical Research**, Houston, v. 28, p. 1520-1530, July 2011.

DEROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. **Coordination Chemistry Reviews**, Ottawa, v. 233-234, p. 351-371, Nov. 2002.

DI POTO, A.; SBARRA, M. S.; PROVENZA, G.; VISAI, L.; SPEZIALE, P. The effect of photodynamic treatment combined with antibiotic action or host defence mechanisms on *Staphylococcus aureus* biofilms. **Biomaterials**, Pavia, v. 30, p. 3158-3166, Mar. 2009.

DORST, D. N.; RIJPKEMA, M.; BUITINGA, M.; BROM, M.; BOS, D. L.; FREIMOSER, A.; KLEIN, C.; WALGREEN, B.; VAN DER KRAAN, P. M.; GOTTHARDT, M.; KOENDERS, M. I. Targeting activated synovial fibroblasts using photodynamic therapy in experimental arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, Nijmegen, v. 77, p. A58-A59, March 2018.

DUCATTI, D. R. B. **Hidrólise ácida de galactanas para produção de oligossacarídeos e c-glicosídeos: semi-síntese de n-alquil e c-dihidropiridina glicosídeos**. 120 p, Tese (Doutorado em Bioquímica) - Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

DOUGHERTY, T. J.; GOMER, C. J.; HENDERSON, B. W.; JORI, G.; KESSEL, D.; KORBELIK, M.; MOAN, J.; PENG, Q. Photodynamic Therapy. **Journal of the National Cancer Institute**, Los Angeles, v. 90, n. 12, p. 889-905, Jun. 1998.

DUCATTI D. R. B.; MASSI, A.; NOSEDA, M. D.; DUARTE, M. E. R.; DONDONI, A. Dihydropyridine C-glycoconjugates by organocatalytic Hantzsch cyclocondensation. Stereoselective synthesis of α -threofuranose C-nucleoside enantiomers. **Organic and Biomolecular Chemistry**, Curitiba, v. 7, p. 1980-1986, May 2009.

EASSON, M. W., FRONCZEK, F. R., JENSEN, T., VICENTE, M. G. H. Synthesis and *in vitro* properties of trimethylamine- and phosphonate-substituted carboranylporphyrins for application in BNCT. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Baton Rouge, v. 16, n. 6, p. 3191-3208, Mar. 2008.

FEESE, E.; SADEGHIFAR, H.; GRACZ, H. S.; ARGYROPOULOS, D. S.; GHILADI, R. A. Photobactericidal porphyrin-cellulose nanocrystals: synthesis, characterization, and antimicrobial properties. **Biomacromolecules**, Raleigh, v. 12, n. 10, p. 3528-3539, Sep. 2011.

FERRIS, D. P.; LU, J.; GOTHARD, C.; YANES, R.; THOMAS, C. R.; OLSEN, J-C.; STODDART, J. F.; TAMANOI, F.; ZINK, J. I. Synthesis of biomolecule-modified mesoporous silica nanoparticles for targeted hydrophobic drug delivery to cancer cells. **Small**, Los Angeles, v. 7, n. 13, p. 1816-1826, 2011.

GERICKE, M.; HEINZE, T. Homogeneous tosylation of agarose as an approach toward novel functional polysaccharide materials. **Carbohydrate Polymers**, Jena, v. 127, p. 236-245, March 2015.

GONÇALVES, A. G.; DUCATTI, D. R.; PARANHA, R. G.; DUARTE, E. M.; NOSEDA, M. D. Positional isomers of sulfated oligosaccharides obtained from agarans and carrageenans: preparation and capillary electrophoresis separation. **Carbohydrates Research**, Curitiba, v. 340, p.2123-2134, Sep. 2005.

GONÇALVES, A. G.; DUCATTI, D. R.; DUARTE, E. M.; NOSEDA, M. D.; GRINDLEY, B. Semi-synthesis of antiviral long-chain alkyl ether derivatives of sulfatedoligosaccharides *via* dibutylstannylene acetal intermediates. **Journal of Organic Chemistry**, Curitiba, v. 72, n. 26, p. 9896-9904, 2007.

GORBE, M.; BARBA-BON, A.; TORRE, C.; GIL, S.; COSTERO, A. M.; SANCENÓN, F.; MURGUÍA, R.; MARTÍNEZ-MÁÑES, R. Synthesis and *in vitro* evaluation of a photosensitizer-BODIPY derivative for potential photodynamic therapy applications. **Chemistry- An Asian Journal**, v. 10, p. 2121-2125, 2015.

GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. NMR chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. **Journal of Organic Chemistry**, Ramat-Gan, v. 62, p. 7512-7515, June 1997.

GRAHAM, L. E.; WILCOX, L. W. **Algae**. Upper Saddle River: Prentice-Hall, 2000. 640p.

GRIMM, B.; PORRA, R. J.; RÜDIGER, W.; SCHER, H. **Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications**. v.25. Arizona, Springer. 2006. 620 pg.

HADJUR, C.; LANGE, N.; REBSTEIN, J.; MONNIER, P.; BERGH, H.; WAGNIÈRES, G. J. Spectroscopic studies of photobleaching and photoproduct formation of meta(tetrahydroxyphenyl) chlorin (m-THPC) used in photodynamic therapy. The production of singlet oxygen by m-THPC. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 45, p. 170-178, Sep. 1998.

HAMBLIN, M. R.; MILLER, J. L.; ORTEL, B. Scavenger-receptor targeted photodynamic therapy. **Photochemistry and Photobiology**, Boston, v. 72, n. 4, p. 533-540, July 2000.

HAMBLIN, M. R.; MILLER, J. L.; RIZVI, I.; ORTEL, B.; MAYTIN, E. V.; HASAN, T. Pegylation of a chlorin_{e6} polymer conjugate increases tumor targeting of photosensitizer. **Cancer Research**, Boston, v. 61, p. 7155-7162, Oct. 2001.

HAO, E.; JENSEN, T. J.; VICENTE, M. G. H. Synthesis of porphyrin-carbohydrate conjugates using "click" chemistry and their preliminary evaluation in human HEP2 cells. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, Baton Rouge, v. 13, p. 51-59, Sep. 2009.

HASEGAWA, T.; UMEDA, M.; NUMATA, M.; LI, C.; BAE, A.; FUJISAWA, T.; HARAGUCHI, S.; SAKURAI, K. SHINKAI, S. 'Click chemistry' on polysaccharides: a convenient, general, and monitorable approach to develop (1-->3)-beta-D-glucans with various functional appendages. **Carbohydrate Research**, Fukuoka, v. 341, n. 1, p. 35-40, Jan. 2006.

HAYES, J. S. **Synthesis, characterization and evaluation of novel BODIPY dyes with theranostic applications**. Dissertation (Doctor of Philosophy) – Louisiana State University, Baton Rouge, 2014.

HEUKO, G. J. **Síntese e caracterização de derivado amino carboxilado da agarose**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

HIROHARA, S.; OBATA, M.; OGATA, S.; OHTSUKI, C.; HIGASHIDA, S.; OGURA, S.; OKURA, I.; TAKENAKA, M.; ONO, H.; SUGAI, Y.; MIKATA, Y.; TANIHARA, M.; YANO, S. Cellular uptake and photocytotoxicity of glycoconjugated chlorins in HeLa cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Nara, v. 78, p. 7-15, Nov. 2005.

HOWARD, J. A.; MENDENHALL, D. Autoxidation and photooxidation of 1,3-diphenylisobenzofuran: a kinetic and product study. **Canadian Journal of Chemistry**, Ottawa, v. 53, p. 2199-201, Jan. 1975.

HYNNINEN, P. H. Chlorophylls. V.* Isolation of chlorophylls a and b using an improved two-phase extraction method followed by a precipitation and a separation on a sucrose column. **Acta Chemica Scandinavica B**, Kuopio, v. 31, p. 829-35, 1977.

HUANG, Z. A review of progress in clinical photodynamic therapy. **Technology in Cancer Research and Treatment**, Denver, v. 4, n. 3, p. 283-293, Jun. 2005.

IUPAC. Definitive Rules for Nomenclature of Organic Chemistry. **Journal of the American Chemical Society**, v. 28, p. 5545-5574, 1960.

JAKUS, J.; FARKAS, O. Photosensitizers and antioxidants: a way to new drugs?. **Photochemical & Photobiological Sciences**, Budapest, v. 4, p. 694-698, Aug. 2005.

JANISSEN, R.; OBERBARNSCHEIDT, L.; OESTERHELT, F. Optimized straight forward procedure for covalent surface immobilization of different biomolecules for single molecule applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Düsseldorf, v. 71, p. 200-207, Feb. 2009.

JENSEN, T. J.; VICENTE, M. G. H.; LUGUYA, R.; ORTON, J.; FRONCZEK, F. R.; SMITH, K. M. Effect of overall charge and charge distribution on cellular uptake, distribution and phototoxicity of cationic porphyrins in HEp2 cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Baton Rouge, v. 100, p. 100-111, May 2010.

JINADASA, R. G. W. **Design, synthesis and characterization of porphyrin derivatives for biological applications**. 246 f. Dissertation (Doctor of Philosophy) – Louisiana State University, Baton Rouge, 2013.

JINADASA, R. G. W.; HU, X.; VICENTE, M. G. H.; SMITH, K. M. Syntheses and cellular investigations of 17³⁻, 15²⁻, and 13¹⁻ amino acid derivatives of chlorin e₆. **Journal of Medicinal Chemistry**, Baton Rouge, v. 54, p. 7464-76, Sep. 2011.

KANG, D. H.; JUNG, H-S.; LEE, J.; SEO, S.; KIM, J.; KIM, K.; SUH, K-Y. Design of polydiacetylene-phospholipid supramolecules for enhanced stability and sensitivity. **Langmuir**, Seoul, v. 28, p. 7551-7556, Apr. 2012.

KAMKAEW, A.; LIM, S. H.; LEE, H. B.; KIEW, L. V.; CHUNG, L. Y.; BURGESS, K. BODIPY dyes in photodynamic therapy. **Chemical Society Reviews**, College Station, v. 42, n. 1, p. 1-26, Jan. 2007.

KAMKAEW, A.; LIM, S. H.; LEE, H. B.; KIEW, L. V.; CHUNG, L. Y.; BURGESS, K. BODIPY dyes in photodynamic therapy. **Chemical Society Reviews**, College Station, v. 42, n. 1, p. 1-26, Jan. 2013.

KAMARULZAMAN, E. E.; GAZZALI, A. M.; ACHERAR, S.; FROCHOT, C.; BARBERI-HEYOB, M.; BOURA, C.; CHAIMBAULT, P.; SIBILLE, E.; WAHAB, H. A.; VANDERESSE, R. New peptide-conjugated chlorin-type photosensitizer targeting neuropilin-1 for anti-vascular targeted photodynamic therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, Nancy Cedex, v. 16, p. 24059-24080, Oct. 2015.

KESSEL, D.; LUGUYA, R.; VICENTE, M. G. H. Localization and photodynamic efficacy of two cationic porphyrins varying in charge distributions. **Photochemistry and Photobiology**, Detroit, v. 78, n. 5, p. 431-435, Aug. 2003.

KESSEL, D. Correlation between subcellular localization and photodynamic efficacy. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, Detroit, v. 8, p. 1009-1014, Jan. 2004

KNUTSEN, S. H.; MYSLABODSKI, D. E.; LARSEN, B.; USOV, A. I. A modified system of nomenclature for red algal galactans. **Botanica Marina**, Tromso, v. 37, p. 163-169, 1994.

KÖKSOY, B.; KAYA, E. N.; HACIVELIOGLU, F.; YES, S.; DURMUS, M. Effect of iodine substitution pattern on the singlet oxygen generation and solvent depended keto-enol tautomerization behavior of BODIPY photosensitizers. **Dyes and Pigments**, Kocaeli, v. 140, p. 384-391, Jan. 2017.

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

KURIHARA, H.; KAGAWA, Y.; KONNO, R.; KIM, S. M.; TAKAHASHI, K. Lipoxygenase inhibitors derived from marine macroalgae. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Hakodate, v. 24, p. 1383-1385, Jan. 2014.

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. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Lyon, v. 10, p. 252-259, Sep. 2013.

LAHAYE, M.; ROCHAS, C. Chemical structure and physico-chemical properties of agar. **Hydrobiologia**, Grenoble, v. 221, p. 137-148, 1991.

LAMBRECHTS, S.A.G.; AALDERS, M. C. G.; MARLE, V. J. Mechanistic study of the photodynamic inactivation of *Candida albicans* by cationic porphyrin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Amsterdam, v. 49, n. 5, p. 2026-2034, May 2005.

LEE, S. J.; HUPP, J. T. Porphyrin-containing molecular squares: design and applications. **Coordination Chemistry Reviews**, Evanston, v. 250, p. 1710-1723, 2006.

LEE, M. H.; BRASS, D. A.; MORRIS, R.; COMPOSTO, R. J.; DUCHEYNE, P. The effect of non-specific interactions on cellular adhesion using model surfaces. **Biomaterials**, Smith Walk, v. 26, p. 1721-1730, May 2005.

LI, X.; HUANG, S.; HU, Y. Diversity-oriented derivatization of BODIPY based on regioselective bromination. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Hangzhou, v. 10, p. 2369-2372, Jan. 2012.

LI, L.; NI, R.; SHAO, Y.; MAO, S. Carrageenan and its applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, Shenyang, v. 103, p. 1-11, Dec. 2014.

LIM, S. H.; THIVIERGE, C.; NOWAK-SLIWINSKA, P.; HAN, J.; BERGH, H.; WAGNIÈRES, G.; BURGESS, K.; LEE, H. B. In vitro and in vivo photocytotoxicity of boron dipyrromethene derivatives for photodynamic therapy. **Journal of Medicinal Chemistry**, Selangor, v. 53, n. 7, p. 2865-2874, Mar. 2010.

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. **Journal of Organic Chemistry**, Pittsburgh, v. 52, p. 827-836, Mar. 1987.

LIU, J.; ZHAN, X.; WAN, J.; WANG, Y.; WANG, C. Review for carrageenan-based pharmaceutical biomaterials: favorable physical features versus adverse biological effects. **Carbohydrate Polymers**, Taipa, v. 121, p. 27-36, Dec. 2015.

LOTZ, A.; HELLER, M.; BRIEGER, J.; GABRIEL, M.; FORCH, R. Derivatization of plasma polymerized thin films and attachment of biomolecules to influence HUVEC-Cell Adhesion. **Plasma Processes and Polymers**, Mainz, v. 9, p.10-16, 2012.

LOUDET, A.; BURGESS, K. BODIPY dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties. **Chemical Reviews**, College Station, v. 107, p. 4891-4932, Sep. 2007.

LOUDET, A.; BURGESS, K. **BODIPY[®] dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties**. In: D'SOUZA, F. Handbook of porphyrin science. 2010.

MAL'SHAKOVA, M. V.; BELYKH, D. V.; KUCHIN, A. V. Synthesis of chlorins with a distal vinyl group. **Chemistry of Natural Compounds**, Syktyvkar, v. 43, n. 2, p. 163-166, Apr. 2007.

MARRAS-MARQUEZ, T.; PEÑA, J.; VEIGA-OCHOA, M. D. Agarose drug delivery systems upgraded by surfactants inclusion: critical role of the pore architecture. **Carbohydrate Polymers**, Madrid, v. 103, p. 359-368, Jan. 2014.

MAZIÈRE, J. C.; MORLIÈRE, P.; SANTUS, R. New trends in photobiology: The role of the low density lipoprotein receptor pathway in the delivery of lipophilic photosensitizers in the photodynamic therapy of tumours. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Paris, v. 8, n. 4, p. 351-360, Mar. 1991.

MBAKIDI, J-P.; HERKE, K.; ALVÈS, S.; CHALEIX, V.; GRANET, R.; KRAUSZ, P.; LEROY-LHEZ, S.; OUK, T-S.; SOL, V. Synthesis and photobiocidal properties of cationic porphyrin-grafted paper. **Carbohydrate Polymers**, Limoges, v. 91, p. 333-338, Aug, 2013.

McMILLIN, D. R.; SHELTON, A. H.; BEJUNE, S. A.; FANWICK, P. E.; WALL, R. K. Understanding binding interactions of cationic porphyrins with B-form DNA. **Coordination Chemistry Reviews**, West Lafayette, v. 249, p. 1451-1459, Jan. 2005.

MENG, G. G., JAMES, B. R. Porphyrin chemistry pertaining to the design of anti-cancer drugs; part 1, the synthesis of porphyrins containing meso-pyridyl and meso-substituted phenyl functional groups. **Canadian Journal of Chemistry**, Vancouver, v. 72, p. 1894-1909, Mar. 1994.

MERHI, A. **Synthesis of new organic and organometallic porphyrin assemblies for optics**. 224 f. Tese (Doutorado em Química) – INSA Rennes, França, 2013.

MIHAILA, S. M.; GAHARWAR, A. K.; REIS, R. L.; MARQUES, A. P.; GOMES, M. E.; KHADEMHOSEINI, A. Photocrosslinkable kappa-carrageenan hydrogels for

tissue engineering applications. **Advanced Healthcare Materials**, Cambridge, v. 2, p. 895-907, 2013.

MILGROM, L. R. **The colours of life**: an introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds. Oxford University Press, New York, 1997.

MOAN, J.; PETTERSEN, E. O.; CHRISTENSEN, T. The mechanism of photodynamic inactivation of human cells in vitro in the presence of haematoporphyrin. **British Journal of Cancer**, Montebello, v. 39, p. 398-407, Dez. 2004.

MOREIRA, L. M.; DOS SANTOS, F. V.; LYON, J. P.; MAFTOUM-COSTA, M.; PACHECO-SOARES, C.; SILVA, N. S. Photodynamic Therapy: porphyrins and phthalocyanines as photosensitizers. **Australian Journal of Chemistry**, São José dos Campos, v. 61, p. 741-754, July 2004.

MOSS, G. P. Nomenclature of tetrapyrroles. **Pure and Applied Chemistry**, Marseille, v. 59, p. 779-832, 1987.

MÜLLER, A.; PREUB, A.; RODER, B. Photodynamic inactivation of *Escherichia coli* – Correlation of singlet oxygen kinetics and phototoxicity. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, Berlin, v. 178, p. 219-227, Jan. 2018.

NAIR, A. V.; RAMAN, M.; DOBLE, M. Cyclic β -(1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 6) glucan/carrageenan hydrogels for wound healing applications. **RSC Advances**, v. 6, p. 98545-98553, Sep. 2016.

NECAS, J.; BARTOSIKOVA, L. Carrageenan: a review. **Veterinarni Medicina**, Olomouc, v. 58, n. 4, p. 187-205, April 2013.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 4ed. São Paulo, Sarvier. 2006. 1202 pg.

NINAN, N.; FORGET, A.; SHASTRI, V. P.; VOELCKER, N. H.; BLENCOWE, A. Antibacterial and anti-inflammatory pH-responsive tannic acid-carboxylated agarose composite hydrogels for wound healing. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Mawson Lakes, v. 8, p. 28511-28521, Oct. 2016.

NYMAN, E. S.; HYNNINEN, P. H. Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Helsinki, v. 73, p. 1-28, 2004.

OCHSNER, M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Basle, v. 39, p. 1-18, July 1997.

OHNO, M.; NANG, H. Q.; HIRASE, S. Cultivation and carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. **Journal of Applied Phycology**, v. 8, p. 431-437, 1996.

OJADI, E. C. A.; LINSCHITZ, H.; GOUTERMAN, M.; WALTER, R. I.; LINDSEY, J. S.; WAGNER, R. W.; DROUPADI, P. R.; WANG, W. Sequential protonation of meso-p(dimethylamino)phenyl)porphyrins: charge-transfer excited states producing hyperporphyrins. **Journal of Physical Chemistry A**, Waltham, v. 97, p. 13192-13197, Dec. 1993.

ORENSTEIN, A.; KLEIN, D.; KOPOLOVIC, J.; WINKLER, E.; MALIK, Z.; KELLER, N.; NITZAN, Y. The use of porphyrins for eradication of *Staphylococcus aureus* in burn wound infections. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Tel-Hashomer, v. 19, p. 307-314, Oct. 1998.

ORTIZ, M. J.; AGARRABEITIA, A. R.; DURAN-SAMPEDRO, G.; PRIETO, J. B.; LOPEZ, T. A.; MASSAD, W. A.; MONTEJANO, H. A.; GARCIA, N. A.; ARBELOA, I. L. Synthesis and functionalization of new polyhalogenated BODIPY dyes. Study of their photophysical properties and singlet oxygen generation. **Tetrahedron**, Madrid, v. 68, p. 1153-1162, Nov. 2012.

PAINTER, T. J. Algal Polysaccharides. In: ASPINALL, G.O. (Ed.) **The Polysaccharides**. v. 2. NewYork:AcademicPress. p.195-285,1983.

PALAO, E.; DURAN-SAMPEDRO, G.; MOYA, S.; MADRID, M.; GARCÍA-LOPEZ, C.; AGARRABEITIA, A. R.; VERBELEN, B.; DEHAEN, W.; BOENS, N.; ORTIZ, M. J. Exploring the application of the Negishi reaction of haloBODIPYs: generality, regioselectivity, and synthetic utility in the development of BODIPY laser dyes. **The Journal of Organic Chemistry**, Madrid, v. 81, p. 3700-3710, Apr. 2016.

PARK, H.; NA, K. Conjugation of the photosensitizer Chlorin e6 to pluronic F127 for enhanced cellular internalization for photodynamic therapy. **Biomaterials**, Gyeonggi-do, v. 34, p. 6992-7000, June 2013.

PAWAR, H. V.; TETTEH, J.; BOATENG, J. S. Preparation, optimisation and characterisation of novel wound healing film dressings loaded with streptomycin and diclofenac. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Chatham Maritime, v. 102, p. 102-110, Aug. 2013.

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, São Carlos, v. 30, n. 4, p. 988-994, Maio 2007.

PURELLO, R.; GURRIERI, S.; LAUCERI, R. Porphyrin assemblies as chemical sensors. **Coordination Chemistry Reviews**, Valverde, v. 190, p. 683-706, 1999.

REDDI, E.; CECCON, M.; VALDUGA, G.; JORI, G.; BOMMER, J. C.; ELISEI, F.; LATTERINI, L.; MAZZUCATO, U. Photophysical properties and antibacterial activity of meso-substituted cationic porphyrins. **Photochemistry and Photobiology**, Padova, v. 75, n. 5, p. 462-470, Feb. 2002.

REY, Y. P.; ABRADELO, D. G.; SANTOSCHI, N.; STRASSERT, C. A.; GILMOUR, R. Quantitative profiling of the heavy-atom effect in bodipy dyes: correlating initial rates, atomic numbers, and $^1\text{O}_2$ quantum yields. **European Journal of Organic Chemistry**, Corrensstrasse, v. 15, p. 2170-2178, Apr. 2017.

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

RISALITI, L.; PIAZZINI, V.; MARZO, M. G.; BRUNETTI, L.; CECCHI, R.; LENCIONI, O.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C. Topical formulations of delta-aminolevulinic acid for the treatment of actinic keratosis: characterization and efficacy evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Sesto Fiorentino, v. 115, p. 345-351, Jan. 2018.

RISS, T.; MORAVEC, R. Introducing the CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay. **Promega Notes**, v. 83, p. 10-13, 2003.

ROSSI, F.; PERALE, G.; STORTI, G.; MASI, M. A library of tunable agarose carbomer-Bbsed hydrogels for tissue engineering applications: the role of cross-linkers. **Journal of Applied Polymer Science**, Milano, v. 123, p. 2211-2221, Feb. 2012.

SANTOS, G. C. **Oxidação seletiva de carragenanas utilizando o reagente tempo e o ácido tricloroisocianúrico como co-oxidante**. 138 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

SHUKLA, S.; SHUKLA, S. K.; SHARMA, R.; KUMAR, A. Identification of Mycobacterium species from apparently healthy freshwater aquarium fish using partial sequencing and PCR-RFLP analysis of heat shock protein (hsp65) gene. **Journal of Applied Ichthyology**, Uttar Pradesh, v. 30, p. 513-520, June 2014.

SHRESTHA, A.; KISHEN, A. Polycationic chitosan-conjugated photosensitizer for antibacterial photodynamic therapy. **Photochemistry and Photobiology**, Toronto, v.88, p. 577-583, Oct. 2012.

SIBRIAN-VAZQUEZ, M.; JENSEN, T. J.; FRONCZEK, F. R.; HAMMER, R. P.; VICENTE, M. G. H. Synthesis and characterization of positively charged porphyrin-peptide conjugates. **Bioconjugate Chemistry**, Baton Rouge, v. 16, p. 852-863, May 2005.

SIBRIAN-VAZQUEZ, M.; HU, X.; JENSEN, T. J.; VICENTE, M. G. H. Synthesis and cellular studies of PPIX-homing peptide conjugates. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, Baton Rouge, v. 16, p. 603-615, May 2012.

SIMONNEAUX, G.; MAUX, P. L.; FERRAND, Y.; RAULT-BERTHELOT, J. Asymmetric heterogeneous catalysis by metalloporphyrins. **Coordination Chemistry Reviews**, Rennes Cedex, v. 250, p. 2212- 2221, Sep. 2006.

SLOMP, A. M.; BARREIRA, S. M. W.; CARRENHO, L. Z. B.; VANDRESEN, C. C.; ZATONNI, I. F.; LÓ, S. M. S.; DALLAGNOL, J. C. C.; DUCATTI, D. R. B.; ORSATO, A.; DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D.; OTUKI, M. F.; GONÇALVES, A. G. Photodynamic effect of meso-(aryl)porphyrins and meso-(1-methyl-4-

pyridinium)porphyrins on HaCaT keratinocytes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Curitiba, v. 27, p. 156-161, 2017.

SOARES, H. T.; CAMPOS, J. R. S.; GOMES-DA-SILVA, L. C.; SCHABERLE F. A.; DABROWSKI, J. M.; ARNAUT, L. G. Pro-oxidant and antioxidant effects in photodynamic therapy: cells recognise that not all exogenous ROS are alike. **ChemBioChem**, Coimbra, v. 17, p. 836-842, 2016.

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 Letters**, Strasbourg, v. 41, p. 6075-6078, 2000.

SONGCA, S. P.; MBATHA, B. Synthesis of solubilized *meso*-tetrahydroxyphenylporphyrin photosensitizers by substitution with 2,3-dihydroxy-1-propyloxy groups. **South African Journal of Chemistry**, Umtata, v. 53, n. 2, p. 113-118, Mar. 2000.

SPIKES, J. D. New trends in photobiology (Invited Review) chlorins as photosensitizers in biology and medicine. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, Salt Lake City, v. 6, p. 259-274, 1990.

STALLIVIERI, A.; GUERN, F. L.; VANDERESSE, R.; MELEDJE, E.; JORI, G.; FROCHOT, C.; ACHERAR, S. Synthesis and photophysical properties of the photoactivatable cationic porphyrin 5-(4-Ndodecylpyridyl)-10,15,20-tri(4-N-methylpyridyl)-21H,23H-porphyrin tetraiodide for anti-malaria PDT. **Photochemical & Photobiological Sciences**, Nancy Cedex, v. 14, p. 1290-1295, May 2015.

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

STORTZ, C. A.; CEREZO, A. S. The ^{13}C NMR spectroscopy of carrageenans: calculation of chemical shifts and computer-aided structural determination. **Carbohydrate Polymers**, Buenos Aires, v. 18, p. 237-242, 1992.

STORTZ, C. A.; CEREZO, A. S. Novel findings in carrageenans, agaroids and "hybrid" redseaweed galactans. **Current Topics in Phytochemistry**, v. 4, p. 121-134, 2000.

SUN, L.; CHEN, H.; ZHANG, Z.; YANG, Q.; TONG, H.; XU, A.; WANG, C. Synthesis and cancer cell cytotoxicity of water-soluble gold(III) substituted tetraarylporphyrin. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Yangzhou, v. 108, p. 47-52, Dec. 2012.

SUTTON, J. M.; CLARKE, O. J.; FERNANDEZ, N.; BOYLE, R. W. Porphyrin, chlorin, and bacteriochlorin isothiocyanates: useful reagents for the synthesis of photoactive bioconjugates. **Bioconjugate Chemistry**, Colchester, v. 13, p. 249-263, Jan. 2002.

SYNYTSYA, A.; GRAFOVA, M.; SLEPICKA, P.; GEDEON, O.; SYNYTSYA, A. Modification of chitosan-methylcellulose composite films with *meso*-tetrakis(4-

sulfonatophenyl)porphyrin. **Biomacromolecules**, Prague, v. 13, p. 489-498, Jan. 2012.

TEITEN, M. H.; BEZDETNAYA, L.; MERLIN, J. L.; BOUR-DILL, C.; PAULY, M. E.; DICATO, M.; GUILLEMIN, F. Effect of meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin (*m*THPC)-mediated photodynamic therapy on sensitive and multidrug-resistant human breast cancer cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Brabois, v. 62, p. 146-152, 2001.

THET, N. T.; ALVES, D. R.; BEAN, J. E.; BOOTH, S.; NZAKIZWANAYO, J.; YOUNG A. E. R.; JONES, B. V.; JENKINS A. T. A. Prototype development of the intelligent hydrogel wound dressing and its efficacy in the detection of model pathogenic wound biofilms. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Bath, v. 8, p. 14909-14919, Oct. 2016.

TOMASIC, T.; HAJSEK, D.; SVAJGER, U.; LUZAR, J.; OBERMAJER, N.; PETIT-HAERTLEIN, I.; FIESCHI, F.; ANDERLUH, M. Monovalent mannose-based DC-SIGN antagonists: Targeting the hydrophobic groove of the receptor. **ACS European Journal of Medicinal Chemistry**, Ljubljana, v. 75, p. 308-326, Jan. 2014.

TOMÉ, J. P. C. **Síntese e avaliação biológica de porfirinas anfifílicas**. 204 f. Dissertação (Doutorado em Química) – Universidade de Aveiro, Aveiro, 2001.

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. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Aveiro, v. 13, p. 3878-3888, Jun. 2005.

TRIPATHI, A.; KUMAR, A. Multi-featured macroporous agarose–alginate cryogel: synthesis and characterization for bioengineering applications. **Macromolecular Bioscience**, Kanpur, v. 11, p. 22-35, Nov. 2011.

TSUJIGAMI, T.; SUGAI, T.; OHTA, H. Microbial asymmetric reduction of α -hydroxyketones in the anti-Prelog selectivity. **Tetrahedron: Asymmetry**, Kohoku-ku, v. 12, p. 2543-2549, Oct. 2001.

UMEZAWA, N.; MATSUMOTO, N.; IWAMA, S.; KATO, N.; HIGUCHI, T. Facile synthesis of peptide–porphyrin conjugates: towards artificial catalase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Nagoya, v. 18, p. 6340-6350, July 2010.

VANDRESEN, C. C. **Avaliação da atividade fotoinativadora de meso-tetra-arilporfirinas catiônicas em conídios do fungo *Colletotrichum graminicola***. 125 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

VANDRESEN, C. C., GONÇALVES, A. G., DUCATTI, D. R. B., MURAKAMI, F. S., NOSEDA, M. D., DUARTE, M. E. R., BARREIRA, S. M. W. *In vitro* photodynamic inactivation of conidia of the phytopathogenic fungus *Colletotrichum graminicola* with

cationic porphyrins. **Photochemical and Photobiological Sciences**, Curitiba, v. 15, p. 673-681, Apr. 2016.

VIANA, A. G. **Estudo dos carboidratos da alga vermelha *Porphyra spiralis* var *amplifolia* Oliveira Filho e Coll.: (BANGIALES, RHODOPHYTA)**. 55 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

VICENTE, M. G. H. Porphyrins and the photodynamic therapy of cancer. **Revista Portuguesa de Química**, Aveiro, v. 3, p. 47-57, 1996.

VILLANUEVA, A.; JORI, G. Pharmacokinetic and tumour-photosensitizing properties of the cationic porphyrin meso-tetra(4*N*-methylpyridyl)porphine. **Cancer Letters**, Madrid, v. 73, p. 59-64, June 1993.

VROUENRAETS, M. B.; VISSER, G. W. M.; LOUP, C.; MEUNIER, B.; STIGTER, M.; OPPELAAR, H.; STEWART, F. A.; SNOW, G. B.; DONGEN, G. A. M. S. Targeting of a hydrophilic photosensitizer by use of internalizing monoclonal antibodies: a new possibility for use in photodynamic therapy. **International Journal of Cancer**, Amsterdã, v. 88, p. 108-114, Apr. 2000.

WALTER, R. I.; OJADI, E. C. A.; LINSCHITZLL, H. A proton NMR study of the reactions with acid of meso-tetraphenylporphyrins with various numbers of 4-dimethylamino groups. **Journal of Physical Chemistry A**, Dartmouth, v. 97, p. 13308-13312, Dec. 1993.

YAMAMOTO, H.; OKUNAKA, T.; FURUKAWA, K.; HIYOSHI, T.; KONAKA, C.; KATO, H. Photodynamic therapy for cancers. **Current Science**, Tokyo, v. 77, p. 894- 906, Oct. 1999.

YOGO, T.; URANO, Y.; ISHITSUKA, Y.; MANIWA, F.; NAGANO, T. Highly efficient and photostable photosensitizer based on BODIPY chromophore. **Journal of the American Chemical Society**. Bunkyo-ku, v. 127. p. 12162-12163, Aug. 2005.

YUAN, Y-J.; CHEN, D.; ZHONG, J.; YANG, L-X.; WANG, J-J.; YU, Z-T.; ZOU, Z-G. Construction of a noble-metal-free photocatalytic h₂ evolution system using mos₂/reduced graphene oxide catalyst and zinc porphyrin photosensitizer. **The Journal of Physical Chemistry C**, Hangzhou, v. 121, p. 24452-24462, Oct. 2017.

ZACHAROPOULOS, V. R.; PHILLIPS, D. M. Vaginal formulations of carrageenan protect mice from herpes simplex virus infection. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, New York, v. 4, n. 4, p. 465–468, 1997.

ZARRINTAJ, P.; MANOUCHEHRI, S.; AHMADI, Z.; SAEB, M. R.; URBANSKA, A. M.; KAPLAN, D. L.; MOZAFARI, M. Agarose-based biomaterials for tissue engineering. **Carbohydrate Polymers**, Tehran, v. 187, p. 66-84, Jan. 2018.

ZHAO, S. An atom-efficient and practical synthesis of new pyridinium ionic liquids and application in Morita–Baylis–Hillman reaction. **Ultrasonics Sonochemistry**, Dalian, v. 15, p. 955-959, May 2008.

ZHAO, J.; XU, K.; YANG, W.; WANG, Z.; ZHONG, F. The triplet excited state of Bodipy: formation, modulation and application. **Chemical Society Reviews**, China, v. 44, p. 8904-8939, 2015.

ZHANG, X-F. BODIPY photosensitizers based on PET and heavy atom effect: A comparative study on the efficient formation of excited triplet state and singlet oxygen in BODIPY dimers and monomers. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, Qinhuangdao, v. 355, p. 431-443, Jan. 2018.

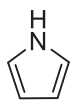
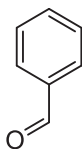
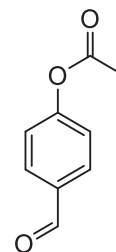
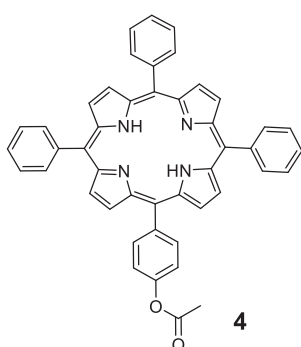
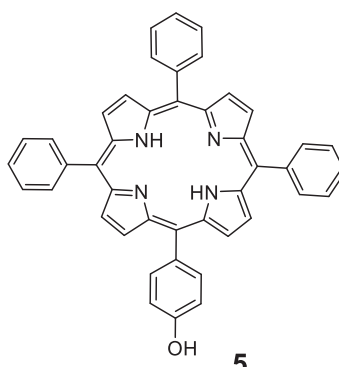
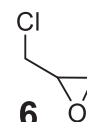
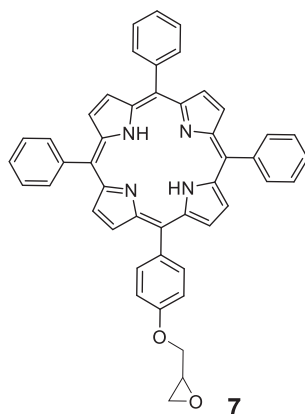
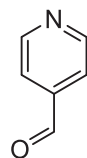
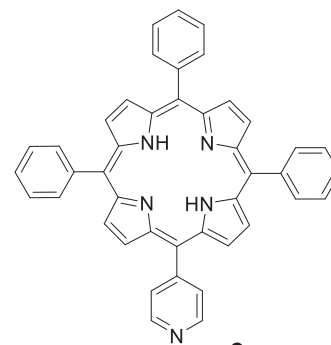
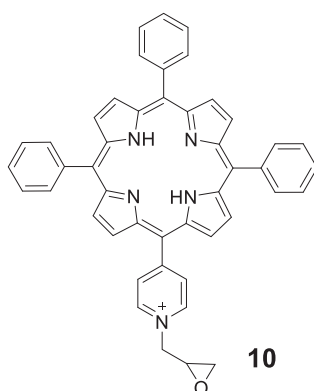
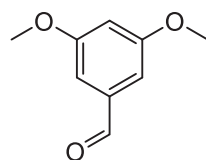
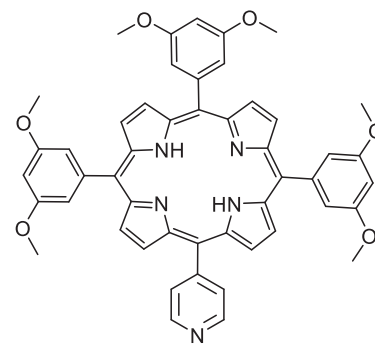
ZHENG, X.; PANDEY, R. K. Porphyrin-carbohydrate conjugates: impact of carbohydrate moieties in photodynamic therapy (PDT). **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, Buffalo, v. 08, p. 241-268, 2008.

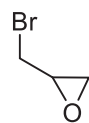
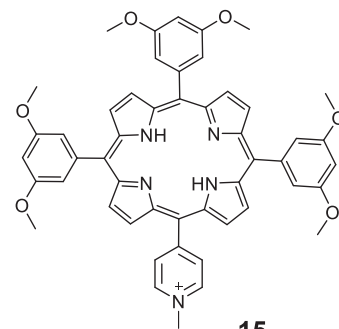
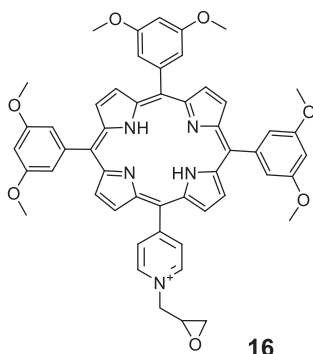
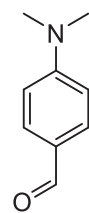
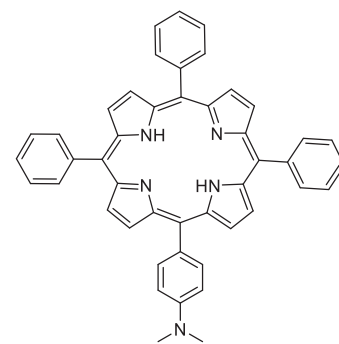
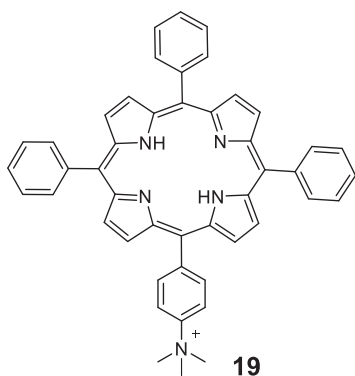
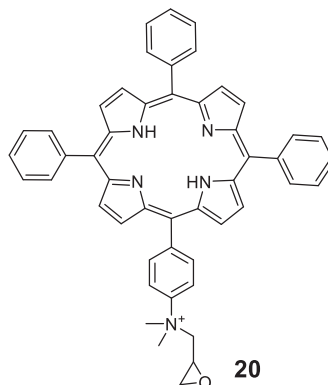
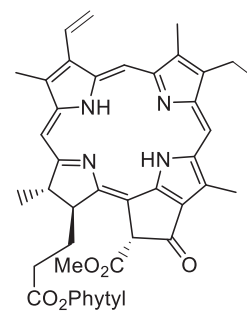
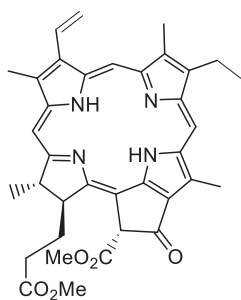
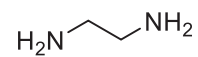
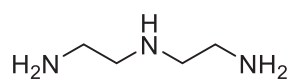
ZOU, J.; YIN, Z.; DING, K.; TANG, Q.; LI, J.; SI, W.; SHAO, J.; ZHANG, Q.; HUANG, W.; DONG, X. BODIPY derivatives for photodynamic therapy: influence of configuration versus heavy atom effect. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Nanjing, v. 9, p. 32475-32481, Sep. 2017.

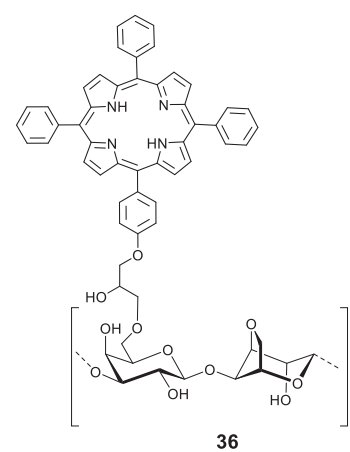
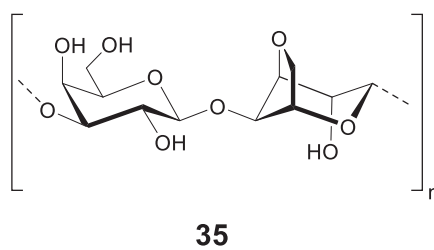
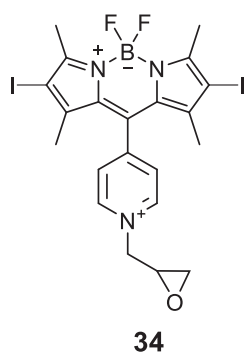
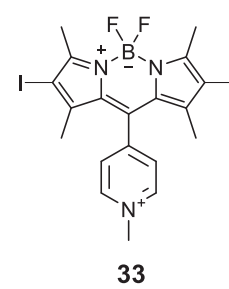
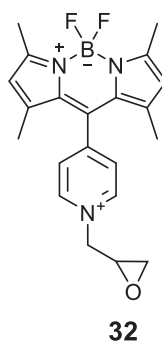
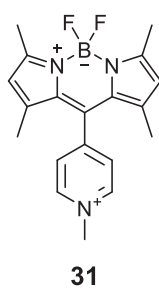
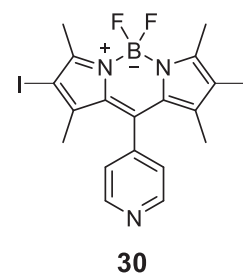
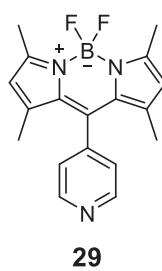
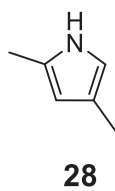
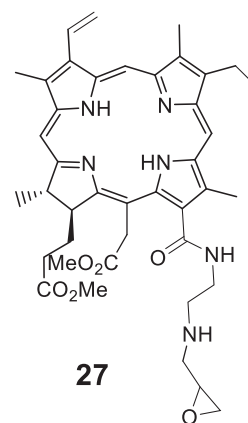
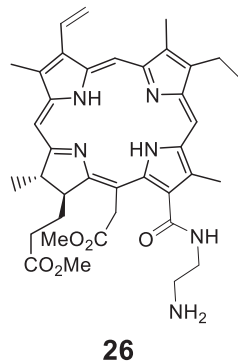
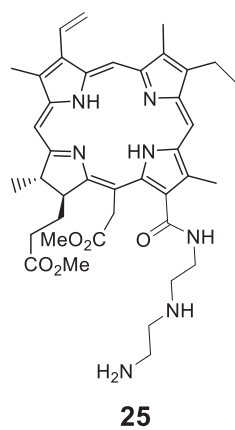
ZVAGULIS, A.; BONOLLO, S.; LANARI, D.; PIZZO, F.; VACCARO, L. 2-tert-butylimino-2-diethylamino-1,3-dimethylperhydro-1,3,2-diazaphosphorine supported on polystyrene (PS-BEMP) as an efficient recoverable and reusable catalyst for the phenolysis of epoxides under solvent-free conditions. **Advanced Synthesis & Catalysis**, Perugia, v. 352, p. 2489-2496, Sep. 2010.

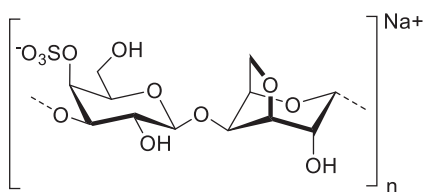
ANEXOS

ANEXO 1 - Lista de estruturas ao longo do documento

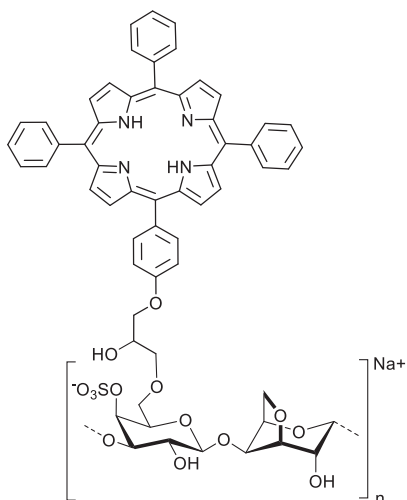
**1****2****3****4****5****6****7****8****9****10****11****12**

13**14****15****16****17****18****19****20****21****22****23****24**

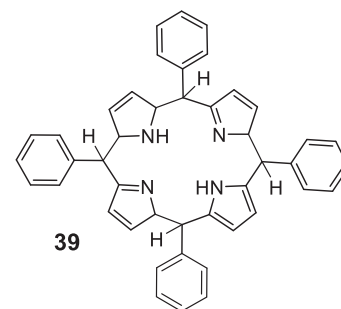




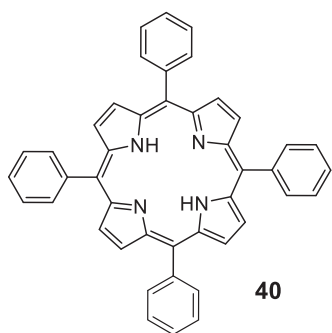
37



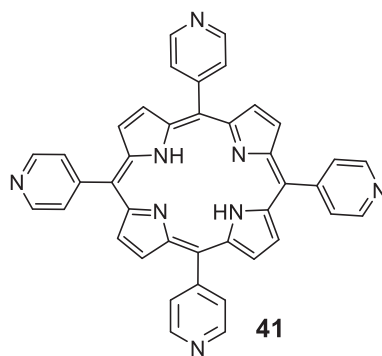
38



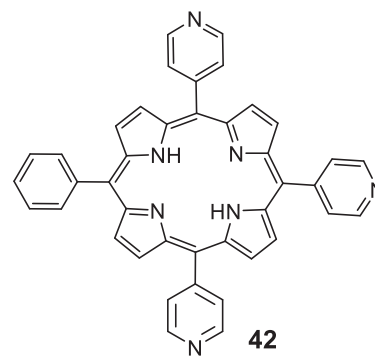
39



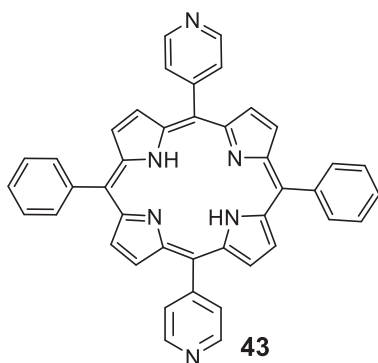
40



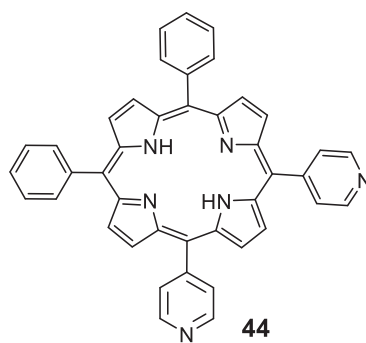
41



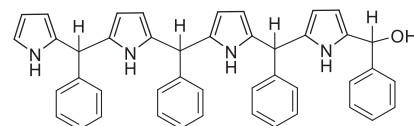
42



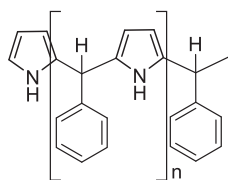
43



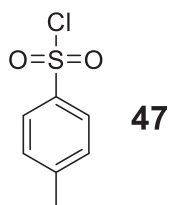
44



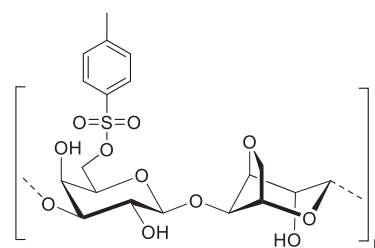
45



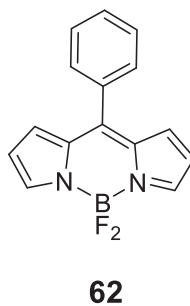
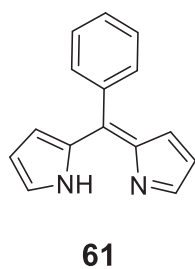
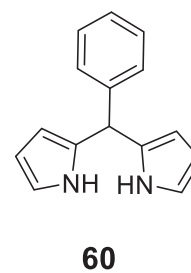
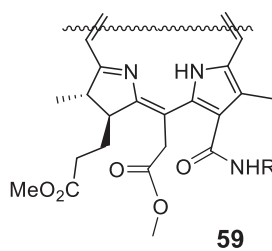
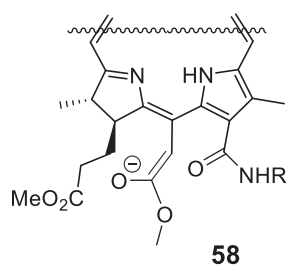
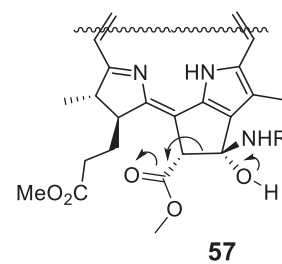
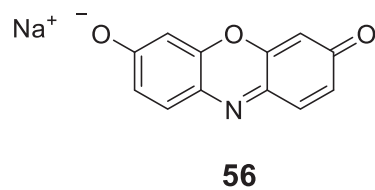
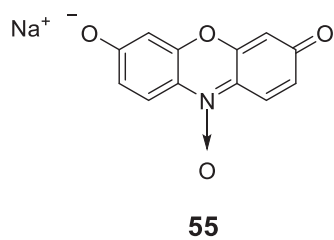
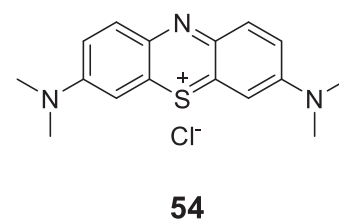
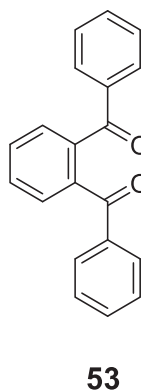
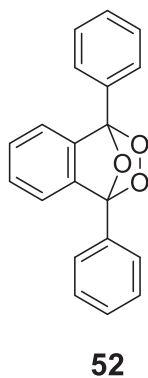
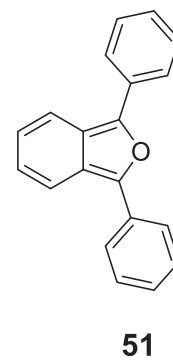
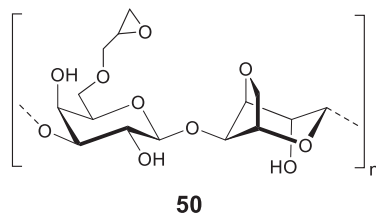
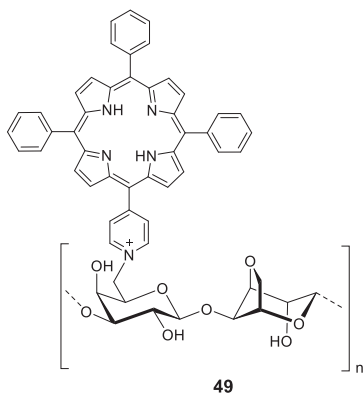
46



47



48



ANEXO 2 - Caracterização da 5-(4-acetoxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**4**)

Espectro na região do UV-Vis

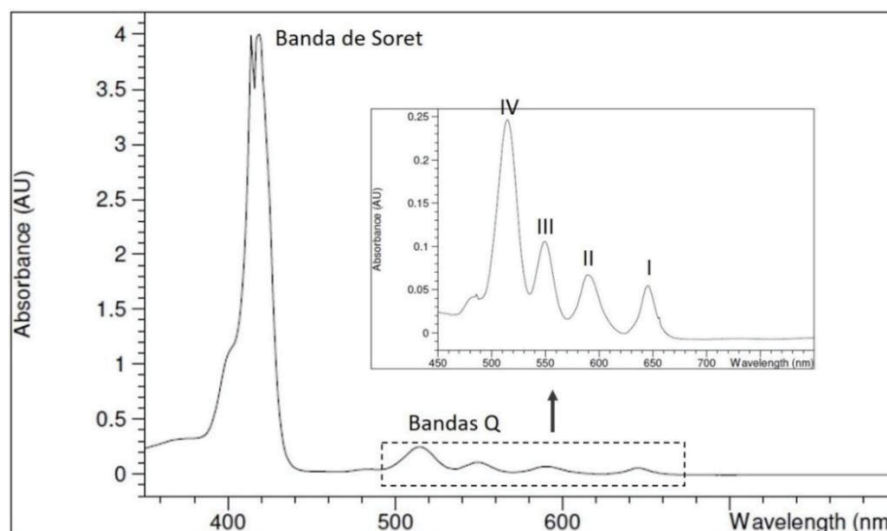


Figura 43 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **4** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Massas

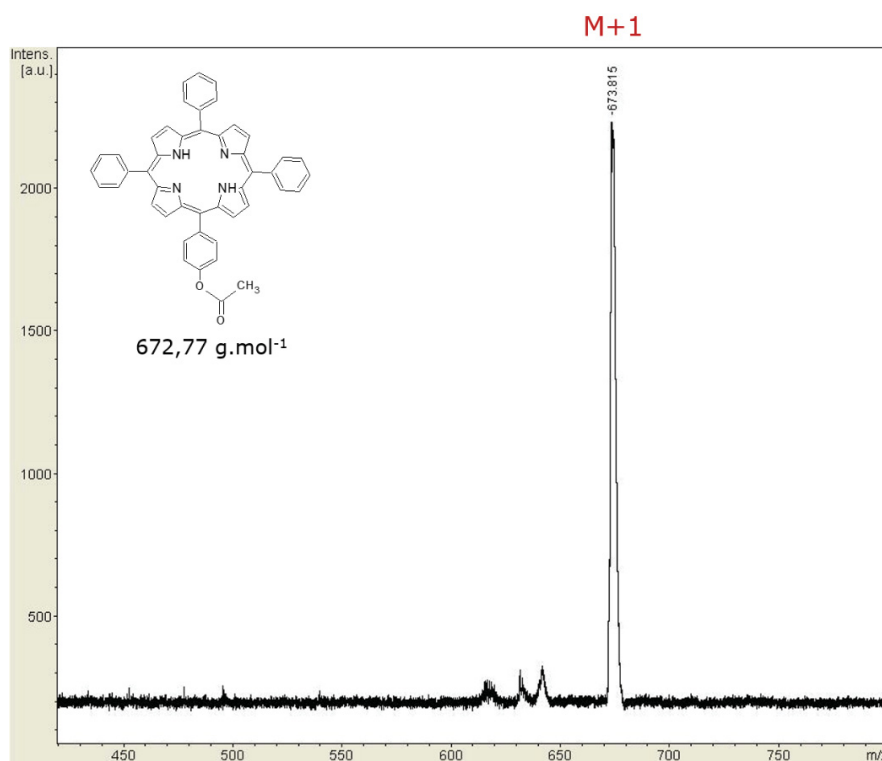


Figura 44 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **4**

RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,85 (*m*, 8H, β -pirrólico); 8,22 (*d*, 8H, *o*-fenil); 7,75 (*m*, 9H, *m* e *p*-fenil); 7,48 (*d*, 2H, *m*-acetoxifenil); 2,48 (*s*, 3H, CH_3); -2,79 (*s*, 2H, *N*-pirrólicos).

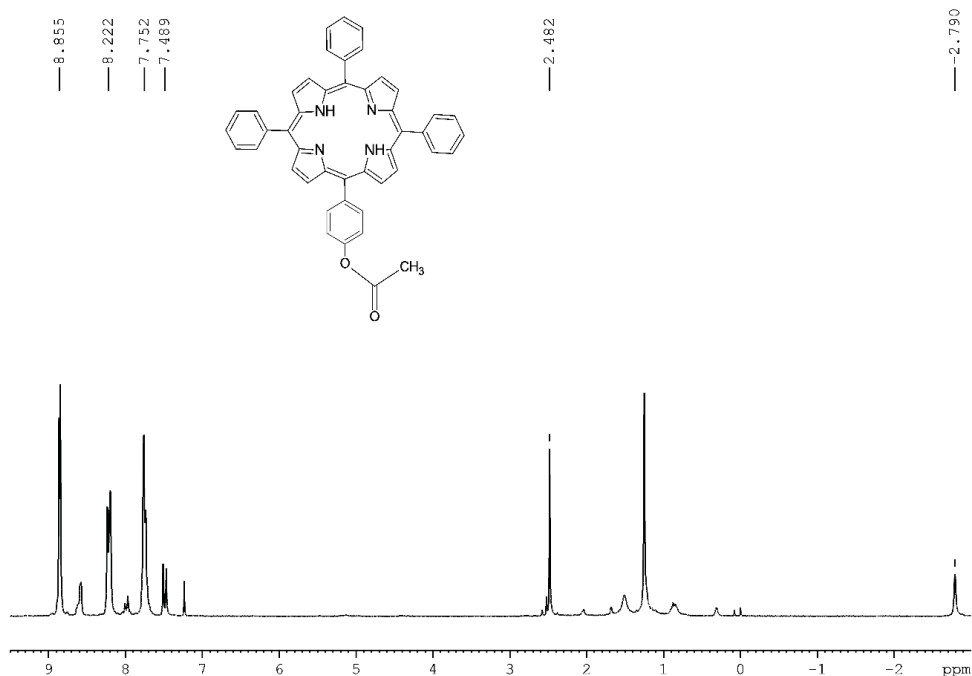


Figura 45 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina 4 em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)

Espectro na região do IV

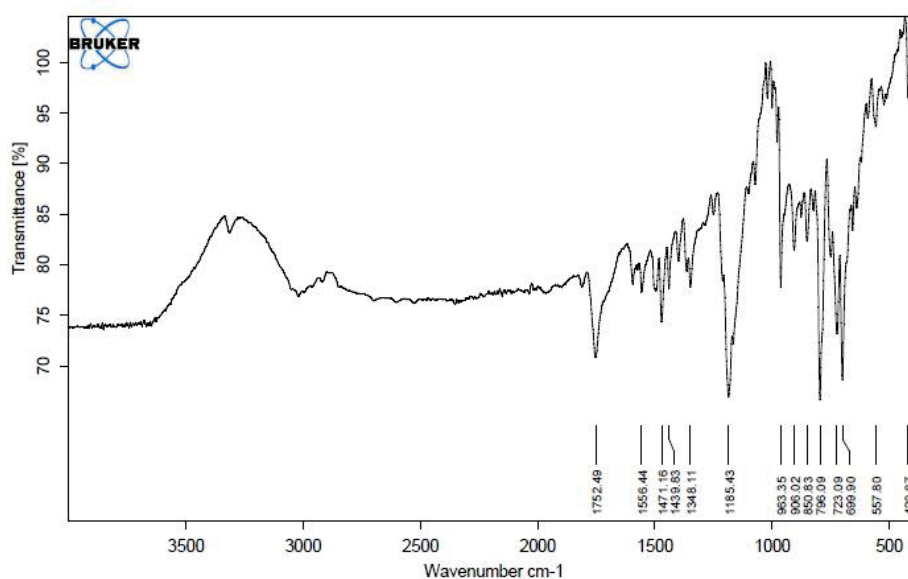


Figura 46 – Espectro na região do infravermelho adquirido para a porfirina 4 obtido por ATR

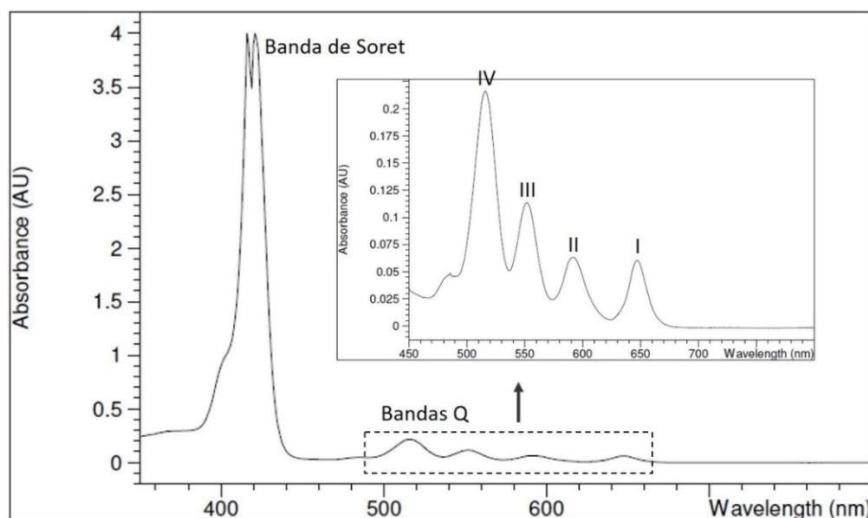
ANEXO 3 - Caracterização da 5-(4-hidroxifenil)-10,15,20-trifenilporfirina (5)**Espectro na região do UV-Vis**

Figura 47 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **5** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

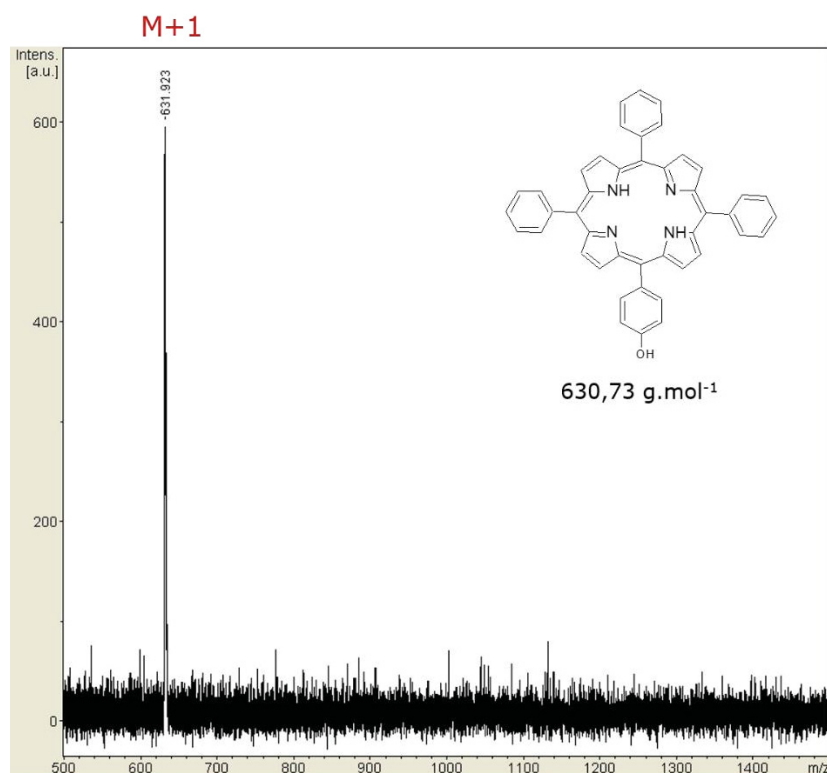
Espectro de Massas

Figura 48 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **5**

RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,87 (*d*, 2H, β -pirrólico); 8,84 (*m*, 6H, β -pirrólico); 8,24 (*dd*, 6H, *o*-fenil); 8,03 (*d*, 2H, *o*-hidroxifenil); 7,74 (*m*, 9H, *m* e *p*-fenil); 7,02 (*d*, 2H, *m*-hidroxifenil); -2,78 (*s*, 2H, *N*-pirrólicos).

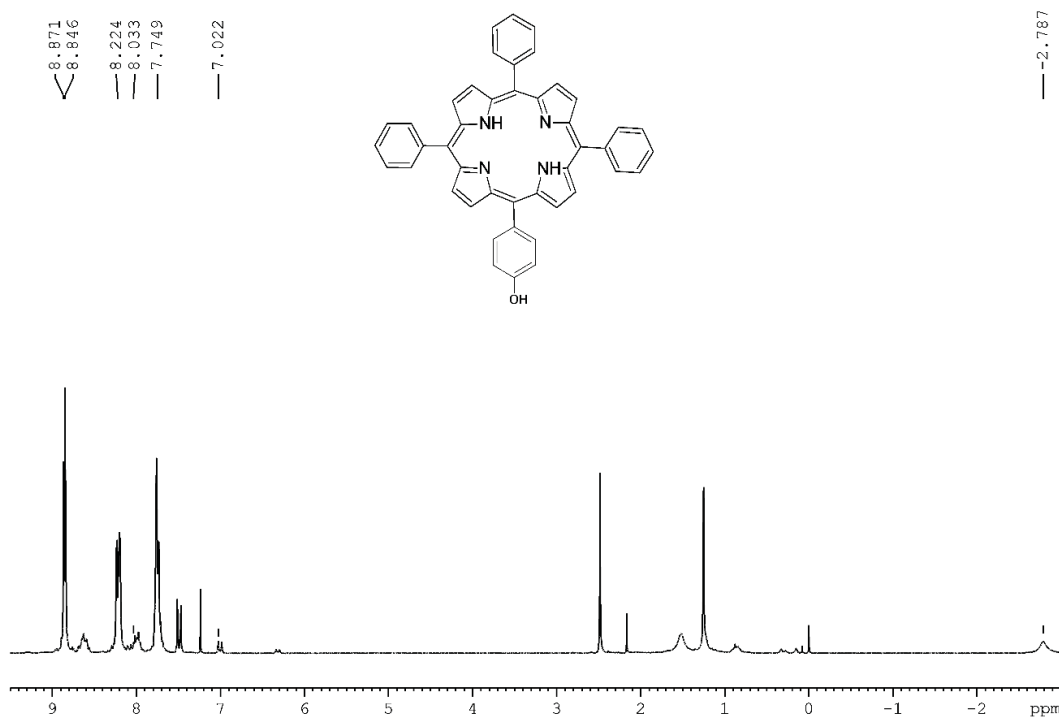


Figura 49 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina **5** em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)

Espectro na região do IV

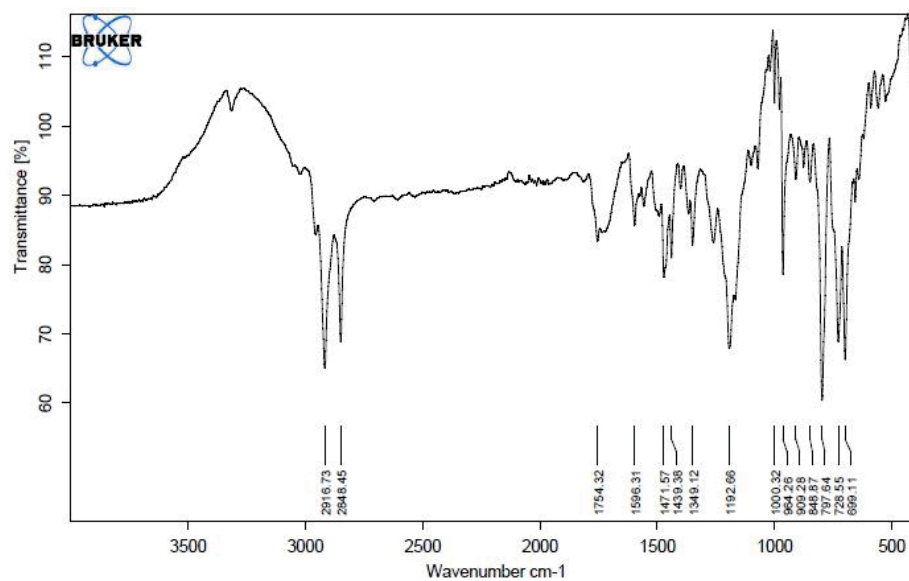


Figura 50 – Espectro na região do infravermelho adquirido para a porfirina **5** obtido por ATR

ANEXO 4 - Caracterização da 5,10,15-trifenil-20-(4-piridil) porfirina (9)

Espectro na região do UV-Vis

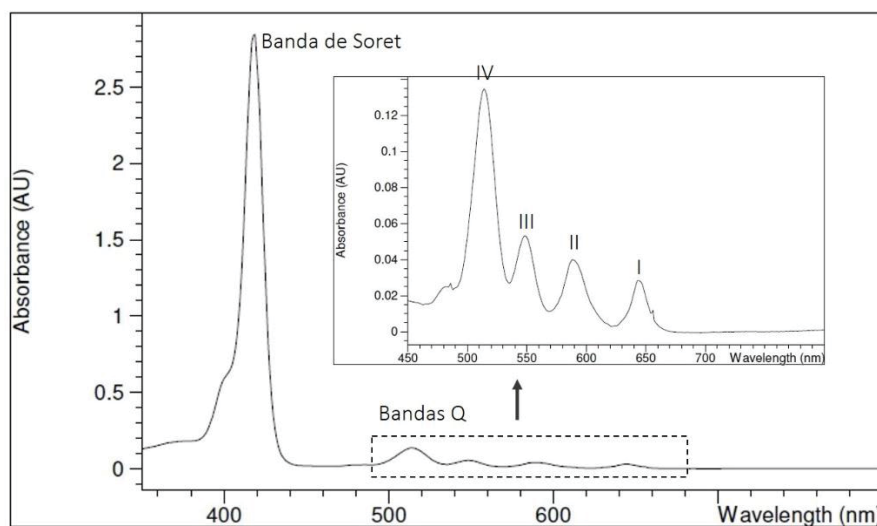


Figura 51 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **9** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Massas

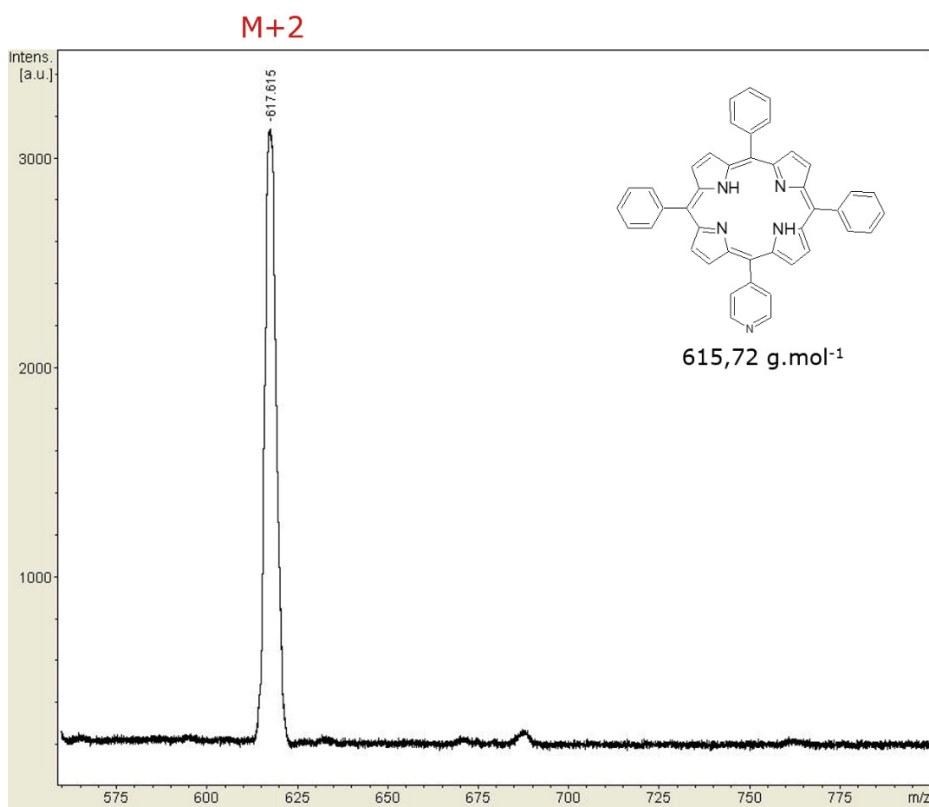


Figura 52 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **9**

RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,89 (*d*, pirrol); 8,85 (*s*, pirrol); 8,81 (*d*, pirrol); 7,78 (*d*, 3,4,5-fenil); 8,21 (*m*, 2,6-fenil); 9,02 (*d*, 3,5-piridil); 8,17 (*d*, 2,6-piridil); -2,80 (*s*, *N*-pirrólicos).

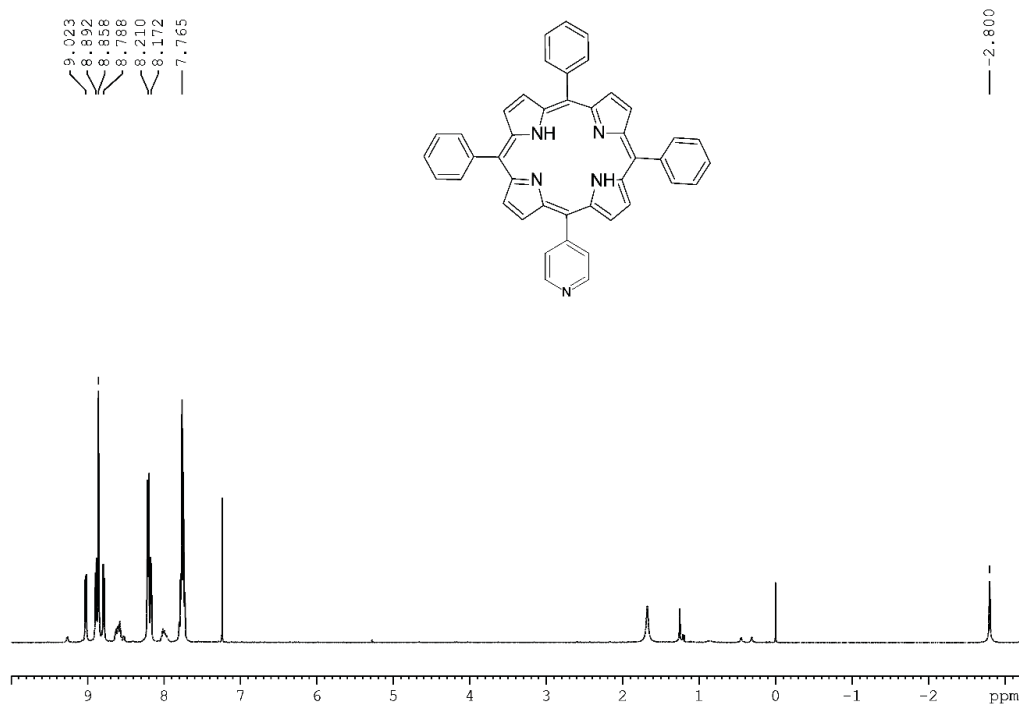


Figura 53 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina **9** em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)

Espectro na região do IV

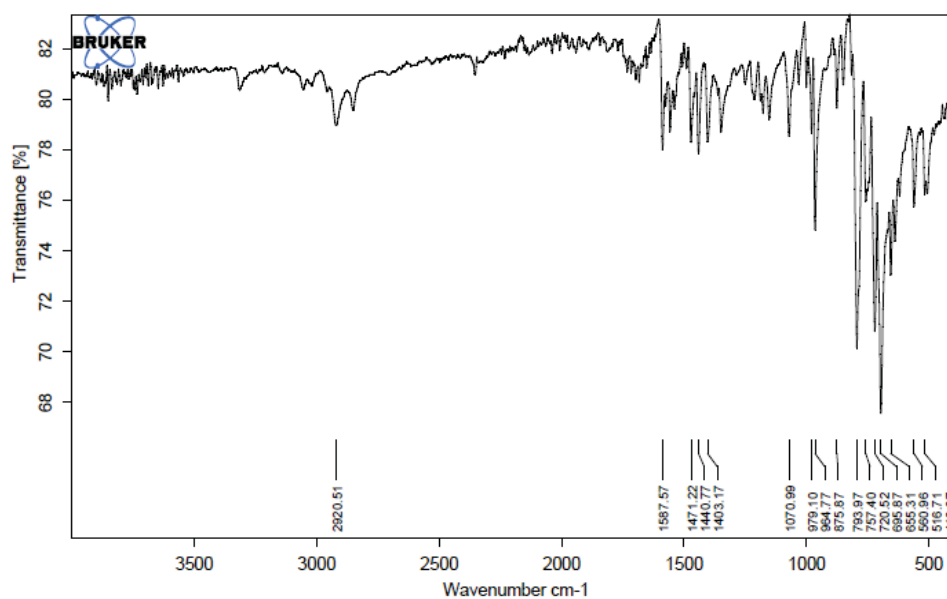


Figura 54 – Espectro na região do infravermelho adquirido para a porfirina **9** obtido por ATR

ANEXO 5 - Caracterização da 5-[4-(2,3-epoxi-1-propiloxi)fenil]-10,15,20-trifenilporfirina (7)

Espectro na região do UV-Vis

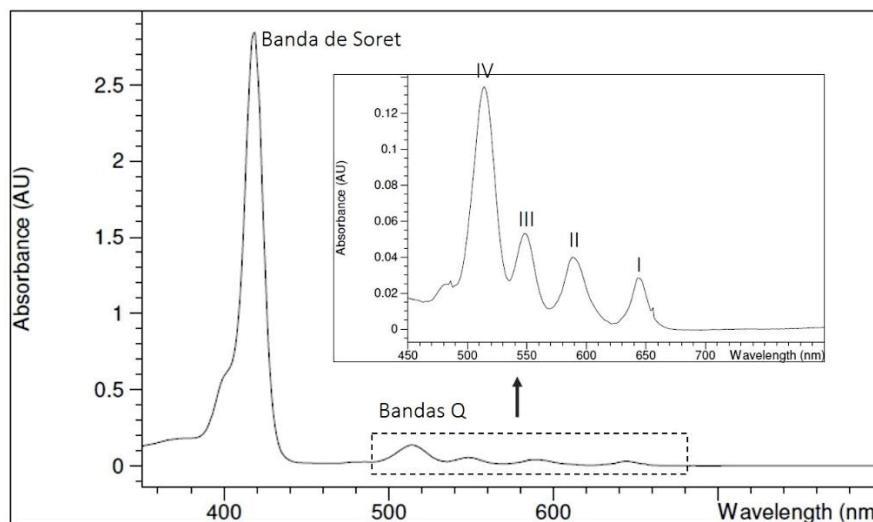


Figura 55 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **7** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Massas

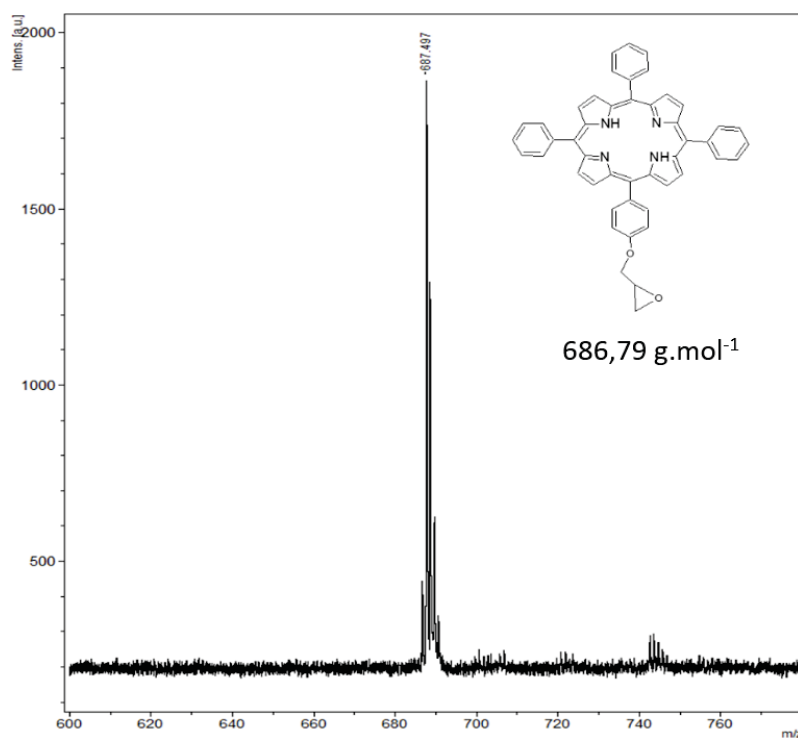


Figura 56 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **7**

RMN de ^1H (CDCl_3) δ (ppm) 8,84 (8H, d, J 2,41 Hz, β -pirrónico); 8,21 (6H, m, *o*-fenil); 8,12 (2H, dd, 2J 6,17 Hz, 3J 2,00 Hz, *m*-propiloxifenil); 7,75 (9H, dd, 2J 5,26 Hz, 3J 1,75 Hz, *m* e *p*-fenil); 7,30 (2H, dd, 2J 6,13 Hz, 3J 2,04 Hz, *o*-propiloxifenil); 4,53 (1H, dd, 2J 11,00 Hz, 3J 3,18 Hz, H1-propiloxifenil); 4,25 (1H, dd, 2J 11,31 Hz, 3J 5,63 Hz, H2-propiloxifenil); 3,56 (1H, m, H3-propiloxifenil); 3,05 (1H, dd, 2J 5,04 Hz, 3J 4,18 Hz, H4-propiloxifenil); 2,94 (1H, dd, 2J 4,90 Hz, 3J 2,66 Hz, H5-propiloxifenil); -2,77 (2H, s, NH).

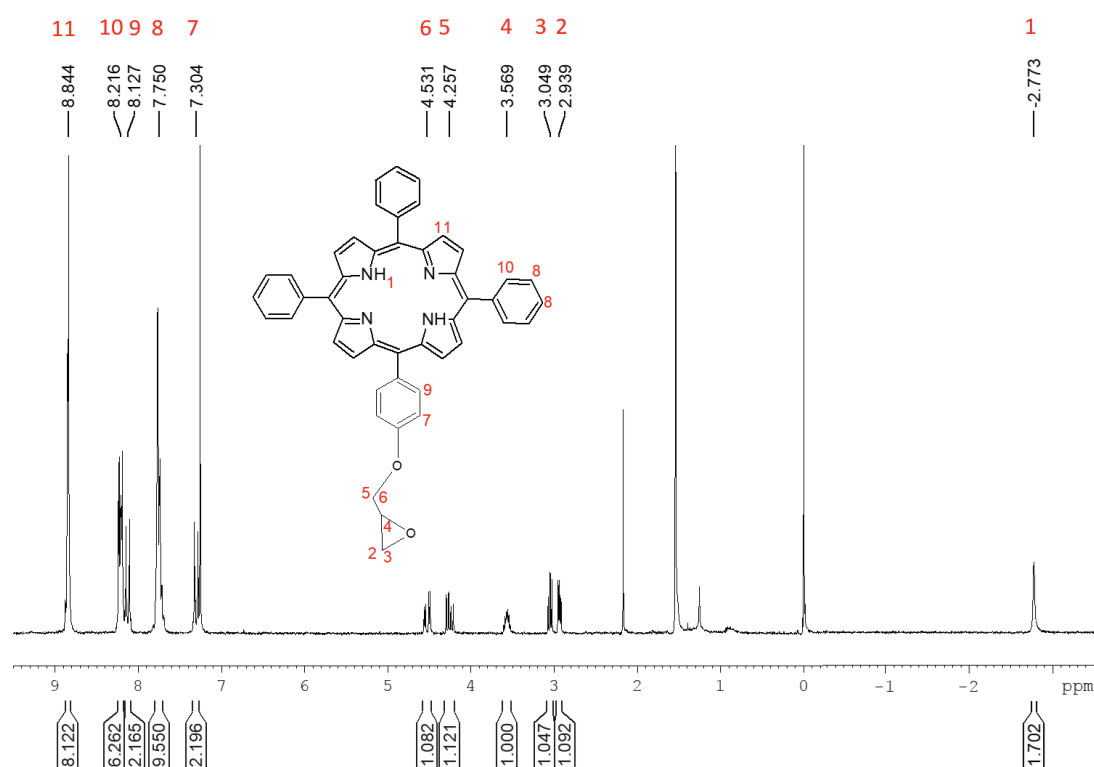


Figura 57 – Espectro de RMN de ^1H da porfirina **7** em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (200 MHz)

RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) 158,5; 142,4; 135,8; 135,3; 134,7; 131,2; 127,9; 126,8; 120,3; 120,0; 113,0; 69,3; 50,5; 45,0; 29,9.

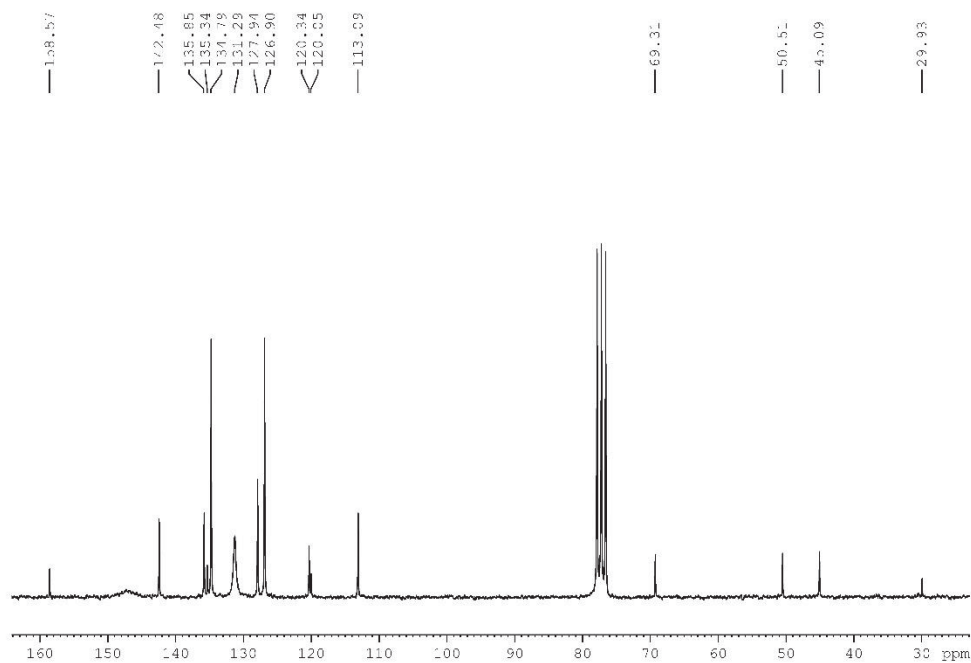


Figura 58 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina 7 em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 77,23 ppm pelo solvente (100 MHz)

ANEXO 6 - Caracterização da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-trifenil porfirina (10)

Espectro de Massas

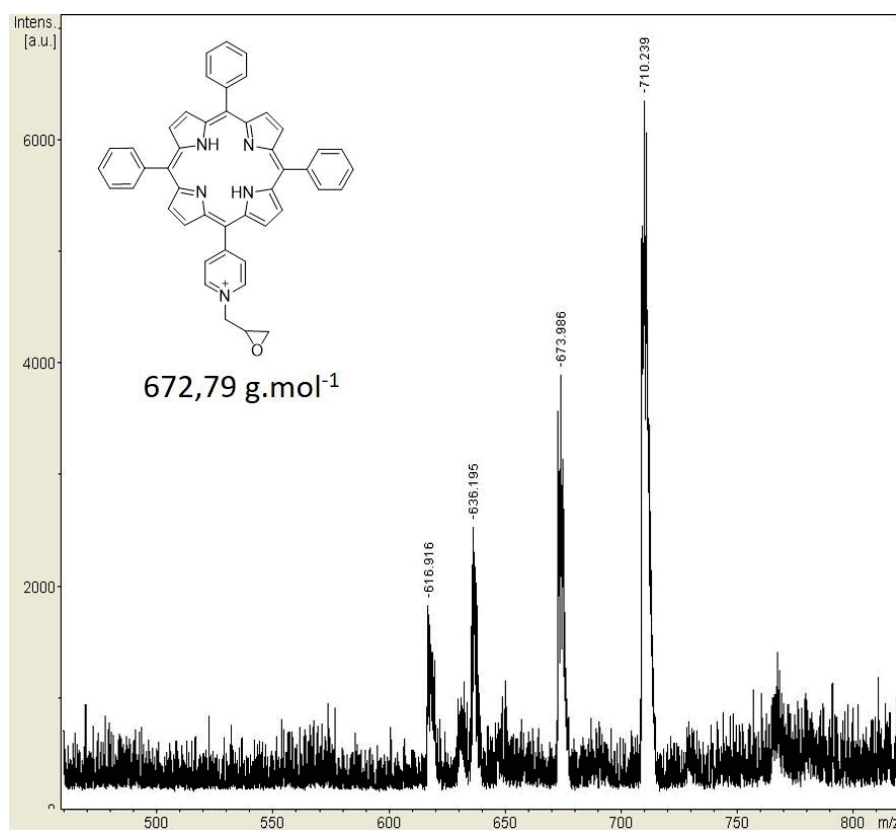


Figura 59 – Espectro de massas adquirido para a porfirina 10

ANEXO 7 - Caracterização da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil) porfirina (**12**)

Espectro de Massas

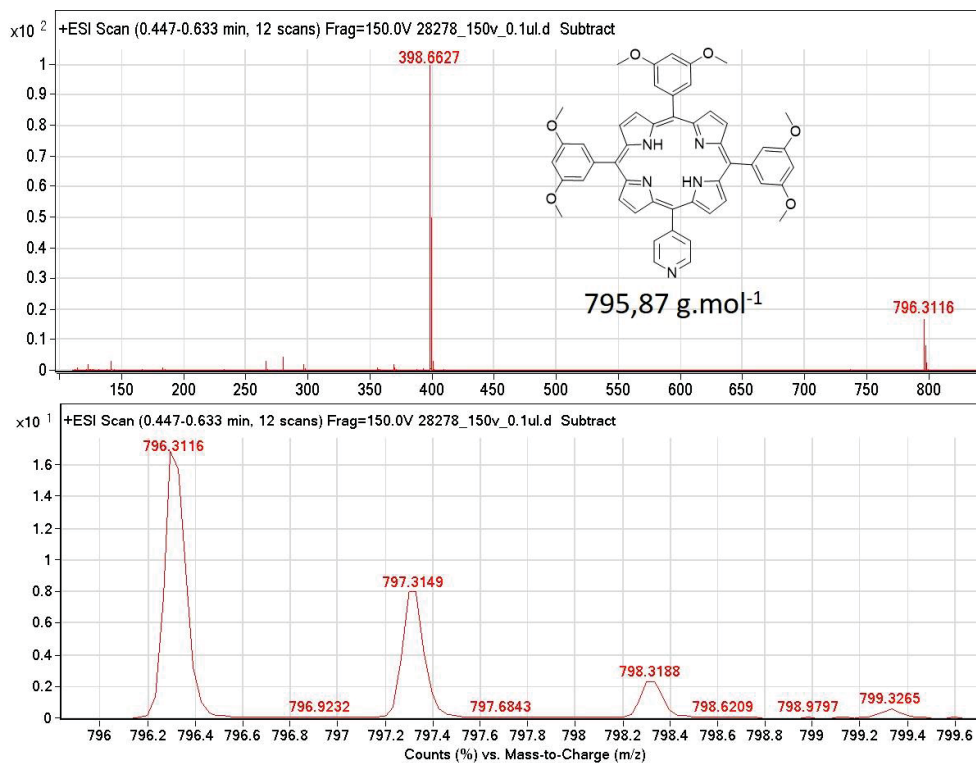


Figura 60 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **12**

Espectro na região do UV-Vis

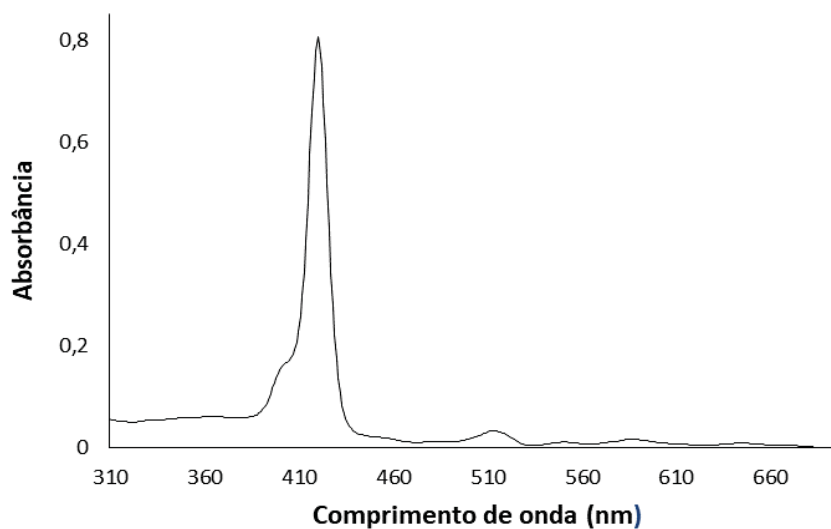


Figura 61 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **12** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

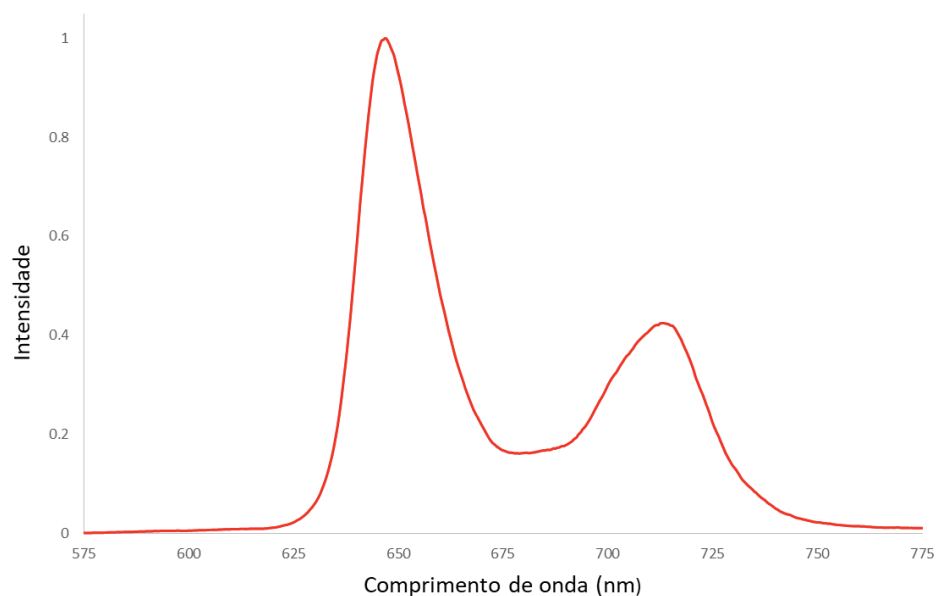


Figura 62 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina **12** na concentração 12×10^{-6} mol. L⁻¹ em DMSO

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,95 (d, *J* = 5,14 Hz, 2H); 8,91 (d, *J* = 4,65 Hz, 2H); 8,87 (s, 4H); 8,70 (d, *J* = 4,65 Hz, 2H); 8,08 (d, *J* = 5,31 Hz, 2H); 7,31 (d, *J* = 1,99 Hz, 6H); 6,82 (s, 3H); 3,88 (s, 18H); -2,92 (s, 2H).

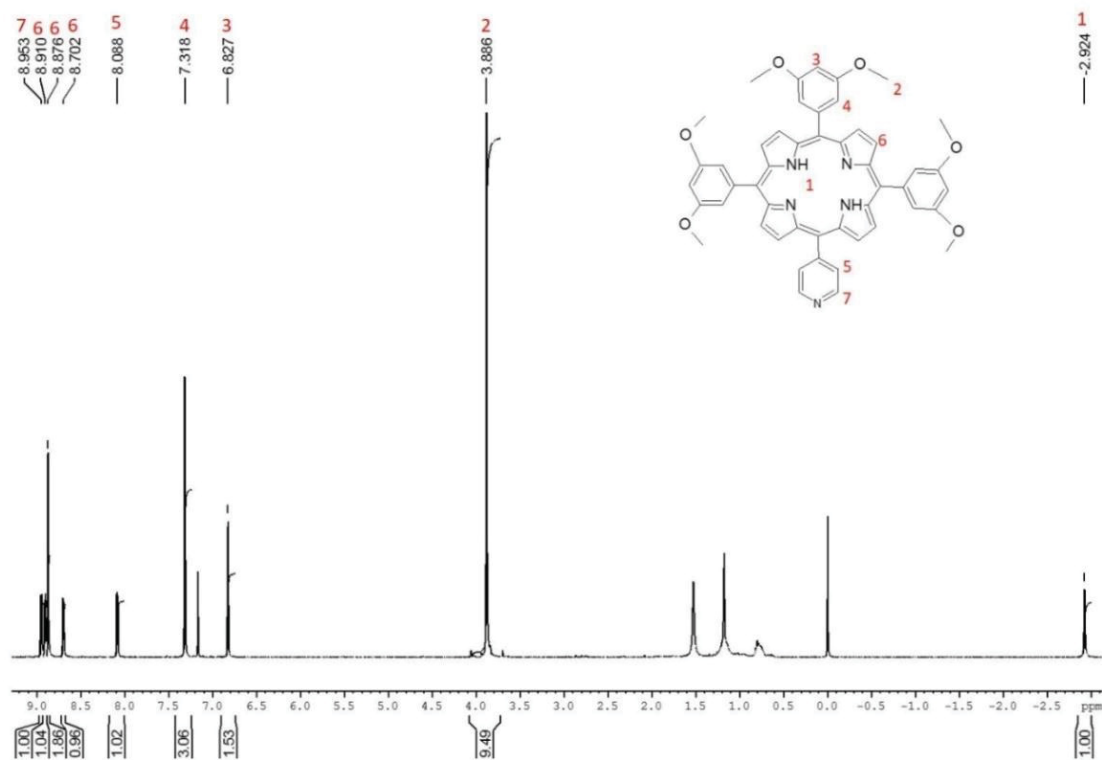


Figura 63 – Espectro de RMN de ¹H da porfirina **12** em CDCl₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)

^{13}C NMR (CDCl_3) δ 159,1; 150,6; 148,5; 144,0; 129,7; 120,7; 120,4; 116,5; 114,1; 100,3; 55,9; 31,3.

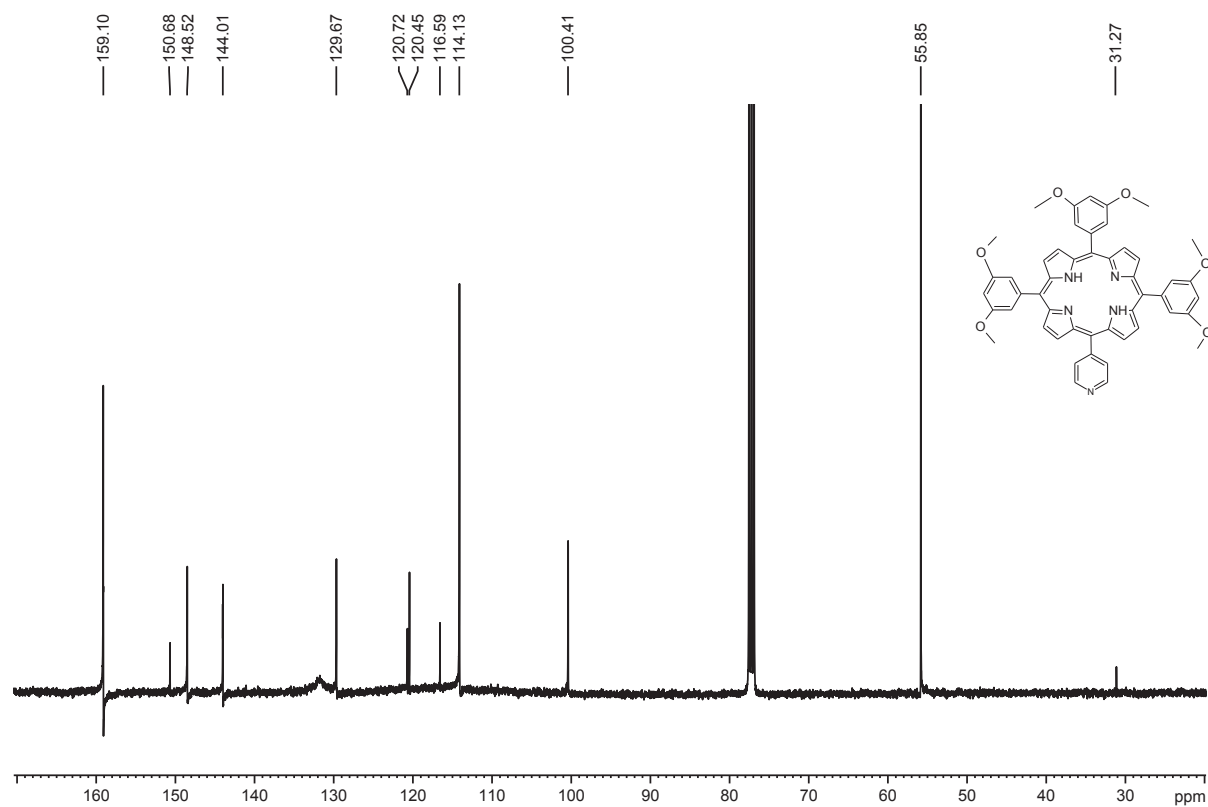


Figura 64 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **12** em CDCl_3 (100 MHz)

ANEXO 8 - Caracterização da 5-(4-dimetilaminofenil)-10,15,20-trifenil porfirina (**18**)

Espectro de Massas

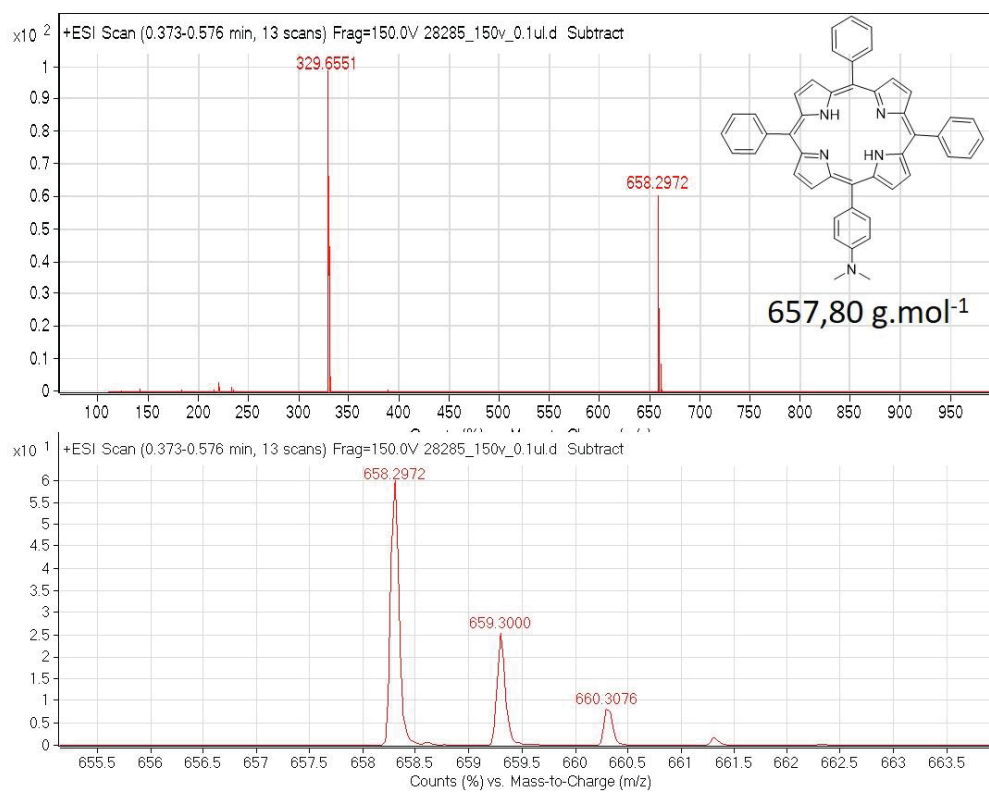


Figura 65 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **18**

Espectro na região do UV-Vis

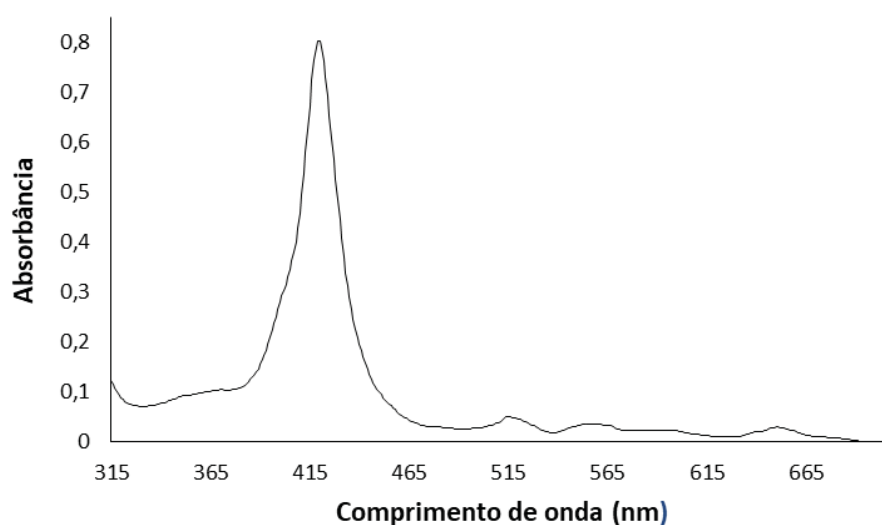


Figura 66 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **18** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

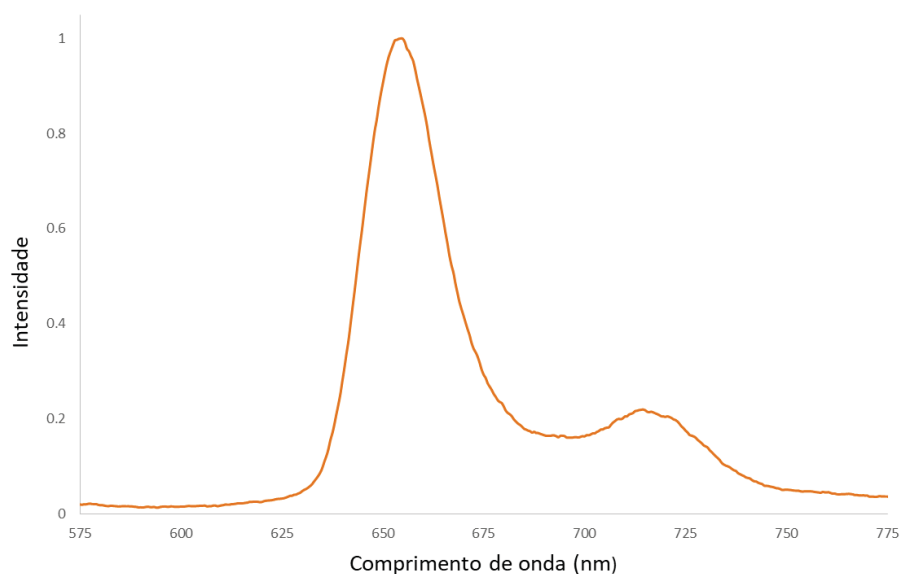


Figura 67 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina **18** na concentração 12×10^{-6} mol. L⁻¹ em DMSO

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,87 (d, *J* = 4,50 Hz, 2H, β-pirrólicos); 8,74 (m, 6H, β-pirrólicos); 8,14 (m, 5H, *m*-fenil); 8,00 (m, 2H, *m*-dimetilaminofenil); 7,67 (m, 10H, *o*- e *p*-fenil); 7,02 (m, 2H, *o*-dimetilaminofenil); 3,14 (s, 6H, CH₃); -2,77 (s, 2H, NH).

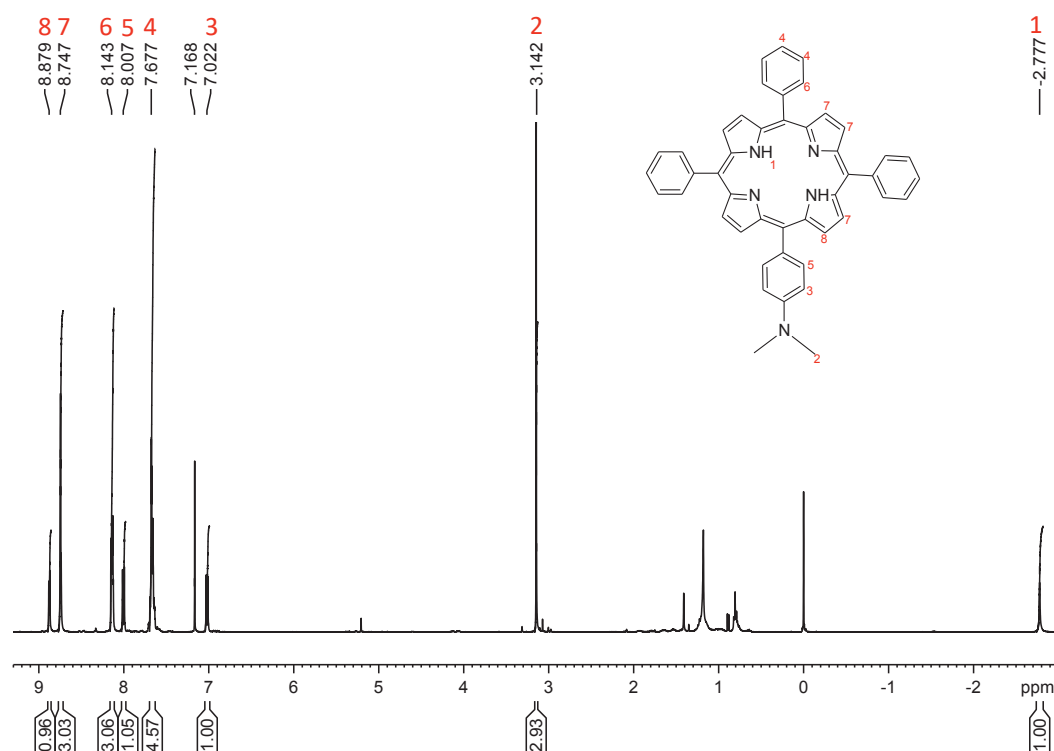


Figura 68 – Espectro de RMN de ¹H da porfirina **18** em CDCl₃ a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)

RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) 150,26; 142,63; 136,01; 134,84; 130,42; 127,89; 126,92; 121,66; 120,20; 119,81; 110,96; 41,05.

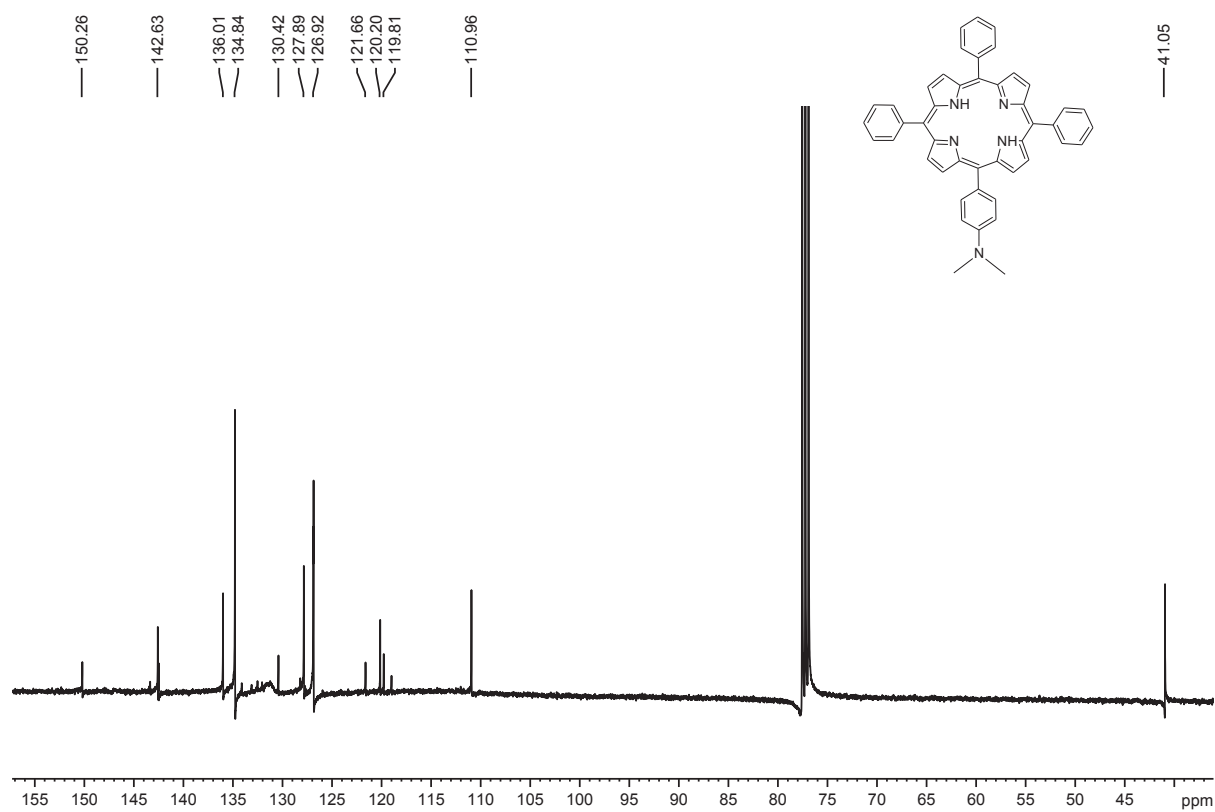


Figura 69 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **18** em CDCl_3 (100 MHz)

ANEXO 9 - Caracterização da 5-(1-metilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**15**)

Espectro de Massas

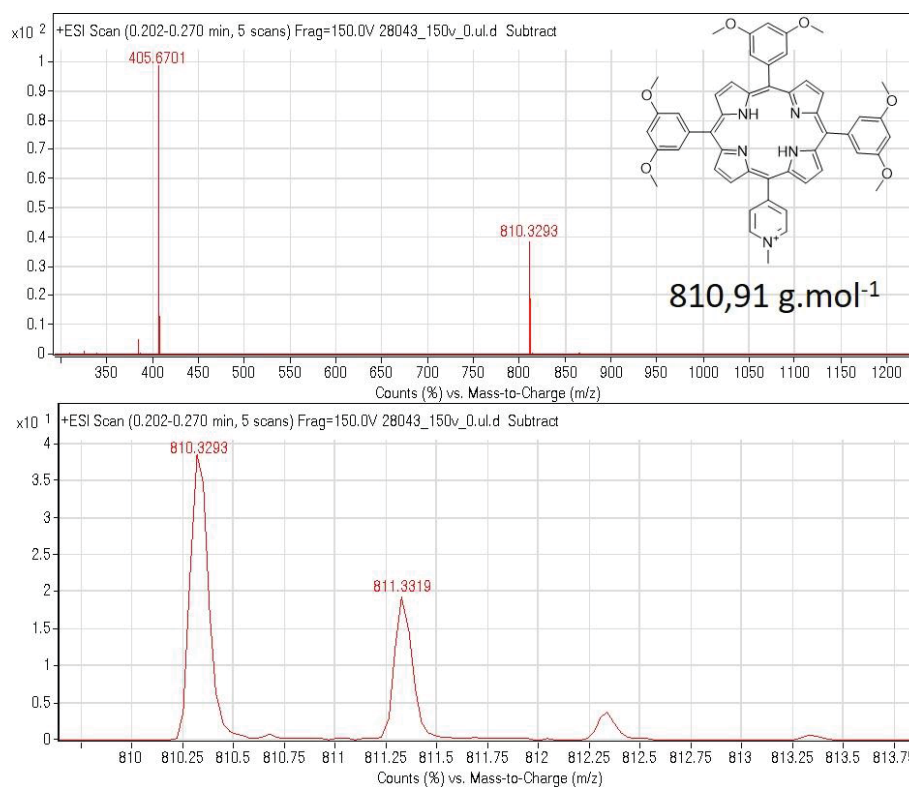


Figura 70 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **15**

Espectro na região do UV-Vis

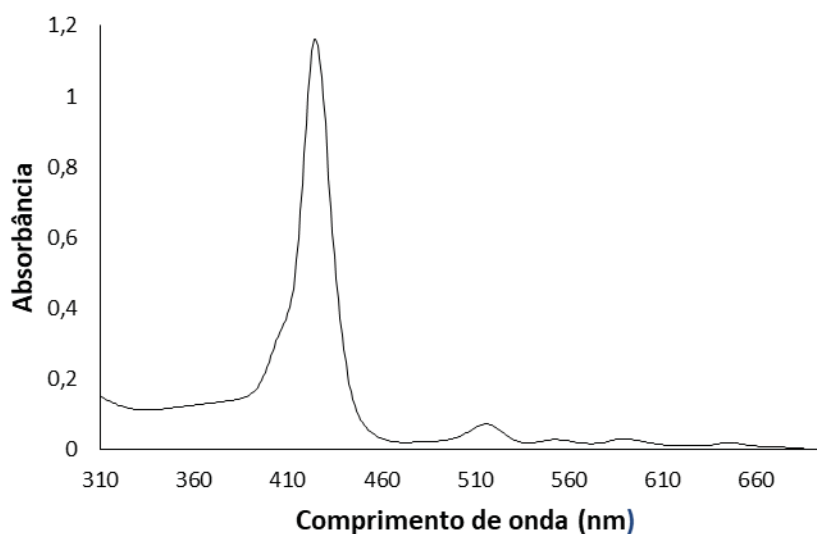


Figura 71 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **15** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Fluorescência

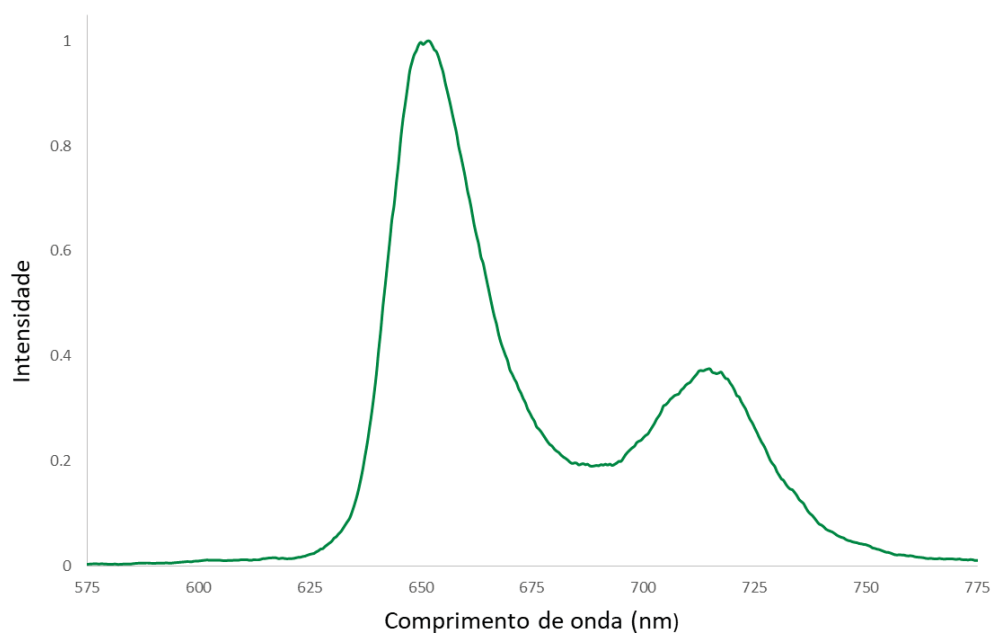


Figura 72 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina **15** na concentração 12×10^{-6} mol. L⁻¹ em DMSO

RMN de ¹H (DMSO_{d6}) δ 9,44 (d, *J* = 6,68 Hz, 2H); 9,05 (d, *J* = 4,60 Hz, 2H); 8,98 (m, 8H); 7,38 (d, *J* = 2,21 Hz, 6H); 7,02 (dd, *J* = 2,20 Hz, *J*₁ = 4,62 Hz, 3H); 4,70 (2, 3H); 3,94 (s, 18H); -2,96 (s, 2H)

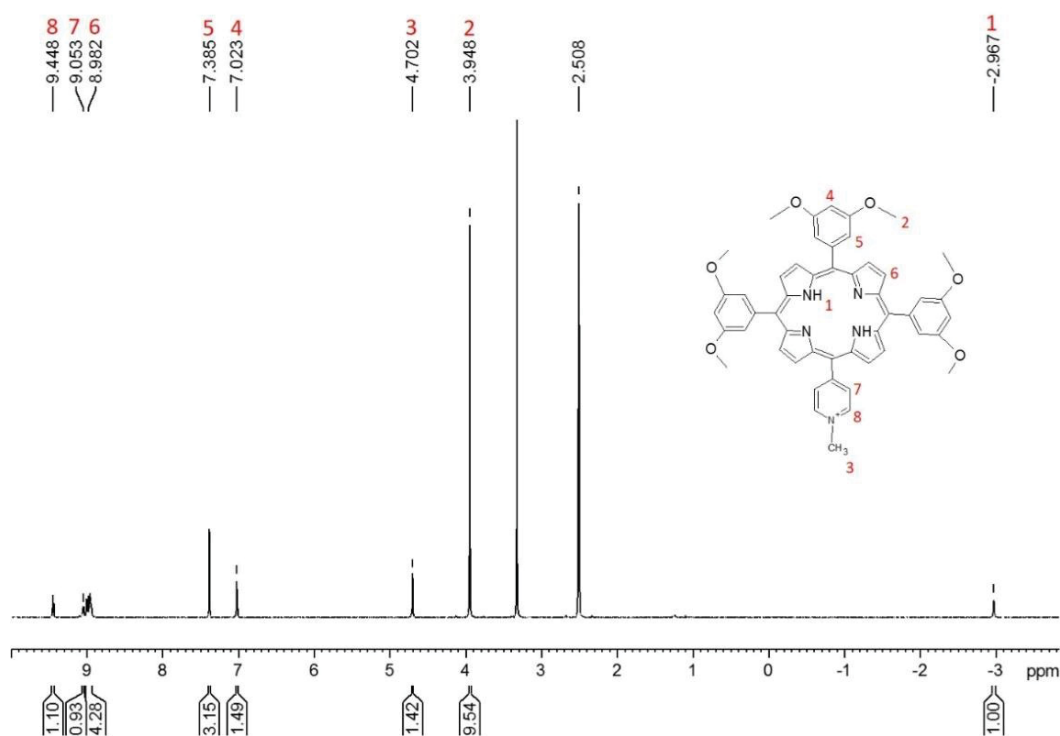


Figura 73 – Espectro de RMN de ¹H da porfirina **15** em DMSO_{d6} a 30°C, calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}) δ 158,7; 157,5; 143,9; 142,7; 132,2; 121,1; 120,45; 113,6; 113,0; 100,0; 55,5; 47,7; 30,6; 29,7

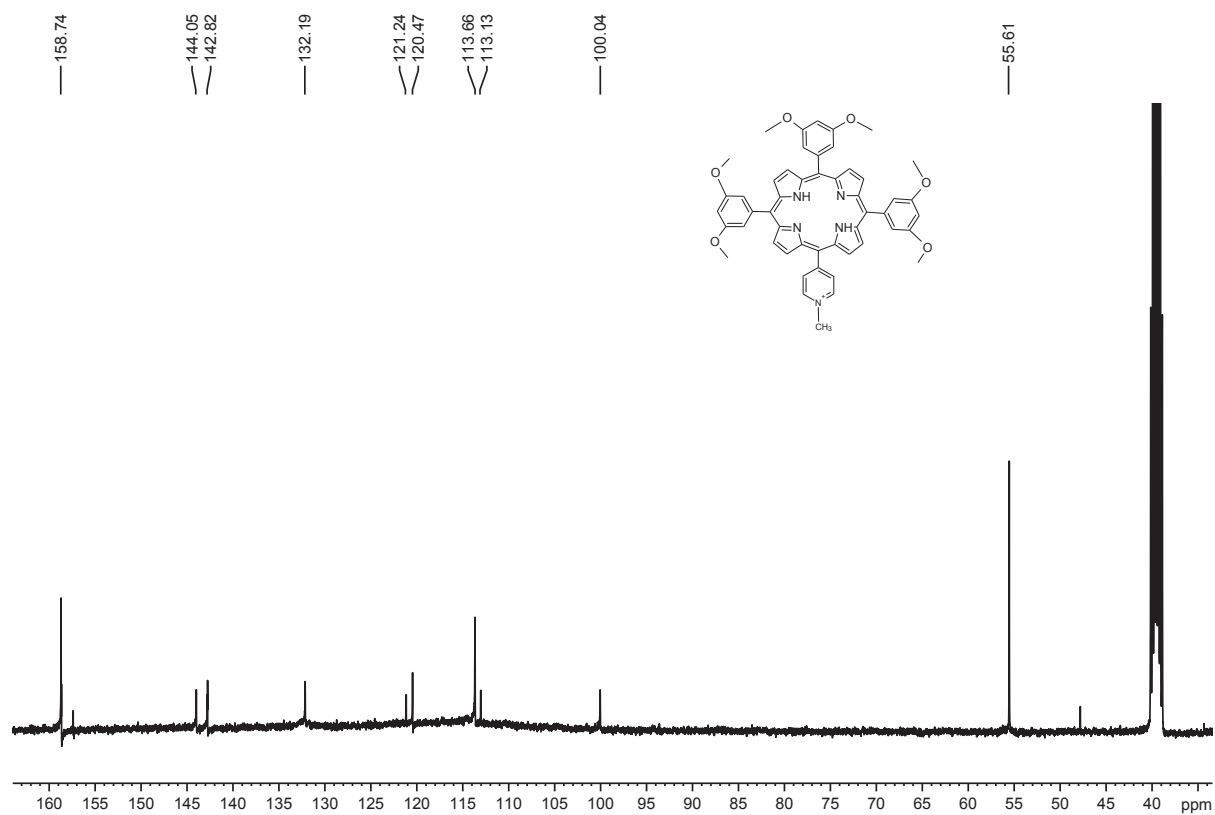


Figura 74 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **15** em DMSO_{d6} , calibrado pelo solvente (100 MHz)

ANEXO 10 - Caracterização da 5-(*n,n,n*-trimetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**19**)

Espectro de Massas

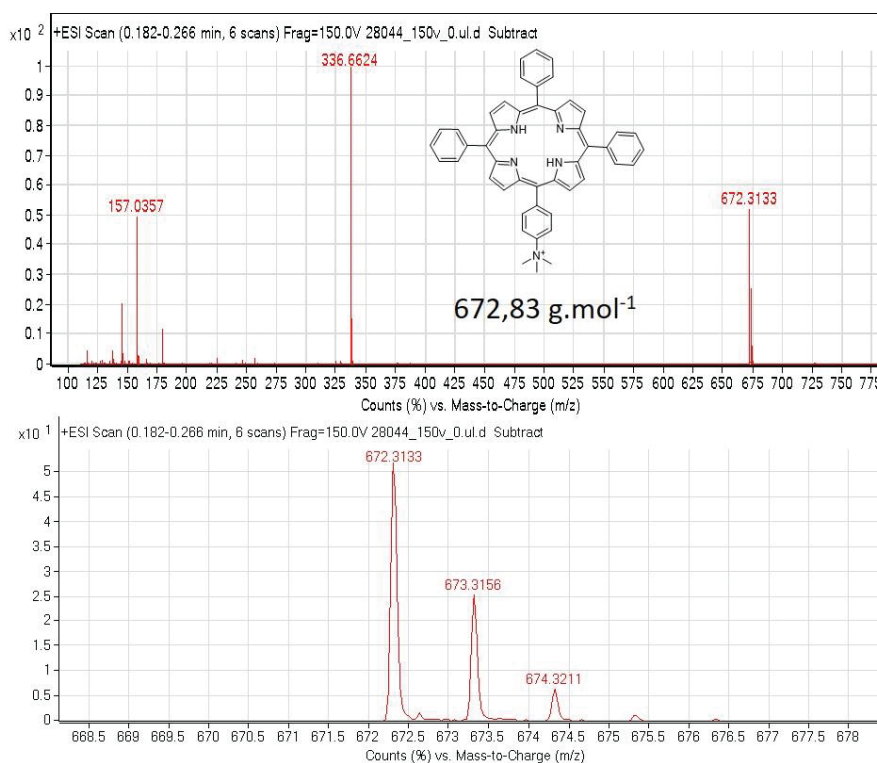


Figura 75 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **19**

Espectro na região do UV-Vis

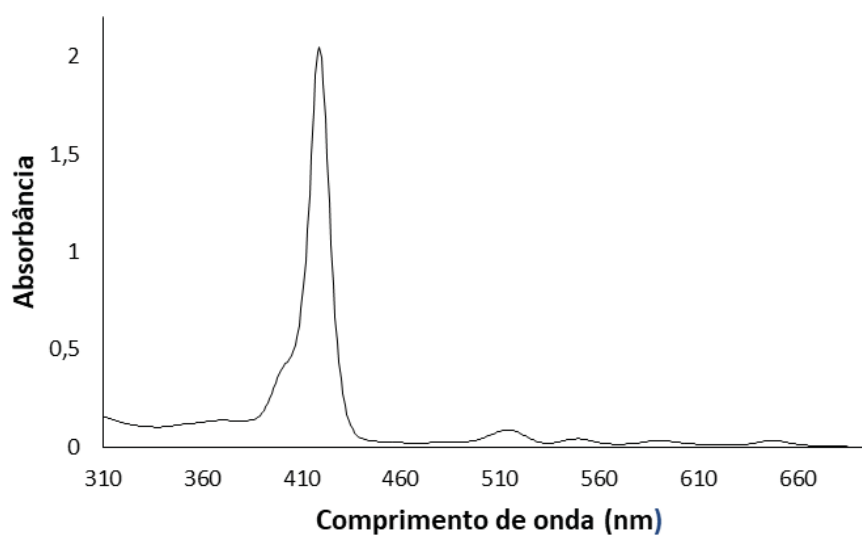


Figura 76 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **19** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

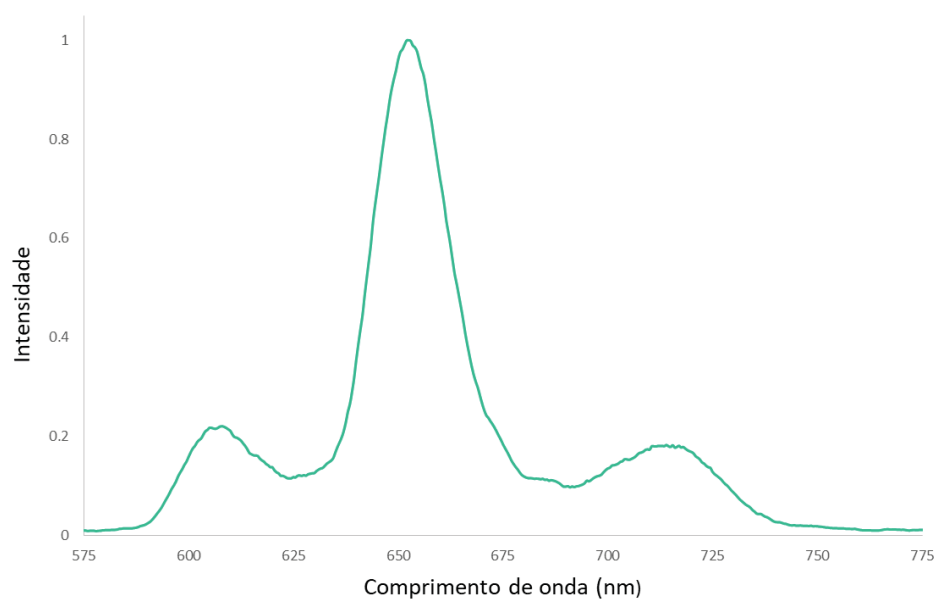


Figura 77 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina **19** na concentração 12×10^{-6} mol. L⁻¹ em DMSO

RMN de ¹H (DMSO_{d6}) δ 8,84 (8H, β-pirrólicos); 8,51 (2H, *m*-trimetilamoniofenil); 8,42 (2H, *o*-trimetilamoniofenil); 8,22 (6H, *o*-fenil); 7,85 (9H, *m*- e *p*-fenil); 3,92 (9H, CH₃); -2,91 (2H, NH).

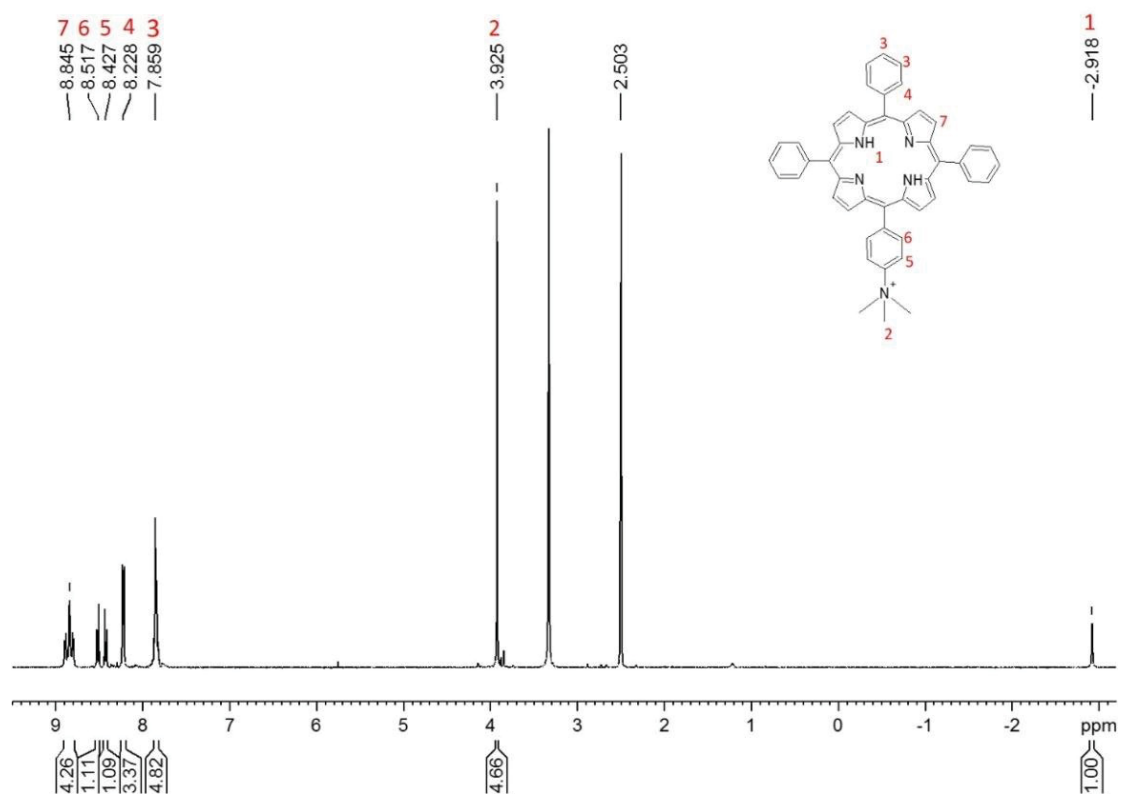


Figura 78 – Espectro de RMN de ¹H da porfirina **19** em DMSO_{d6} a 30°C, calibrado em 2,50 ppm pelo sinal do solvente (400 MHz)

RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) 206,5; 147,0; 144,0; 142,8; 141,1; 135,2; 134,2; 128,2; 127,0; 120,6; 120,3; 119,2; 56,75; 54,9; 30,7.

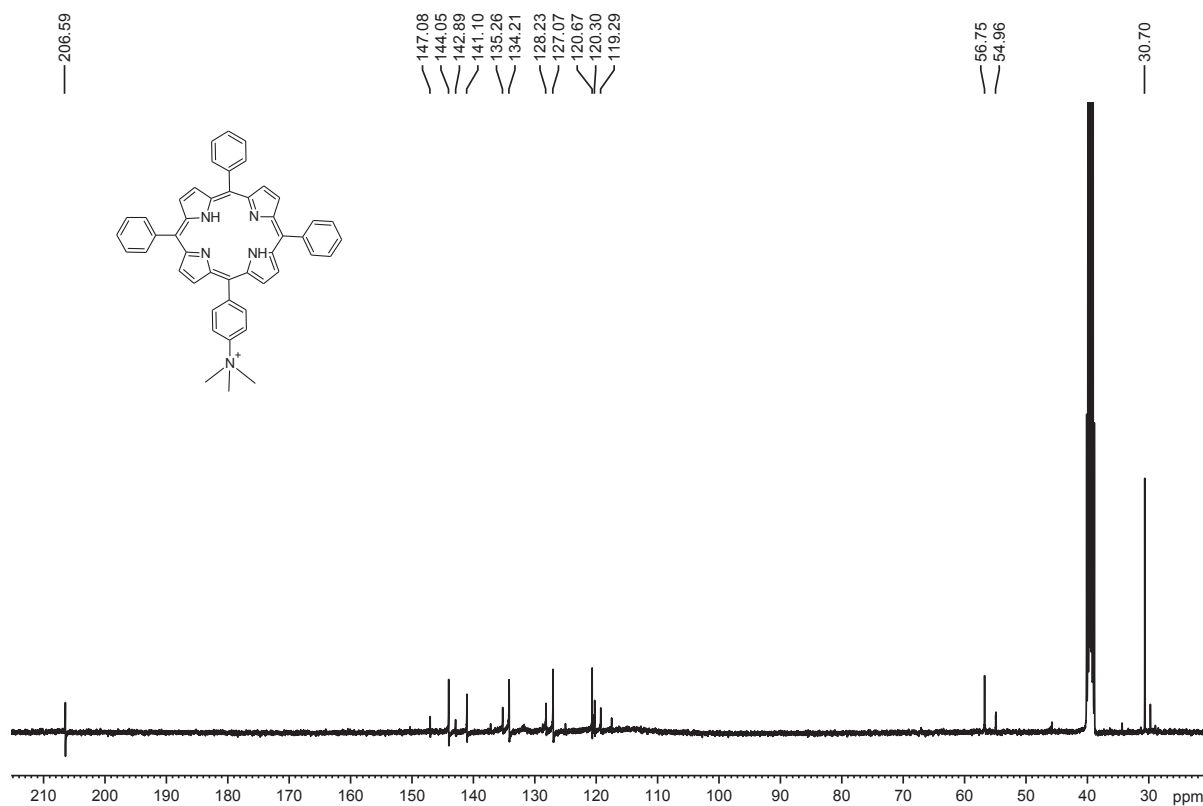


Figura 79 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **19** em DMSO_{d_6} calibrado pelo sinal do solvente (100 MHz)

ANEXO 11 - Caracterização da 5-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-10,15,20-tri(3,5-dimetoxifenil)porfirina (**16**)

Espectro de Massas

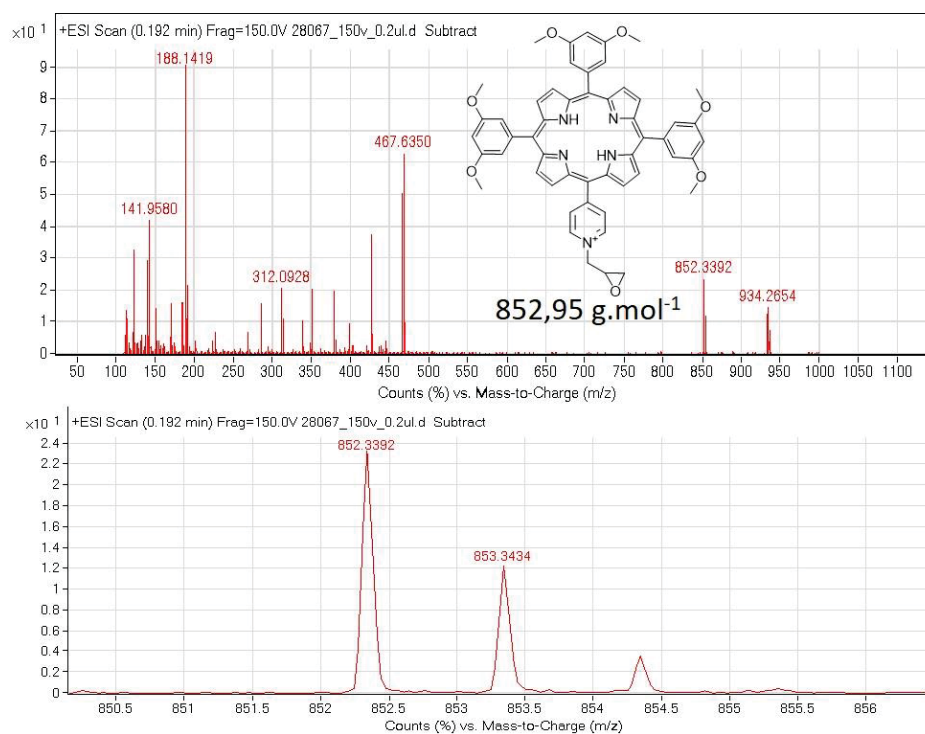


Figura 80 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **16**

Espectro na região do UV-Vis

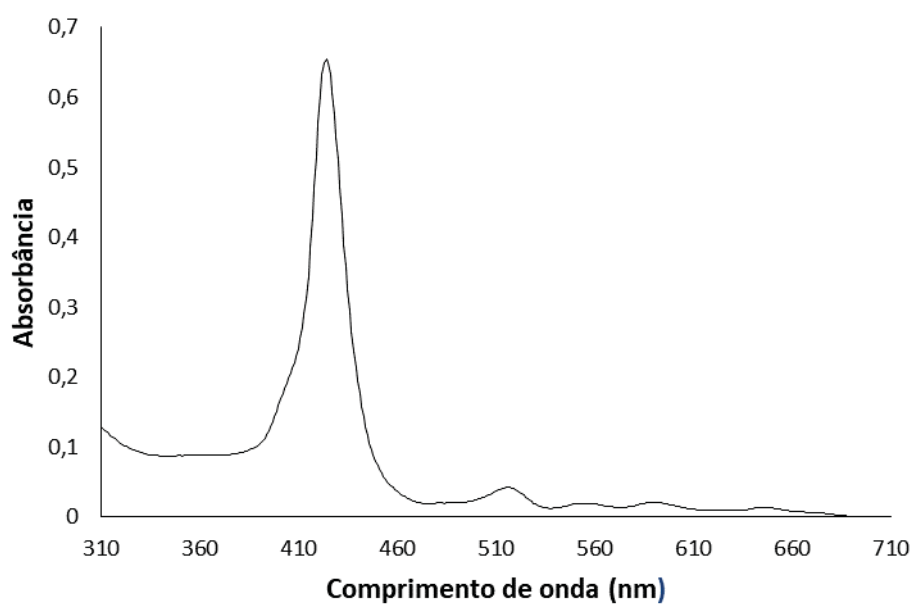


Figura 81 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **16** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Fluorescência

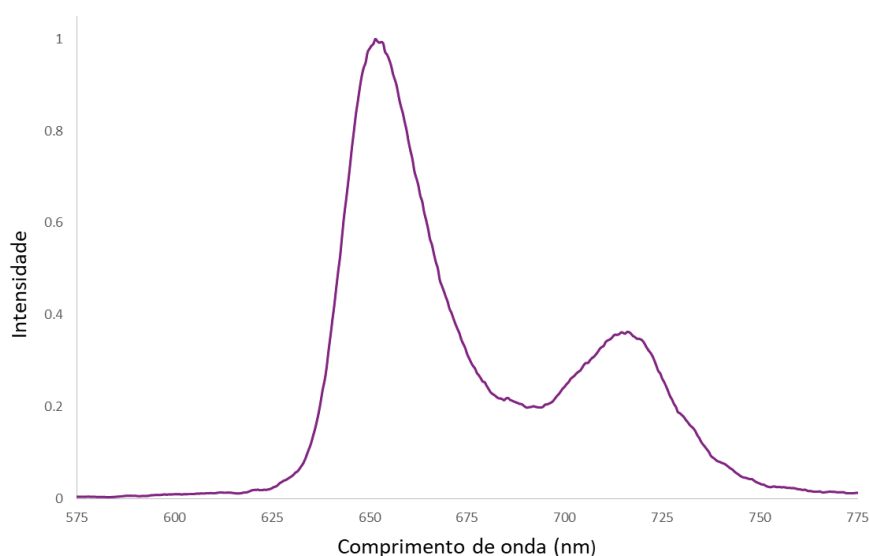


Figura 82 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina **16** na concentração 12×10^{-6} mol. L⁻¹ em DMSO

RMN de ¹H (DMSO_{d6}) δ 9,45 (d, *J* = 6,21 Hz, 2H); 9,04-8,95 (m, 10H); 7,38 (d, *J* = 1,94 Hz, 6H); 7,01 (m, 3H); 6,45 (d, *J* = 4,35 Hz, 1H); 5,20 (d, *J* = 12,57 Hz, 1H); 4,84 (m, 1H); 4,55 (s, 1H); 3,93 (s, 18H); 3,82 (dd, *J* = 6,03 Hz, *J*₁ = 10,46 Hz, 1H); -2,96 (s, 2H).

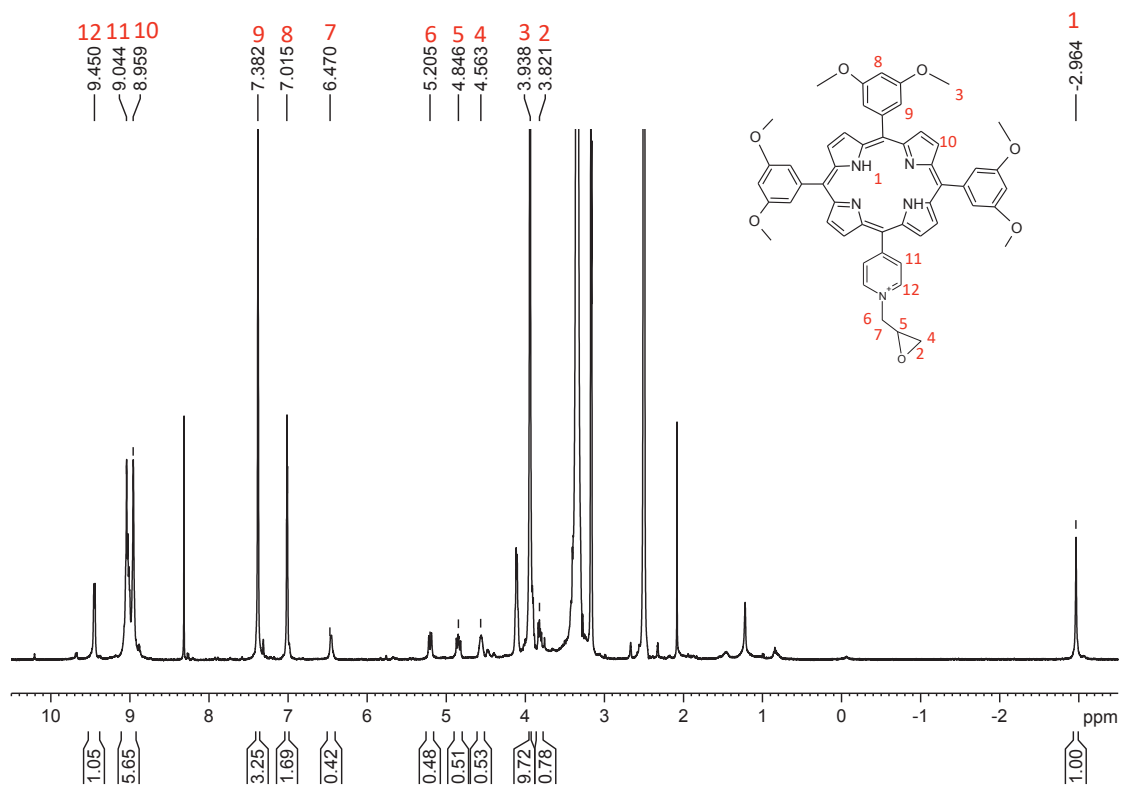


Figura 83 – Espectro de RMN de ¹H da porfirina **16** em DMSO_{d6} a 30°C, calibrado pelo sinal do solvente (400 MHz)

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}) δ 158,9; 148,8; 142,7; 132,2; 120,4; 113,6; 112,8; 100,0; 72,4; 70,8; 63,3; 63,0; 62,7; 59,5; 55,4; 37,1; 28,8

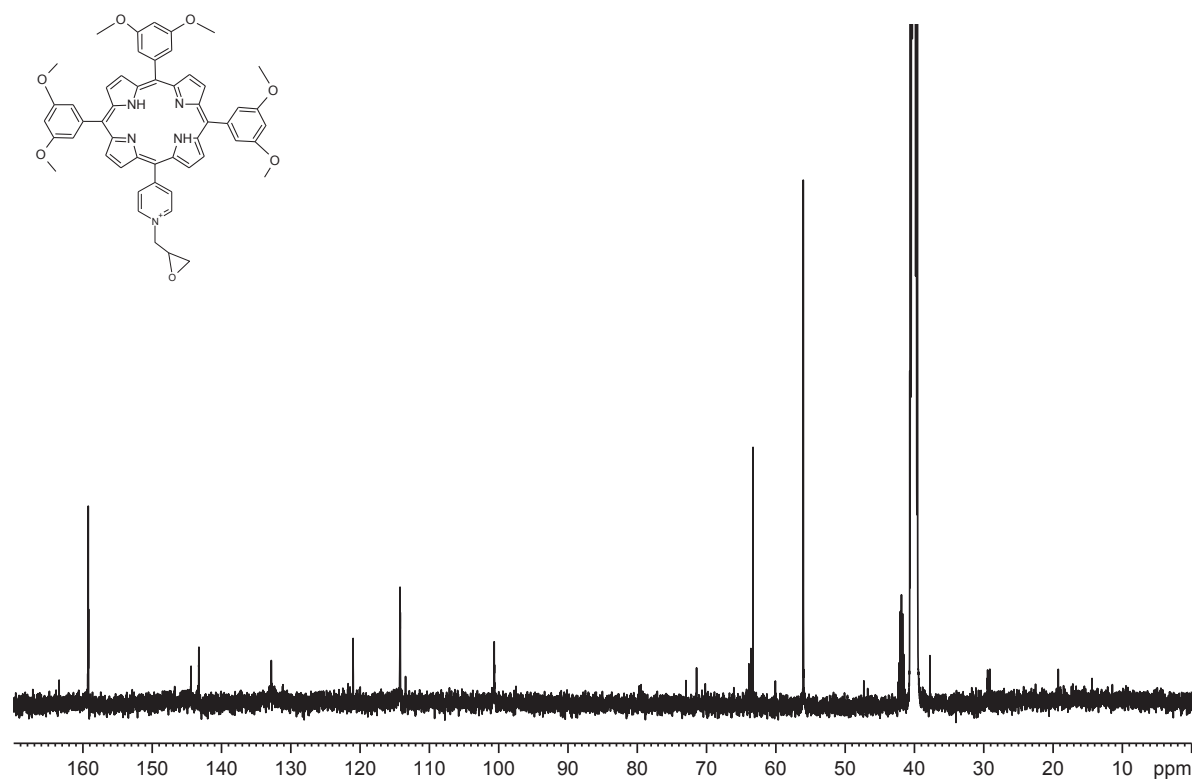


Figura 84 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **16** em DMSO_{d6} calibrado pelo solvente (100 MHz)

ANEXO 12 - Caracterização da 5-(*n*-dimetilepoximetil-4-amoniofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**20**)

Espectro de Massas

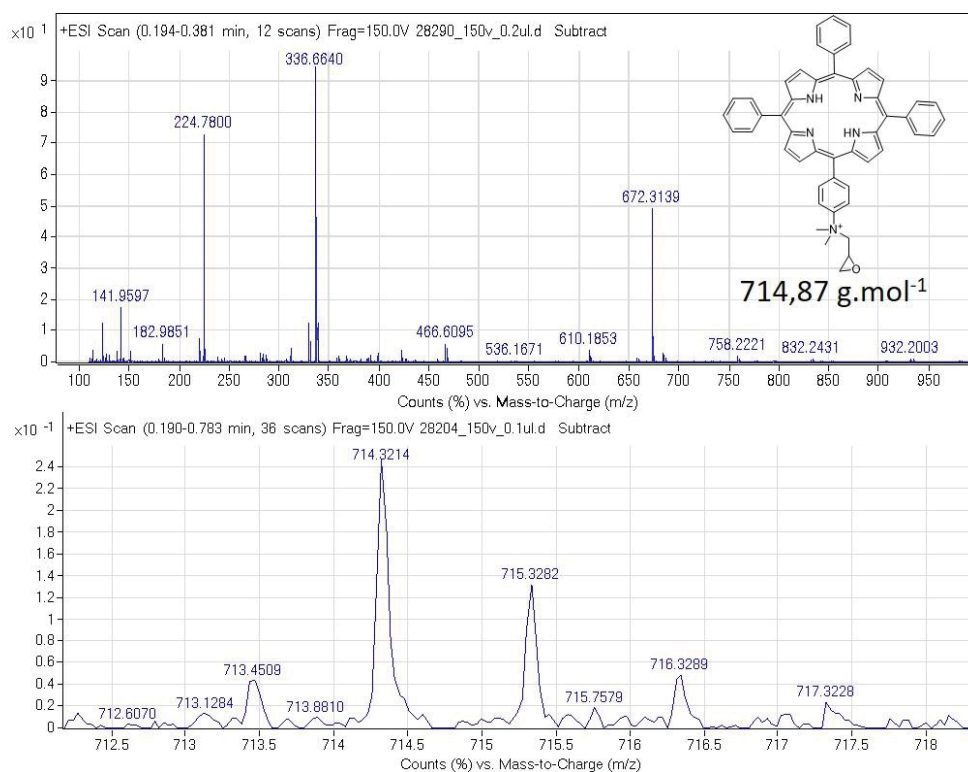


Figura 85 – Espectro de massas adquirido para a porfirina **20**

Espectro na região do UV-Vis

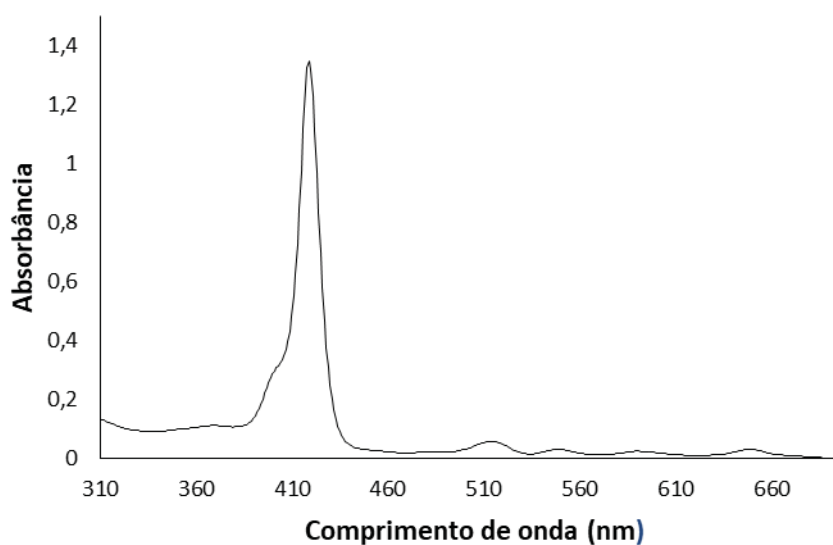


Figura 86 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para a porfirina **20** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

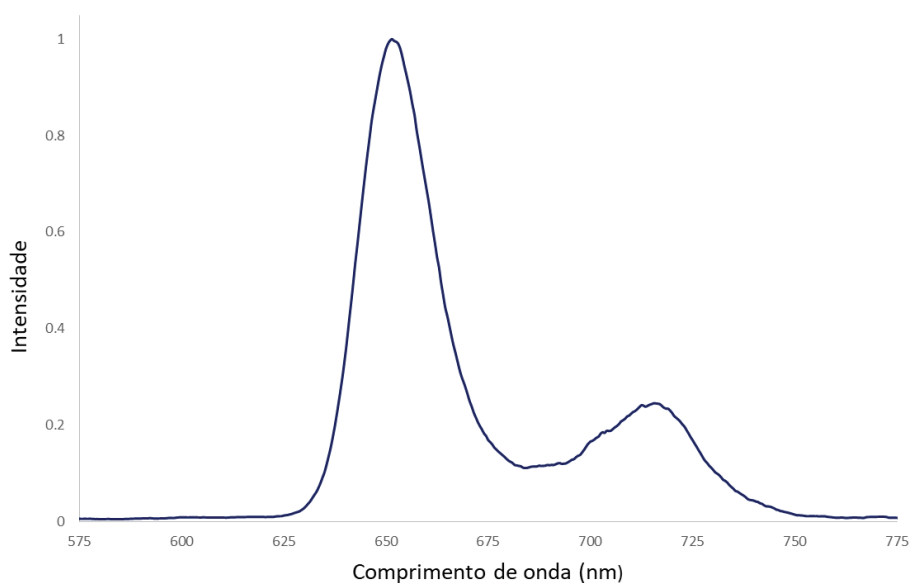


Figura 87 – Espectro de fluorescência adquirido para a porfirina **20** na concentração 12×10^{-6} mol. L⁻¹ em DMSO

RMN de ¹H (DMSO_{d6}) δ 8,84 (m, 8H); 8,51 (d, *J* = 8,82 Hz, 2H); 8,42 (d, *J* = 8,82 Hz, 2H); 8,22 (d, *J* = 6,71 Hz, 6H); 7,84 (m, 9H); 5,13 (m, 1H); 4,71 (s, 1H); 4,14 (s, 1H); 3,92 (s, 6H); 3,62 (m, 2H); -2,92 (s, 2H).

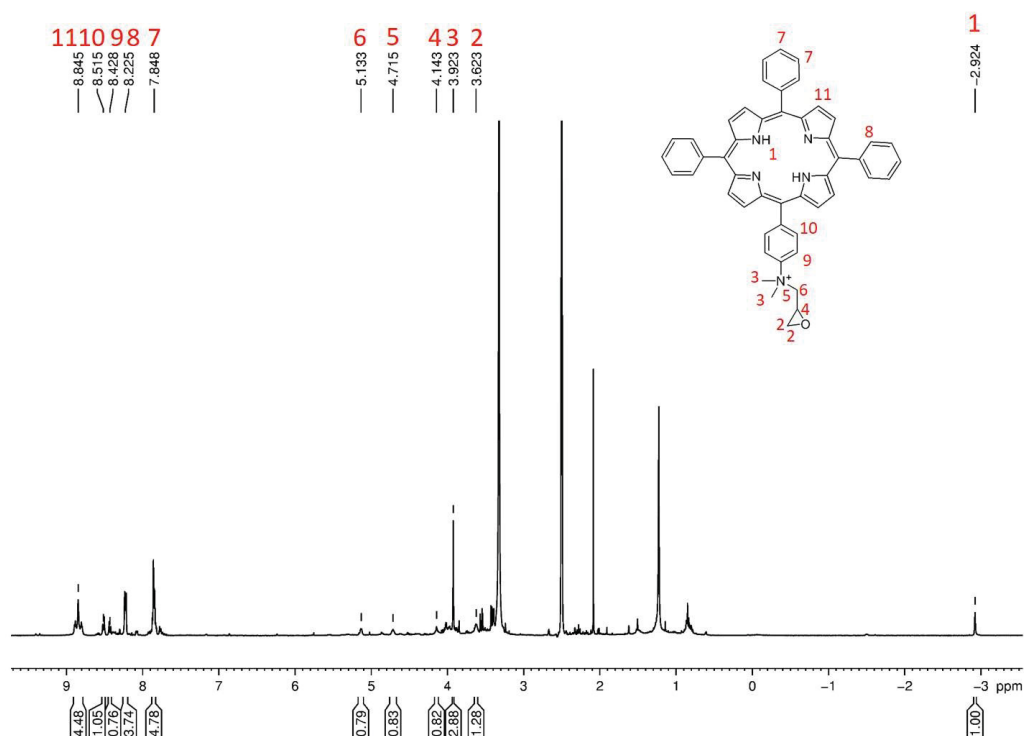


Figura 88 – Espectro de RMN de ¹H da porfirina **20** em DMSO_{d6} a 30°C pelo sinal do solvente (400 MHz)

RMN de ^{13}C (DMSO_{d_6}) δ 206,4; 141,1; 135,3; 134,3; 127,1; 120,3; 70,9; 63,4; 56,7; 37,2; 31,2; 30,6; 28,9.

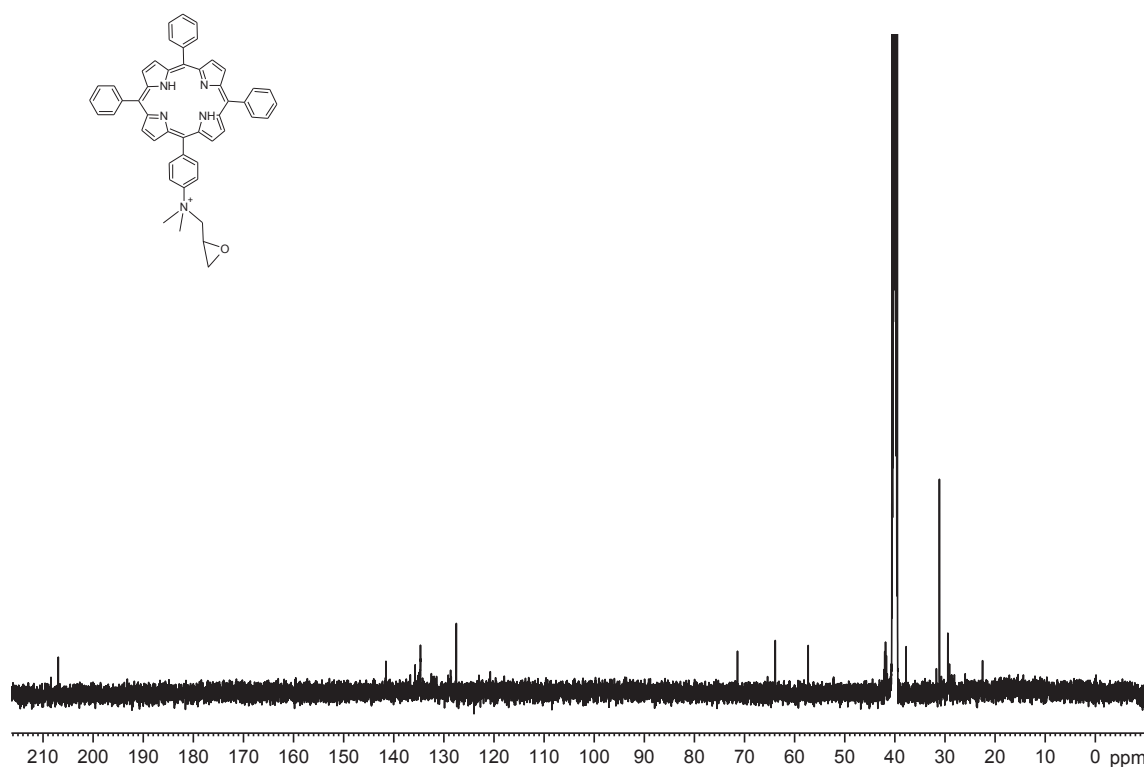


Figura 89 – Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina **20** em DMSO_{d_6} calibrado pelo sinal do solvente (100 MHz)

ANEXO 13 - Caracterização da feofitina a (21)

Espectro de Massas

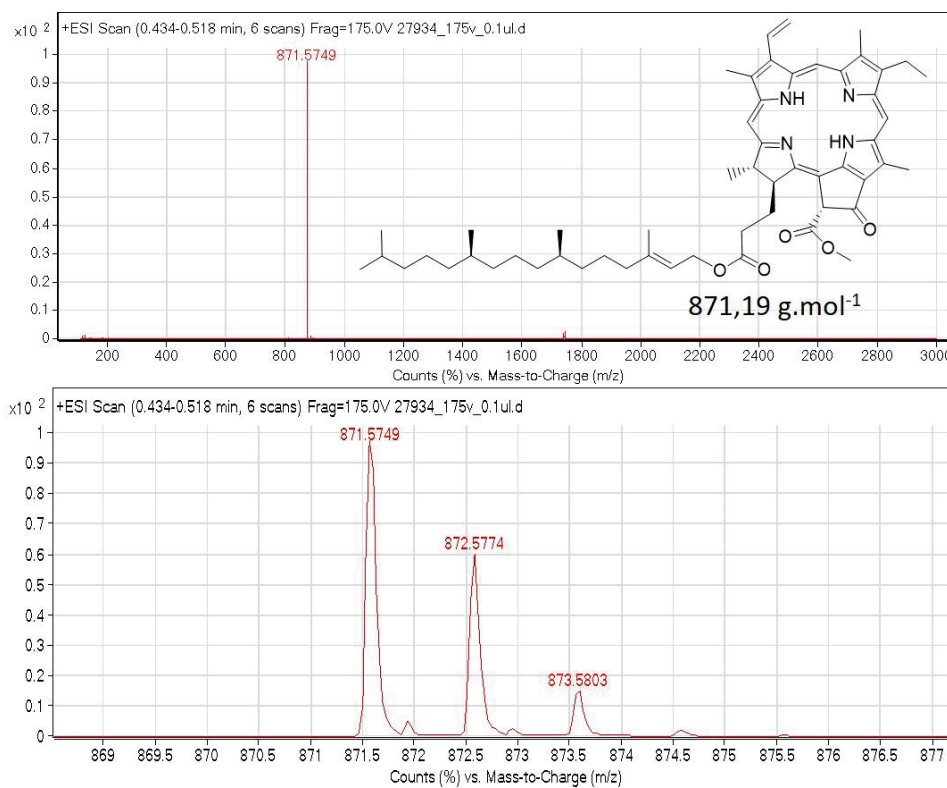
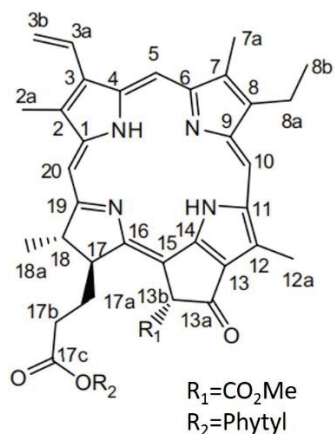


Figura 90 – Espectro de massas adquirido para a clorina 21



RMN de ^1H (CDCl_3) δ 9,49 (s, 1H, H10); 9,36 (s, 1H, H5); 8,53 (s, 1H, H20); 7,96 (dd, $J=11,50/17,86$ Hz, 1H, H3a); 6,26 (d, $J=17,70$ Hz, 1H, H3b); 6,23 (s, 1H, H3b); 6,15 (d, $J=11,45$ Hz, 1H, H3a); 5,11 (m, 1H, phytyl); 4,47 (1H, H18); 4,42 (m, H17); 4,27 (m, 1H, phytyl); 4,19 (m, 1H, phytyl); 3,86 (s, 3H, H13d); 3,66 (s, 3H, H12a); 3,63 (m, 2H, H8a); 3,38 (s, 3H, H7a); 3,21 (s, 3H, H2a); 2,60-2,46-2,33 (m, 4H, H17a,b); 1,85 (m, 2H, phytyl); 1,78 (d, $J=7,18$ Hz, 3H, H18a); 1,67 (m, 3H, phytyl); 1,58 (m, 2H, phytyl); 1,55 (s, 3H, phytyl); 1,48 (m, 1H, phytyl); 1,29 (m, 2H, phytyl); 1,24 (s, 14H, phytyl); 0,82 (d, $J=6,54$ Hz, 6H, phytyl); 0,78 (d, $J=6,65$ Hz, 3H, phytyl); 0,76 (d, $J=6,55$ Hz, 3H, phytyl); -1,63 (2H, NH)

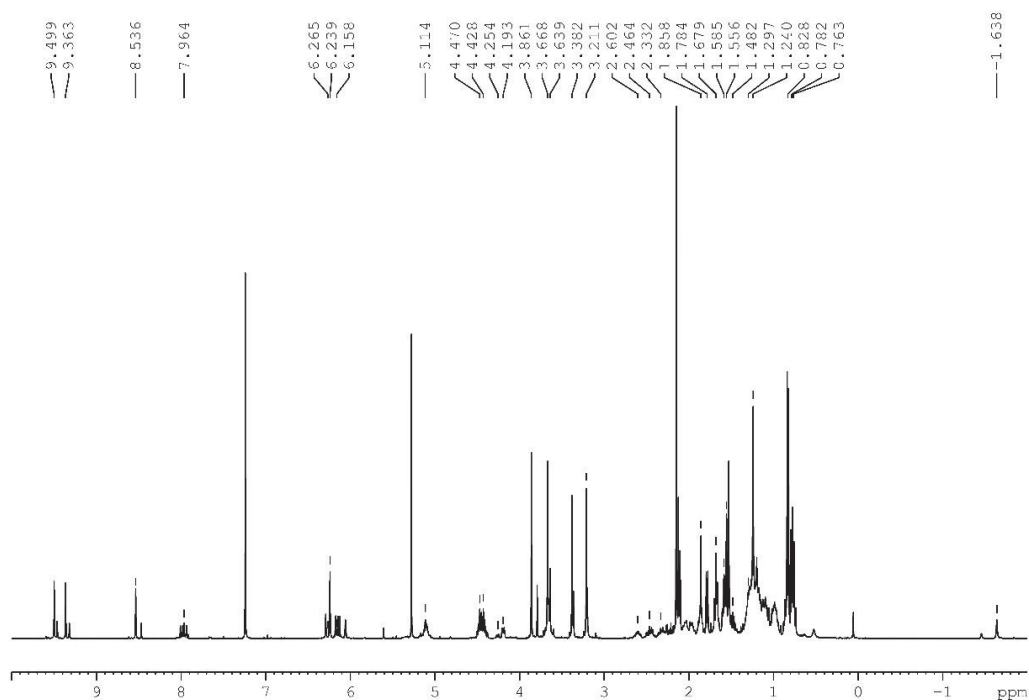


Figura 91 – Espectro de RMN de ^1H da clorina **21** em CDCl_3 a 30°C , calibrado pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 14 - Caracterização do metil-feoforbídeo a (22)

Espectro de Massas

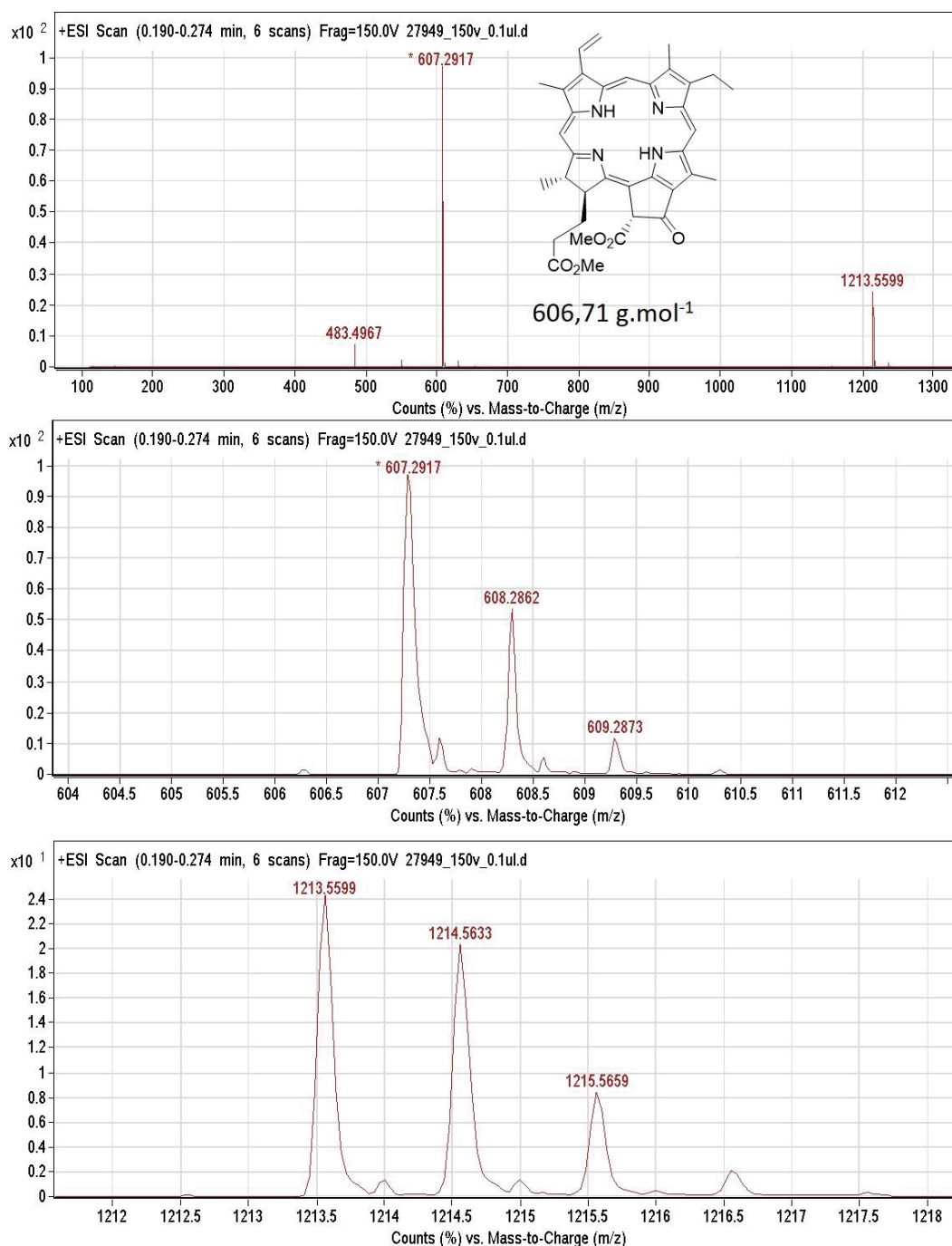


Figura 92 – Espectro de massas adquirido para a clorina 22

RMN de ^1H (acetona $_{\text{d}_6}$) δ 9,54 (s, 1H); 9,23 (s, 1H); 8,74 (s, 1H); 7,94 (m, 1H); 6,19 (dd, $J=17,82/1,20$ Hz, 1H); 6,18 (s, 1H); 6,03 (dd, $J=11,5/1,20$ Hz, 1H); 4,50 (m, 1H); 4,08 (m, 1H); 3,73 (s, 3H); 3,67 (s, 3H); 3,50 (s, 3H); 3,43 (s, 2H); 2,71 (m, 1H); 2,68 (m, 1H); 2,43 (m, 2H); 1,95 (s, 3H); 1,50 (m, 3H); -1,90 (s, 2H)

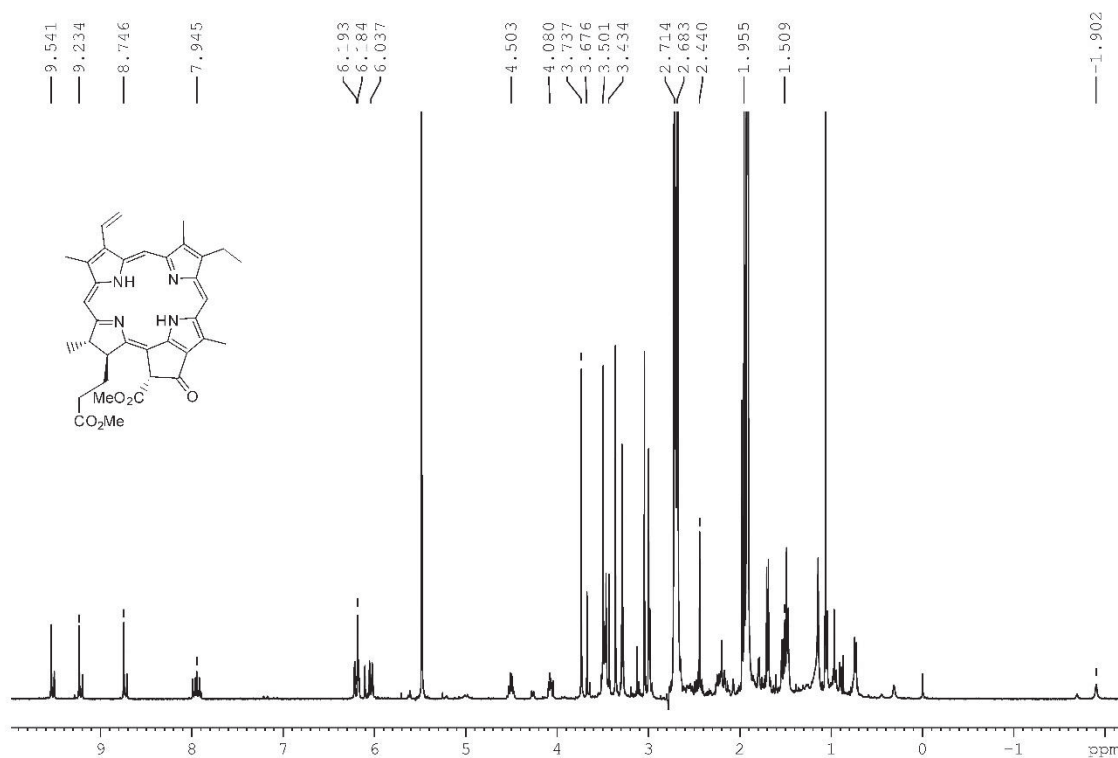


Figura 93 – Espectro de RMN de ^1H da clorina **22** em acetona $_{\text{d}_6}$ a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 15 - Caracterização da 13-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (26)

Espectro de Massas

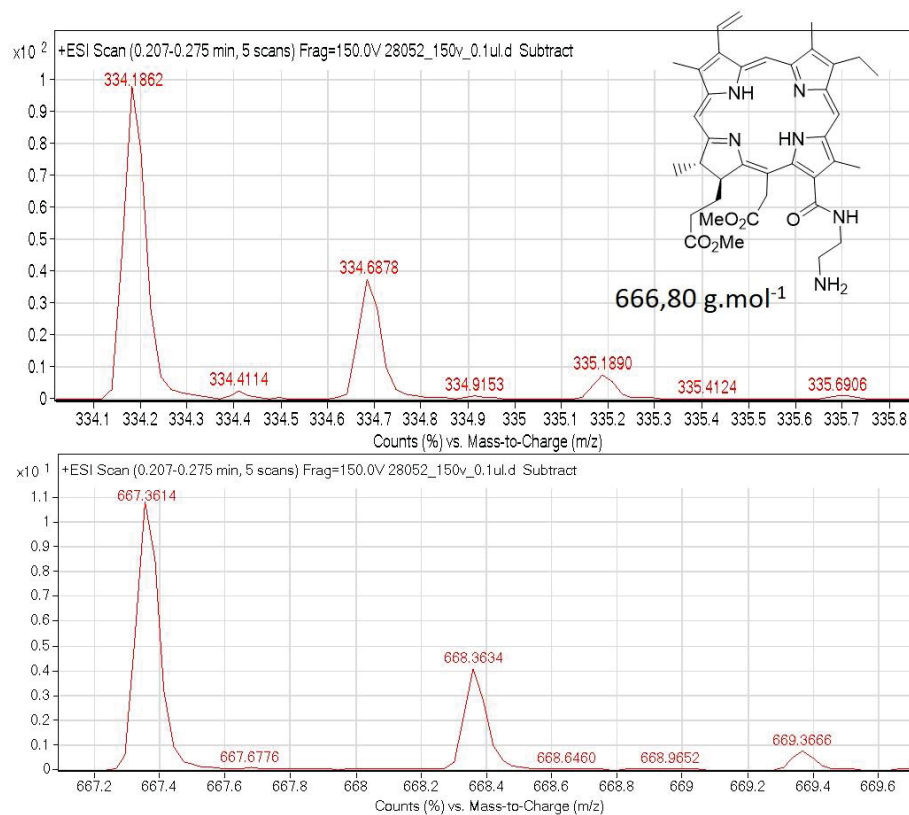


Figura 94 – Espectro de massas adquirido para a clorina 26

RMN de ^1H (acetona_{d6}) δ 9,70 (s, 1H); 9,63 (s, 1H); 9,09 (s, 1H); 8,10 (dd, $J=17,5/11,55$ Hz, 1H); 8,08 (s, 1H); 6,30 (d, $J=17,86$ Hz, 1H); 6,03 (d, $J=11,63$ Hz, 1H); 5,67 (d, $J=19,01$ Hz, 1H); 5,39 (d, $J=19,01$ Hz, 1H); 4,66 (m, 1H); 4,51 (d, $J=10,05$ Hz, 1H); 4,02 (m, 1H); 3,87 (m, 1H); 3,75 (s, 3H); 3,68 (m, 2H); 3,61 (s, 3H); 3,51 (s, 3H); 3,46 (s, 3H); 3,21 (s, 3H); 2,70 (m, 1H); 2,31 (m, 2H); 1,96 (m, 1H); 1,81 (m, 1H); 1,72 (d, $J=7,22$, 3H); 1,64 (t, $J=7,45$, 3H); -1,63 (s, 1H); -1,92 (s, 1H)

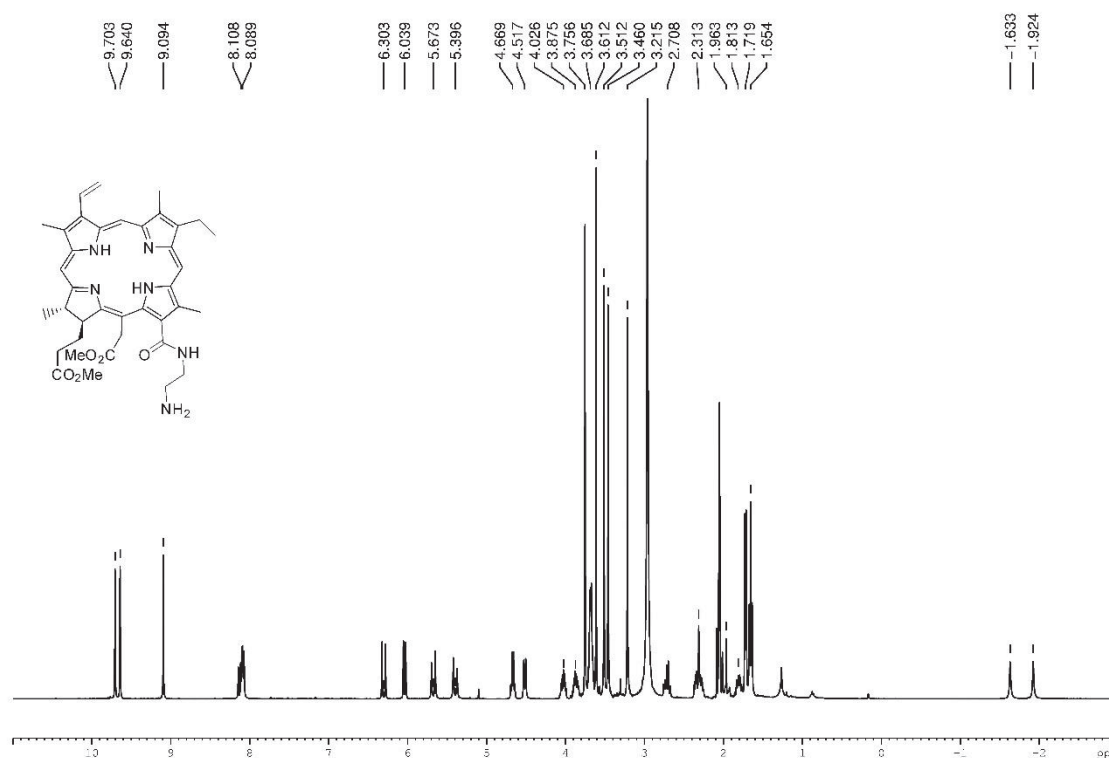


Figura 95 – Espectro de RMN de ^1H da clorina **26** em acetona_{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 16 - Caracterização da 13-dietilenotriaminilclorina e6 dimetil éster (25)

Espectro de Massas

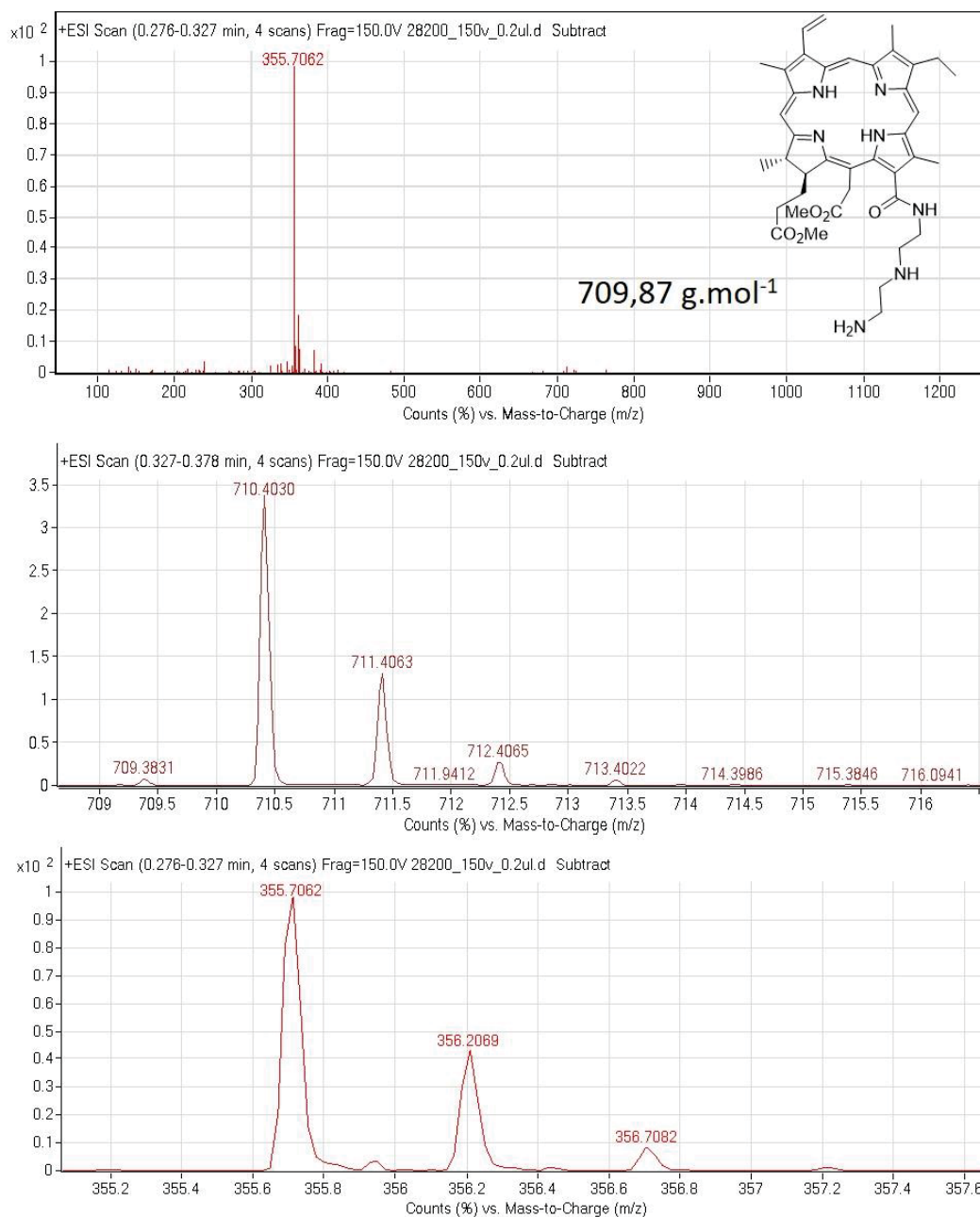


Figura 96 – Espectros de massas adquirido para a clorina 25

RMN de ^1H (acetona_{d6}) δ 9,75 (s, 1H); 9,70 (s, 1H); 9,10 (s, 1H); 8,18 (dd, $J=17,85/11,54$ Hz, 1H); 8,09 (s, 1H); 6,36 (dd, $J=17,93/1,13$ Hz, 1H); 6,09 (dd, $J=11,65/1,21$ Hz, 1H); 5,67 (d, $J=18,78$ Hz, 1H); 5,39 (d, $J=19,30$ Hz, 1H); 4,65 (m, 1H); 4,49 (d, $J=10,04$ Hz, 1H); 4,05 (m, 1H); 3,92 (m, 1H); 3,74 (m, 7H); 3,60 (s, 3H); 3,55 (s, 3H); 3,49 (s, 3H); 3,26 (s, 3H); 2,80 (m, 1H); 2,70 (m, 1H); 2,30 (m, 2H); 2,08 (m, 1H); 1,81 (m, 1H); 1,65-1,72 (m, 6H); -1,62 (s, 1H); -1,71 (s, 1H)

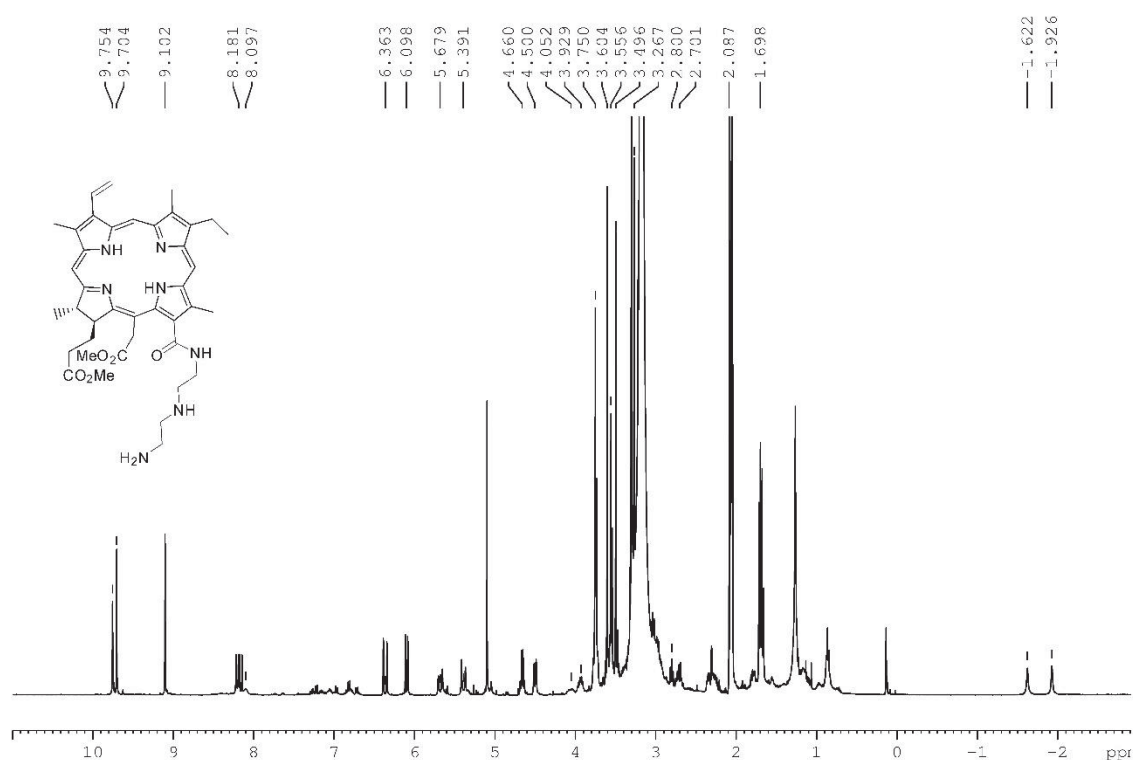


Figura 97 – Espectro de RMN de ^1H da clorina **25** em acetona_{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 17 - Epoximetil-etilenodiaminilclorina e6 dimetil éster (27)

RMN de ^1H (acetona_{d6}) δ 9,83 (s, 1H); 9,78 (s, 1H); 9,12 (s, 1H); 8,27 (dd, $J=17,76/11,59$ Hz, 1H); 8,03 (s, 1H); 6,44 (d, $J=17,92$ Hz, 1H); 6,16 (d, $J=11,62$ Hz, 1H); 5,66 (m, 1H); 5,39 (d, $J=18,77$ Hz, 1H); 4,82 (s, 2H); 4,67 (d, $J=7,36$ Hz, 1H); 4,51 (d, $J=10,09$ Hz, 1H); 4,03 (m, 1H); 3,85 (m, 1H); 3,75 (m, 7H); 3,60 (s, 3H); 3,55 (s, 3H); 3,46 (m, 1H); 3,34 (s, 3H); 3,20 (m, 2H); 2,78 (m, 1H); 2,31 (m, 2H); 2,08 (m, 1H); 1,71 (m, 1H); -1,59 (s, 1H); -1,90 (s, 1H). **ESI-TOF:** m/z calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{51}\text{N}_7\text{O}_5^+$: 710,4024 g.mol⁻¹; m/z obtido: 710,4030 [M+H]⁺.

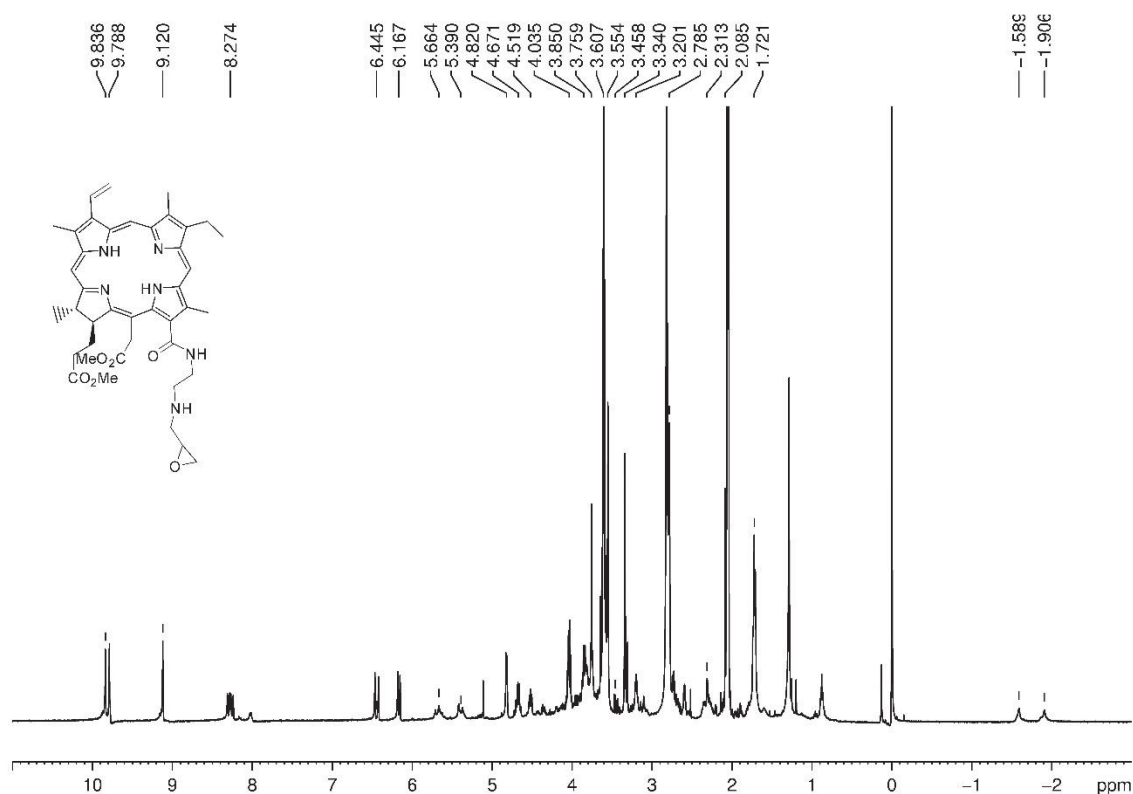


Figura 98 – Espectro de RMN de ^1H da clorina **27** em acetona_{d6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 18 - Caracterização do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**29**)

Espectro de Massas

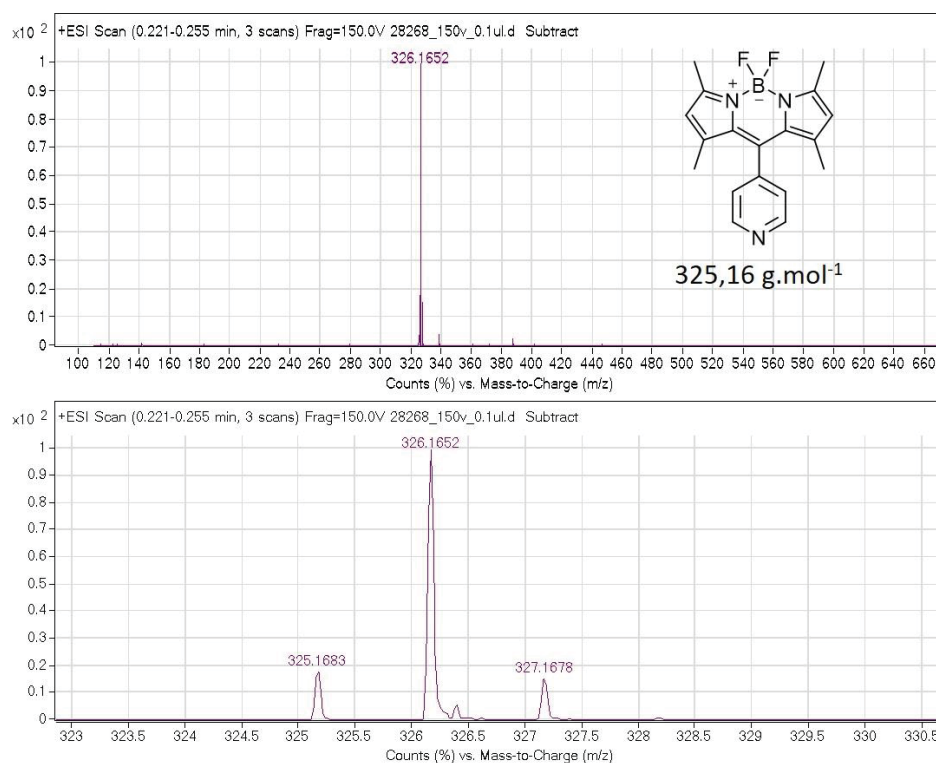


Figura 99 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY **29**

Espectro na região do UV-Vis

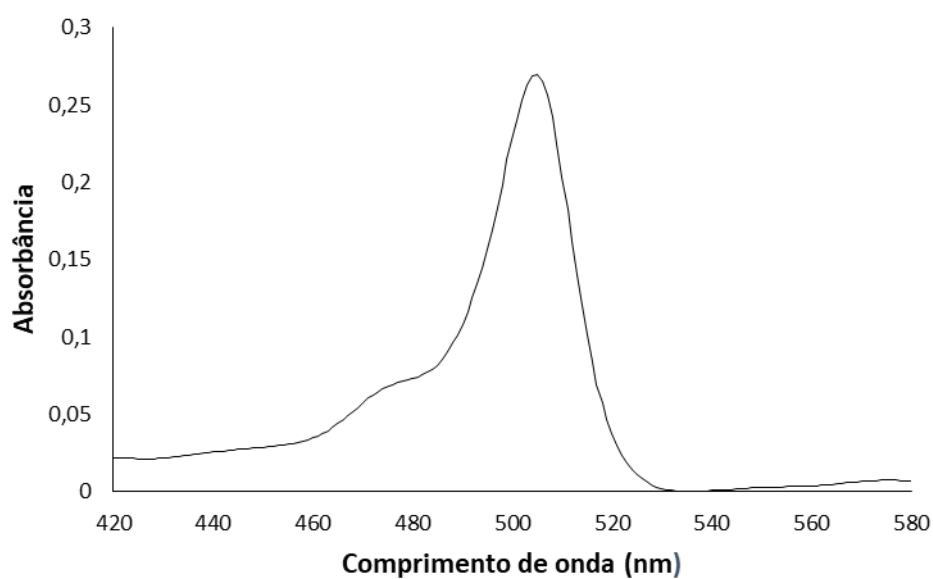


Figura 100 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY **29** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

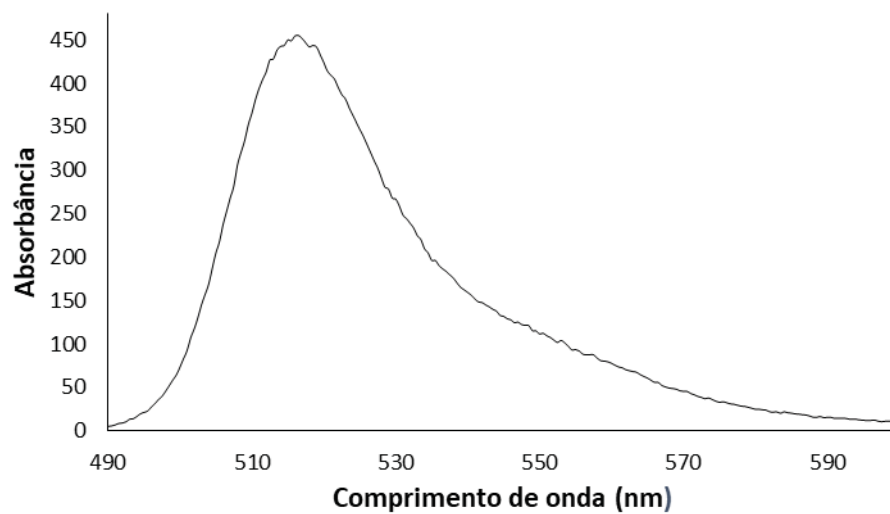


Figura 101 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY **29**

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 8,71 (2H, *m*-piridil); 7,23 (2H, *o*-piridil); 5,90 (2H, posições 2 e 6); 2,49 (6H, CH_3); 1,34 (6H, CH_3)

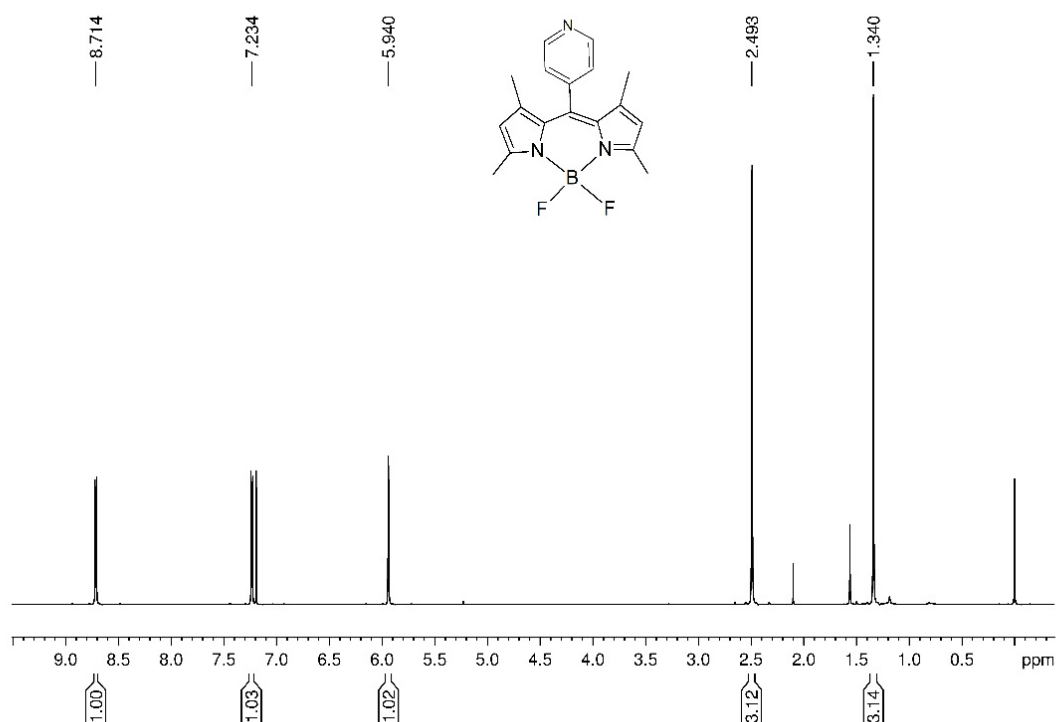


Figura 102 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY **29** em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)

RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) 156,7; 150,9; 143,8; 142,8; 137,9; 130,6; 123,5; 122,0; 14,8

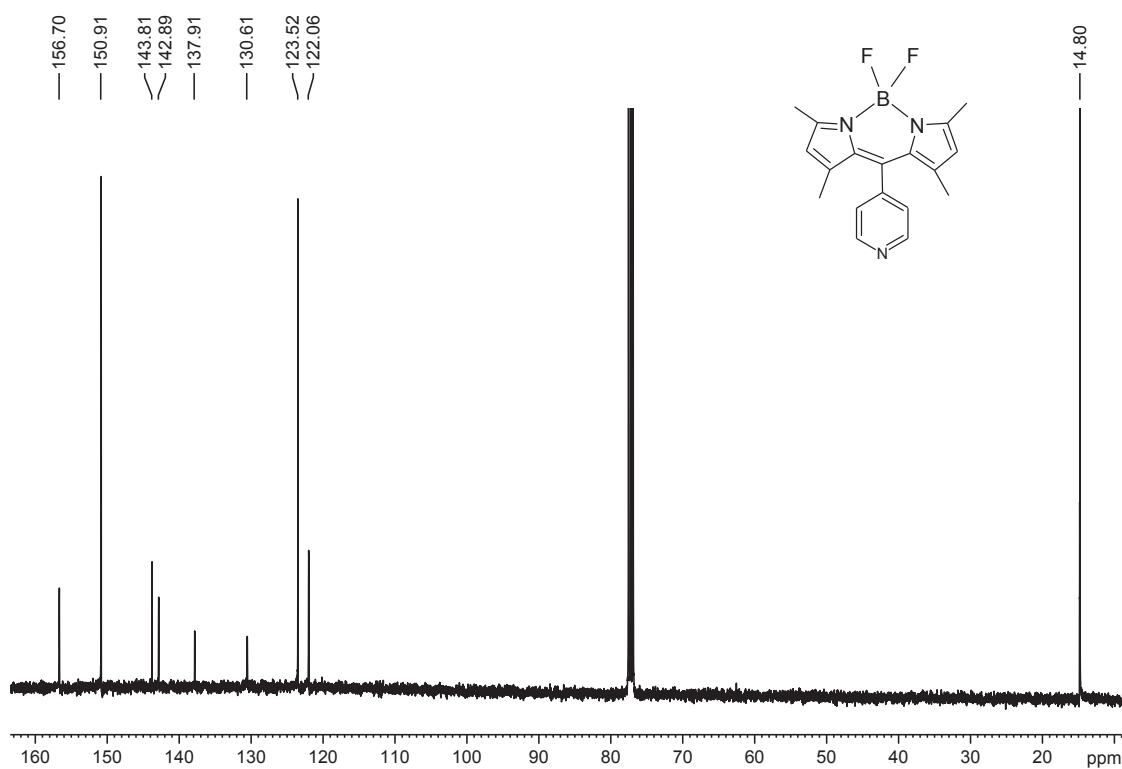


Figura 103 – Espectro de RMN de ^{13}C do BODIPY **29** em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 77,23 ppm pelo solvente (100 MHz)

RMN de ^{11}B

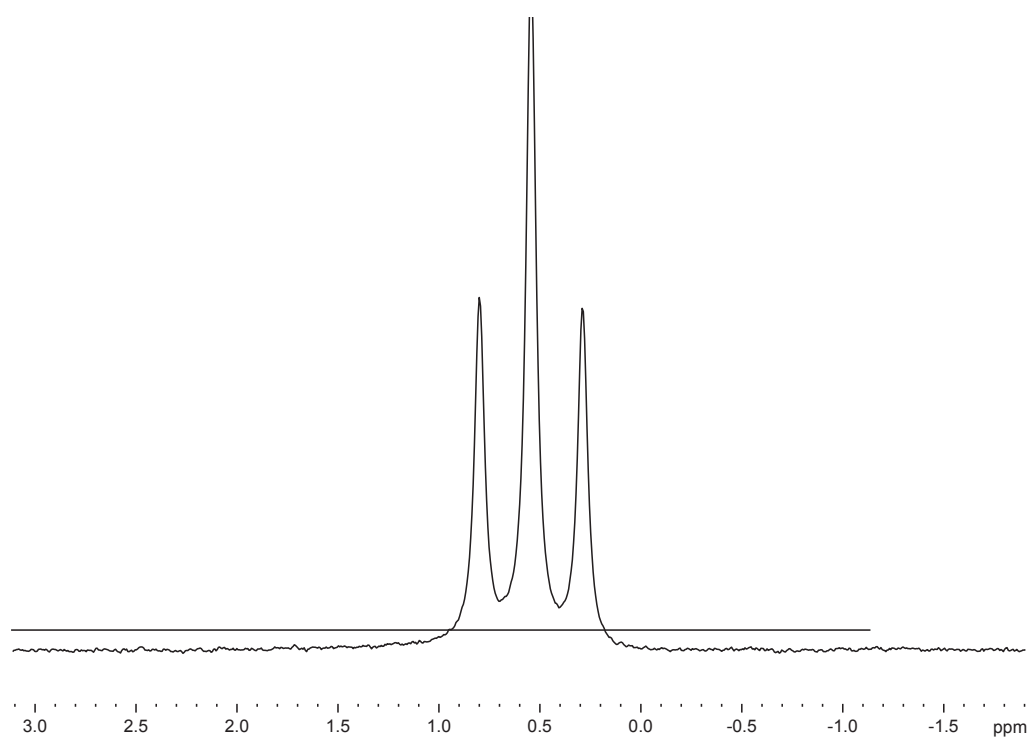


Figura 104 – Espectro de RMN de ^{11}B do BODIPY **29**

ANEXO 19 - Caracterização do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(4-piridil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (30)

Espectro de Massas

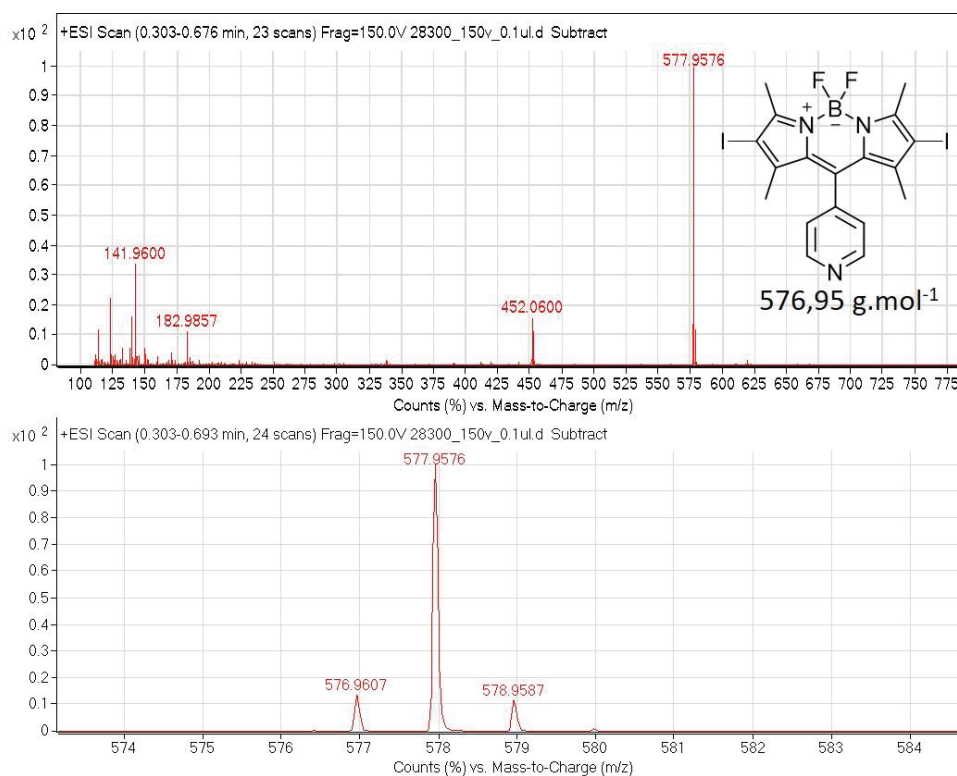


Figura 105 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 30

Espectro na região do UV-Vis

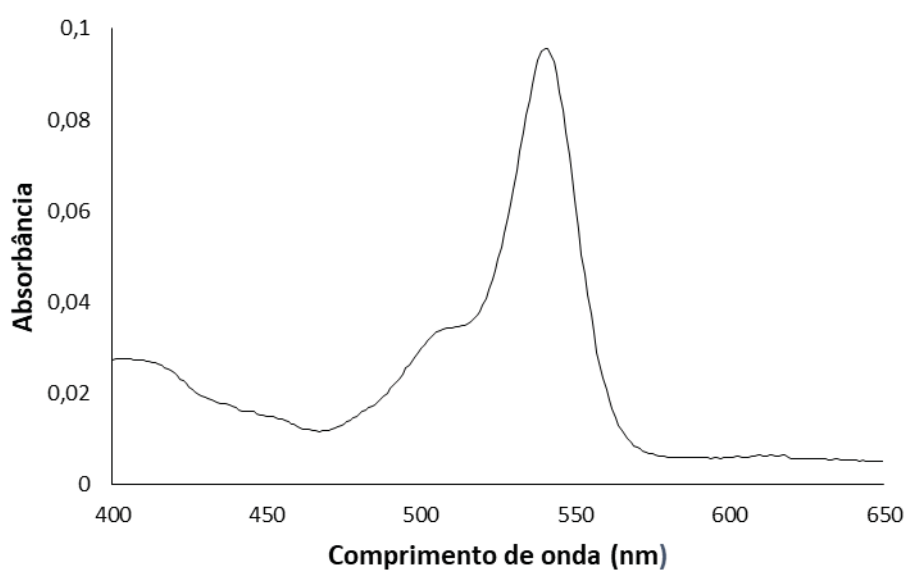


Figura 106 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 30 na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

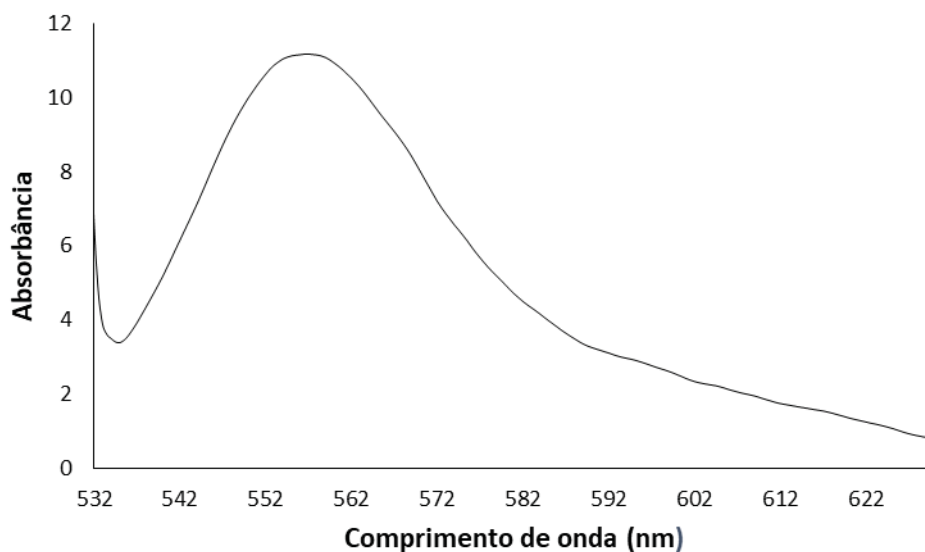


Figura 107 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 30

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 8,75 (2H, *m*-piridil); 7,22 (2H, *o*-piridil); 2,58 (6H, CH_3); 1,35 (6H, CH_3)

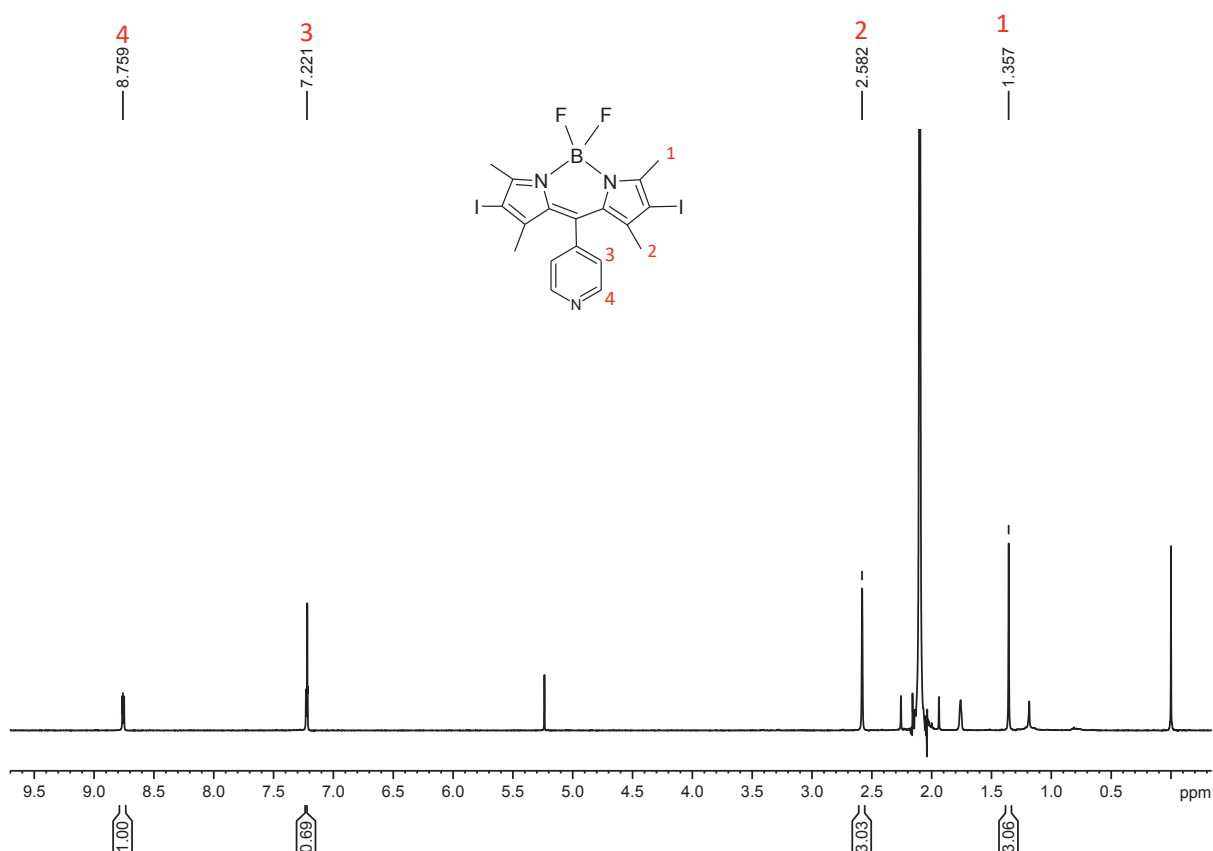


Figura 108 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY 30 em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 0 ppm pelo padrão TMS (400 MHz)

RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) 158,1; 151,0; 145,0; 143,7; 137,3; 130,4; 123,4; 86,6; 17,6

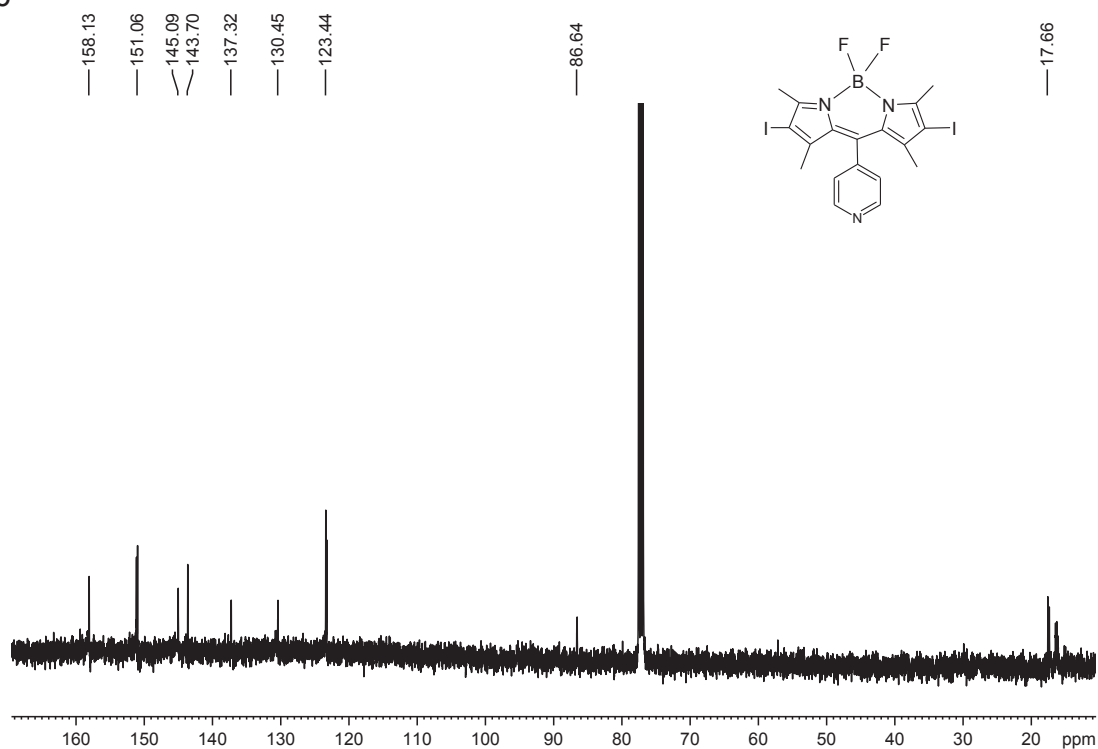


Figura 109 – Espectro de RMN de ^{13}C do BODIPY **30** em CDCl_3 a 30°C , calibrado em 77,23 ppm pelo solvente (100 MHz)

RMN de ^{11}B

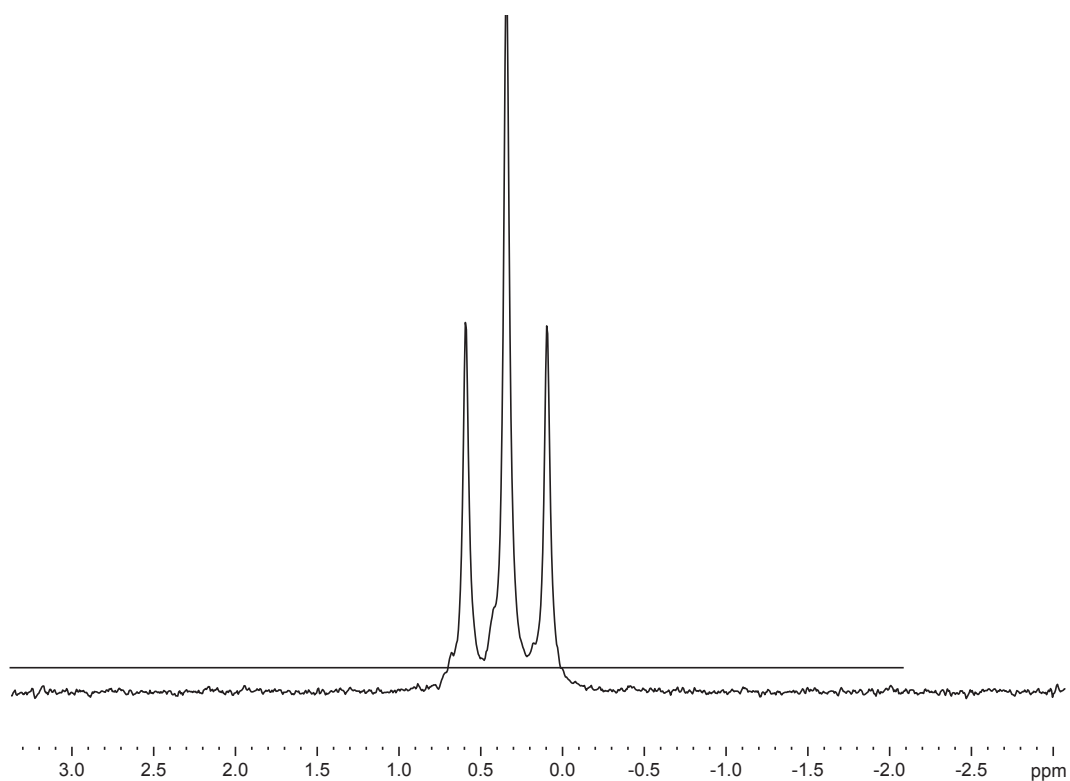


Figura 110 – Espectro RMN de ^{11}B do BODIPY **30**

ANEXO 20 - Caracterização do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (**31**)

Espectro de Massas

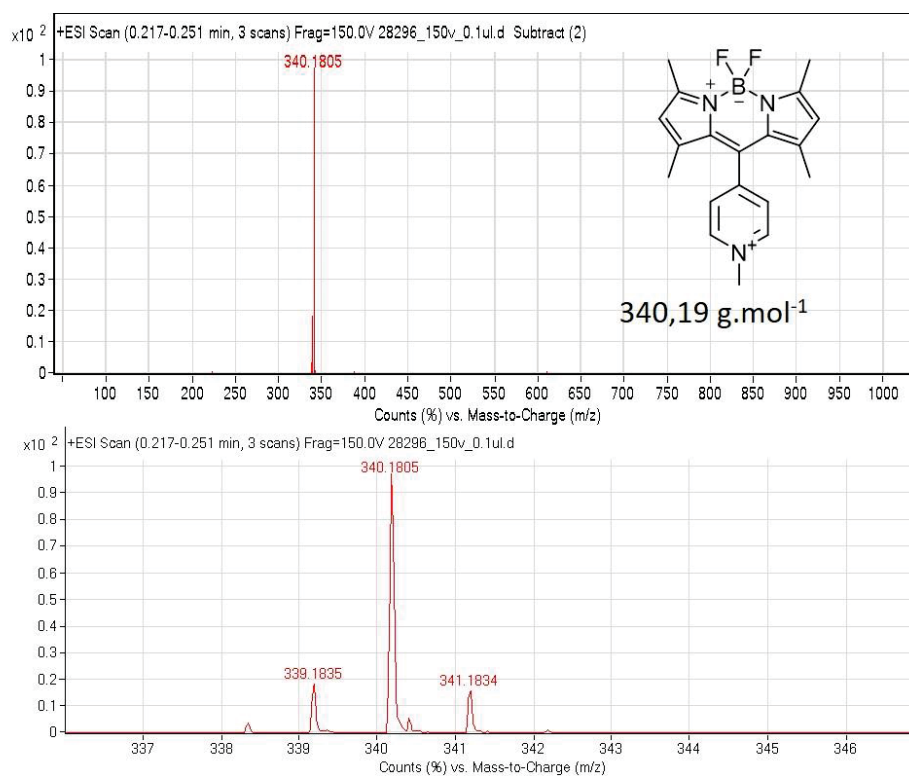


Figura 111 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY **31**

Espectro na região do UV-Vis

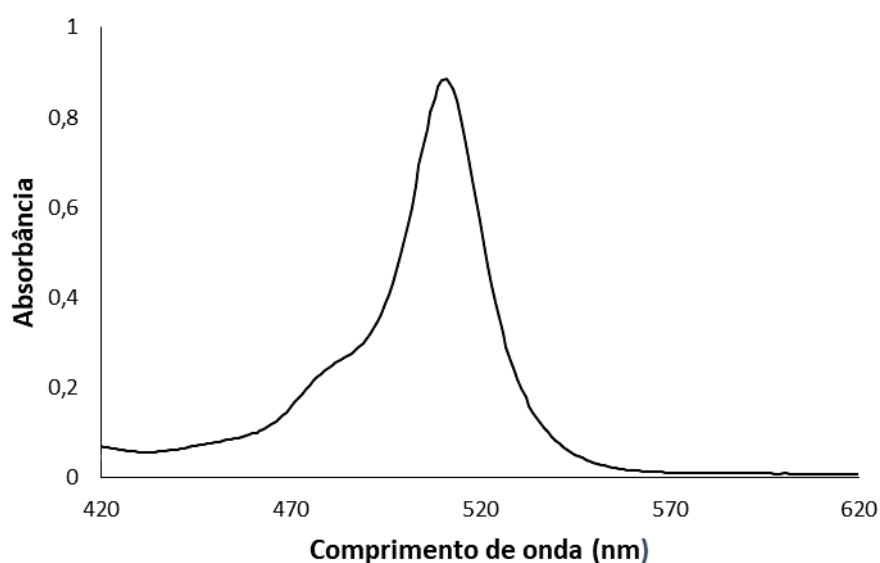


Figura 112 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY **31** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

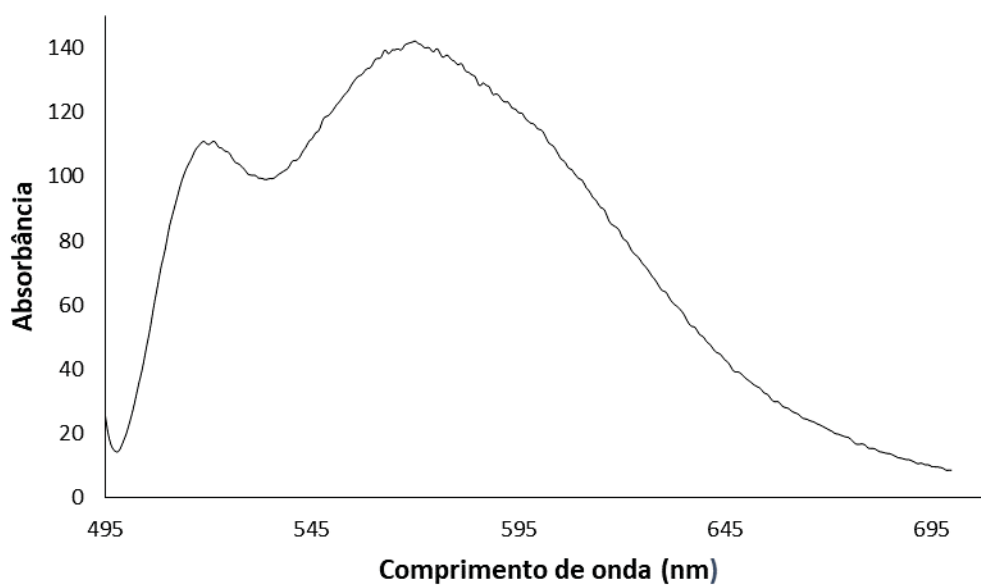


Figura 113 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY **31**

RMN de ^1H (DMSO_{d_6}) δ 9,20 (2H, *m*-piridil); 8,40 (2H, *o*-piridil); 6,28 (2H, posições 2 e 6); 4,47 (3H, CH_3); 2,28 (6H, CH_2); 1,42 (6H, CH_2)

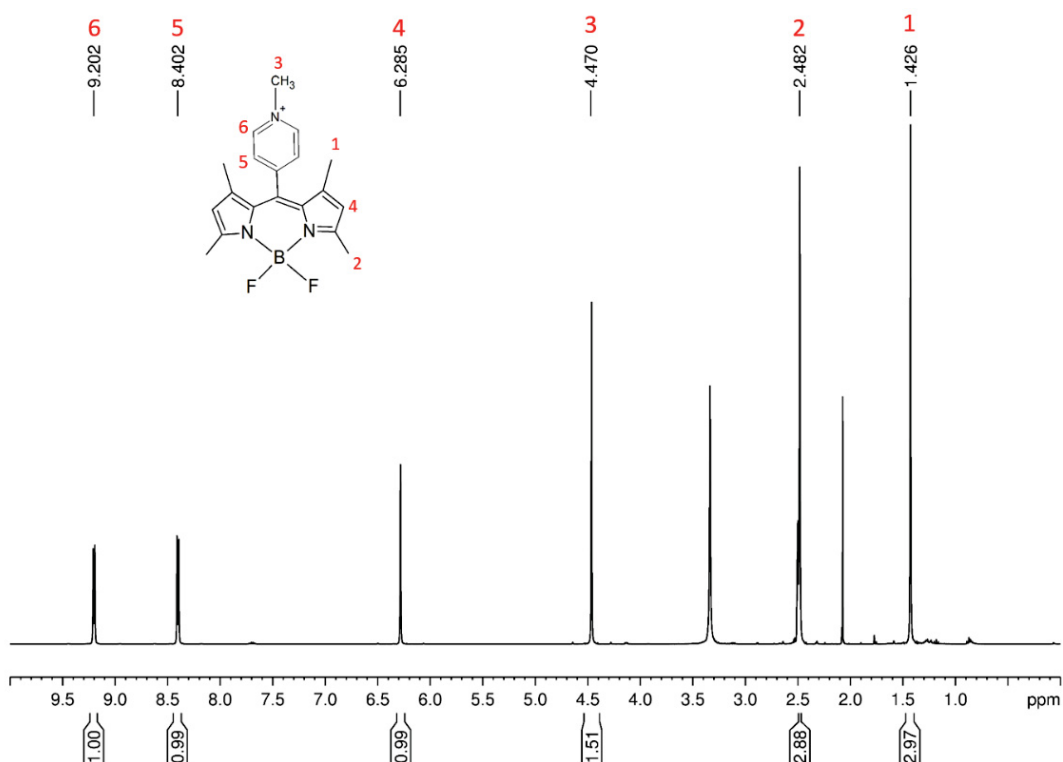
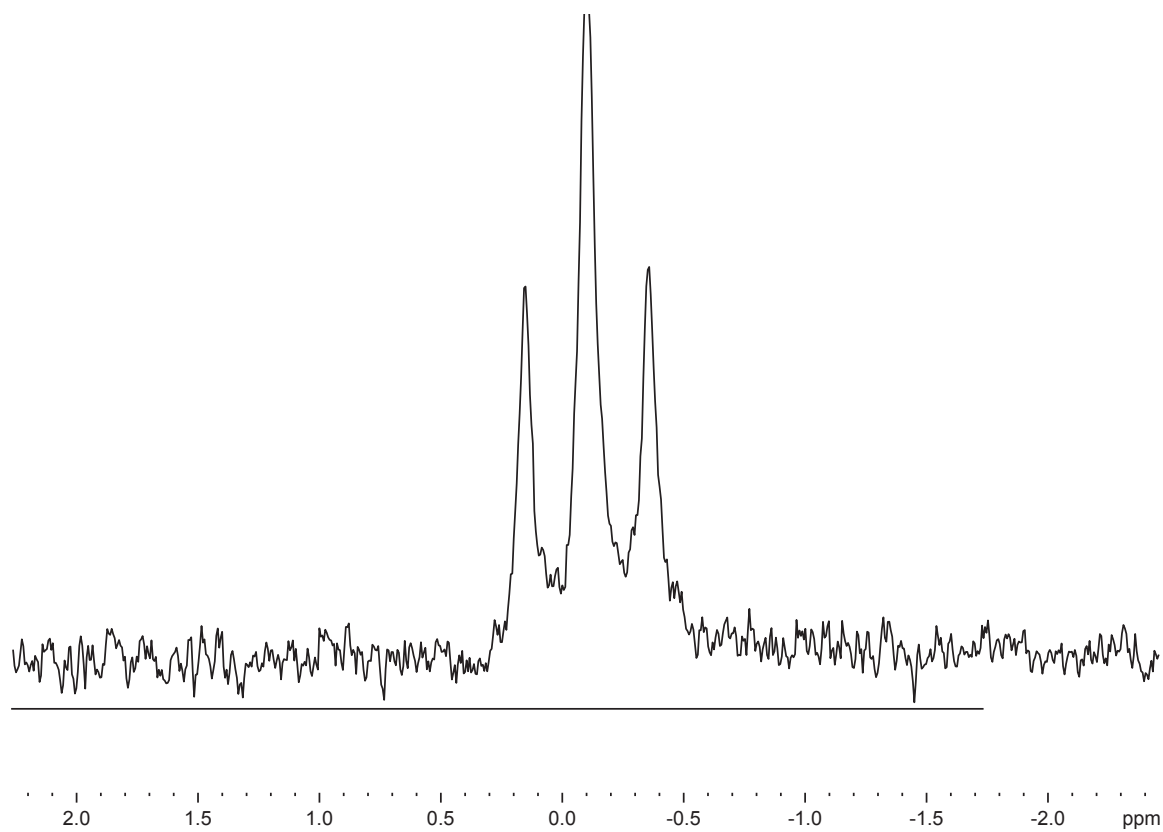


Figura 114 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY **31** em DMSO_{d_6} a 30°C, calibrado pelo solvente (400 MHz)

RMN de ^{11}B Figura 115 – Espectro de RMN de ^{11}B do BODIPY 31

ANEXO 21 - Caracterização do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-metilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (33**)**

Espectro de Massas

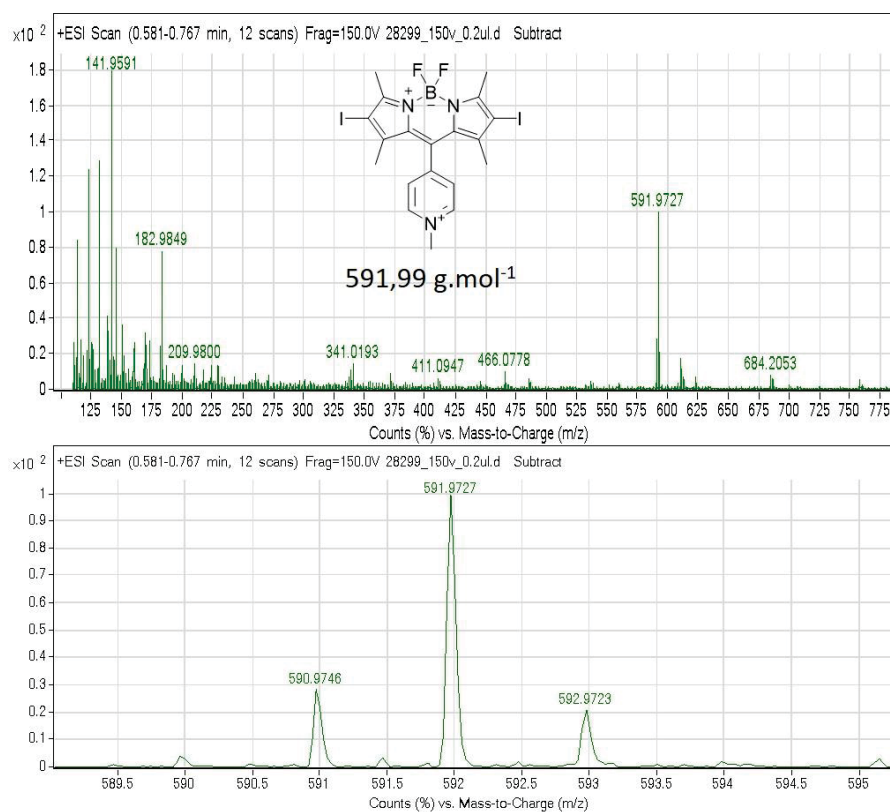


Figura 116 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY **33**

Espectro na região do UV-Vis

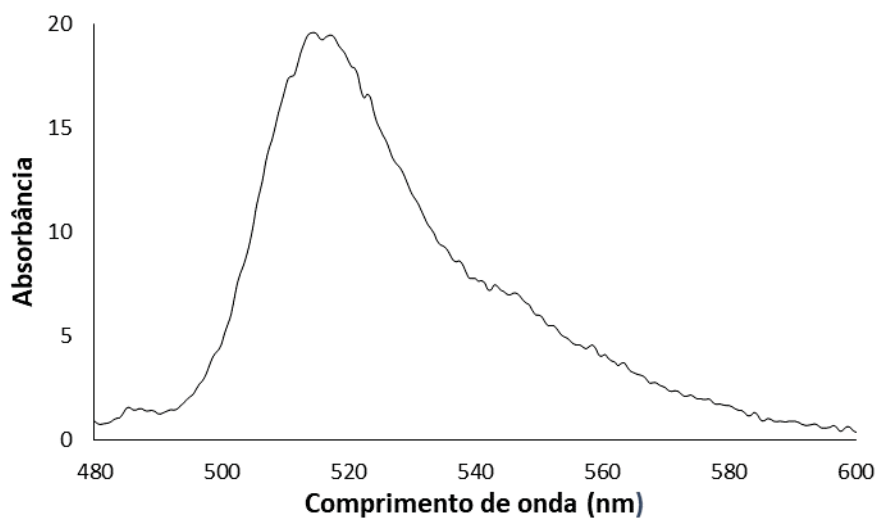


Figura 117 – Espectro de UV-Vis adquirido para o BODIPY **33** na concentração 12×10^{-5} mol. L⁻¹ em DMSO

Espectro de Fluorescência

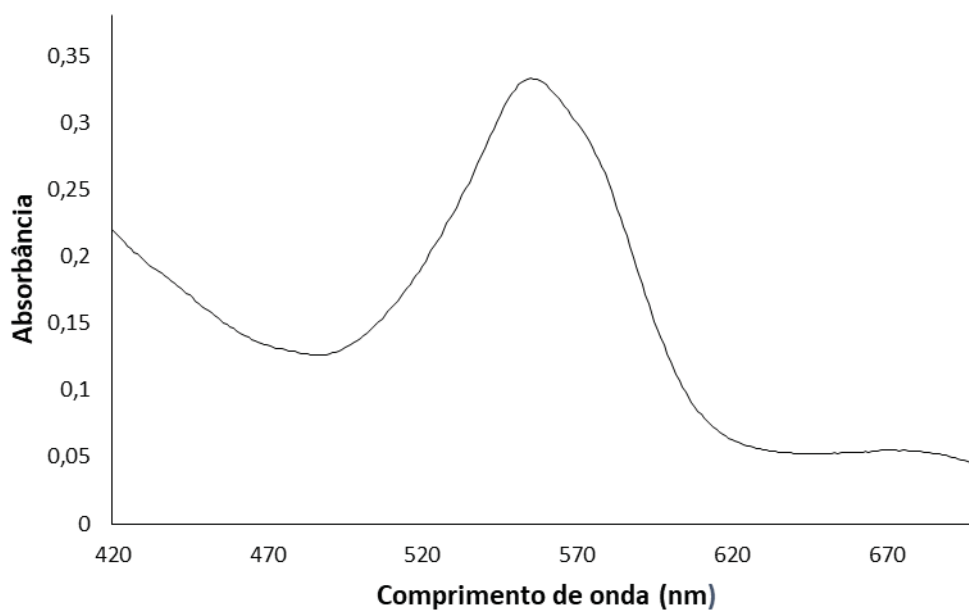


Figura 118 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY **33**

RMN de ^1H (DMSO_{d_6}) δ 9,28 (2H, *m*-piridil); 8,43 (2H, *o*-piridil); 4,49 (3H, CH_3); 2,58 (6H, CH_3); 1,43 (6H, CH_3)

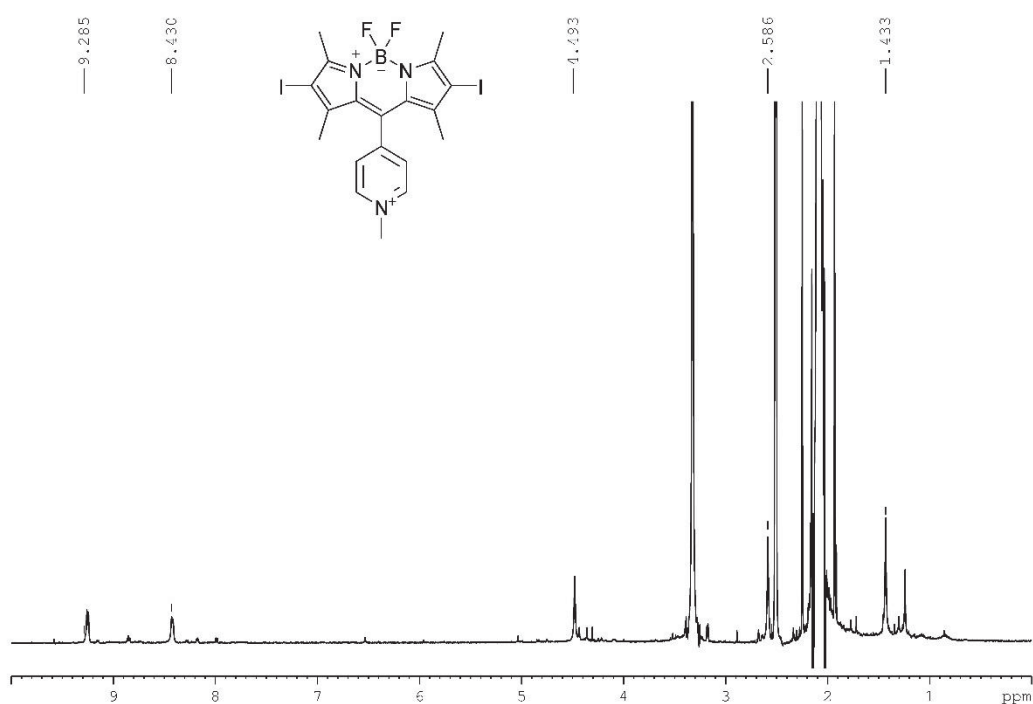


Figura 119 – Espectro de RMN de ^1H do BODIPY **33** em DMSO_{d_6} a 30°C , calibrado pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 22 - Caracterização do 4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (32)

Espectro de Massas

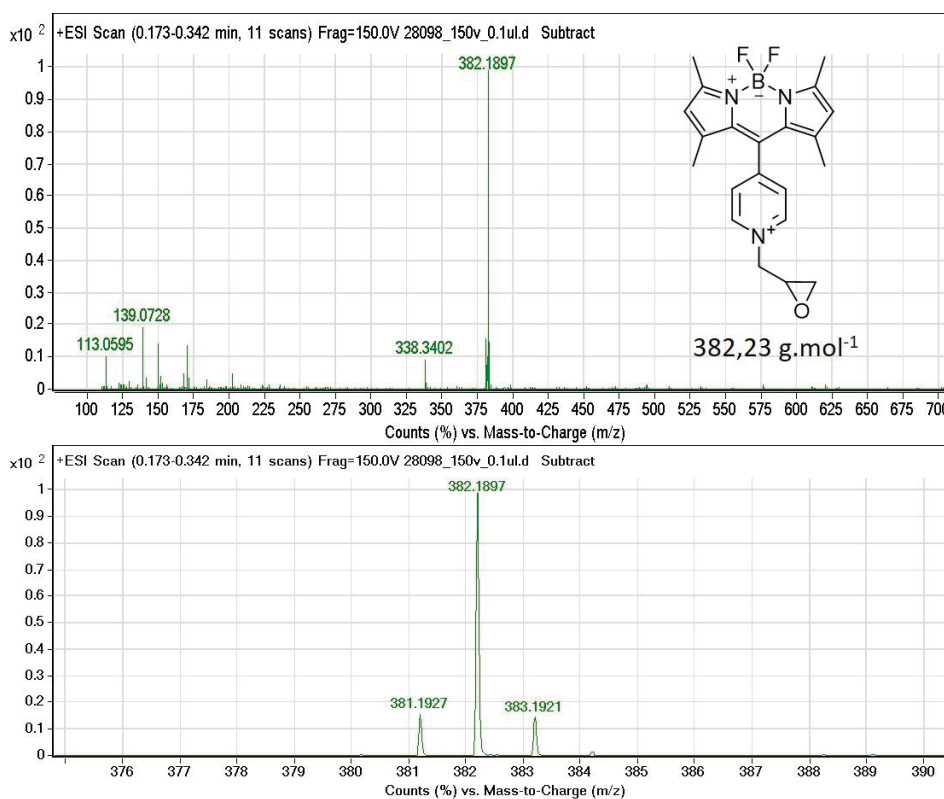


Figura 120 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY 32

Espectro na região do UV-Vis

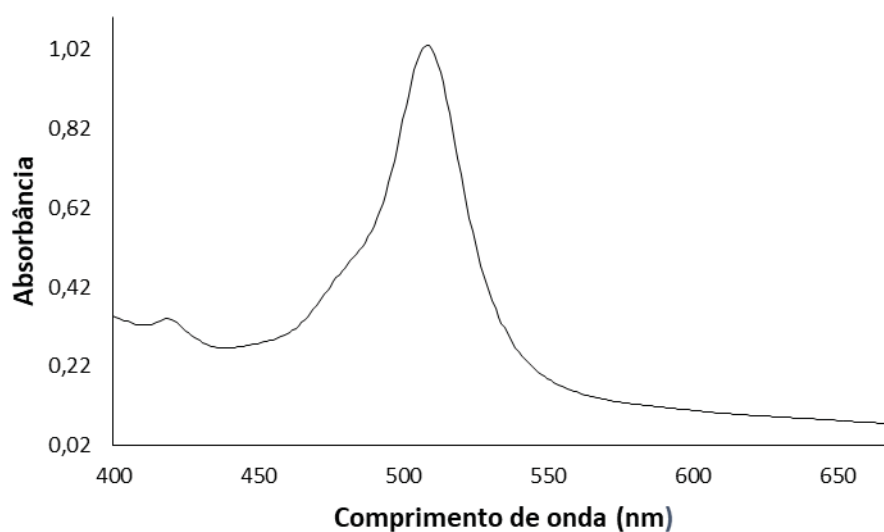


Figura 121 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o BODIPY 32 na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Fluorescência

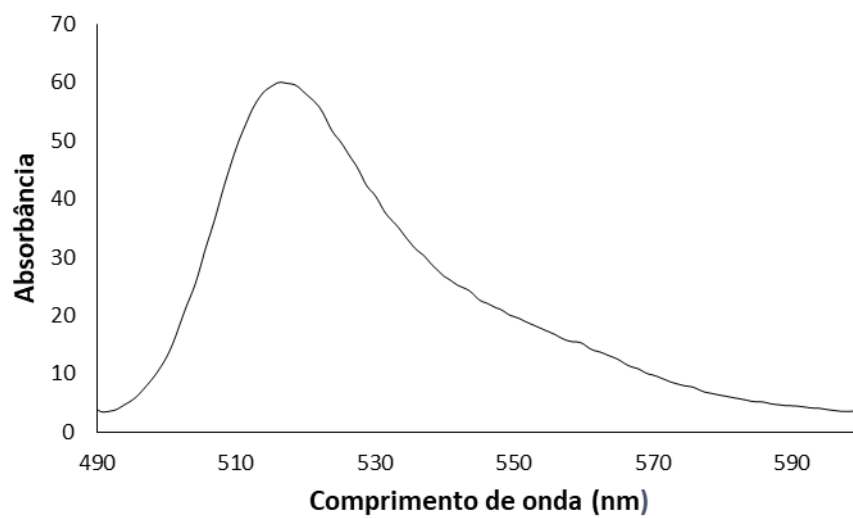


Figura 122 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 32

ANEXO 23 - Caracterização do 4,4-difluoro-2,6-di-iodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(1-epoximetilpiridínio-4-il)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno (34**)**

Espectro de Massas

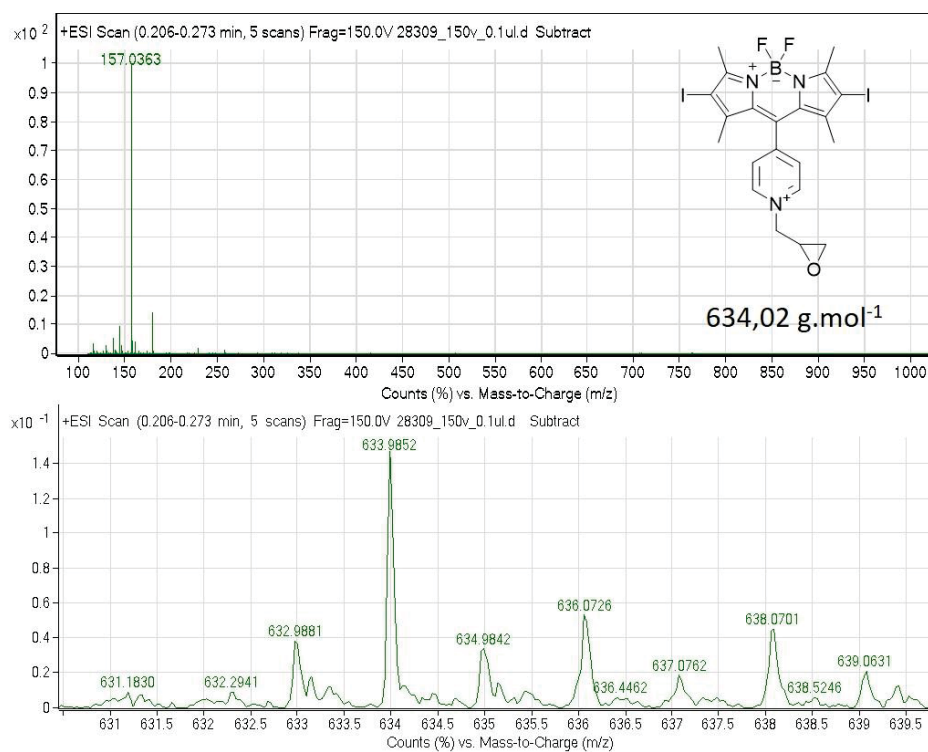


Figura 123 – Espectro de massas adquirido para o BODIPY **34**

Espectro na região do UV-Vis

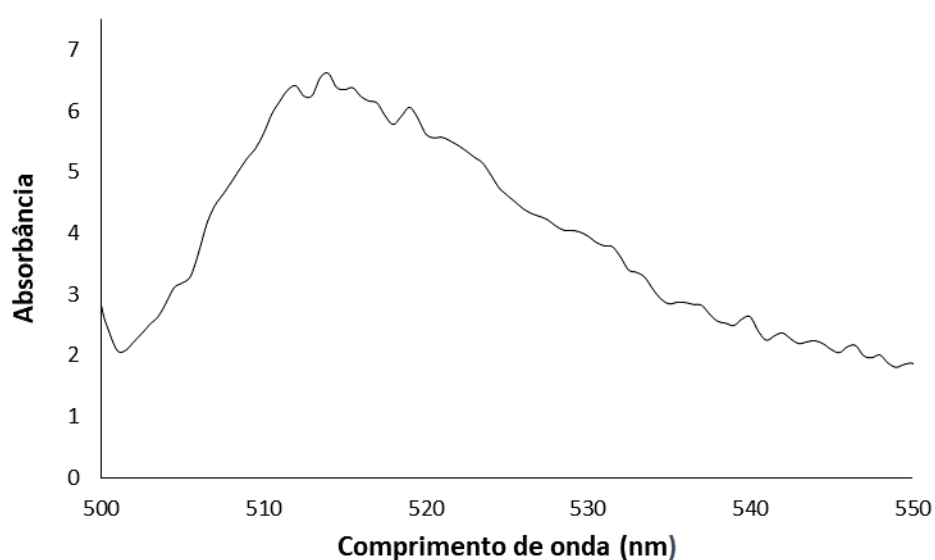


Figura 124 – Espectro a região do UV-Vis adquirido para o BODIPY **34** na concentração $12 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em DMSO

Espectro de Fluorescência

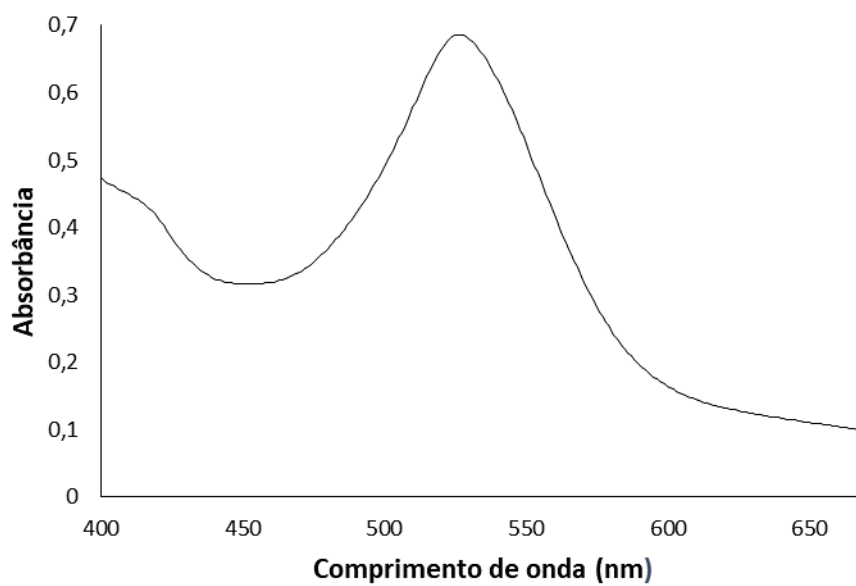


Figura 125 – Espectro de fluorescência adquirido para o BODIPY 34

ANEXO 24 - Caracterização da agarose reduzida (23)

Espectro na região do Infravermelho

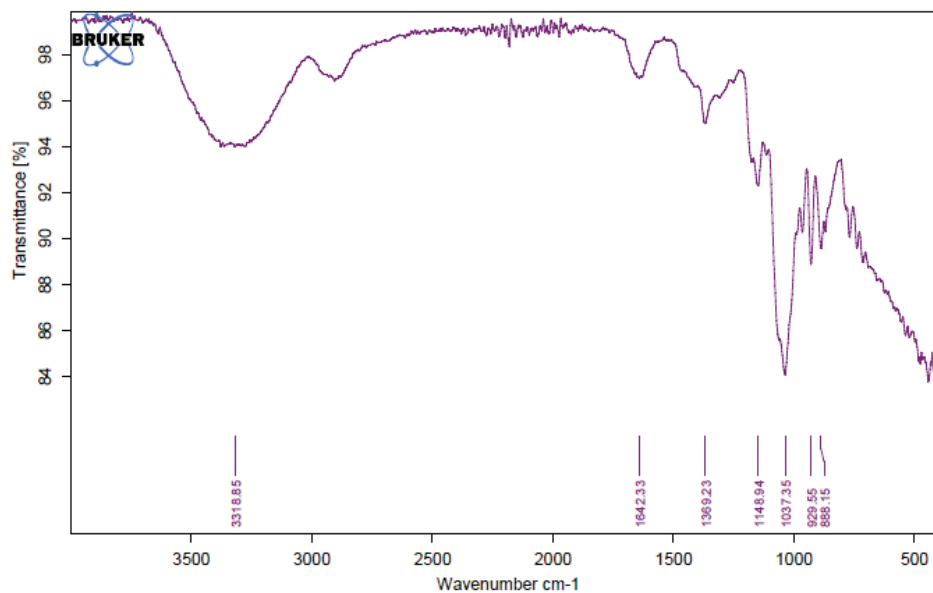


Figura 126 – Espectro na região do infravermelho adquirido para agarose reduzida por ATR

RMN de ^1H (DMSO_{d_6}) δ 5,27 (A1); 4,73 (A4); 4,54 (A5); 4,49 (G1); 4,40 (A3); 4,09 (A6); 4,01 (A2 e G4); 3,75 (G3 e G6); 3,63 (G5 e G2)

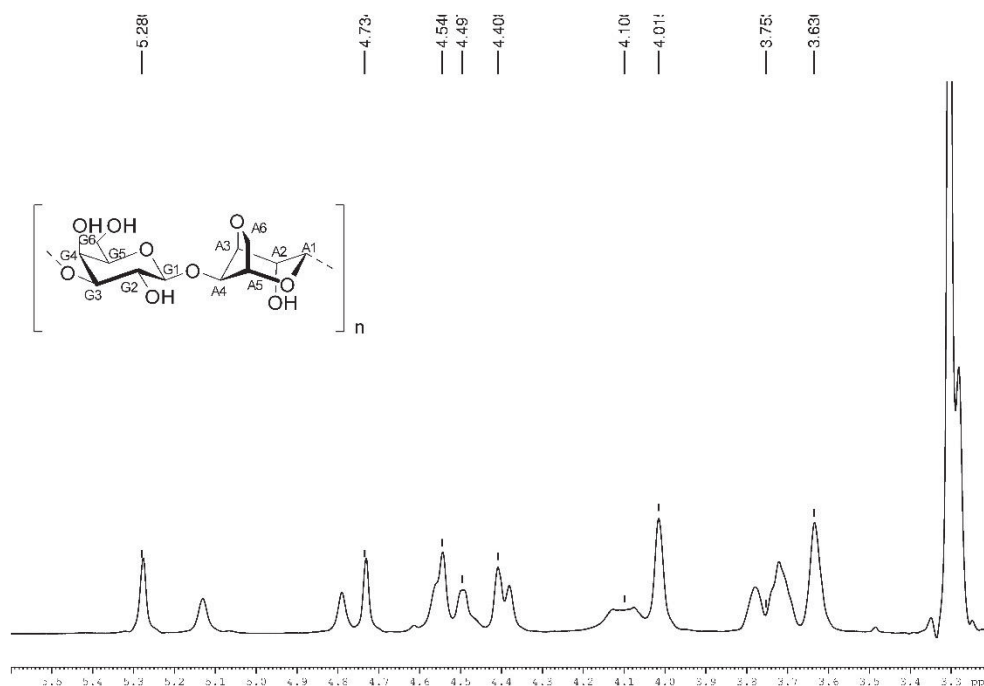


Figura 127 – Espectro de ^1H RMN da agarose reduzida em DMSO_{d_6} 70°C , calibrado em 2,69 ppm pelo solvente (400 MHz)

Espectro de HSQC

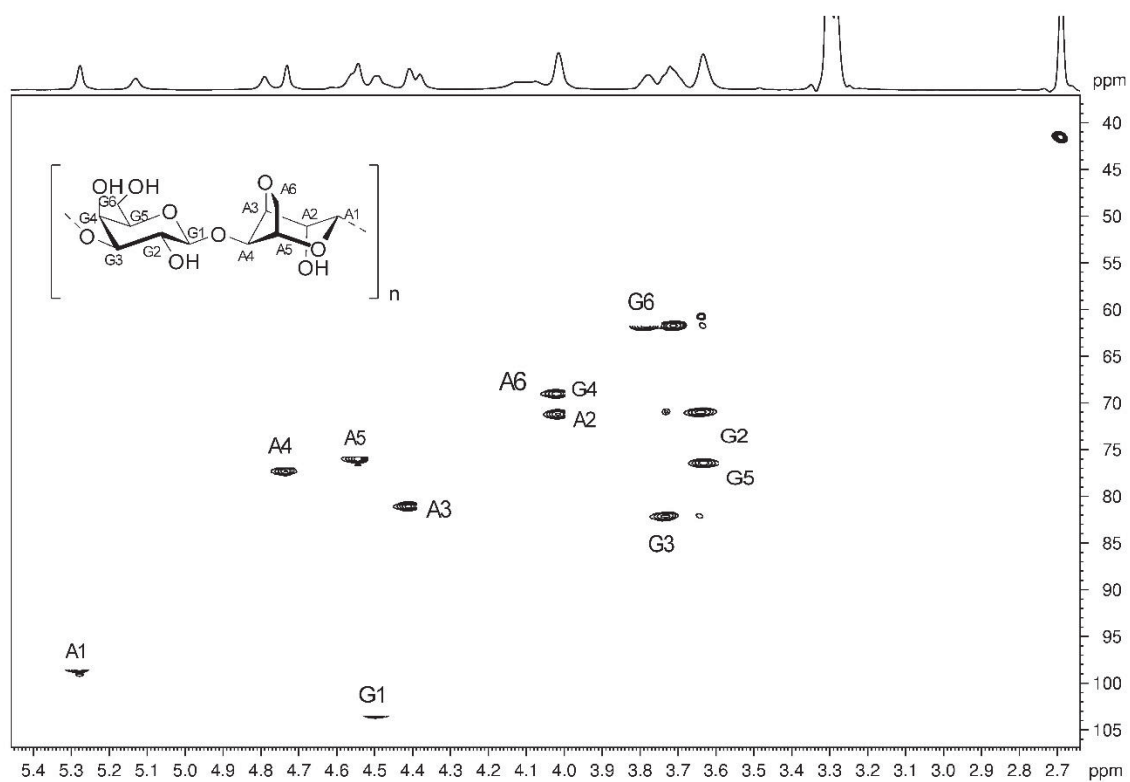


Figura 128 – Espectro de HSQC da agarose reduzida em DMSO-d_6 70°C , calibrado em 2,69/41,53 ppm pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 25 - Caracterização da *kappa*-carragenana (24)

Espectro na região do Infravermelho

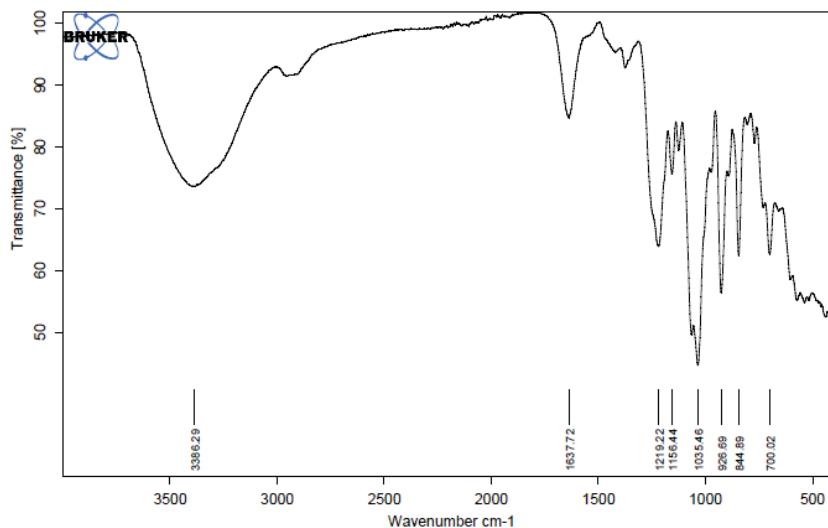


Figura 129 – Espectro na região do infravermelho adquirido para *kappa*-carragenana por ATR

RMN de ^1H (D_2O) δ 5,10 (DA1); 4,83 (G4S4); 4,64 (DA5 e G4S1); 4,61 (DA4); 4,52 (DA3); 4,20 (DA6); 4,14 (DA2); 4,06 (DA6); 3,97 (G4S3); 3,81 (G4S6); 3,60 (G4S2)

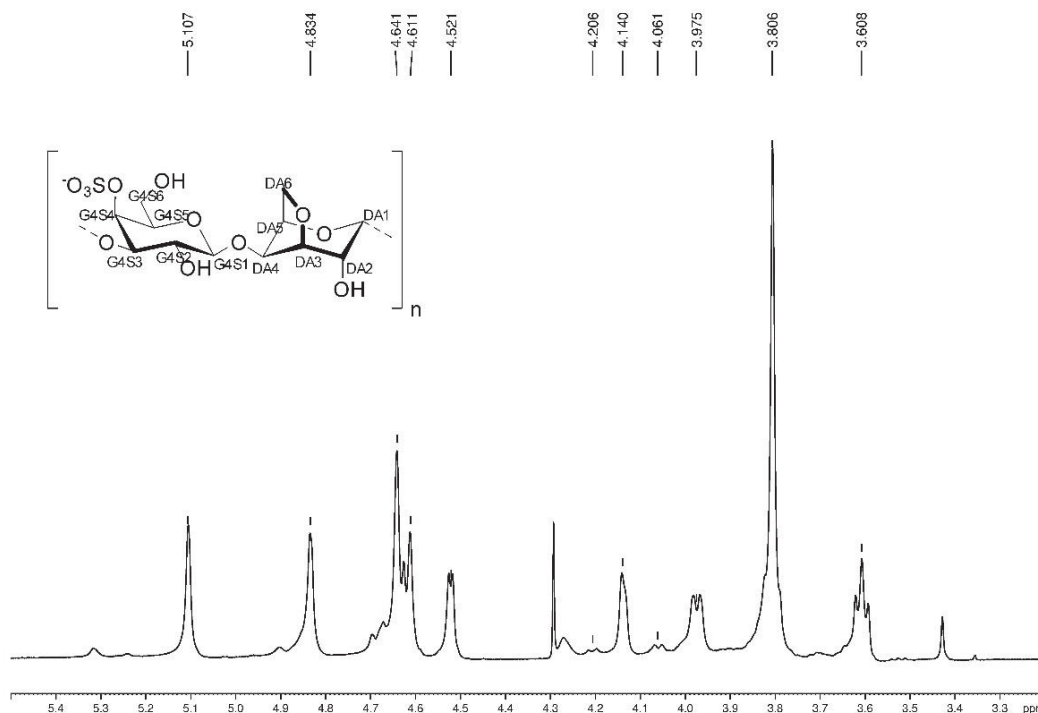


Figura 130 – Espectro de ^1H RMN da *kappa*-carragenana em D_2O 70°C , calibrado em 2,224 ppm pelo solvente (400 MHz)

Espectro de HSQC

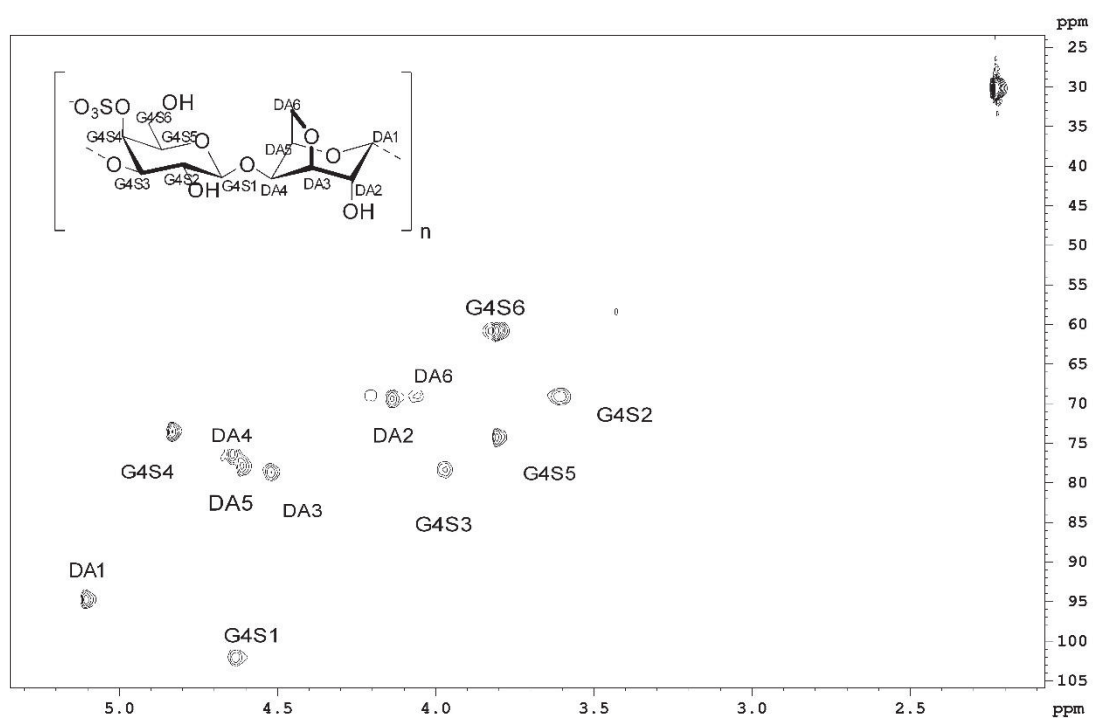


Figura 131 – Espectro de HSQC da agarose reduzida em D₂O 70°C, calibrado em 2,224/30,2 ppm pelo solvente (400 MHz)

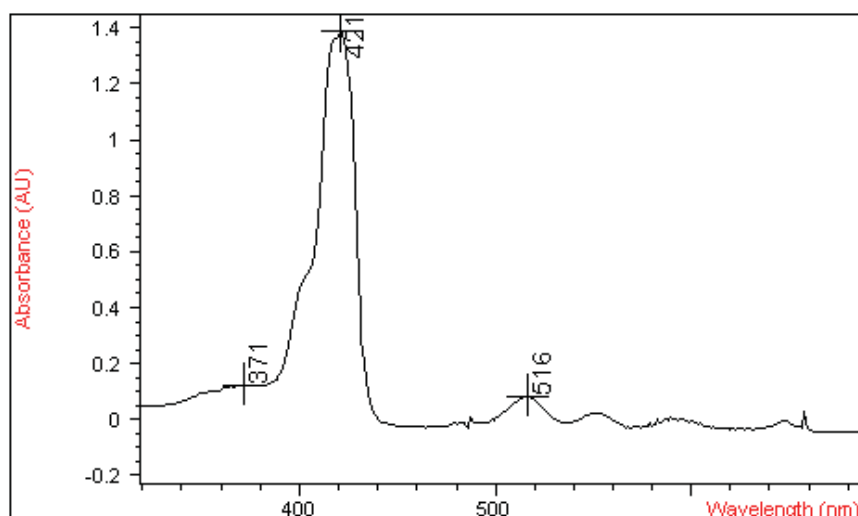
ANEXO 26 - Caracterização do polímero agarose - porfirina (36)**Espectro na região do UV-Vis**

Figura 132 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o polímero agarose-porfirina **36** na concentração 12 mmol.L^{-1} em DMSO

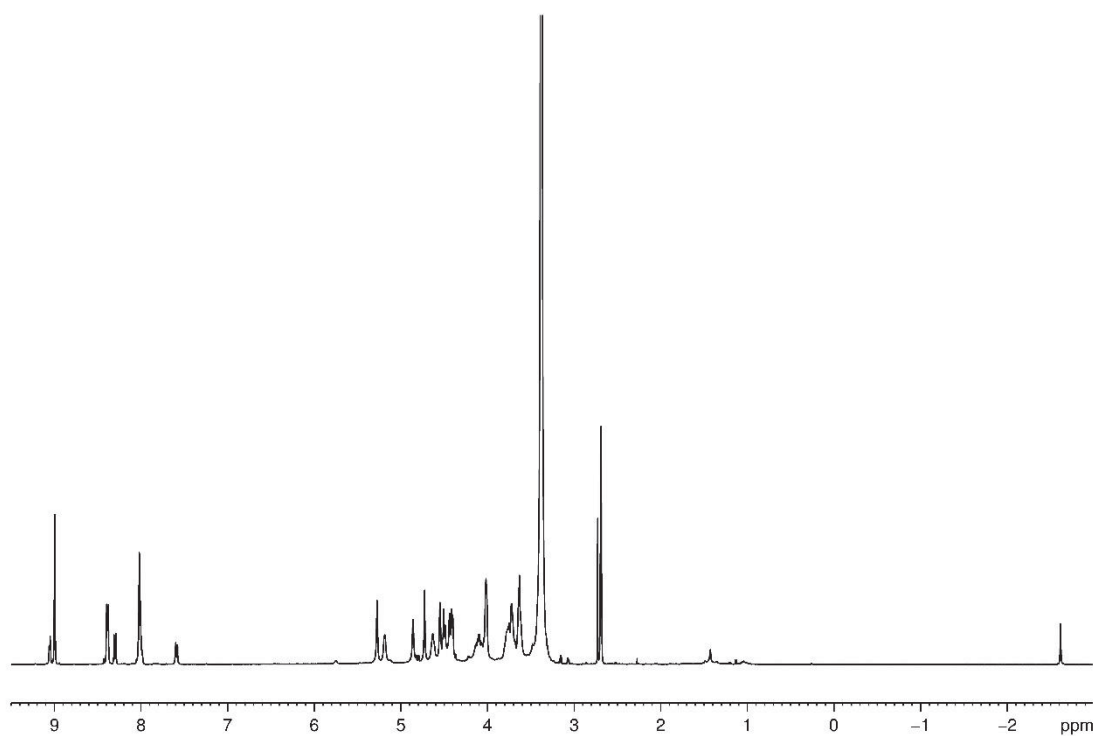
RMN de ^1H 

Figura 133 – Espectro de ^1H RMN do polímero agarose-porfirina em DMSO_{d6} a 70°C , calibrado em 2,69 ppm pelo solvente (400 MHz)

Espectro de HSQC

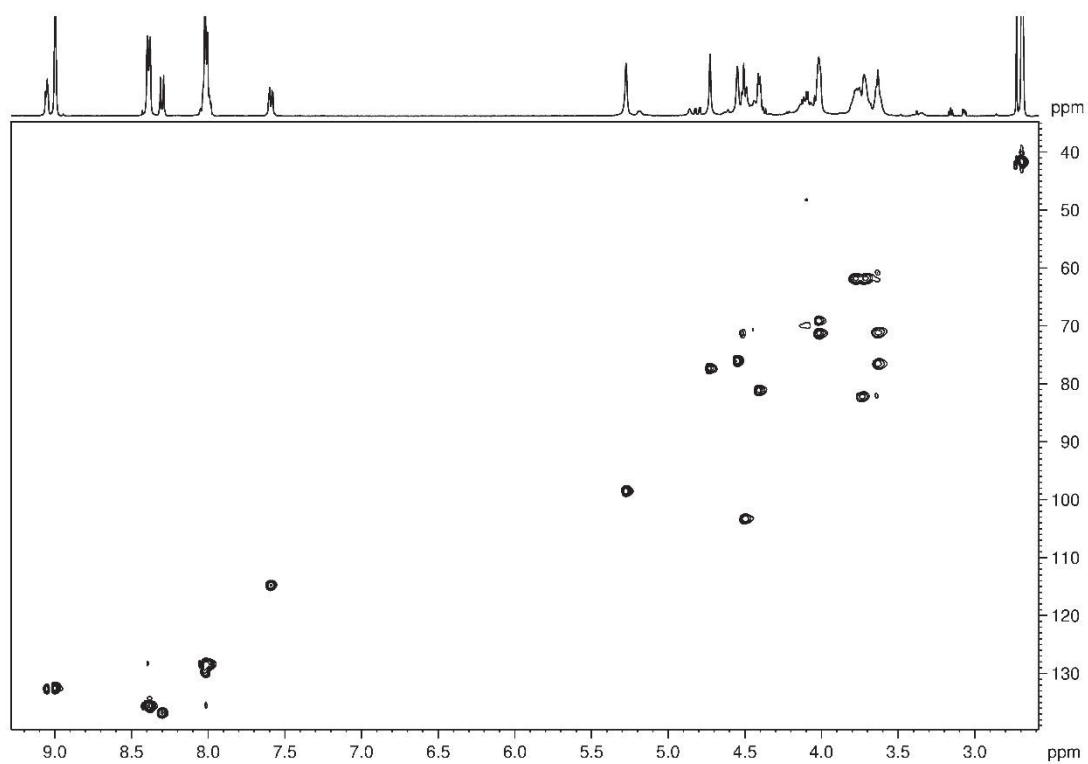


Figura 134 – Espectro de HSQC do polímero agarose-porfirina em DMSO-d_6 a 70°C , calibrado em 2,69/41,53 ppm pelo solvente (400 MHz)

ANEXO 27 - Caracterização do polímero *kappa*-carragenana - porfirina (38)

Espectro na região do UV-Vis

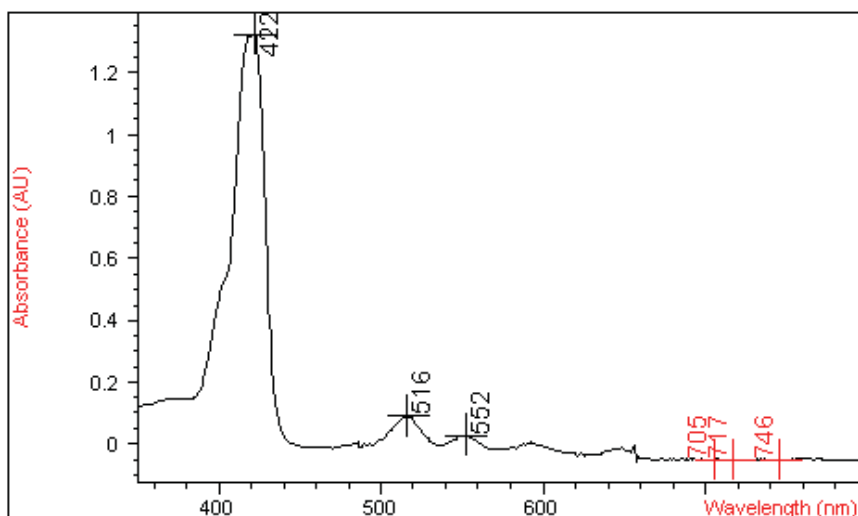


Figura 135 – Espectro na região do UV-Vis adquirido para o polímero *kappa*-carragenana-porfirina **38** na concentração 12 mmol.L^{-1} em DMSO

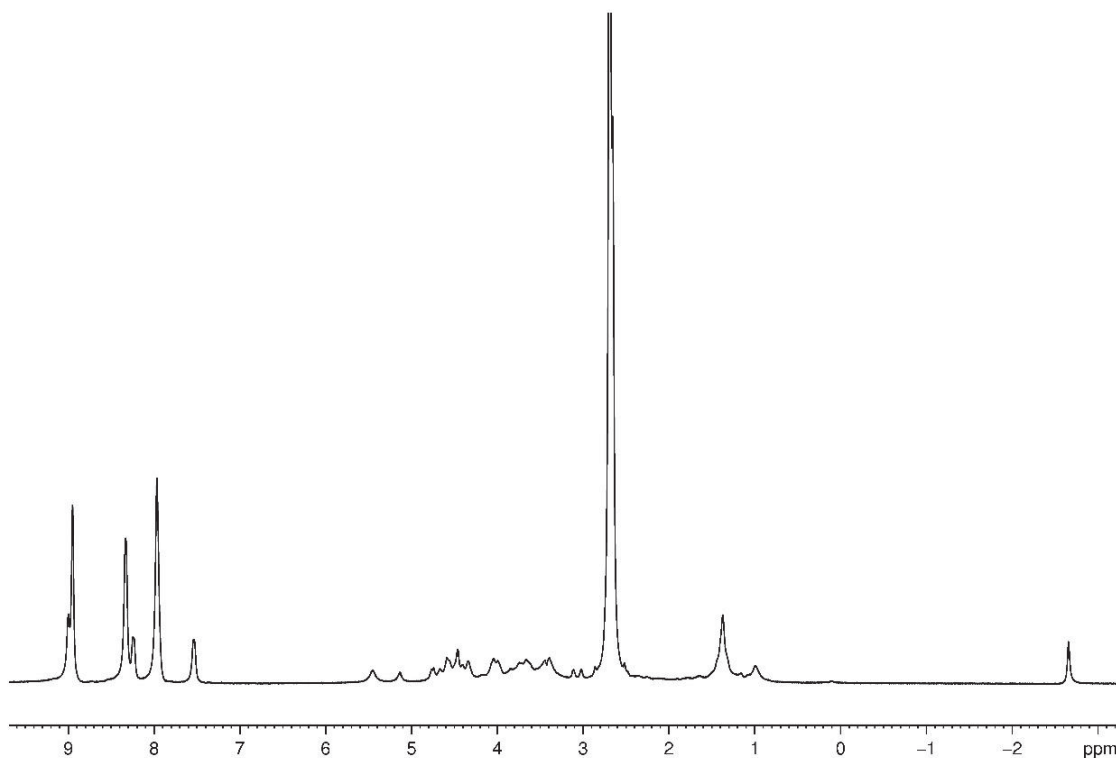
RMN de ^1H 

Figura 136 – Espectro de ^1H RMN do polímero *kappa*-carragenana-porfirina em DMSO_{d6} a 70°C , calibrado em 2,69 ppm pelo solvente (400 MHz)

Espectro de HSQC

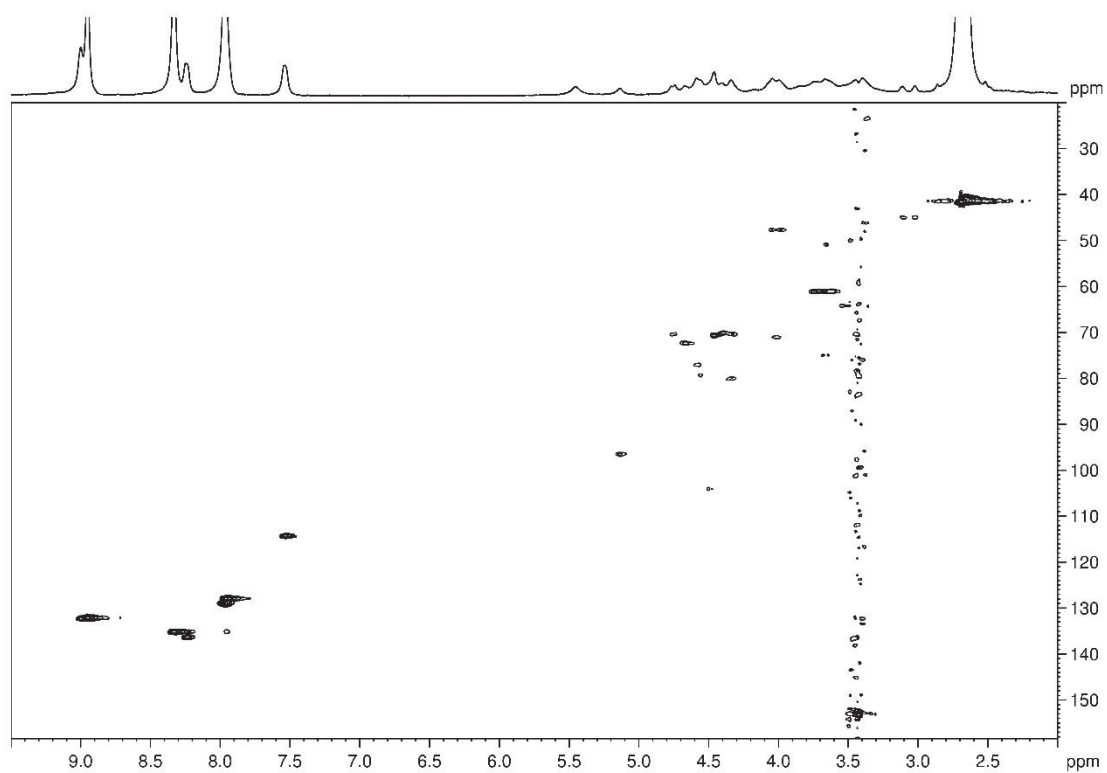


Figura 137 – Espectro de HSQC do polímero *kappa*-carragenana-porfirina em $\text{DMSO}_{\text{d}6}$ a 70°C , calibrado em 2,69/41,53 ppm pelo solvente (400 MHz)

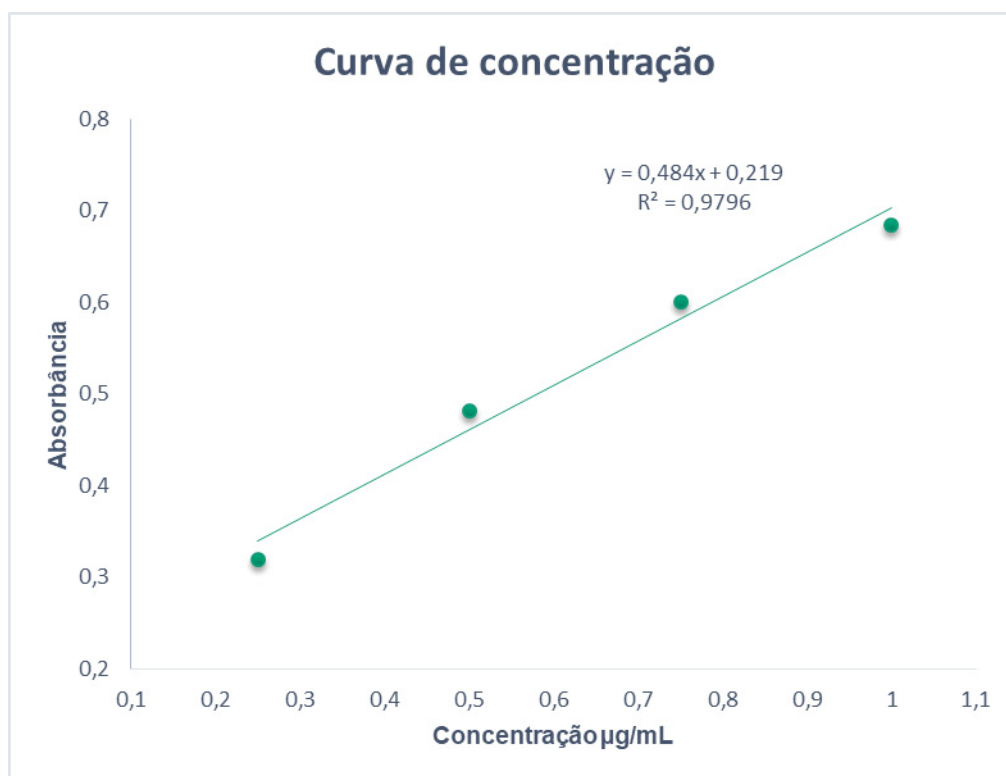
ANEXO 28 - Curva de concentração da porfirina 7

Figura 138 – Curva de concentração da porfirina 7 em 416 nm em DMSO