

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

PATRÍCIA SALVADOR TESSARO

**ATIVIDADE DE COMPOSTOS PORFIRÍNICOS COMO CATALISADORES NA
OXIDAÇÃO DE CARVACROL E COMO POTENCIAIS AGENTES
LEISHMANICIDAS**

Belo Horizonte
2023

UFMG/ICEX/DQ. 1.534

T. 699

Patrícia Salvador Tessaro

**ATIVIDADE DE COMPOSTOS PORFIRÍNICOS COMO CATALISADORES NA
OXIDAÇÃO DE CARVACROL E COMO POTENCIAIS AGENTES
LEISHMANICIDAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito para a obtenção do grau de Doutora em Ciências - Química.

Orientador: Prof. Dr. Gilson de Freitas Silva
Coorientadora: Profa. Dra. Dayse Carvalho da Silva Martins

Belo Horizonte

2023

Ficha Catalográfica

T338a
2023
T Tessaro, Patrícia Salvador.
Atividade de compostos porfirínicos como catalisadores na oxidação de carvacrol e como potenciais agentes leishmanicidas [manuscrito] / Patrícia Salvador Tessaro. 2023. 184 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Gilson de Freitas Silva.
Coorientadora: Dayse Carvalho da Silva Martins.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.

Bibliografia: f. 146-161.

Apêndices: f. 162-184.

1. Química inorgânica – Teses. 2. Química bioinorgânica – Teses. 3. Porfirina e compostos de porfirina – Teses. 4. Antimônio – Teses. 5. Leishmaniose – Teses. 6. Catálise – Teses. 7. Polimerização – Teses. 8. Reação de oxidação-redução – Teses. 9. Análise espectral – Teses. 10. Ressonância magnética nuclear – Teses. 11. Espectrometria de massa – Teses. I. Silva, Gilson de Freitas, Orientador. II. Martins, Dayse Carvalho da Silva, Coorientadora. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**"Compostos Porfirínicos como Catalisadores na Oxidação de Carvacrol e como Potenciais Agentes Leishmanicidas"****Patrícia Salvador Tessaro**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Gilson de Freitas Silva - Orientador
UFMGProfa. Dayse Carvalho da Silva Martins - Coorientadora
UFMGProfa. Renata Galvão de Lima
ICENP/UFUProfa. Maribel Coromoto Navarro Acosta
UFJFProfa. Leticia Regina de Souza Teixeira
UFMGProfa. Ana Paula de Carvalho Teixeira
UFMG

Belo Horizonte, 20 de março de 2023.

Documento assinado eletronicamente por **Maribel Coromoto Navarro Acosta, Usuária Externa**, em 21/03/2023, às 14:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Gilson de Freitas Silva, Professor do Magistério Superior**, em 21/03/2023, às 19:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Leticia Regina de Souza Teixeira, Professora do Magistério Superior**, em 21/03/2023, às 19:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula de Carvalho Teixeira, Professora do Magistério Superior**, em 22/03/2023, às 08:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).Documento assinado eletronicamente por **Dayse Carvalho da Silva Martins, Professora do Magistério Superior**, em 22/03/2023, às 09:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Galvão de Lima, Usuário Externo**, em 22/03/2023, às 15:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2164109** e o código CRC **ECBB6C8E**.

Referência: Processo nº 23072.214988/2023-49

SEI nº 2164109

Criado por [acbeltrao](#), versão 2 por [acbeltrao](#) em 21/03/2023 14:13:33.

**Dedico este trabalho aos meus pais, Reni e Zelir,
que são as duas pessoas mais importantes da
minha vida.**

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por sempre me guiar em cada escolha e caminho.

Aos meus pais **Zelir** e **Reni**, que sempre me incentivaram ao estudo e por proporcionar os meios para que conseguisse chegar aonde estou. Agradeço aos meus irmãos e todos os familiares que, de alguma forma, me apoiaram durante esses anos.

Gustavo, que sorte ter você como meu namorado. Obrigada pela paciência, amor e confiança demonstrada em todo o caminho que já percorremos juntos. Tenho sorte de ter um companheiro que sempre acredita na minha capacidade e me incentiva a sempre continuar.

Ana Clara, agradeço todos os dias por você ter nascido. Um ser tão pequeno, que consegue proporcionar alegria, força e amor, tornando minha vida mais leve.

Ao meu orientador, professor **Gilson**, obrigada por me aceitar como sua orientanda, mesmo não me conhecendo; aceitou mesmo que eu nunca tenha trabalhado com porfirinas. Obrigada pela dedicação e disponibilidade em me orientar durante esses quatro anos de pesquisa. Os ensinamentos, o suporte e as risadas foram essenciais para chegar até aqui.

À minha coorientadora **Dayse**, pela orientação, dedicação, ensinamentos, paciência e amizade. Também agradeço por toda a confiança depositada em mim, mesmo quando eu mesma duvidava do meu potencial. Você é muito especial para mim.

Ao professor **Thiago** que sempre está presente para tirar dúvidas e por contar histórias do Japão. Obrigada pela paciência, ensinamentos e risadas.

Ao **Alexandre**, que me ensinou desde o início, me apoiou e se tornou uma das pessoas mais especiais que conheci. Muito obrigado por todos os momentos que compartilhamos, pelo companheirismo e amizade.

Agradeço, em especial, a algumas pessoas que me acompanharam nessa trajetória: **Alexandre, Nathany, Keren, Aline Capelão, Michelle, Leandro** e **Ana Luísa**. Os meus dias no laboratório foram muito mais leves com a presença de vocês. Obrigada pelas risadas, conversas, festas e loucuras. Não tenho palavras para descrever a importância de vocês na minha vida.

Aos meus colegas e amigos de laboratório: Aline Vaz, Ana Flávia, Iasmin, Miguel, Rodrigo, Jonas, Abner, Carol, Pedro, Caio, Rafael, além dos já citados, Alexandre, Nathany, Gilson, Dayse, Thiago, pela convivência e diversão.

À banca do exame de qualificação, pela contribuição e o voto de confiança para que eu pudesse continuar o meu projeto de pesquisa.

Ao professor Dr. **Frédéric Frezard** (ICB), doutoranda **Ana Carolina Borges de Oliveira** (ICB) pela colaboração nos estudos biológicos.

À professora **Patrícia Patrício** (CEFET-MG) pela colaboração na caracterização do polímero.

Ao **CNPq** por ter me proporcionado a bolsa durante todo o doutorado e aos órgãos de fomento pelo apoio financeiro para execução deste projeto.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Química.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da UFMG.

Aos professores do Departamento de Química.

**“É preferível afrontar o mundo, servindo a sua consciência,
do que afrontar a sua consciência para ser agradável ao
mundo.”
(Humberto de Campos)**

RESUMO

Os compostos porfirínicos são essenciais para a vida na Terra e desempenham diversas atividades biológicas em sistemas *in vivo*. Desta forma, compostos sintéticos bioinspirados aliados à química dos íons antimônio(V) e manganês(III) podem representar excelentes candidatos a fármacos no combate à leishmaniose e na aplicação como catalisadores em reações de oxidação, respectivamente. Neste trabalho, os compostos porfirínicos $H_2T245TMPP$, $[Mn^{III}Cl(TPP)]$, $[Mn^{III}Cl(T245TMPP)]$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ foram sintetizados e caracterizados por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-VIS), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H , exceto o complexo de manganês), espectrometria de massas e análise elementar. Estas técnicas permitiram confirmar a obtenção dos compostos de interesse.

No que se refere aos estudos de catálise, os complexos de manganês foram usados em reações de oxidação de carvacrol, em presença dos oxidantes $PhIO$ e $PhI(OAc)_2$, nos solventes carbonato de dimetila, diclorometano e acetato de etila. De maneira geral, a conversão do carvacrol ficou na faixa de 93-100%. Os sistemas com $PhI(OAc)_2$ e carbonato de dimetila, solvente considerado verde, apresentaram maiores valores de conversão do carvacrol. A timoquinona, produto exclusivamente formado em outros sistemas descritos na literatura, foi obtida com baixos rendimentos (menores que 8%), sendo o produto majoritário nos sistemas estudados um polímero de carvacrol. Por meio dos experimentos realizados, comprovou-se que a reação de polimerização do carvacrol é dependente do catalisador metaloporfirínico, do oxidante e que possivelmente essa reação ocorre por mecanismo radicalar. Foram avaliadas a eficiência de reuso de catalisadores porfirínicos em uma sequência de quatro ciclos, nos três solventes, na presença do oxidante $PhI(OAc)_2$.

As porfirinas base livres e os complexos de antimônio tiveram sua atividade leishmanicida avaliada contra formas promastigotas e amastigotas da espécie *Leishmania braziliensis*. Nos ensaios com a forma promastigota, o complexo inédito $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ mostrou maior atividade leishmanicida, quando comparada aos outros compostos. Entretanto, nos ensaios com a forma amastigota, as porfirinas $H_2T245TMPP$ e $H_2T35DMPP$ apresentaram maior toxicidade ao parasita, com os menores valores de concentração inibitória de 50% (CI_{50}). Comparando-se os valores de CI_{50} dos compostos estudados com aquele descrito para a Miltefosina, fármaco de referência, eles apresentaram maior toxicidade para a forma amastigota da mesma espécie e menor citotoxicidade para os macrófagos (células saudáveis).

Testes de oxirredução foram feitos para as porfirinas de antimônio(V) na presença de alvos biológicos, GSH e L-cisteína, para verificar uma possível redução dos complexos por essas biomoléculas. Os testes foram monitorados por meio de espectroscopia de absorção na região do UV-VIS, e se constatou que não ocorreu redução de antimônio(V) para antimônio(III), o que permite descartar a ocorrência um mecanismo de ação leishmanicida por redução do íon $Sb(V)$, como proposto para outros compostos.

Os mesmos compostos utilizados nos estudos de determinação da atividade leishmanicida, foram avaliadas quanto à interação com ácido desoxirribonucleico (ADN) do esperma de salmão, por meio de espectroscopia de absorção na região do UV-VIS, dicróismo circular e de emissão de fluorescência. As variações espectrais foram observadas e as constantes de ligação intrínseca, de supressão e cinética de supressão de Stern-Volmer foram calculadas para todos os compostos. Os resultados dos ensaios de interação porfirina-ADN apontam para um modo de interação por via externa ou intercalação parcial entre as bases nitrogenadas.

Palavras-chave: Porfirina. Leishmaniose. Porfirina de antimônio(V). Doenças negligenciadas. Oxidação do carvacrol. Porfirina de manganês(III). Polimerização.

ABSTRACT

Porphyrin compounds are essential for life on Earth and perform diverse biological activities in *in vivo* systems. Thus, bioinspired synthetic compounds combined with the chemistry of antimony(V) and manganese(III) ions may represent excellent candidates for drugs in the fight against leishmaniasis and in their application as catalysts in oxidation reactions, respectively. In this work, the porphyrin compounds $H_2T245TMPP$, $[Mn^{III}Cl(TPP)]$, $[Mn^{III}Cl(T245TMPP)]$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ and $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ were synthesized and characterized by absorption spectroscopy in the ultraviolet-(UV-VIS), hydrogen nuclear magnetic resonance (^1H NMR, except manganese complex), mass spectrometry and elemental analysis. These techniques allowed for confirming the obtaining of the compounds of interest.

About catalysis studies, manganese complexes were used in carvacrol oxidation reactions, in the presence of $PhIO$ and $PhI(OAc)_2$ oxidants, in dimethyl carbonate, dichloromethane, and ethyl acetate solvents. Overall, carvacrol conversion was in the range of 93-100%. Systems with $PhI(OAc)_2$ and dimethyl carbonate, a green solvent, showed higher carvacrol conversion values. Thymoquinone, a product exclusively formed in other systems described in the literature, was obtained with low yields (less than 8%), the major product in the studied systems being a polymer of carvacrol. Through the experiments, it was proved that the polymerization reaction of carvacrol is dependent on the metalloporphyrin catalyst, the oxidant, and that this reaction possibly occurs by a radical mechanism. The reuse efficiency of porphyrin catalysts was evaluated in a sequence of four cycles, in the three solvents, in the presence of the oxidant $PhI(OAc)_2$.

Free-base porphyrins and antimony complexes had their leishmanicidal activity evaluated against promastigotes and amastigotes of the species *Leishmania braziliensis*. In tests with the promastigote form, the novel porphyrin $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ showed greater leishmanicidal activity when compared to the other compounds. However, in the tests with the amastigote form, the porphyrins $H_2T245TMPP$ and $H_2T35DMPP$ showed greater toxicity to the parasite, with the lowest values of Inhibitory Concentration of 50% (IC_{50}). Comparing the IC_{50} values of the compounds studied with that described for Miltefosine, the reference drug, showed greater toxicity for the amastigote form of the same species and less cytotoxicity for macrophages (healthy cells).

Redox tests were performed for antimony(V) porphyrins in the presence of biological targets, GSH and L-cysteine, to verify a possible reduction of complexes by these biomolecules. The tests were monitored using absorption spectroscopy in the UV-VIS region, and it was found that there was no reduction of antimony(V) to antimony(III), which allows ruling out the occurrence of a mechanism of leishmanicidal action by reduction of the ion $Sb(V)$, as proposed for other compounds.

The same compounds used in the leishmanicidal studies were evaluated for their interaction with salmon sperm deoxyribonucleic acid (DNA) using absorption spectroscopy in the UV-VIS region, circular dichroism, and fluorescence emission. Spectral variations were observed and intrinsic binding constants, suppression constants and Stern-Volmer suppression kinetics were calculated for all compounds. The results of the porphyrin-DNA interaction assays point to an external pathway or partial intercalation mode between the nitrogenous bases.

Keywords: Porphyrin. Leishmaniasis. Antimony(V) porphyrin. Neglected diseases. Carvacrol oxidation. Manganese(III) porphyrin. Polymerization.

APRESENTAÇÃO

O meu primeiro contato com a química de compostos porfirínicos ocorreu ao ingressar no doutorado em química, para o qual precisei aprender sobre essa classe de compostos, que até o momento conhecia apenas pelo grupo heme presente no sangue. Aqui faço uma breve apresentação do conteúdo apresentado nesta tese.

No capítulo 1, eu introduzo o tema Porfirinas, justificando a partir das aplicações conhecidas, a escolha do tema. Ainda nesse capítulo, apresento os objetivos que me propus a alcançar ao final deste doutorado. No capítulo 2, apresento a parte experimental, contendo a descrição das atividades, os materiais, equipamentos e laboratórios que foram essenciais para que eu pudesse realizar esse trabalho.

No capítulo 3, procurei mostrar uma breve revisão das metodologias de sínteses das porfirinas base livre, das porfirinas de manganês(III) e, principalmente, das porfirinas de antimônio(V) que ainda são menos descritas na literatura. Em seguida apresento as caracterizações dos compostos porfirínicos preparados durante o desenvolvimento dessa tese.

Neste trabalho, foquei em duas vertentes de aplicação, a catálise e a atividade leishmanicida, que serão discutidas nos capítulos 4 e 5, respectivamente. No capítulo 4, apresento e discuto os estudos da atividade catalítica das porfirinas de manganês(III) nas reações de oxidação do carvacrol, o óleo essencial do orégano. Esse estudo resultou em uma colaboração com a professora Patrícia Santiago de Oliveira Patrício do Departamento de Química do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais e em um artigo publicado.

No capítulo 5, apresento e discuto os resultados dos estudos da atividade leishmanicida das porfirinas base livre e porfirinas de antimônio, que foram realizados em colaboração com a aluna de doutorado Ana Carolina Borges de Oliveira e o professor Frédéric Frézard do Laboratório de Biofísica de Sistemas Nanoestruturados, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia - ICB – UFMG. No capítulo 6, eu finalizo o meu trabalho com as considerações finais.

Destaco que os compostos apresentados neste trabalho mostram potencial para contribuir tanto para a área da catálise oxidativa do carvacrol utilizando um catalisador inédito para este substrato, quanto para a área da química bioinorgânica medicinal, sendo a segunda vertente o uso de porfirinas de antimônio para as doenças de leishmaniose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Macroциclo porfirínico, indicando (A) a numeração proposta pela IUPAC e IUB para nomenclatura, (B) metaloporfirina (M = centro metálico) identificando as posições em que podem ocorrer reações de substituição e (C) deslocalização eletrônica do macroциclo porfirínico.	29
Figura 2 – Estrutura cristalográfica do CP450 _{cam} e uma visualização ampliada do sítio ativo da enzima. Adaptado da RCSB Protein Data Bank. ¹⁰	30
Figura 3 – Representação de algumas das reações catalisadas pelos CP450 (RuP = porfirina de rutênio, FeP = porfirina de ferro, MnP = porfirina de manganês e SbP = porfirina de antimônio). ^{18,19,20,21}	31
Figura 4 – Aplicações das porfirinas base livre e metaloporfirinas na química bioinorgânica medicinal. ^{23,24,25,26,27,28,29,30,31}	32
Figura 5 – Esquema da síntese da H ₂ TPP segundo as condições reacionais estabelecidas pelos métodos de Rothemund ^{52,53} (Rota A), Adler-Longo ^{54,55} (Rota B) e Lindsey ⁵⁶ (Rota C).....	48
Figura 6 – Representação da reação de metalação de porfirinas base livre com Sb(III) ou Sb(V), segundo as condições reacionais estabelecidas pelos métodos de Treibs ⁵⁸ (Rota A), Buchler e Lay ⁶⁰ (Rota B), Barbour e colaboradores ⁶¹ (Rota C), Inoue e colaboradores ⁶² (Rota D) e Kadish e colaboradores ⁴⁰ (Rota E).....	50
Figura 7 – Representação da síntese da porfirina de manganês(III). Os solventes podem ser: clorofórmio/metanol ¹ , ácido acético/acetato ⁶⁵ ou N,N'-dimetilformamida. ⁶⁶	52
Figura 8 – Representação da reação de obtenção da porfirina base livre H ₂ T245TMPP, usando aquecimento por sistema de refluxo convencional ou micro-ondas.	53
Figura 9 – Metodologia tradicional empregada para obtenção de porfirinas em duas etapas de reação. ³⁴	53
Figura 10 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para a H ₂ T245TMPP, em CH ₂ Cl ₂	54
Figura 11 – Espectro de absorção na região do infravermelho da H ₂ T245TMPP. As análises foram realizadas em nujol. (Expansão da região entre 550-1650 cm ⁻¹ , no canto superior esquerdo da imagem).	55
Figura 12 – Espectro de RMN de ¹ H da porfirina H ₂ T245TMPP em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C. δ -2,57 (2H, s), δ 3,59-3,48 (12H, m, -OCH ₃ , <i>para</i>), δ 3,98-3,92 (12H, t, -OCH ₃ , <i>meta</i>), δ 4,20 (12H, s, -OCH ₃ , <i>orto</i>), δ 6,99 (4H, s, <i>meta</i> arila), δ 7,71-7,57 (4H, m, <i>orto</i> arila), δ 8,89-8,82 (8H, m, β-pirrólico).	56
Figura 13 – Estruturas de ressonância para os grupos metoxila nas posições (a) 2, (b) 4 e (c) 5 do grupo arila na posição <i>meso</i> do macroциclo porfirínico.	57
Figura 14 – Espectros de massas da H ₂ T245TMPP, obtido experimentalmente (MALDI-TOF, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila em modo positivo) e simulado pelo software <i>ChemCalc</i> (espectro menor, inserido no canto superior esquerdo).	58
Figura 15 – Representação da reação de obtenção da metaloporfirina [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)].	59
Figura 16 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para H ₂ T245TMPP e [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)], em CH ₂ Cl ₂	60
Figura 17 – Esquema do diagrama simplificado de orbitais moleculares para uma porfirina de manganês(III). Adaptado de Boucher (1972) ⁶⁴	61

Figura 18 – Espectro de absorção na região do infravermelho para [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)]. As análises foram realizadas em nujol. (Expansão da região entre 550-1650 cm ⁻¹ , no canto inferior esquerdo da imagem).....	62
Figura 19 – Espectros de massas da metaloporfirina [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)] obtido experimentalmente (MALDI-TOF MS, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila em modo positivo) e simulado pelo software <i>ChemCalc</i> (espectro menor, inserido no canto superior direito).....	63
Figura 20 – Representação da reação de obtenção do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl utilizando SbCl ₅	64
Figura 21 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para H ₂ T245TMPP e [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl, em CH ₂ Cl ₂	64
Figura 22 – Espectro de absorção na região do IV da [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl . As análises foram realizadas em nujol. (Expansão da região entre 550-1650 cm ⁻¹ , no canto inferior esquerdo da imagem).	65
Figura 23 – Espectro de RMN de ¹ H da [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C. δ 3,72-3,56 (12H, m, -OCH ₃ , <i>para</i>), δ 4,02-3,88 (12H, m, -OCH ₃ , <i>meta</i>), δ 4,30-4,21 (12H, m, -OCH ₃ , <i>orto</i>), δ 7,13-7,01 (4H, m, <i>meta</i> arila), δ 7,74-7,48 (4H, m, <i>orto</i> arila), δ 9,64-9,30 (8H, m, β-pirrólico).	67
Figura 24 – Espectro de massas do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl em ESI-MS no modo positivo, em diclorometano.	68
Figura 25 – Representação da reação de obtenção do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T35TMPP)]Cl de segunda geração.....	69
Figura 26 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para H ₂ T35DMPP e [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl, em CH ₂ Cl ₂	70
Figura 27 – Espectro de absorção na região do IV da [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl . As análises foram realizadas em nujol. (Expansão da região entre 550 -1650 cm ⁻¹ , no canto superior esquerdo da imagem).....	71
Figura 28 – Espectro de RMN de ¹ H do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C. δ 4,36-3,93 (24H, m, -OCH ₃ , <i>meta</i>), δ 7,56-7,36 (4H, m, <i>para</i> arila), δ 7,22-6,62 e 7,78-7,56 (8H, m, <i>orto</i> arila), δ 9,97-9,31 (8H, m, β-pirrólico).	72
Figura 29 – Espectro de massas do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl (MALDI-TOF MS, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila).	74
Figura 30 – Espectro simulado pelo software <i>ChemCalc</i> para as espécies (A) [Sb ^{III} (T35DMPP)] ⁺ e (B) [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)] ⁺	74
Figura 31 – Estrutura dos possíveis produtos de oxidação do carvacrol.	75
Figura 32 – Estrutura química dos catalisadores porfirínicos utilizados na oxidação do carvacrol por Martins e colaboradores. ⁹⁷	76
Figura 33 – Estruturas químicas das metaloporfirinas utilizada como catalisadores na oxidação do carvacrol. ^{99,101}	77
Figura 34 – Ciclo catalítico para oxidação de substratos orgânicos catalisada pelos CP450 (RH se refere ao substrato e ROH ao produto hidroxilado ou de oxidação). Adaptada de Stanfield e Shoji. ¹¹⁰	79
Figura 35 – Espectro de absorção UV-VIS durante a reação de oxidação do carvacrol catalisada por Cat2 na presença de PhIO e diclorometano.	87

Figura 36 – Oxidação do carvacrol por $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ ou PhIO catalisada por Cat1 ou Cat2 , na presença de BHT, em diclorometano. Condições: Cat1 ou Cat2 = 2×10^{-6} mol, PhIO ou $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = BHT = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min.	89
Figura 37 – Rota mecanística proposta para polimerização de carvacrol na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ e Cat1 ou Cat2	90
Figura 38 – Espectro de massas (ESI-MS) do (A) Cat1 (m/z = 667.34; $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TPP})]^+$) e (B) sistema Cat1 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ /BHT/Carvacrol (m/z = 667.45 $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TPP})]^+$; e m/z = 683.39 $[\text{Mn}^{\text{V}}(\text{O})\text{P}]^+$), no modo positivo.	91
Figura 39 – Reutilização do catalisador nas reações de oxidação de carvacrol nos sistemas: A) Cat1 e B) Cat2 na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em acetato de etila. Condições: Cat1 ou Cat2 = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min... ..	92
Figura 40 – Reutilização do catalisador nas reações de oxidação de carvacrol nos sistemas: a) Cat1 e b) Cat2 na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em carbonato de dimetila. Condições: Cat1 ou Cat2 = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min... ..	93
Figura 41 – Reutilização do catalisador nas reações de oxidação de carvacrol nos sistemas: A) Cat1 e B) Cat2 na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em diclorometano. Condições: Cat1 ou Cat2 = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min... ..	93
Figura 42 – Curvas cromatográficas obtidas por cromatografia de permeação em gel do polímero sintetizado nas reações de oxidação do carvacrol: A) diclorometano na esquerda e B) acetato de etila e carbonato de dimetila na direita.	95
Figura 43 – Espectro de FTIR-ATR do polímero obtido nas reações de oxidação do carvacrol na presença de metaloporfirinas e $\text{PhI}(\text{OAc})_2$	97
Figura 44 – Curvas de termogravimetria (A) em atmosfera de N_2 e DSC (B) do polímero obtido nas reações de oxidação do carvacrol.	98
Figura 45 – Espectro de RMN de ^1H do polímero formado nas reações de oxidação do carvacrol na presença das metaloporfirinas Cat1 e Cat2 na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C. (δ 1,22 (6H, s, $-\text{CH}_3$), δ 2,17 (3H, s, $-\text{CH}_3$), δ 3,33 (1H, s, $-\text{CH}$), δ 7,11-6,28 (2H, d, CH aromático).	99
Figura 46 – Ciclo de infecção dos mamíferos pelo parasito Leishmania. Adaptada de Kayer e colaboradores. ¹⁶⁷	101
Figura 47 – Fármacos empregados para o tratamento das doenças de leishmaniose. Adaptada de Regueira e colaboradores. ¹⁷⁰⁻¹⁷³	103
Figura 48 – Compostos em estudos pela DNDi para o tratamento de leishmaniose visceral. ^{170,182} .	105
Figura 49 – Mecanismos propostos na literatura, para a atividade antileishmania dos antimoniais pentavalentes. ¹⁹³	107
Figura 50 – Estruturas químicas da tripanotona reduzida ($\text{T}(\text{SH})_2$), L-glutationa reduzida (GSH), L-cisteína e adenosina. ^{171, 193}	107
Figura 51 – Estrutura química do ADN, com extremidade 5' $\rightarrow$ 3', identificando o esqueleto de pentose, grupamentos fosfatos e bases nitrogenadas. ¹⁹⁹	110
Figura 52 – (A) Representação do ADN de dupla hélice identificando os sulcos maior e menor, (B) padrões de ligações de hidrogênio no pareamento de bases definido por Watson e Crick, (C) complementaridade das cadeias na dupla hélice de ADN. Adaptado de Nelson e Cox. ¹⁹⁹	111

Figura 53 – Apresentação esquemática dos modos de interação com compostos (elipses marrons) ao ADN (A) intercalação, (B) sulco menor, (C) sulco maior e (D) vias externas. Adaptado de Lebedeva ²⁰⁵ .	112
Figura 54 – Estrutura dos compostos porfirínicos (A) $H_2T4MPyP^{4+}$ e (B) $[M^{II}(T4MPyP)]^{4+}$ ($M = Cu^{2+}$ ou Ni^{2+}). ²⁰⁹	113
Figura 55 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-VIS para as reações de oxirredução da porfirina $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (5 μM), em solução tampão PBS em pH 7,4, a 37 °C, com os agentes redutores a) GSH e b) L-cisteína, em concentração de 2 mM.	119
Figura 56 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-VIS para as reações de oxirredução da porfirina $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ (5 μM), em solução tampão PBS em pH 7,4, a 37 °C, com os agentes redutores a) GSH e b) L-cisteína, em concentração de 2 mM.	119
Figura 57 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-VIS para as porfirinas $[Sb^{III}(T4MPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T4MPP)]Cl$.	120
Figura 58 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação magnética: (A) $H_2T245TMPP$ e (B) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	122
Figura 59 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação mecânica (usando uma micropipeta): (A) $H_2T245TMPP$ e (B) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	123
Figura 60 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de estabilidade e de agregação sem agitação: (A) $H_2T245TMPP$ e (B) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	124
Figura 61 – a) Variação espectral na titulação da porfirina $H_2T245TMPP$ após sucessivas adições de ssADN, a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[ADN]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [ADN]$. $\lambda_{m\acute{a}x}$: 427 nm.	125
Figura 62 – a) Variação espectral na titulação da porfirina $H_2T35DMPP$ após sucessivas adições de ssADN a cada 5 min. Condições: DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[ADN]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [ADN]$. $\lambda_{m\acute{a}x}$: 423 nm.	125
Figura 63 – a) Variação espectral na titulação do complexo $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ após sucessivas adições de ssADN, a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[ADN]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [ADN]$. $\lambda_{m\acute{a}x}$: 412 nm.	126
Figura 64 – a) Variação espectral na titulação do complexo $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ após sucessivas adições de ssADN a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[ADN]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [ADN]$. $\lambda_{m\acute{a}x}$: 426 nm.	126
Figura 65 – Estrutura química dos complexos a) $[Sb^VBr_2(T4CMPP)]Br$ e b) $[Sb^VBrCl(T4MPP)]Br$. ²⁷	129
Figura 66 – (A) Espectros de DC dos compostos porfirínicos e (B) espectro do ADN após sucessivas adições de DMSO (teste de diluição). Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C.	130
Figura 67 – Variação espectral na titulação do ssADN após adições sucessivas dos compostos: (A) $H_2T245TMPP$, (B) $H_2T35DMPP$, (C) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e (D) $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Condições: (A, C e D) DMSO/tampão PBS (1%, v/v); (B) DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C.	131
Figura 68 – Estrutura química das porfirinas (A) $\{[RuCl(bipy)_2]_4(\mu-H_2T4PyP)\}(PF_6)_4$ e (B) $\{[RuCl(bipy)_2]_4(\mu-ZnT4PyP)\}(PF_6)_4$. ²⁴¹	132
Figura 69 – Representação dos mecanismos estático e dinâmico da interação entre o Aduto (ADN-BE ou ADN-VM) e o supressor (S). Adaptado de Bessa ²⁴⁴ .	133

Figura 70 – Estruturas químicas das sondas fluorescentes (A) brometo de etídio e (B) verde de metila.	133
Figura 71 – A) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de H ₂ T245TMPP a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [H_2T245TMPP]$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.	134
Figura 72 – a) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de H ₂ T35DMPP a cada 5 min. Condições: DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $F_0/F \times [H_2T35DMPP]$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.	134
Figura 73 – a) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $F_0/F \times [Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.	135
Figura 74 – a) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $F_0/F \times [Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.	135
Figura 75 – Gráficos de Stern-Volmer do ensaio de competição do aduto BE-ssADN com adições sucessivas de H ₂ T245TMPP, sem e com correção do efeito de filtro interno para os valores de F_{Obs} .	136
Figura 76 – Variação espectral na titulação do BE após adições sucessivas, a cada 5 min, em experimentos distintos de: (A) H ₂ T245TMPP, (B) H ₂ T35DMPP, (C) [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl e (D) [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl. Condições: (A, C, D) DMSO/tampão PBS (1%, v/v); (B) DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. λ_{em} : 617 nm e λ_{ex} : 510 nm.	138
Figura 77 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de H ₂ T245TMPP. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [H_2T245TMPP]$. λ_{em} : 655 nm e λ_{ex} : 633 nm.	140
Figura 78 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de H ₂ T35DMPP. Condições: DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [H_2T35DMPP]$. λ_{em} : 655 nm e λ_{ex} : 633 nm.	140
Figura 79 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. λ_{em} : 655 nm e λ_{ex} : 633 nm.	141
Figura 80 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. λ_{em} : 655 nm e λ_{ex} : 633 nm.	141
Figura 81 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para a porfirina [Mn ^{III} Cl(TPP)], em CH ₂ Cl ₂ .	164
Figura 82 – Espectros de massas da porfirina [Mn ^{III} Cl(TPP)] obtido experimentalmente (MALDI-TOF MS, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila em modo positivo) e simulado pelo software ChemCalc (espectro menor, inserido no canto superior esquerdo).	164
Figura 83 – Expansão da região entre $\delta = 10,0 - 6,6$ ppm, do espectro de RMN de ¹ H do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C.	168
Figura 84 – Expansão da região entre $\delta = 5,5 - 0,5$ ppm, do espectro de RMN de ¹ H do complexo [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C.	169

Figura 85 – Espectro simulado pelo software ChemCalc para as espécies (A) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]^+$, (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP}) + 2\text{H}]^+$, (C) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_3(\text{T35DMPP}) + \text{H}]^+$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{ClH}(\text{T245TMPP}) + \text{HCl} + \text{CH}_3\text{OH}]^+$.	170
Figura 86 – Espectro de RMN de ^{13}C do polímero formado nas reações de oxidação do carvacrol na presença das metaloporfirinas Cat1 e Cat2 na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.	171
Figura 87 – Espectro de RMN de DEPT 135 do polímero formado nas reações de oxidação do carvacrol na presença das metaloporfirinas Cat1 e Cat2 e do oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.	172
Figura 88 – Espectro de RMN de ^1H do carvacrol, substrato nas reações de oxidação, em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.	173
Figura 89 – Espectro de RMN de ^{13}C do carvacrol, substrato nas reações de oxidação, em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.	174
Figura 90 – Espectro de RMN de DEPT 135 do carvacrol, substrato nas reações de oxidação, em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.	174
Figura 91 – Estrutura química da $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{TE-2-PyP})]^{4+}$. ²⁶	175
Figura 92 – Multiplicação de formas promastigotas de <i>L. braziliensis</i> incubadas com $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{TE-2-PyP})]^{4+}$ na ausência de luz. Adaptado de Andrade e colaboradores. ²⁶	175
Figura 93 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para as reações da $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (5 μM) em DMSO/tampão PBS (1%, v/v) em temperatura de 37 °C com: a) GSH em pH 5; b) L-cisteína em pH 5; c) GSH em pH 6; e d) L-cisteína em pH 6. A concentração da GSH e L-cisteína no meio reacional foi de 2 mM.	176
Figura 94 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para as reações da $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (5 μM) em DMSO/tampão PBS (1%, v/v) em temperatura de 37 °C com: a) GSH em pH 5; b) L-cisteína em pH 5; c) GSH em pH 6; d) L-cisteína em pH 6; e) GSH em pH 7,4; e f) L-cisteína em pH 7,4. A concentração da GSH e L-cisteína no meio reacional foram de 2 mM.	177
Figura 95 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação magnética de: (A) $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ e (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. Condições: (A) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	178
Figura 96 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação mecânica (uso de micropipeta de 1000 μL) de: (A) $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ e (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. Condições: (A) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	178
Figura 97 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de estabilidade e de agregação sem agitação: (A) $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ e (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. Condições: (A) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	179
Figura 98 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de diluição: (A) $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, (B) $\text{H}_2\text{T35DMPP}$, (C) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e (D) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. Condições: (A, C, D) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.	180
Figura 99 – Variação espectral na titulação do (A) BE e (B) VM após adições sucessivas de DMSO, em experimentos distintos. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. BE: λ_{em} = 617 nm e λ_{ex} = 510 nm; VM: λ_{em} = 655 nm e λ_{ex} = 633 nm.	181

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração dos compostos porfirínicos no experimento de interação com ssADN.	47
Tabela 2 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do infravermelho para a porfirina base livre H ₂ T245TMPP. Análise realizada em nujol.	55
Tabela 3 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS para H ₂ T245TMPP e [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)], em CH ₂ Cl ₂ . Valores de absorvidade molar (<i>log ε</i>) (M ⁻¹ cm ⁻¹).	60
Tabela 4 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do IV para [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)]. Análise realizada em nujol.	62
Tabela 5 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS para H ₂ T245TMPP e [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl, em CH ₂ Cl ₂ . Valores de absorvidade molar (<i>log ε</i>) (M ⁻¹ cm ⁻¹).	65
Tabela 6 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do IV para o complexo [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl. Análise realizada em nujol. ^{70,71,72,81}	66
Tabela 7 – Sinais do espectro de RMN ¹ H da H ₂ T245TMPP e [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C.	66
Tabela 8 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS para H ₂ T35DMPP e [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl, em CH ₂ Cl ₂ . Valores de absorvidade molar (<i>log ε</i>) (M ⁻¹ cm ⁻¹).	70
Tabela 9 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do IV para o complexo [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl. Análise realizada em nujol. ^{70,71,72,81}	71
Tabela 10 – Sinais do espectro de RMN ¹ H da H ₂ T35DMPP e [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl em CDCl ₃ (400 MHz) a 25 °C.	73
Tabela 11 – Reações de oxidação de carvacrol nos solventes carbonato de dimetila, acetato de etila ou diclorometano, catalisada por Cat1 ou Cat2 na presença/ausência de PhI(OAc) ₂ . ^a	82
Tabela 12 – Reações de oxidação do carvacrol por PhIO catalisadas por Cat1 , Cat2 ou MnCl ₂ em carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano. ^a	85
Tabela 13 – Reações de oxidação do carvacrol por PhI(OAc) ₂ e PhIO catalisada por Cat1 , Cat2 e MnCl ₂ na presença de manitol ou NaN ₃ como captadores de radicais, em diclorometano. ^a	88
Tabela 14 – Dados obtidos das curvas cromatográficas por GPC dos polímeros sintetizados a partir das reações de oxidação do carvacrol catalisado Cat1 e Cat2 em PhI(OAc) ₂ , nos solventes diclorometano, carbonato de dimetila e acetato de etila. ^a	95
Tabela 15 – Dados referentes aos grupos funcionais e modo de vibração do polímero sintetizado associados as bandas observadas no espectro de FTIR-ATR. ^{73,155,157}	97
Tabela 16 – Concentrações inibidoras do crescimento (CI ₅₀) dos compostos porfirínicos contra a forma promastigota de espécies de L. Braziliensis H3227, citotoxicidade (CC ₅₀) contra monócitos THP1 e índice de seletividade (IS).	115
Tabela 17 – Concentrações inibidoras do crescimento (CI ₅₀) dos compostos porfirínicos contra a forma amastigota de espécies de L. Braziliensis H3227, citotoxicidade (CC ₅₀) contra monócitos THP1 e índice de seletividade (IS).	117
Tabela 18 – Variação da absorbância em porcentagem (%) ^a obtidos a partir dos testes de agregação, diluição e estabilidade, para os compostos porfirínicos estudados.	123

Tabela 19 – Equação da reta, obtida por regressão linear segundo a equação de Scatchard, e os valores das constantes de ligação intrínseca (K_b) com o ssADN para os compostos porfirínicos estudados. ^a	127
Tabela 20 – Valores obtidos de porcentagem de supressão (ΔI), K_{SV} e k_q para os experimentos de competição entre os compostos porfirínicos e o BE.	137
Tabela 21 – Valores obtidos de ΔI , K_{SV} e k_q para os experimentos de competição entre os compostos porfirínicos e o VM.	142
Tabela 22 – Contribuição relativa dos átomos de diferentes grupos ao sinal do FID.	165
Tabela 23 – Fatores de resposta para o padrão interno, substrato e produtos.	165
Tabela 24 – Programação do cromatógrafo para as reações de oxidação do carvacrol.	166
Tabela 25 – Programação do método para as análises das reações de oxidação do carvacrol.	166
Tabela 26 – Tempos de retenção para o padrão interno, substrato e produtos nas reações de oxidação do carvacrol.	166

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	59
Equação 2	59
Equação 3.....	63
Equação 4	86
Equação 5	88
Equação 6	108
Equação 7	108
Equação 8	127
Equação 9	136
Equação 10	136
Equação 11	162
Equação 12	162
Equação 13	163
Equação 14	163
Equação 15	163
Equação 16	163
Equação 17	157
Equação 18	167
Equação 19	167
Equação 20	167

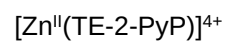
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

A	Adenina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ACN	Acetonitrila
Al ₂ O ₃	Óxido de alumínio
Al(CH ₃) ₃	Trimetilalumínio(III)
BHT	2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol
C	Citosina
Cat1	[Mn ^{III} Cl(TPP)]
Cat2	[Mn ^{III} Cl(T245TMPP)]
CCD	Cromatografia de camada delgada
CC ₅₀	Concentração tóxica para 50% das células
CEFET-MG	Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais
CHCl ₃	Clorofórmio
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CH ₃ OH	Metanol ou álcool metílico
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano ou cloreto de metileno
CI ₅₀	Concentração inibitória de 50% do crescimento dos parasitos
CO ₂	Dióxido de carbono
DC	Dicroísmo Circular
DDQ	2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona
DMF	<i>N,N'</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNDi	<i>Iniciativa</i> Medicamentos para Doenças Negligenciadas
DNTs	Doenças tropicais negligenciadas
DSC	Calorimetria de varredura diferencial
ESI	Ionização por spray de elétrons
FTIR-ATR	Espectroscopia no infravermelho reflexão total atenuada
G	Guanina
GPC	Cromatografia de permeação em gel
GSH	Glutathione reduzida
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HX	Ácido derivado do sal do metal
IV	Infravermelho
IS	Índice de seletividade
IL-12	Interleucina-12
IFN-γ	Interferon-gama
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IUB	International Union of Biochemistry
KHSO ₅	Peroximonosulfato de potássio
K _{diff}	Constante difusional
K _{sv}	Constante de supressão
k _q	Constante cinética de supressão de Stern-Volmer
k _b	Constante de ligação
LT	Leishmaniose tegumentar
LC	Leishmaniose cutânea
LV	Leishmaniose visceral
MALDI-TOF	Ionização por dessorção a laser assistida por matriz com analisador por tempo de voo
EM	Espectrometria de massa

MnCl ₂	Cloreto de manganês(II)
MOF	Estrutura metal-orgânica
Mw	Massa molar
<i>m/z</i>	Massa/carga
NaN ₃	Azida de sódio
NH ₄ CH ₃ CO ₂	Acetato de amônio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PEG	Polietilenoglicol
PDI	Índice de polidispersividade
PPO	Poli(óxidos de fenileno)
Ka	Constante de dissociação ácida
pH	Potencial hidrogeniônico
PhIO	Iodosilbenzeno
PhI(OAc) ₂	Iodobenzeno diacetato
SbCl ₃	Cloreto de antimônio(III)
SbCl ₅	Cloreto de antimônio(V)
SbBr ₃	Brometo de antimônio(III)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ss	Salmon sperm (do inglês esperma de salmão)
T	Timina
<i>t</i> -BuOOH	<i>Terc</i> -butil hidroperóxido
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TCML	Transferência de carga metal-ligante
TFA	Ácido trifluoracético
TGA	Análise termogravimétrica
T(SH) ₂	Tripanotiona reduzida
THF	Tetrahidrofurano
THP1	Monócitos humanos imortalizados
TMS	Tetrametilsilano
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USP	Universidade de São Paulo
UV	Ultravioleta
VM	Verde de Metila
VIS	Visível
HO•	Radical hidroxila
¹ O ₂	Oxigênio singleto
Ph•IOAc	Radical iodanila
•OCOCH ₃	Radical acila
•CH ₃	Radical metila
ε	Épsilon
ε _a	Coeficiente de absortividade molar em cada adição de ssADN
ε _f	Coeficiente de absortividade molar do composto totalmente livre
ε _b	Coeficiente de absortividade molar do composto totalmente ligado ao ssADN
ΔI	Porcentagem de supressão

PORFIRINAS E COMPLEXOS PORFIRÍNICOS

H ₂ T245TMPP	5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirina-21,23-dieta
H ₂ TPP	5,10,15,20-tetrafenilporfirina-21,23-dieta
H ₂ OEP	2,3,7,8,12,13,17,18-octaetilporfirina-21,23-dieta
H ₂ T4CMPP	5,10,15,20-tetraquis(4-carbometoxifenil)porfirina-21,23-dieta
H ₂ T35DMPP	5,10,15,20-tetraquis(3,5-dimetoxifenil)porfirina-21,23-dieta
H ₂ T4MPyP ⁴⁺	5,10,15,20-tetraquis(<i>N</i> -metilpiridinio-4-il)porfirina-21,23-dieta
H ₂ T4MPP	5,10,15,20-tetraquis(4-metoxifenil)porfirina-21,23-dieta
[{Ru(bipy) ₂ Cl} ₄ (μ-H ₂ T4PyP)](PF ₆) ₄	Hexafluorofosfato de μ-(5,10,15,20-tetraquis(4- <i>N</i> -piridil)porfirina-21,23-dieta)-tetraquis(bisbipiridinacloretotrutênio(II))
[Cu ^{II} (T4MPyP)] ⁴⁺	5,10,15,20-tetraquis(<i>N</i> -metilpiridinio-4-il)porfirinatocobre(II)
[Fe ^{III} Cl(TPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatoferro(III)
[Fe ^{III} Cl(TCPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(4-carboxifenil)porfirinatoferro(III)
[Mn ^{III} Cl(T245TMPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinato-manganês(III)
[Mn ^{III} Cl(TPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatomanganês(III)
[Mn ^{III} acac(TPP)]	Acetilacetato-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatomanganês(III)
[Mn ^{III} Cl(TDCPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato-manganês(III)
Mn ^{III} Cl(β-NO ₂ TDCPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,6-diclorofenil)-β-nitroporfirinato-manganês(III)
[Mn ^{III} Cl(TF ₅ PP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,3,4,5,6-pentafluorfenil)porfirinatomanganês(III)
[Mn ^{III} Cl(β-NO ₂ TF ₅ PP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,3,4,5,6-pentafluorfenil)-β-nitroporfirinatomanganês(III)
[Mn ^{III} (TBzPyP)] ⁵⁺	5,10,15,20-tetraquis(<i>N</i> -benzilpiridinio-4-il)porfirinato-manganês(III)
[Mn ^{III} OAc(TPP(PEG) ₄)]	Acetato-5,10,15,20-tetraquis(4-polietilenoglicolfenil)porfirinato-manganês(III)
[Ni ^{II} (T4MPyP)] ⁴⁺	5,10,15,20-tetraquis(<i>N</i> -metilpiridinio-4-il)porfirinatoniquel(II)
[Sb ^{III} Cl(T4MPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(4-metoxifenil)porfirinato-antimônio(III)
[Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl	Cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)-porfirinatoantimônio(V)
[Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl	Cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(3,5-dimetoxifenil)-porfirinatoantimônio(V)
[Sb ^V Cl(O)(OEP)]	Cloreto-óxido-2,3,7,8,12,13,17,18-octaetilporfirinato-antimônio(V)
[Sb ^V Cl ₂ (TTP)]SbCl ₆	Hexacloretointimoniato(V) de dicloreto-5,10,15,20-tetratoluilporfirinatoantimônio(III)
[Sb ^{III} Cl(TPP)]	Cloreto-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatoantimônio(III)
[Sb ^V Br ₂ (T4CMPP)]Br	Brometo de dibrometo-5,10,15,20-tetrakis(4-carbometoxifenil)-porfirinatoantimônio(V)
[Sb ^V BrCl(T4MPP)]Br	Brometo de brometocloreto-5,10,15,20-tetraquis(4-metoxifenil)-porfirinatoantimônio(V)
[{Ru(bipy) ₂ Cl} ₄ (μ-ZnT4PyP)](PF ₆) ₄	Hexafluorofosfato de μ-(5,10,15,20-tetraquis(4- <i>N</i> -piridil)-porfirinatozinco(II))-tetraquis(bisbipiridinacloretotrutênio(II))



SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS.....	29
1.1 INTRODUÇÃO GERAL	29
1.2 OBJETIVOS	32
1.2.1 Objetivos gerais	32
1.2.2 Objetivos específicos	33
CAPÍTULO 2 - EQUIPAMENTOS, REAGENTES E SOLVENTES.....	34
2.1 PARTE EXPERIMENTAL.....	34
2.1.1 Materiais.....	34
2.1.2 Equipamentos	34
2.1.2.1 Espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS)	34
2.1.2.2 Espectrofotômetro de fluorescência	35
2.1.2.3 Espectrômetro de Absorção na Região do Infravermelho (IV)	35
2.1.2.4 Espectrometria de Massas	35
2.1.2.5 Análise Térmica	36
2.1.2.6 Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	36
2.1.2.7 Evaporador Rotativo	36
2.1.2.8 Agitador por Ultrassom	36
2.1.2.9 Câmara escura com Lâmpada Ultravioleta	36
2.1.2.10 Balança Analítica	36
2.1.2.11 Agitador magnético	37
2.1.2.12 Agitador vórtex	37
2.1.2.13 Micro-ondas	37
2.1.2.14 Análise Elementar	37
2.1.2.15 Cromatógrafo a gás	37
2.1.2.16 Dicroísmo circular (DC).....	37
2.1.2.17 Cromatografia de permeação em gel (GPC)	38
2.1.2.18 Calorimetria de varredura diferencial (DSC).....	38
2.1.3 Obtenção da porfirina base livre H ₂ T245TMPP	38
2.1.3.1 Método via síntese convencional.....	38
2.1.3.2 Método inédito via síntese de Micro-ondas	39
2.1.4 Obtenção das metaloporfirinas de manganês	39
2.1.4.1 Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinato manganês(III) [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)]	- 39
2.1.4.2 Cloreto-5,10,15,20-tetrafenilporfirinato manganês(III) – [Mn ^{III} Cl(TPP)]	40
2.1.5 Obtenção dos complexos de antimônio.....	41
2.1.5.1 Cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinato antimônio(V) [Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl	- 41

2.1.5.2	Cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(3,5-dimetoxifenil)porfirinatoantimônio(V) - [Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl	42
2.1.6	Reações de oxidação do carvacrol	42
2.1.6.1	Reações com captadores de radicais	43
2.1.6.2	Reações de reuso do catalisador	43
2.1.6.3	Extração do polímero	44
2.1.7	Avaliação da atividade leishmanicida	44
2.1.7.1	Cultura de parasitos	44
2.1.7.2	Avaliação da citotoxicidade dos compostos porfirínicos contra formas promastigotas ⁴⁷	44
2.1.7.3	Avaliação da citotoxicidade e atividade leishmanicida dos compostos contra formas amastigotas em modelo de células THP1 ⁴⁷	45
2.1.8	Reações de oxirredução com os complexos de antimônio(V)	45
2.1.9	Estudos de interação dos compostos porfirínicos com ADN	46
2.1.9.1	Estudo de estabilidade, agregação e diluição dos compostos porfirínicos por espectroscopia na região do UV-VIS	46
2.1.9.2	Avaliação das interações entre ssADN e os compostos porfirínicos via titulação espectrofotométrica	46
2.1.9.3	Avaliação das interações entre ssADN e os compostos porfirínicos por dicroísmo circular .	47
2.1.9.4	Estudo de competição dos compostos porfirínicos com brometo de etídio-ssADN e verde de metila-ssADN por espectroscopia de fluorescência	47
CAPÍTULO 3 – SÍNTESE DE COMPOSTOS PORFIRÍNICOS		48
3.1	INTRODUÇÃO	48
3.1.1	Obtenção de Porfirinas Base livre	48
3.1.2	Obtenção de porfirinas de antimônio(V)	49
3.1.3	Obtenção de porfirinas de manganês	51
3.2	RESULTADOS E DISCUSSÕES	52
3.2.1	Obtenção da porfirina H ₂ T245TMPP	52
3.2.2	Obtenção da metaloporfirina de manganês - [Mn ^{III} Cl(T245TMPP)]	58
3.2.3	Obtenção das porfirinas de antimônio(V)	63
CAPÍTULO 4 – OXIDAÇÃO DO CARVACROL CATALISADA POR PORFIRINAS DE MANGANÊS(III)		75
4.1	OXIDAÇÃO DO CARVACROL	75
4.1.1	Por que metaloporfirinas tem sido usadas como catalisadores biomiméticos do CP450? ...	78
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÕES	80
4.2.1	Reações de reuso dos catalisadores Cat1 e Cat2	92
4.2.2	Caracterização do polímero	94
CAPÍTULO 5 – ATIVIDADE LEISHMANICIDA DOS COMPOSTOS PORFIRÍNICOS		100
5.1	INTRODUÇÃO	100

5.1.1	Leishmaniose	100
5.1.1.1	Características da doença	101
5.1.1.2	Tratamentos	102
5.1.1.3	Mecanismos de ação sugeridos para os medicamentos usados na terapia para leishmaniose	106
5.1.2	Interação entre o ácido desoxirribonucleico e compostos porfirínicos	109
5.1.2.1	Ácido Desoxirribonucleico-ADN	109
5.1.2.2	Interação de moléculas com o ADN	111
5.2	RESULTADOS E DISCUSSÕES	114
5.2.1	Avaliação da atividade leishmanicida dos compostos porfirínicos	114
5.2.1.1	Atividade leishmanicida contra formas promastigotas do parasito	114
5.2.1.2	Atividade leishmanicida contra formas amastigotas do parasito	117
5.2.2	Estudos da redução de Sb(V) em Sb(III) em modelos de condições fisiológicas	119
5.2.3	Estudos de Interação entre os compostos porfirínicos e o ssADN	121
5.2.3.1	Estudo de agregação, estabilidade e diluição dos compostos porfirínicos	122
5.2.3.2	Titulação espectrofotométrica na região do UV-VIS	124
5.2.3.3	Espectroscopia por dicroísmo circular com ADN	130
5.2.3.4	Ensaio de competição por espectroscopia de emissão	133
CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS		144
CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		146
APÊNDICES.....		162
Apêndice A – Preparação do iodosilbenzeno		162
Apêndice B – Caracterização por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS e espectrometria de massas por MALDI-TOF		164
Apêndice C – Cálculos dos fatores de resposta dos padrões internos, produtos e substratos		165
Apêndice D – Programação do cromatógrafo e do método para as análises das reações de oxidação do carvacrol		166
Apêndice E – Cálculos de conversão, seletividade e rendimento		167
Apêndice F – Expansão do espectro de RMN ¹H da porfirina [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl		168
Apêndice G – Simulação obtida por meio do software ChemCalc (disponível em http://www.chemcalc.org/) da porfirina [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl		170
Apêndice H – Espectros de RMN de ¹³C e DEPT 135 para o polímero em CDCl₃		171
Apêndice I – Espectros de RMN de ¹H, ¹³C e DEPT 135 para o carvacrol em CDCl₃		173
Apêndice J – Estrutura química da porfirina [Zn^{II}(TE-2-PyP)]⁴⁺ e o gráfico da relação entre os valores de Cl₅₀ em função do Tempo		175
Apêndice K – Espectros de absorção na região do UV-VIS para Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl e [Sb^VCl₂(T35DMPP)]Cl em modelos de condições fisiológicas.....		176

Apêndice L – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos testes de agregação com agitação magnética e mecânica	178
Apêndice M – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos testes de estabilidade e de agregação sem agitação	179
Apêndice N – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos testes de diluição.....	180
Apêndice O – Espectros de fluorescência dos estudos de diluição com DMSO	181
Apêndice P – Publicações durante o doutorado.....	182

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

As porfirinas (Figura 1) são macrociclos contendo quatro anéis pirrólicos ligados por átomos de carbono metilidênicos (as posições *meso*, Figura 1b), que apresentam hibridação sp^2 .¹ O macrociclo porfirínico possui um sistema conjugado, cuja estrutura é plana e obedece à regra de Hückel. Ele é constituído por 22 elétrons π , dos quais apenas 18 encontram-se deslocalizados e contribuem para a aromaticidade do macrociclo (Figura 1c).^{2,3,4} Pela recomendação de nomenclatura da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) e a IUB (*International Union of Biochemistry*), a numeração dos átomos de carbono é feita de 1 a 20 e dos átomos de nitrogênio de 21 a 24 (Figura 1a).¹ Os átomos de nitrogênio ligados a átomos de hidrogênio (21 e 23) são conhecidos como átomos de nitrogênio pirrólicos, enquanto os átomos de nitrogênio 22 e 24 são denominados como pirroleninos.¹

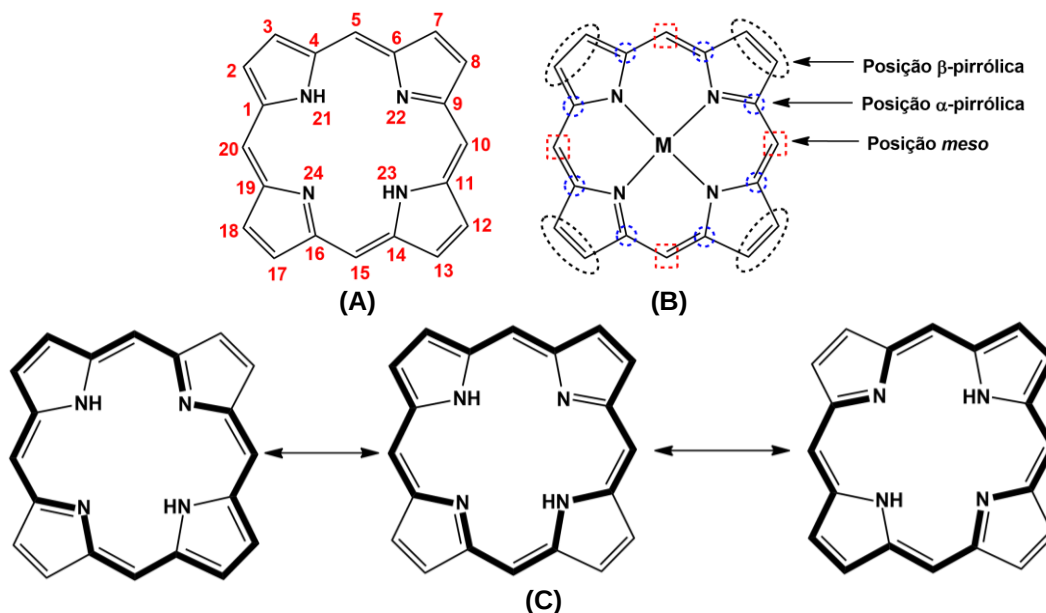


Figura 1 – Macrociclo porfirínico, indicando (A) a numeração proposta pela IUPAC e IUB para nomenclatura, (B) metaloporfirina (M = centro metálico) identificando as posições em que podem ocorrer reações de substituição e (C) deslocalização eletrônica do macrociclo porfirínico.

Reações de substituição eletrofílica aromática ou reações radiculares podem ocorrer na periferia do macrociclo, podendo acontecer nas posições *meso* ou β -pirrólicas (Figura 1b).¹ Com isso, as propriedades físico-químicas destes compostos podem ser ajustadas por substituições nessas posições, levando à obtenção de inúmeras estruturas diferentes.

Observando-se o centro da cavidade do macrociclo porfirínico (Figura 1a), há quatro átomos de nitrogênio contendo pares de elétrons não ligantes, que podem atuar como base de Lewis e reagir com cátions metálicos, substituindo os dois átomos de hidrogênio pirrólicos (21 e 23, Figura 1a) e levando à obtenção de diversas metaloporfirinas (Figura 1b).¹ O grande interesse nos estudos e desenvolvimento de compostos porfirínicos dá-se pela versatilidade estrutural, podendo-se moldar suas

propriedades químicas e físicas, que possibilitam aplicações em diversas áreas da ciência como por exemplo, catalisadores, captadores de energia solar, para o tratamento de câncer e outras patologias, antimicrobianos, dentre outros.⁵

Os compostos porfirínicos são muito aplicados na área de química bioinorgânica, que estuda as funções, o processamento, o armazenamento e as aplicações de íons metálicos e seus complexos em sistemas biológicos. Esse campo da ciência está em rápido crescimento e evolução devido a sua importância no desenvolvimento de produtos de interesse industrial e farmacológico.^{5,6} De maneira geral, a bioinorgânica engloba várias subáreas do conhecimento tais como, por exemplo, química inorgânica, biologia molecular e celular, bioquímica, catálise e química medicinal.^{5,6,7}

Para as aplicações catalíticas, vem sendo desenvolvidos ao longo dos anos catalisadores porfirínicos que mimetizam os citocromos P450 (CP450). A primeira evidência da existência dos CP450 foi obtida em 1958 após a observação de um espectro de absorção na região do UV-VIS de microssomas de fígado de rato. Uma solução dessa enzima tratada com um agente redutor e monóxido de carbono apresentou uma banda de absorção em 450 nm.⁷ Com os avanços nas áreas de genômica e bioinformática, atualmente há milhares de novas sequências de enzimas CP450, sendo identificados mais de 21 mil CP450.⁸ Dentre esses, são caracterizados por cristalografia mais de 80 citocromos para a enzima CP450_{cam} (Figura 2), isolada da bactéria *Pseudomonas putida*. Ela foi de grande importância para o estudo e o entendimento do funcionamento dos CP450 por ter sido a primeira estrutura cristalina a ser resolvida.⁹

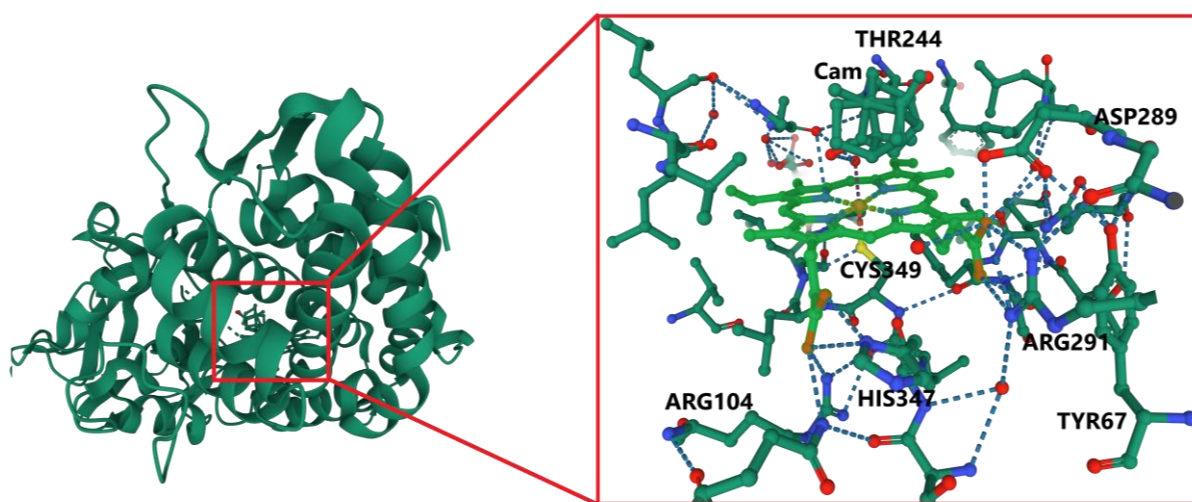


Figura 2 – Estrutura cristalográfica do CP450_{cam} e uma visualização ampliada do sítio ativo da enzima. Adaptado da RCSB Protein Data Bank.¹⁰

As enzimas do CP450 são monooxigenases pertencentes à grande família de proteínas heme-tiolatos observadas em todos os reinos da vida, sendo responsáveis por catalisarem diversas oxidações biológicas.¹¹ As enzimas do CP450 são o grupo mais importante de enzimas responsáveis pela maior parte do metabolismo de fármacos conhecidos em humanos.¹² Algumas das reações mediadas pelos CP450 são as hidroxilações aromáticas e alifáticas, epoxidações, formação de anéis, clivagem de ligações carbono-carbono,^{13,14} que estão associadas à oxidação de substâncias xenobióticas, como hidrocarbonetos, pesticidas e drogas e, também, à biossíntese de moléculas bioativas como hormônios

esteroidais.¹⁵ Os CP450 conseguem realizar reações químicas com altos níveis de seletividade e favorecem a transformação de substratos que são difíceis de serem modificados.¹⁶ Na Figura 3 estão apresentadas diversas equações que representam reações químicas catalisadas por metaloporfirinas,^{17,18} como a oxidação de compostos aromáticos, compostos contendo heteroátomos como enxofre (S), halogenação¹⁹, epoxidação²⁰, redução¹⁸, entre outras.

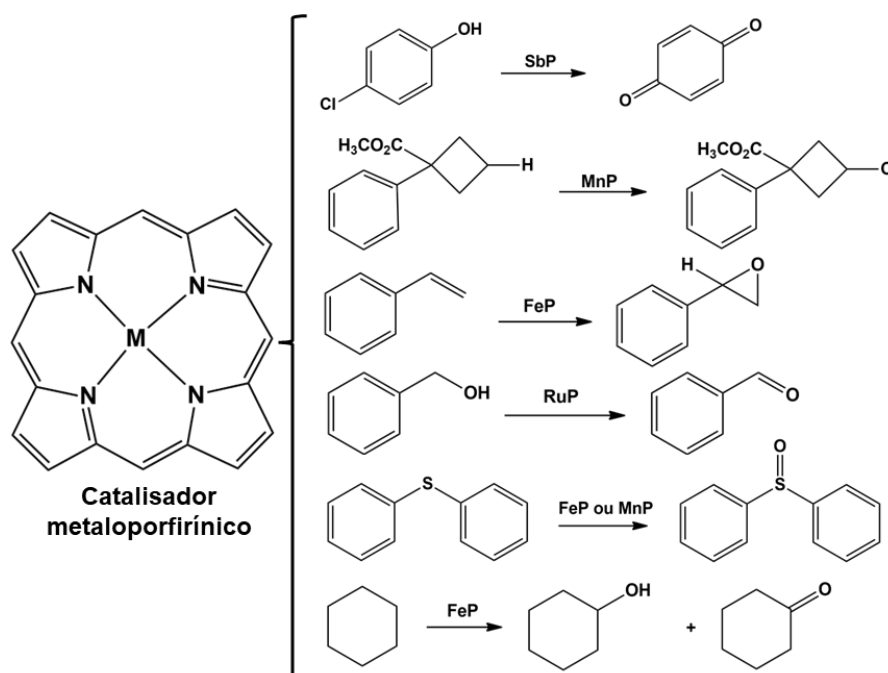


Figura 3 – Representação de algumas das reações catalisadas pelos CP450 (RuP = porfirina de rutênio, FeP = porfirina de ferro, MnP = porfirina de manganês e SbP = porfirina de antimônio).^{18,19,20,21}

Além de compostos bioinspirados nos CP450, as porfirinas e seus derivados vêm ganhando destaque pelas suas aplicações na medicina há várias décadas.^{5,6,22} Pelas propriedades fotoquímicas das porfirinas, elas têm sido altamente consideradas por exemplo para o controle da malária, doença causada pelo parasito *Plasmodium falciparum*.²²

Alguns fármacos contendo como princípio ativo porfirina base livre já são comercializados para o tratamento de câncer de esôfago, endobrônquico, displasia de alto grau no esôfago de Barrett, entre outras.^{23,24} Além disso, devido ao crescimento do desenvolvimento de resistência a drogas convencionais por patógenos, há um aumento nos estudos buscando novos fármacos que apresentem atividade igual ou maior aos atualmente utilizados. Porfirinas de antimônio, zinco e bismuto vem sendo estudados para o tratamento das doenças de leishmaniose, mostrando resultados promissores.^{25,26,27} Na Figura 4 são apresentadas algumas aplicações de porfirinas e metaloporfirinas na área de química bioinorgânica medicinal.

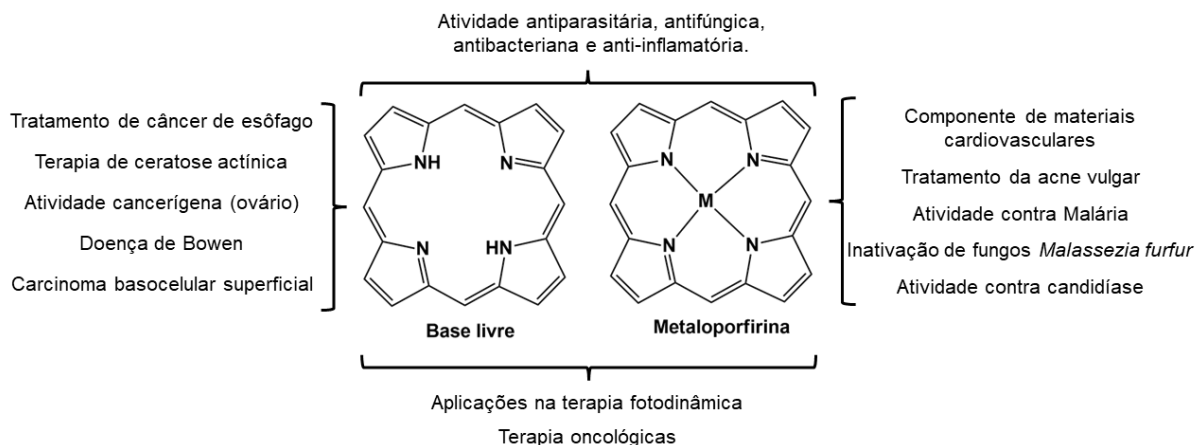


Figura 4 – Aplicações das porfirinas base livre e metaloporfirinas na química bioinorgânica medicinal.^{23,24,25,26,27,28,29,30,31}

Devido ao grande potencial e versatilidade dos compostos porfirínicos relatados na literatura, este trabalho apresentará duas vertentes de aplicação. As porfirinas de manganês(III) tiveram sua atividade catalítica avaliada em reações de oxidação do carvacrol, um componente do óleo essencial do orégano, sob condições brandas. Foram utilizados solventes considerados verdes³² como o acetato de etila e o carbonato de dimetila, analisando-se a possível substituição de solventes clorados. Em uma segunda vertente, porfirinas base livre e porfirinas de antimônio(V) foram testadas para avaliar sua atividade leishmanicida contra as formas promastigota e amastigota da espécie *Leishmania braziliensis*. Estudos de oxirredução com moléculas biológicas foram realizados a fim de se buscar compreender o possível comportamento das porfirinas de antimônio no meio biológico e compará-las aos fármacos atualmente utilizados.

Buscou-se também compreender os modos por meio dos quais os compostos porfirínicos podem interagir com o ADN (ácido desoxirribonucleico), o que é essencial para que o desenvolvimento de novos fármacos. Com isso, estudos de interação entre os compostos porfirínicos e o ADN foram realizados, uma vez que essa interação pode ser um dos mecanismos de ação das moléculas em estudo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo a obtenção de compostos porfirínicos de antimônio(V) e manganês(III) visando avaliar a atividade leishmanicida e catalítica para oxidação de carvacrol, respectivamente. Além disso, com os compostos de antimônio(V), buscou-se avaliar a interação com alvos biológicos (ADN) e processo de redução por moléculas biológicas de interesse (GSH-Glutationa reduzida e L-cisteína).

1.2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são apresentados a seguir.

- Síntese e caracterização dos compostos porfirínicos: 5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirina-21,23-dieta - $H_2T245TMPP$; cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinatoantimônio(V) - $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (inérita); cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(3,5-dimetoxifenil)porfirinatoantimônio(V) - $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$; cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinatomanganês(III) - $[Mn^{III}Cl(T245TMPP)]$ e cloreto-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatomanganês(III) ($[Mn^{III}Cl(TPP)]$).
- Avaliação da atividade catalítica das porfirinas de manganês(III) na oxidação do carvacrol utilizando os oxidantes PhIO e $PhI(OAc)_2$, nos solventes diclorometano, carbonato de dimetila e acetato de etila.
- Avaliação da atividade leishmanicida, contra formas promastigota e amastigota, das porfirinas base livre e porfirinas de antimônio(V) em sistemas *in vitro*.
- Avaliação da redução das porfirinas de Sb(V) por agentes redutores biológicos: glutatona reduzida e L-cisteína.
- Avaliação da interação dos compostos porfirínicos-ADN por meio de titulação espectrofotométrica na região do ultravioleta-visível, dicroísmo circular e fluorescência, com os derivados porfirínicos $H_2T245TMPP$, $H_2T35DMPP$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$.

CAPÍTULO 2 - EQUIPAMENTOS, REAGENTES E SOLVENTES

2.1 PARTE EXPERIMENTAL

2.1.1 Materiais

As substâncias que foram utilizadas sem tratamento prévio para reação de síntese e ensaios catalíticos são: clorofórmio (P.A., Vetec), metanol (P.A., Vetec), hexano (P.A., Neon), acetato de manganês(II) ($\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 99%, Vetec), cloreto de antimônio(V) (SbCl_5 , 99%, Sigma-Aldrich), sílica gel (60 Å, 130-270 mesh, Fluka), alumina neutra (Al_2O_3 , Sigma-Aldrich), alumina básica (Fluka), 2,4,6-colidina (99%, Sigma-Aldrich), 5,10,15,20-tetrafenilporfirina-21,23-diato (H_2TPP , Sigma-Aldrich), $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ (sintetizado por Da Silva⁸⁹), cloreto de sódio (P.A., Vetec), nitrobenzeno (99%, Sigma-Aldrich), 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (98%, Sigma-Aldrich), ácido propiônico (99%, Sigma-Aldrich), iodobenzeno diacetato (98%, Sigma-Aldrich), ácido desoxirribonucleico extraído do esperma de salmão (ssADN*, Sigma-Aldrich), carbonato de dimetila (grau HPLC, Sigma-Aldrich), acetato de etila (grau HPLC, Vetec), diclorometano (grau HPLC, Sigma-Aldrich), carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol, $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich), timoquinona (2-isopropil-5-metil-1,4-benzoquinona, 99%, Sigma-Aldrich), bromobenzeno (99,5%, Sigma-Aldrich), 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT, 99%, Aldrich), azida de sódio (NaN_3 , 98%, Vetec) e manitol (99%, Synth).

Para a avaliação da atividade leishmanicida foram usados canamicina (Sigma-Aldrich), ampicilina (Sigma-Aldrich), L-glutamina (Sigma-Aldrich), placa de cultura TC Plate 96 Well Standard F (Sarstedt Ag & Co), placa de cultura branca clear bottom (Corning Incorporated-Costar), meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich), kit one glo (Promega), resazurina (Sigma-Aldrich), higromicina B (G418 - Santa Cruz Biotechnology), biopterina (Sigma-Aldrich), luciferase assay buffer (Promega), soro fetal bovino (Cultilab), penicilina-estreptomicina (Sigma-Aldrich) e hemina (Sigma-Aldrich).

O iodossilbenzeno (PhIO , 90%) foi obtido por meio da hidrólise básica do $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, conforme o procedimento descrito por Sharefkin e Saltzman (1963).³³ O detalhamento do procedimento está descrito no Apêndice A.

O pirrol (97%, Fluka) foi destilado, sob pressão reduzida, em um sistema de microdestilação, antes de sua utilização. Ele foi mantido a temperatura de -18°C e isolado da luz, usando papel alumínio.

As peneiras moleculares (Sigma-Aldrich, 4 Å) foram ativadas em estufa a 250°C , durante 24 horas, e mantidas em dessecador, previamente ao uso.

2.1.2 Equipamentos

2.1.2.1 Espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-VIS)

O espectrofotômetro HP 8453A diode-array foi utilizado para análise dos compostos sintetizados, testes de interação com o ssADN e acompanhamento das reações de oxidação. A faixa

* ss – salmon sperm

de varredura foi de 190 a 1100 nm e o caminho óptico da cubeta de quartzo era de 10 mm. Para o acompanhamento dos experimentos de fluorescência foi usado o espectrofotômetro da marca Hitachi modelo U-2010, que pertence ao laboratório de Espectroscopia UV-VIS do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.1.2.2 Espectrofotômetro de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência para estudo das interações entre corantes, ssADN e compostos porfirínicos foram obtidos no espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse que pertence ao laboratório de Espectroscopia UV-VIS do Departamento de Química da UFMG.

2.1.2.3 Espectrômetro de Absorção na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do IV dos compostos porfirínicos foram obtidos em espectrômetros da Perkin Elmer modelo FTIR-BX e Varian FTIR 660. As amostras foram preparadas em nujol. O aparelho pertence ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional (LEV) do Departamento de Química da UFMG.

O espectro de absorção na região do IV do polímero foi registrado em um espectrômetro Shimadzu Prestige equipado com um acessório de reflexão total atenuada (FTIR-ATR com cristal Krs-5). O aparelho pertence ao Laboratório de Tecnologias Integradas do Departamento de Química do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais-CEFET-MG e foi operado pela professora Patrícia Santiago de Oliveira Patricio. Os espectros foram coletados na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} com número de varredura de 60 e resolução de 4 cm^{-1} .

2.1.2.4 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas de alguns compostos porfirínicos foram obtidos utilizando a técnica de ionização por dessorção a laser assistida por matriz com analisador por tempo de voo (MALDI-TOF MS) em um espectrômetro Autoflex III MALDI-TOF MS da Bruker modificado com Nd:YAGlaser (330-360, 495-540, 808, 990-1080 nm) equipado com fonte de íons de imagem de dessorção a laser de feixe inteligente, no modo positivo. As medições foram realizadas pelo Prof. Dr. Thiago T. Tasso e Prof. Dr. Gilson de F. Silva. O equipamento pertence a um laboratório Institucional de Pesquisa (LIPq) do Centro de Laboratórios Multiusuários (CELAM), o Laboratório Multiusuários de Proteômica-LMProt, do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

Alguns espectros de massas foram obtidos utilizando um espectrômetro de massas LCQ Fleet (Thermo Scientific) com fonte de ionização por spray de elétrons (ESI) e analisador íon trap. Os espectros foram obtidos no modo positivo. As análises foram realizadas pelo aluno de iniciação científica Leandro de Oliveira da Cunha, feitas em colaboração com o Prof. Rodinei Augusti do Departamento de Química da UFMG.

2.1.2.5 Análise Térmica

A análise termogravimétrica (TGA) para o polímero obtido foi realizada sob atmosfera de nitrogênio utilizando o equipamento Shimadzu DTG-60H. A amostra foi aquecida de 25 a 800 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob fluxo de N₂. O aparelho pertence ao Laboratório de Tecnologias Integradas do Departamento de Química do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais-CEFET-MG e foi operado pela professora Patrícia Santiago de Oliveira Patricio.

2.1.2.6 Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono (¹³C) foram registrados em um espectrômetro Bruker Avance III 400 MHz nanobay, usando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. O aparelho pertence ao laboratório Institucional de Pesquisa (LIPq), o Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (LAREMAR), do Departamento de Química da UFMG. O sinal de solvente residual foi usado como referência para atribuição do deslocamento químico dos sinais, quando na ausência do padrão interno.

2.1.2.7 Evaporador Rotativo

O evaporador rotativo de marca BÜCHI modelo R-114, com banho B-480, foi utilizado para a eliminação de solventes.

2.1.2.8 Agitador por Ultrassom

O ultrassom da marca Unique – Maxiclean®, 40 kHz e 50 watts, foi utilizado para auxiliar no processo de solubilização de amostras.

2.1.2.9 Câmara escura com Lâmpada Ultravioleta

Uma câmara escura, Spectroline Model CX-20, equipada com uma lâmpada ultravioleta de comprimento de onda longo (366 nm), foi utilizada para revelação das placas usadas na cromatografia em camada delgada (CCD).

2.1.2.10 Balança Analítica

As medidas de massa foram realizadas em uma balança analítica Sartorius, modelo BP210D, com carga máxima 210 g e precisão de 0,01 mg.

2.1.2.11 Agitador magnético

Nas reações catalíticas e nos processos de síntese, foi utilizado um agitador magnético Corning Stirrer/Hot Plate para manter a homogeneidade das soluções.

2.1.2.12 Agitador vórtex

Para os ensaios de oxirredução foi utilizado um agitador vórtex do modelo MX-S e marca DLAB, para manter a homogeneidade das soluções e retirar possíveis sólidos das paredes do frasco.

2.1.2.13 Micro-ondas

O equipamento de micro-ondas da marca Milestone S.r.l., START D, Microwave Digestion System do Departamento de Química da UFMG foi utilizado para a preparação do macrociclo porfirínico. O equipamento foi operado juntamente com o professor Luciano Andrey Montoro.

2.1.2.14 Análise Elementar

Os teores, em porcentagem, de carbono, hidrogênio e nitrogênio da amostra $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ foram medidas pelo técnico Marley A. P. de Assis, utilizando um analisador Elementar CHNS/O PE2400 Série II (Series II - CHNS/O Analyzer 2400) da Perkin Elmer, no laboratório de Análise Elementar do Departamento de Química da UFMG.

A análise elementar para carbono, hidrogênio e nitrogênio da amostra $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ foi realizada em um aparelho Perkin Elmer 2400 series II, pertencente à Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP).

2.1.2.15 Cromatógrafo a gás

A quantificação do carvacrol e dos produtos da reação de oxidação foi realizada em cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A, equipado com detector por ionização em chama, coluna capilar QUADREX (5%(fenil)metilpolisiloxano, 30 m de comprimento, 250 μm de diâmetro interno, 0,25 μm de espessura do filme), usando uma mistura de ar sintético e hidrogênio para manter a chama e o hidrogênio como gás de arraste.

2.1.2.16 Dicroísmo circular (DC)

As análises por dicroísmo circular (DC) foram realizadas em um espectropolarímetro Jasco J-815 com lâmpada de xenônio, com acessório de controle de temperatura PDF-425S/15 Peltier e faixa de leitura de 163 a 900 nm. O software para geração dos espectros foi o Spectra Manager II. O gás

utilizado foi nitrogênio de alta pureza (99,99%) com pressão de linha de 20 PSI. O aparelho pertence ao laboratório de Espectroscopia UV-VIS do Departamento de Química da UFMG.

2.1.2.17 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A medição de cromatografia de permeação em gel (GPC) foi realizada em um instrumento LC Shimadzu 2030 Plus equipado com uma coluna KF 803 e um detector ultravioleta a 254 nm. O tetrahidrofurano (THF) foi usado como solvente e a amostra foi preparada a 10 mg mL⁻¹. A temperatura da coluna foi fixada em 30 °C e a massa molar foi calculada usando padrões de poliestireno. O aparelho pertence ao Laboratório de Tecnologias Integradas do Departamento de Química do CEFET-MG e foi operado pela professora Patrícia Santiago de Oliveira Patricio.

2.1.2.18 Calorimetria de varredura diferencial (DSC)

As medições por calorimetria de varredura diferencial (DSC) foram realizadas em um DSC Shimadzu. O instrumento foi calibrado com índio de alta pureza como padrão. Uma amostra do polímero de cerca de 5 mg foi medida em um cadinho de alumínio para análise DSC padrão. O fluxo de gás nitrogênio foi de 50 mL min⁻¹. Foram realizadas duas corridas de aquecimento; a primeira com faixa de temperatura de 30 a 150 °C com taxa de aquecimento de 15 °C min⁻¹, isotérmica a 3 min, resfriamento a 25 °C com taxa de resfriamento de 15 °C min⁻¹, e a segunda corrida com faixa de temperatura de 30 a 250 °C e a mesma taxa de aquecimento. O aparelho pertence ao Laboratório de Tecnologias Integradas do Departamento de Química do CEFET-MG e foi operado pela professora Patrícia Santiago de Oliveira Patricio.

2.1.3 Obtenção da porfirina base livre H₂T245TMPP

2.1.3.1 Método via síntese convencional

A obtenção da 5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirina-21,23-dieta, H₂T245TMPP, foi realizada por adaptação do método descrito por Gonsalves e colaboradores³⁴. Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados o 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (3,901 g; 19,485 mmol) e 100 mL de uma mistura de ácido propiônico:nitrobenzeno (7:3). A mistura foi aquecida sob agitação magnética até o refluxo. Em seguida, o sistema foi mantido ao abrigo da luz usando-se papel alumínio e adicionou-se lentamente o pirrol (1,40 mL; 19,775 mmol). A solução foi mantida no balão sob refluxo e agitação magnética por 1 hora e, em seguida, esse sistema foi resfriado até a temperatura ambiente, aproximadamente 25 °C.

Foram adicionados 50 mL de metanol gelado ao balão e o sistema ficou em repouso, no freezer, por uma semana para precipitação da porfirina base livre. Após esse tempo, a solução foi filtrada sob vácuo em um funil de Büchner (papel de filtro com poros de 8 µm, Quanty), separando-se um precipitado roxo. O produto coletado foi recolhido em quantidade mínima de CHCl₃ e purificado em uma

coluna de alumina (altura 11 cm e diâmetro 3 cm, 2/3 de Al₂O₃ neutra na parte inferior e 1/3 de Al₂O₃ básica na parte superior), utilizando-se CHCl₃ como eluente. As frações de coloração avermelhada foram recolhidas e o solvente eliminado por meio do evaporador rotativo. O sólido obtido de coloração roxa foi guardado em um dessecador.

Rendimento da reação: 0,925 g; 0,949 mmol; 19%.

UV-VIS (CH₂Cl₂), λ_{max} , nm (log ϵ): 424 (4,36) Soret; 517 (3,24); 553 (2,84); 592 (2,74); 656 (2,58).

MALDI-TOF MS: [H₂T245TMPP + H]⁺ *m/z* 975,297 (100%), valor teórico 975,382 (para C₅₆H₅₅N₄O₁₂).

RMN de ¹H em CDCl₃ (400 MHz) a 25 °C: δ -2,57 (2H, s), δ 3,59-3,48 (12H, m, -OCH₃, *para*), δ 3,98-3,92 (12H, t, -OCH₃, *meta*), δ 4,20 (12H, s, -OCH₃, *orto*), δ 6,99 (4H, s, *meta* arila), δ 7,71-7,57 (4H, m, *orto* arila), δ 8,89-8,82 (8H, m, β -pirrólico).

2.1.3.2 Método inédito via síntese de Micro-ondas

A obtenção da H₂T245TMPP foi realizada por adaptação dos métodos descritos por Pineiro³⁵ e Nascimento e colaboradores³⁶. Em um balão bitubulado de fundo redondo de 500 mL, foram adicionados o 2,4,5-trimetoxibenzaldeído (3,850 g; 19,230 mmol), 100 mL de uma mistura de ácido propiônico:nitrobenzeno (7:3), o pirrol (1,40 mL; 19,775 mmol) e uma barra magnética. A solução avermelhada, em temperatura ambiente (25 °C), foi colocada dentro do equipamento de micro-ondas. Uma das aberturas do balão foi tampada e a outra conectada a um tubo de vidro que saía do equipamento. Esse tubo foi conectado a um sistema de refluxo. A mistura foi colocada sob agitação magnética e aquecimento (taxa de aquecimento de 20 °C min⁻¹ a uma potência de 800 W).

A reação foi mantida a 200 °C por 5 minutos. O sistema foi desligado, deixando-o esfriar até aproximadamente 25 °C e foi obtida uma solução de cor preta. A solução foi transferida para um erlenmeyer de 250 mL e 50 mL de metanol gelado foram adicionados. O sistema foi deixado sob refrigeração, no freezer, durante uma semana. O processo de isolamento e purificação da porfirina foi realizado de forma idêntica ao descrito no item 2.1.3.1.

Rendimento da reação: 0,893 g; 0,916 mmol; 19%.

Os dados de caracterização coincidem com os descritos no item 2.1.3.1.

2.1.4 Obtenção das metaloporfirinas de manganês

2.1.4.1 Cloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinatomanganês(III) [Mn^{III}Cl(T245TMPP)]

A inserção do íon metálico na porfirina H₂T245TMPP foi realizada por adaptação dos métodos de Wijesker e Dolphin¹ e Borovkov e colaboradores³⁷. Em um balão tritubulado de 150 mL

adicionaram-se a H₂T245TMPP (0,296 g; 0,304 mmol) e 40 mL de CHCl₃. O sistema foi fechado, deixado sob agitação magnética e refluxo durante 10 minutos. A esta solução foi adicionada 2,4,6-colidina (200 µL; 1,5 mmol), em excesso em quantidade de substância de 5 vezes, em relação à porfirina base livre. Em seguida, adicionaram-se 7 mL de uma solução de Mn(CH₃COO)₂·4H₂O (0,758 g; 3,092 mmol) em CH₃OH. A solução foi mantida sob refluxo e agitação magnética durante 30 horas. Uma mudança da coloração foi observada após 8 horas de reação. A reação foi monitorada por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS e por cromatografia de camada delgada, CCD (Al₂O₃; CH₂Cl₂), com as placas reveladas em câmara com lâmpada ultravioleta. Ao finalizar a reação, o sistema foi desligado e a solução esfriada até a temperatura ambiente (25 °C). A mistura foi transferida para um balão de fundo redondo e com o auxílio do evaporador rotativo foi eliminado o solvente. Em seguida, adicionaram-se 15 mL de CHCl₃ para solubilizar o sólido seco e essa solução foi transferida para um funil de separação de 500 mL.

Ao funil foram adicionados água destilada (30 mL) e CHCl₃ (30 mL), agitando-se e separando-se a fase aquosa (superior) da fase orgânica (inferior), que foi recolhida. Repetiu-se esse processo por três vezes. Para melhorar a separação de fases, adicionaram-se 2 g de cloreto de sódio ao sistema em cada processo de lavagem. Posteriormente, a fase orgânica foi adicionada novamente ao funil de separação, para realizar a troca iônica de acetato por cloreto, lavando três vezes o complexo com solução saturada de cloreto de sódio, sendo separada a fase aquosa da fase orgânica. Para eliminar resquícios de água na fase orgânica, foi adicionado sulfato de sódio anidro e, em seguida, realizada uma filtração simples com papel de filtro (poros 8 µm, Quanta). A solução foi transferida para um balão de fundo redondo e o solvente foi eliminado em um evaporador rotativo. O produto obtido foi dissolvido em 10 mL de CHCl₃ e purificado em coluna de alumina neutra (Al₂O₃, altura de 11 cm e diâmetro de 3 cm) utilizando-se inicialmente CHCl₃ para a retirada da porfirina base livre que não reagiu. Em seguida, uma mistura de CHCl₃:CH₃OH (10:1) foi usada como eluente para extração do complexo. As frações obtidas na coluna foram analisadas por cromatografia de camada delgada, CCD (Al₂O₃; CHCl₃), e reveladas em câmara com lâmpada ultravioleta. As amostras de coloração verde foram transferidas para um balão de fundo redondo e o solvente eliminado em um evaporador rotativo. O produto obtido foi seco em uma pistola de secagem por 24 horas tendo água como solvente.

Rendimento da reação: 0,296 g; 0,278 mmol; 92%.

UV-VIS (CHCl₃), λ_{max}, nm (log ε): 370 (4,68); 404 (4,56); 482 (4,87) Soret; 585 (3,99); 622 (4,03).

MALDI-TOF MS: [Mn^{III}(T245TMPP)]⁺ *m/z* 1027,166 (100%), valor esperado 1027,296 (para C₅₆H₅₂N₄O₁₂Mn).

2.1.4.2 Cloreto-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatomanganês(III) – [Mn^{III}Cl(TPP)]

A metalação da H₂TPP foi realizada utilizando-se o mesmo procedimento apresentado no item 2.1.4.1. Na reação foram adicionados H₂TPP (0,210 g; 0,342 mmol), Mn(CH₃COO)₂·4H₂O (1,23 g; 2,42

mmol), 2,4,6-colidina (200 μ L; 1,5 mmol) em CHCl_3 . A reação ocorreu durante 18 horas (caracterização no Apêndice B).

Rendimento da reação: 0,218 g; 0,311 mmol; 91%.

UV-VIS (CH_2Cl_2), λ_{max} , nm (log ϵ): 373 (4,81), 401 (4,72), 478 (5,09), 582 (4,01) e 618 (4,08).

MALDI-TOF MS: $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TPP})]^+$ m/z 667,173 (100%), valor esperado 667,169 (para $\text{C}_{44}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{Mn}$).

2.1.5 Obtenção dos complexos de antimônio

2.1.5.1 Cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(2,4,5-trimetoxifenil)porfirinatoantimônio(V) – $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$

O procedimento foi realizado por adaptação dos métodos descritos por Liu e Chen³⁸, Tsukamoto e colaboradores³⁹, Kadish e colaboradores⁴⁰ e Borovkov e colaboradores³⁷. Em um balão tritubulado de 150 mL foram adicionados $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ (0,0984 g; 0,101 mmol), 30 mL de CH_2Cl_2 (armazenado em peneira molecular e passado por filtro de papel contendo Na_2SO_4) e peneira molecular ativada, obtendo-se uma mistura de coloração avermelhada. A mistura foi colocada em um sistema de refluxo, sob agitação magnética, até solubilização completa da porfirina. Em seguida, adicionou-se 2,4,6-colidina (150 μ L; 1,124 mmol) e o sistema foi deixado sob agitação por 5 minutos. Finalmente, adicionou-se ao balão o SbCl_5 (0,1 mL; 0,783 mmol). Observou-se uma efervescência e mudança de coloração para verde musgo escuro. O sistema foi mantido sob refluxo e agitação magnética durante 15 minutos. Após esse período, ele foi desligado e a solução foi esfriada até a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$). Em seguida, 80 mL de hexano foram adicionados para que ocorresse a precipitação do complexo. A mistura foi filtrada em funil de placa sinterizada número 4 e o sólido obtido lavado com hexano. O precipitado foi recolhido com CH_2Cl_2 e transferido para um balão de fundo redondo. O solvente foi eliminado em um evaporador rotativo.

O produto foi dissolvido em 10 mL de CH_2Cl_2 e purificado em coluna de alumina neutra (Al_2O_3 , altura de 11 cm e diâmetro de 3 cm), utilizando-se inicialmente CH_2Cl_2 para a extração da porfirina base livre que não reagiu e, em seguida, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (8:2) para extração do complexo de antimônio(V). As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada, (Al_2O_3 ; CH_2Cl_2), e por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS em CH_2Cl_2 . As amostras de coloração verde foram recolhidas e o solvente eliminado em um evaporador rotativo. O complexo obtido foi seco em uma pistola de secagem por 24 horas tendo água como solvente.

Rendimento da reação: 0,101 g; 0,0841 mmol; 83%.

UV-VIS (CH_2Cl_2), λ_{max} , nm (log ϵ): 415 (4,92) Soret; 564 (3,64); 627 (3,60).

ESI-MS: $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP}) + 2\text{H}]^+$, m/z 1165,53 (100%), valor calculado 1165,22 (para $\text{C}_{56}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{SbCl}_2$); $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]^+$, m/z 1163,64 (48%), valor calculado 1163,20 (para

$C_{56}H_{52}N_4O_{12}SbCl_2$); $[Sb^VCl_3(T245TMPP) + H]^+ m/z$ 1199,37 (23%), valor calculado 1199,18 (para $C_{56}H_{53}N_4O_{12}SbCl_3$); $[Sb^VCl_3(T245TMPP) - H]^+ m/z$ = 1197,35 (12%), valor calculado 1197,16 (para $C_{56}H_{51}N_4O_{12}SbCl_3$).

RMN de ^1H em $CDCl_3$ (400 MHz) a 25 °C: δ 3,72-3,56 (12H, m, $-OCH_3$, *para*), δ 4,02-3,88 (12H, m, $-OCH_3$, *meta*), δ 4,30-4,21 (12H, m, $-OCH_3$, *orto*), δ 7,13-7,01 (4H, m, *meta* arila), δ 7,74-7,48 (4H, m, *orto* arila), δ 9,64-9,30 (8H, m, β -pirrólico).

Análise elementar: $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ ($C_{56}H_{52}Cl_3N_4O_{12}Sb$) Teórico C (56,00%); H (4,36%); N (4,66%). Experimental: C (56,09%); H (4,56%); N (4,82%).

2.1.5.2 Cloreto de dicloreto-5,10,15,20-tetraquis(3,5-dimetoxifenil)porfirinatoantimônio(V) - $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$

O procedimento para a síntese da $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ foi o mesmo descrito no item 2.1.5.1. Na reação foram adicionados 5,10,15,20-tetraquis(3,5-dimetoxifenil)porfirina-21,23-dieta, $H_2T35TMPP$, (0,1003 g; 0,118 mmol), $SbCl_5$ (0,1 mL; 0,783 mmol), 2,4,6-colidina (150 μL ; 1,124 mmol) e peneira molecular em CH_2Cl_2 .

Rendimento da reação: 0,112 g; 0,104 mmol; 88%.

UV-VIS (CH_2Cl_2), λ_{max} , nm (log ϵ): 424 (4,68) Soret; 557 (3,75); 597 (2,85).

MALDI-TOF MS: $[Sb^VCl_3(T35DMPP) + CH_3OH + H]^+ m/z$ 1111,105 (100%), valor calculado 1111,160 (para $C_{53}H_{49}N_4O_9SbCl_3$); $[Sb^{III}(T35DMPP)]^+ m/z$ 973,228 (79%), valor calculado 973,220 (para $C_{52}H_{44}N_4O_8Sb$); $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]^+ m/z$ 1043,170 (28%), valor calculado 1043,157 (para $C_{52}H_{44}N_4O_8SbCl_2$).

RMN de ^1H em $CDCl_3$ (400 MHz) a 25 °C: δ 4,36-3,93 (24H, m, $-OCH_3$, *meta*), δ 7,56-7,36 (4H, m, *para* arila), δ 7,22-6,62 e 7,78-7,56 (8H, m, *orto* arila), δ 9,97-9,31 (8H, m, β -pirrólico).

Análise elementar: $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl \cdot 3H_2O \cdot 0.9CH_2Cl_2$ ($C_{53}H_{52}Cl_5N_4O_{15}Sb$). Teórico C (52,44%); H (4,31%); N (4,62%). Experimental: C (52,11%); H (4,48%); N (4,97%).

2.1.6 Reações de oxidação do carvacrol

As reações de oxidação de carvacrol catalisadas pelas porfirinas de manganês(III) foram realizadas em microescala, sob condições brandas (temperatura de 25 °C e agitação magnética), em frascos de 2 mL, vedados com septo de teflon/silicone, conforme o procedimento apresentado na literatura⁴¹. Em cada frasco, os doadores de oxigênio, $PhIO$ ou $PhI(OAc)_2$, tiveram suas massas medidas ($2,0 \times 10^{-5}$ mol), utilizando-se uma balança analítica, independentemente. Os catalisadores porfirínicos $[Mn^{III}Cl(TPP)]$ e $[Mn^{III}Cl(T245TMPP)]$ tiveram suas massas medidas ($2,0 \times 10^{-6}$ mol) dentro dos frascos, juntamente com os oxidantes. Cada frasco foi vedado com tampa de rosca e septo de teflon/silicone. Nos frascos de reação foram adicionados, com microseringas Hamilton®, 100 μL de substrato carvacrol (2×10^{-5} mol) e 200 μL de solvente (acetato de etila, carbonato de dimetila ou

diclorometano em grau HPLC). A proporção em quantidade de substância de catalisador:oxidante:substrato utilizada foi de 1:10:10. A mistura de reação foi imersa em banho de água a 25 °C e mantida sob agitação magnética por 120 minutos. Após esse período, foram adicionados 50 µL de solução de bromobenzeno ($5,0 \times 10^{-6}$ mol, padrão interno) e 50 µL de solvente. Os produtos foram analisados por cromatografia a gás, por injeção de 0,5 µL dessa solução. Após a injeção, para que as reações fossem interrompidas, foram adicionados 50 µL de solução saturada de sulfito e bórax em água ⁴².

Os produtos foram analisados por cromatografia a gás em coluna capilar com detector por ionização de chama⁴³. Os fatores de respostas teóricos foram calculados a partir da contribuição de cada átomo na resposta do detector de ionização a chama, conforme descrito por Tranchant e Gardais⁴⁴ (Apêndice C). A programação usada para análise dos produtos está descrita no Apêndice D. Os cálculos de conversão e rendimentos estão apresentados no Apêndice E.

As reações controle, na ausência de catalisador ou do oxidante, foram realizadas seguindo o mesmo procedimento empregado para as reações catalisadas pelas porfirinas de manganês⁴¹. Foram realizadas reações controle: (1) em ausência das porfirinas de manganês, (2) em ausência de oxidante (para avaliar se o oxigênio atmosférico é capaz de oxidar o substrato) e (3) com o uso de cloreto de manganês para substituir o catalisador metaloporfirínico, nas mesmas condições descritas. Todas as reações foram realizadas, no mínimo, em duplicata.

Para determinar o grau de destruição do catalisador após o processo oxidativo, foram obtidos espectros de absorção na região UV-VIS da mistura de reação. O grau de destruição foi determinado usando a absorvidade molar (ϵ) da banda Soret de cada metaloporfirina.

2.1.6.1 Reações com captadores de radicais

Para avaliar os possíveis mecanismos de reação, realizaram-se reações a temperatura ambiente (25 °C) com os oxidantes PhIO e PhI(OAc)₂ na presença de MnCl₂, [Mn^{III}Cl(TPP)] ou [Mn^{III}Cl(T245TMPP)] em diclorometano como solvente com manitol, azida de sódio (NaN₃) e 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT) como captadores de radicais. Os captadores de radicais foram testados individualmente. Os experimentos foram realizados de forma semelhante às reações de oxidação apresentadas na sessão 2.1.6, em uma proporção em quantidade de substância de catalisador:oxidante:carvacrol:captador de radical de 1:10:10:10.

2.1.6.2 Reações de reúso do catalisador

Para avaliar a eficiência de reúso dos catalisadores em uma sequência de quatro ciclos, as reações de sistemas contendo acetato de etila ou diclorometano como solvente foram analisadas na presença do oxidante PhI(OAc)₂ e dos catalisadores [Mn^{III}Cl(TPP)] ou [Mn^{III}Cl(T245TMPP)]. As reações foram realizadas conforme descrito na sessão 2.1.6, e para cada novo ciclo, substrato e oxidante foram adicionados mantendo a razão de 1:10:10 catalisador:PhI(OAc)₂:carvacrol.

2.1.6.3 Extração do polímero

O produto polimérico do carvacrol foi extraído do meio de reação seguindo o procedimento descrito por Günay e colaboradores⁴⁵. Finalizado o tempo de reação, foram adicionados 400 µL de metanol ao frasco e a mistura foi mantida em repouso durante 24 horas. Após esse período, a mistura foi centrifugada e o sobrenadante foi retirado do frasco. O polímero foi lavado várias vezes com água destilada e metanol até o sobrenadante permanecer transparente, indicando que foram removidos oxidante, substrato, catalisador e outras impurezas. O polímero foi caracterizado por RMN de ¹H, GPC, IV-ATR, TGA e DSC.

2.1.7 Avaliação da atividade leishmanicida

2.1.7.1 Cultura de parasitos

Promastigotas de *Leishmania braziliensis* MHOM/BR/94/H3227, foram cedidas pelo grupo de pesquisa do pesquisador Rubens Lima do Monte Neto, da Fiocruz-MG. Esses parasitos foram transformados para expressar o gene da luciferase, o que permite a emissão de luz quando fornecido luciferina. Eles foram descongelados e cultivados a 24 °C em garrafas de cultura celular, contendo meio de cultura essencial mínimo (α-MEM) suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino inativado pelo calor, 100 mg mL⁻¹ de canamicina, 50 mg mL⁻¹ de ampicilina, 2 mM de L-glutamina, 5 mg mL⁻¹ de hemina, 5 mM de biotina, em pH = 7,00 e incubadas a 25 °C, sob agitação em estufa BOD. Os parasitos transfectados foram cultivados na presença de 50 µg mL⁻¹ de higromicina B para manter a seleção dos parasitos que contém o gene da luciferase.^{46,47}

2.1.7.2 Avaliação da citotoxicidade dos compostos porfirínicos contra formas promastigotas⁴⁷

Para os ensaios *in vitro*, inóculos de 1×10^6 parasitos/mL na forma promastigota da cepa *L. braziliensis*, na fase log de crescimento, foram feitos em triplicata em placas de cultura de células de 96 poços com 200 µL de meio α-MEM. As células foram incubadas sob agitação a 24 °C durante 72 h, na presença de oito diferentes concentrações de cada composto a ser testado. Foi feito um controle para o ensaio com resazurina, sem a presença de parasitos para obter o background dos compostos porfirínicos. Preparou-se um controle sem adição de composto de teste, que foi estabelecido para a comparação do crescimento de parasitos. Após a incubação, foram adicionando 20 µL de uma solução de resazurina (0,25 mg mL⁻¹) em cada poço. A placa foi incubada por 4 h. Após esse período, a placa foi lida em espectrômetro de fluorescência com excitação em 530 nm e emissão em 590 nm.⁴⁷

A atividade leishmanicida de cada composto foi expressa como concentração inibitória de 50% (CI₅₀) em 72 h, o qual representa a concentração do composto que reduz o crescimento celular em 50% comparado com o controle não tratado (crescimento relativo). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A obtenção do CI₅₀ de cada composto foi realizada por meio de regressão não linear dos

valores de log das concentrações testes por média das fluorescências obtidas nas triplicatas de cada concentração, pelo programa estatístico PRISMA.

2.1.7.3 Avaliação da citotoxicidade e atividade leishmanicida dos compostos contra formas amastigotas em modelo de células THP1⁴⁷

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando monócitos humanos imortalizados (THP1) cultivados em meio RPMI-1640 contendo L-Glutamina, soro fetal bovino e penicilina-estreptomicina. Os monócitos foram mantidos em frascos de cultura a 37 °C em atmosfera de 5% CO₂ por meio de repiques semanais. Em seguida, as células THP1 foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 5×10^5 células/poço e foi aguardada a sua aderência por 48 h. Após a aderência, as células foram expostas aos compostos porfirínicos e mantidas a 37 °C em incubadora umidificada e atmosfera contendo 5% de CO₂. Após 72 h de exposição aos compostos, foi adicionada resazurina a cada poço e aguardou-se por 4 h. Após esse período a placa foi lida em espectrômetro de fluorescência com excitação em 530 nm com emissão em 590 nm.

Para o ensaio de atividade leishmanicida contra amastigotas, as células THP1 foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 5×10^5 células/poço e foi aguardada a sua aderência por 48 h. Após a aderência, as células THP1 foram infectadas com amastigotas de *Leishmania braziliensis* H3227 de fase tardia de crescimento em uma proporção de 1:10 de células:parasito durante 3 h nas mesmas condições anteriores. Após esse período, as células foram expostas aos compostos porfirínicos e mantidas a 37 °C em incubadora umidificada e atmosfera contendo 5% de CO₂. Após 72 h de exposição aos compostos, 20 µL de ONE-Glo™ Luciferase Assay Buffer foi adicionada a cada poço. Após 30 min de incubação, a luminescência resultante foi medida com um luminômetro a 1000 m cm⁻¹ de integração por poço. A intensidade da emissão de luz após a lise celular é proporcional ao número de amastigotas intracelulares nos macrófagos. A luminescência foi reduzida após tratamento com um composto leishmanicida em comparação com os controles sem composto (controle de crescimento).⁴⁷ Os CI₅₀ foram calculados por interpolação linear e cada ensaio foi realizado em dois experimentos independentes e os resultados foram expressos como médias.

2.1.8 Reações de oxirredução com os complexos de antimônio(V)

Nos estudos de oxirredução foram utilizados como agente oxidante as porfirinas de Sb(V) e como agente redutor a glutathiona reduzida (GSH) e a L-cisteína. Na cubeta, a concentração dos complexos foi 5,0 µM e de GSH ou L-cisteína foi 2 mM, em mistura de DMSO/tampão fosfato (1%, v/v) pH = 7,4. Cada composto porfirínico foi estudado separadamente com cada agente redutor, em pH = 5, 6 e 7,4, resultando em 12 frascos. Nestas soluções foi borbulhado argônio, tampado o frasco e mantido em banho termostático a 37 °C durante 72 horas. A cada 24 h, foi medido o espectro de absorção na região do UV-VIS. A cada medição, borbulhou-se novamente argônio.

2.1.9 Estudos de interação dos compostos porfirínicos com ADN

2.1.9.1 Estudo de estabilidade, agregação e diluição dos compostos porfirínicos por espectroscopia na região do UV-VIS

Os estudos de estabilidade, agregação e diluição dos compostos porfirínicos foram realizados em um espectrofotômetro UV-VIS, sendo os espectros de absorção medidos em função da concentração usando uma mistura de DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 como solvente, na concentração de 5,0 μM de cada composto porfirínico. As mudanças nos comprimentos de onda máximo (λ_{max}) das bandas de absorção foram monitoradas.

Nos testes de estabilidade, as soluções dos compostos porfirínicos foram mantidas sob repouso, medindo-se o seu espectro a cada 5 min durante 60 min, para analisar as mudanças espectrais. Foram realizadas doze medições da solução de cada composto porfirínico.

Nos testes de agregação utilizaram-se três meios de identificar o potencial de agregação das porfirinas: (1) o uso de agitação magnética; (2) sem agitação; e (3) dez agitações mecânicas consecutivas, utilizando-se uma micropipeta de 1000 μL e medindo o seu espectro a cada 5 min para analisar as mudanças espectrais. Foram realizadas dez medições da solução de cada composto porfirínico.

No teste de diluição, para cada solução de composto porfirínico, foram adicionados 3 μL de tampão PBS pH = 7,4, e agitou-se com a micropipeta de 1000 μL (5 repetições). Após isso, deixou-se estabilizar por 5 min e seu espectro de UV-VIS foi medido. Foram realizadas dez adições de tampão PBS em cada composto porfirínico.

2.1.9.2 Avaliação das interações entre ssADN e os compostos porfirínicos via titulação espectrofotométrica

Os estudos de interação entre os compostos porfirínicos, separadamente, e o ssADN foram realizados por meio de titulação espectrofotométrica. A solução estoque de ssADN foi preparada dissolvendo-se 2 mg de ssADN em 1 mL de tampão fosfato de pH = 7,4. A concentração de ssADN por nucleotídeo foi determinada considerando-se a absorvidade molar (ϵ) dessa biomolécula em 260 nm como igual a 6.600 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$.⁴⁸ A concentração da solução de ssADN nos testes foi determinada como sendo 8,1 mM. Foi considerado que o ssADN estava livre de proteínas (desenovelado das histonas) e consequentemente apto para uso, pois a razão entre a absorbância em 260 e 280 nm era maior que 1,50, para este experimento foi de 1,76.⁴⁹

Prepararam-se 2 mL de solução estoque, de cada composto porfirínico ($\text{H}_2\text{T245TMPP}$, $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$) em DMSO. A porfirina $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ necessitou da mudança de solvente para DMF, devido à insolubilidade em DMSO. A partir das soluções estoque, foram preparadas soluções diluídas com DMSO ou DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, na concentração desejada.⁴⁸ A Tabela 1 contém as concentrações das soluções estoque e daquelas utilizadas no teste.

Tabela 1 – Concentração dos compostos porfirínicos no experimento de interação com ssADN.

Composto	Concentração da solução estoque ($\times 10^{-3}$ M)	Concentração da solução na cubeta ($\times 10^{-6}$ M)
H ₂ T245TMPP	1,09	5,05
H ₂ T35DMPP	1,04	5,08
[Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl	1,03	5,03
[Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl	1,23	5,00

2.1.9.3 Avaliação das interações entre ssADN e os compostos porfirínicos por dicroísmo circular

Os estudos de interação com ssADN utilizando o dicroísmo circular (DC)⁵⁰ foram realizados em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm a 37 °C na faixa de varredura de 230 a 600 nm. A solução padrão de ssADN (50 μ M) foi titulada com quantidades crescentes de cada composto porfirínico (0; 2,5; 5,0; 10 μ M), em experimentos independentes, analisando as mudanças no espectro de DC do ssADN.

2.1.9.4 Estudo de competição dos compostos porfirínicos com brometo de etídio-ssADN e verde de metila-ssADN por espectroscopia de fluorescência

As soluções estoques em DMSO dos compostos porfirínicos (Tabela 1) foram utilizadas para os estudos de competição contra o brometo de etídio (BE) e verde de metila (VM), pelos sítios de interação do ssADN, por intercalação entre as bases nitrogenadas e pelo sulco menor, respectivamente. Os estudos foram realizados por meio da adição gradual da solução estoque à cubeta de quartzo (4 faces polidas, com caminho óptico de 1,0 cm) contendo BE (1 μ M) ou VM (1 μ M) e ssADN (10 μ M) em uma solução tampão PBS pH = 7,4, a $\sim$ 37 °C.⁵⁰ A concentração dos compostos porfirínicos variou de 0 a 20 μ M. As amostras foram excitadas no comprimento de onda de absorção dos corantes (BE - λ_{exc} = 510 nm; e VM - λ_{exc} = 630 nm) e os espectros de emissão foram registrados na faixa de comprimento de onda apropriada (EB 520 a 750 nm; VM 640 a 850 nm), 5 min após cada adição da solução contendo os compostos porfirínicos. As constantes de supressão de Stern-Volmer (K_{SV}) e constante cinética de supressão¹⁵ dos compostos foram calculadas.

CAPÍTULO 3 – SÍNTESE DE COMPOSTOS PORFIRÍNICOS

3.1 INTRODUÇÃO

3.1.1 Obtenção de Porfirinas Base livre

O termo porfirina deriva da palavra grega *porphyra* (púrpura/violeta) e está relacionada à coloração intensa apresentada por essas substâncias. Em 1912, os estudos relacionados à síntese do macrociclo porfirínico iniciaram-se após Wilhelm Küster sugerir pela primeira vez a estrutura desses compostos tetrapirrólicos. O trabalho pioneiro descrevendo um método de síntese de porfirina foi descrito por Milroy em 1918 e, posteriormente, tem-se o trabalho de Fischer em 1926, em que foi relatada a síntese da 2,3,7,8,12,13,17,18-octaetilporfirina-21,23-diato (H_2OEP).⁴ O químico orgânico Hans Fischer recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1930 pela síntese e elucidação da estrutura do heme, o grupo prostético da hemoglobina e pelo trabalho que deu origem ao livro “Die Chemie des Pyrrols”, em colaboração com Orth, publicado em 1934.⁴ Fischer é considerado o pai da química moderna das porfirinas.^{2,3,51}

Paul Rothmund, em 1935, relatou a síntese da porfirina 5,10,15,20-tetrafenilporfirina-21,23-diato (H_2TPP) *meso*-substituída, por meio da reação de condensação entre o acetaldeído e o pirrol, a 150 °C, durante 24 horas, em um recipiente fechado na ausência de ar, em meio metanólico, dando início à síntese de porfirinas *meso*-tetrassubstituídas (Figura 5a)^{52,53}. Ele testou diversos tipos de aldeído e constatou a obtenção dos compostos porfirínicos por espectroscopia na região do UV-VIS. Entretanto, os rendimentos eram inferiores a 5%, com a presença de subprodutos como clorina derivadas das porfirinas base livre.⁵³

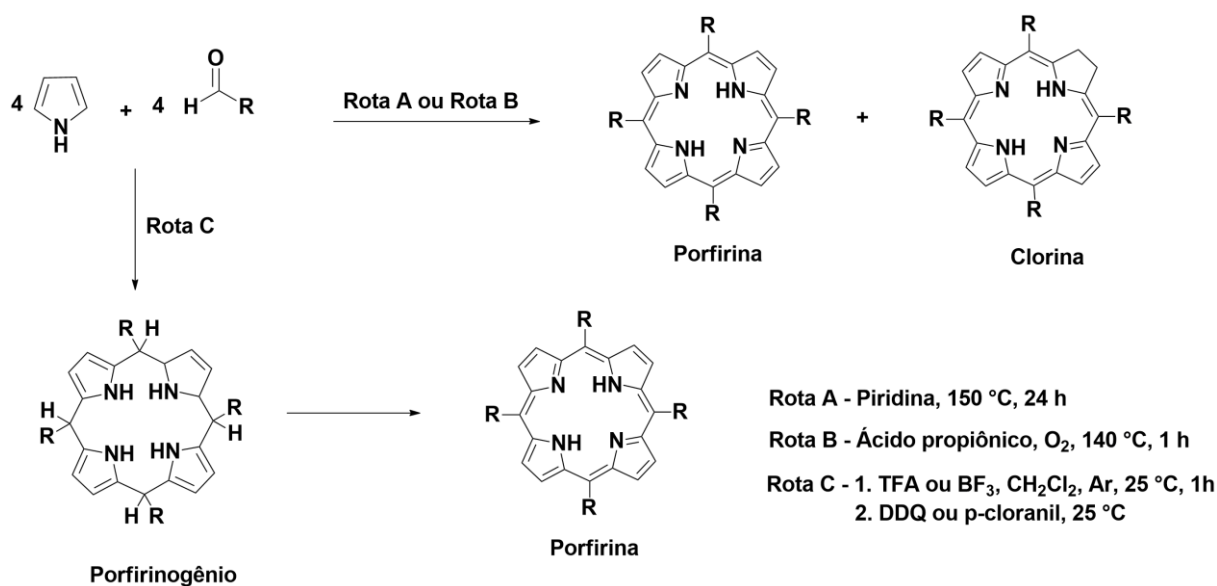


Figura 5 – Esquema da síntese da H_2TPP segundo as condições reacionais estabelecidas pelos métodos de Rothmund^{52,53} (Rota A), Adler-Longo^{54,55} (Rota B) e Lindsey⁵⁶ (Rota C).

Posteriormente, nos anos de 1960, Alan Adler e Frederik Longo^{54, 55} realizaram modificações na metodologia de Rothmund, e sintetizaram a H₂TPP sob condições ácidas (ácido propiônico ou ácido acético) e em atmosfera ambiente, partindo de quantidades equimolares de pirrol e benzaldeído. A reação era feita sob refluxo e finalizava em aproximadamente 1 hora (Figura 5b). As vantagens dessa metodologia foram o aumento do rendimento para 20%, para diferentes porfirinas base livre, e a facilidade com a qual o produto poderia ser isolado do meio de reação (por recristalização).^{54,55} As vantagens não foram descritas para todas as combinações possíveis de pirrol e aldeído, pois principalmente para alguns aldeídos com substituintes em *orto* dos grupos *meso*-arila, não eram obtidos rendimentos satisfatórios, além da presença da clorina como subproduto.

Devido às desvantagens verificadas para os métodos anteriores, em 1987, Jonathan Lindsey⁵⁶ propôs uma nova metodologia para a síntese de porfirinas meso-substituídas (Figura 5c). Este método envolve uma reação em duas etapas, entre o pirrol e o aldeído, em condições brandas na presença de uma pequena quantidade de um catalisador ácido (BF₃ ou ácido trifluoracético, TFA), em atmosfera inerte e temperatura ambiente, levando à formação do porfirinogênio como um intermediário da reação.⁵⁶ Na segunda etapa, a oxidação deste intermediário ocorria na presença de um agente oxidante (DDQ - 2,3-dicloro-5,6-diciano-*p*-benzoquinona ou cloranil), resultando na obtenção da porfirina de interesse. A vantagem dessa metodologia estava no rendimento de 30 a 40% para porfirinas base livres, quando baixas concentrações de aldeído e pirrol (cerca de 1×10^{-2} M) são empregadas.^{1,56} O aumento dessas concentrações leva a uma diminuição do rendimento da reação, impossibilitando a aplicação dessa metodologia para sistemas em escala industrial.¹

Em 1991, Rocha Gonsalves e colaboradores³⁴ modificaram os procedimentos anteriores, adicionando ao meio de reação nitrobenzeno, para promover a rápida oxidação do porfirinogênio, evitando a formação de clorina. Essa metodologia conseguiu gerar bons rendimentos para porfirinas variadas, isolando-as facilmente pela adição de metanol ao sistema, promovendo sua precipitação⁸. Atualmente, a síntese de porfirinas base livre pode ser realizada utilizando-se os reagentes das metodologias tradicionais, mas utilizando micro-ondas buscando diminuir o tempo de reação e a quantidade de reagentes.^{35, 57}

3.1.2 Obtenção de porfirinas de antimônio(V)

O trabalho pioneiro sobre a síntese de porfirinas de Sb(III) e Sb(V) foi o de Treibs⁵⁸ em 1969, no qual descreve-se pela primeira vez a obtenção de três complexos diferentes em busca de entender os espectros de absorção desses compostos. A síntese baseava-se na reação entre a dimetilestermesoporfirina com o sal cloreto de antimônio(III) (SbCl₃) em uma proporção de 1:12, sob refluxo com piridina (Figura 6, Rota A). A piridina atuava como solvente e base, favorecendo a desprotonação da porfirina base livre, deixando-a livre para o ataque eletrofílico.⁵⁹ Segundo o autor, a reação ocorria imediatamente ao se adicionar os reagentes, obtendo compostos de cor verde-oliva. A metodologia utilizada exclui a necessidade de realizar a oxidação do centro metálico, pela espontaneidade do processo. Porém, segundo o autor, esse processo de oxidação direta não ocorre com todas as porfirinas, visto que na obtenção da atioporfirina de antimônio(III), para a qual as condições de síntese foram as mesmas, não ocorreu oxidação.⁵⁸ Apesar deste trabalho introduzir a

possibilidade de se obter porfirinas de antimônio, o mesmo não apresentou qualquer descrição de controle do estado de oxidação do centro metálico, não apresentou valores de rendimento e os dados de espectroscopia de absorção na região do UV-VIS demonstravam que os produtos eram, na verdade, mistura de compostos

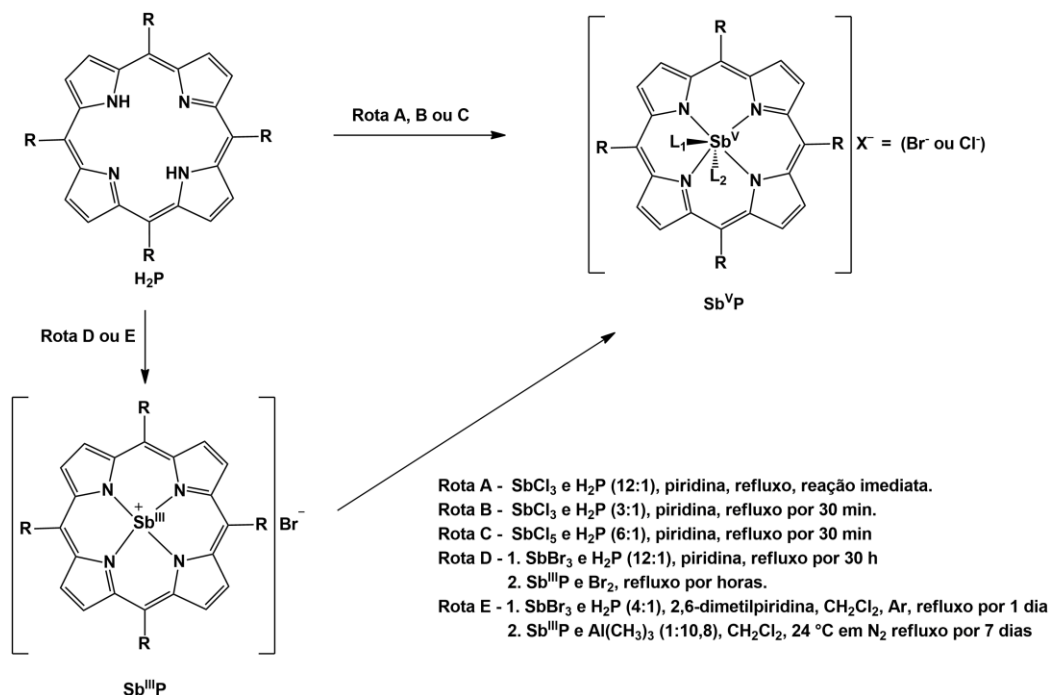


Figura 6 – Representação da reação de metalatação de porfirinas base livre com Sb(III) ou Sb(V), segundo as condições reacionais estabelecidas pelos métodos de Treibs⁵⁸ (Rota A), Buchler e Lay⁶⁰ (Rota B), Barbour e colaboradores⁶¹ (Rota C), Inoue e colaboradores⁶² (Rota D) e Kadish e colaboradores⁴⁰ (Rota E).

Com o intuito de analisar as porfirinas de antimônio que foram obtidas pela primeira vez por Treibs (1969)⁵⁸, os pesquisadores Buchler e Lay (1974)⁶⁰ sintetizaram o complexo $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{OEP})]$ para analisar a influência do centro metálico no sistema aromático do macrociclo. A primeira metodologia descrita por eles (Figura 6, Rota B) partia do H_2OEP com SbCl_3 , na relação em quantidade de substância 1:3, contendo piridina a 120 °C, por 30 min, obtendo um sólido preto-acastanhado. Os autores sugeriram que, na verdade, não foi obtido um complexo com Sb(III), mas o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}(\text{O})(\text{OEP})]$. Para testar a obtenção da porfina de Sb(V), os autores relataram uma reação desse composto obtido na síntese com hidrazina em acetona e diclorometano. Como conclusão, pelo rendimento de 76% da reação de redução do centro metálico, eles afirmaram que a partir de sua metodologia, foram obtidos compostos com Sb(V). Essa síntese ainda possuía algumas incertezas referentes ao produto final, mas foi importante para o avanço das sínteses dessa classe de compostos.

Até 1989, segundo os relatos da literatura, era utilizado apenas SbCl_3 para a síntese dos complexos tanto para obter os complexos de antimônio(III) quanto os de antimônio(V). Em 1992, foi publicado por Barbour e colaboradores (1992)⁶¹ o primeiro artigo utilizando o cloreto de antimônio(V) (SbCl_5) na síntese de $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{TTP})]\text{SbCl}_6$. A utilização desse sal, que não sofre redução em condições normais, foi uma forma de minimizar as possíveis misturas de compostos contendo os dois estados de oxidação, +3 e +5. A síntese partindo de H_2TTP e SbCl_5 em uma proporção em quantidade de

substância 1:6 em piridina (Figura 6, Rota C), sob refluxo por 30 min, gerou um sólido roxo. Essa síntese, abriu a possibilidade de se realizar a obtenção de uma gama de porfirinas de Sb(V) variando-se a estrutura dos substituintes no macrociclo porfirínico, com o número de oxidação do antimônio previamente conhecido.

Em 1994, Inoue e colaboradores⁶² também apresentaram uma nova metodologia buscando resolver os problemas apresentados por Treibs⁵⁸, Buchler e Lay⁶⁰, em que o produto final poderia conter uma mistura de porfirinas com Sb(V) e Sb(III). A metodologia inicia-se pela reação entre o SbBr_3 e a H_2TPP em piridina sob refluxo durante 30 h e, posteriormente, realiza-se a oxidação do metal utilizando bromo (Br_2), agitando por várias horas em temperatura ambiente (Figura 6, Rota D). Ainda no trabalho de Inoue e colaboradores, eles obtiveram a porfirina $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Br}(\text{OCH}_3)(\text{TPP})]\text{Br}$ com um ligante metoxila, que se originou da purificação em coluna de sílica gel com metanol-clorofórmio (1:15).

Por fim, Kadish e colaboradores⁴⁰ modificaram a síntese de Treibs⁵⁸, em que a reação utilizando SbCl_3 e H_2TPP (4:1) ocorre em CH_2Cl_2 e com adição de excesso de 7,7 vezes de 2,6-trimetilpiridina, em relação à porfirina base livre, sob refluxo em atmosfera de argônio por 1 dia (Figura 6, Rota E). A mudança do solvente, proporcionou diminuição na temperatura de refluxo. Para a oxidação do Sb(III), eles usaram $[\text{Sb}^{\text{III}}(\text{TPP})]\text{Cl}$ (produto da primeira etapa) e $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ (relação em quantidade de substância 1:10,8) em CH_2Cl_2 sob refluxo em atmosfera de N_2 , por 7 dias. Os autores obtiveram o produto desejado e, diferentemente da síntese de Treibs⁵⁸, pode-se modificar o ligante axial com base na primeira etapa de reação ou por novas reações. Com essa metodologia, outros autores começaram a trocar o solvente de reação, adicionando diferentes bases para substituir a piridina, para realizar as reações em condições mais brandas. Diferentemente da síntese de Barbour e colaboradores,⁶¹ que pode ser realizada em uma etapa, as reações de Kadish e colaboradores envolvem duas etapas e maiores processos de purificação, sendo um método menos ambientalmente amigável.

3.1.3 Obtenção de porfirinas de manganês

As sínteses de porfirinas de manganês(III) são mais conhecidas do que as sínteses de porfirinas de antimônio. Para a maioria dos centros metálicos da primeira série de transição (4º período da tabela periódica), ocorre diretamente com cátions metálicos com carga 2+, resultando em compostos estáveis. No caso das porfirinas de manganês, normalmente, o estado de oxidação +3 é mais estável, visto que seu tamanho é adequado para inserção na cavidade do macrociclo¹. Como o íon $\text{Mn}(\text{III})$ não é um bom precursor para essas reações, por ser um ácido de Lewis mais duro que o íon $\text{Mn}(\text{II})$, acaba sendo inativado no meio de reação.⁶³ Com isso, utiliza-se um sal de $\text{Mn}(\text{II})$, ocorrendo a coordenação ao macrociclo e, logo em seguida, a oxidação para $\text{Mn}(\text{III})$, sendo esse processo irreversível no meio de reação (Figura 7).⁶⁴

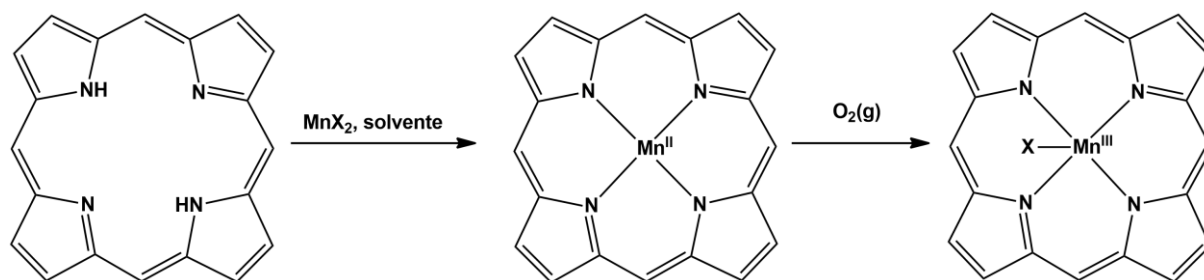


Figura 7 – Representação da síntese da porfirina de manganês(III). Os solventes podem ser: clorofórmio/metanol¹, ácido acético/acetato⁶⁵ ou *N,N'*-dimetilformamida.⁶⁶

Na Figura 7, há uma representação para uma reação de metalação (nomenclatura comumente usada para o processo de inserção de um cátion metálico ao macrociclo) com manganês, destacando-se três metodologias diferentes, descritas na literatura.^{1,65,66} O método clorofórmio/metanol ocorre quando a porfirina base livre é dissolvida em clorofórmio e o acetato do centro metálico em metanol.¹ No método ácido acético/acetato, a porfirina base livre e o acetato do centro metálico ficam sob refluxo em ácido acético.⁶⁵ Em seguida, deve-se precipitar o complexo resultante por adição de água. Esse método é indicado para porfirinas que não possam estar em meio fortemente ácido, e pela formação do tampão ácido acético/acetato evita uma redução drástica do pH no meio de reação¹. Já o método com a *N,N'*-dimetilformamida (DMF)⁶⁶ consiste na dissolução dos reagentes em DMF usando, preferencialmente, cloretos sob refluxo. No meio de reação será formado ácido clorídrico, um ácido forte, que evaporará pela alta temperatura (110 °C) em que a reação é realizada. Esse método apresenta como principal vantagem a boa solubilidade das porfirinas, mesmo aquelas com substituintes nas posições meso-*arila*. Entretanto, em alguns macrociclos, como os catiônicos ou bromados, a presença de DMF pode propiciar a sua destruição.⁶⁷

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção serão apresentadas as caracterizações e respectivas discussões relativas às sínteses da porfirina base livre H₂T245TMPP e dos complexos [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl inédito, [Sb^VCl₂(T35DMPP)]Cl e [Mn^{III}Cl(T245TMPP)].

3.2.1 Obtenção da porfirina H₂T245TMPP

A obtenção da porfirina base livre H₂T245TMPP foi realizada utilizando-se a metodologia que envolve a condensação de pirrol e do aldeído usando como solvente a mistura de ácido propiônico/nitrobenzeno na presença de ar atmosférico (Figura 8).^{34,35}

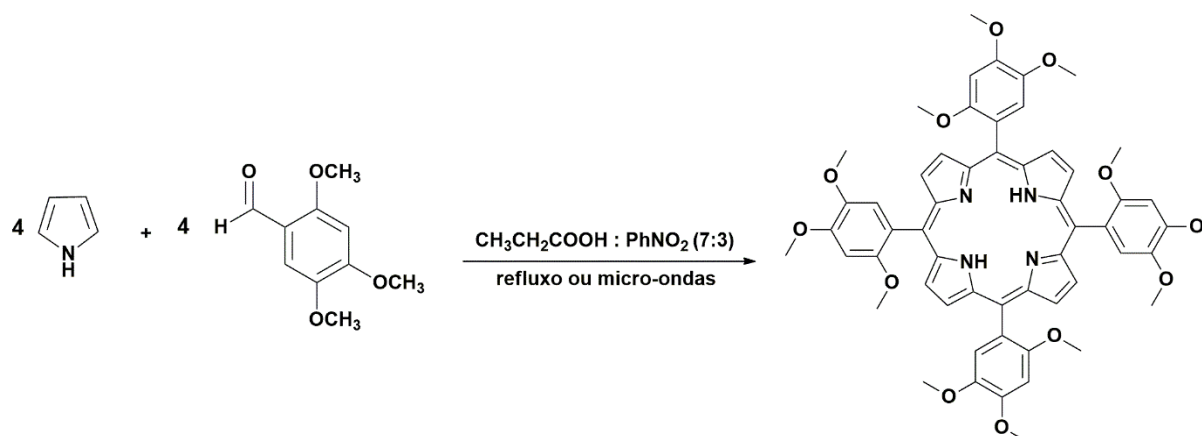


Figura 8 – Representação da reação de obtenção da porfirina base livre H₂T245TMPP, usando aquecimento por sistema de refluxo convencional ou micro-ondas.

A utilização do nitrobenzeno, relatada por Gonsalves e colaboradores³⁴, em temperatura de 120 °C, promove a transformação direta do porfirinogênio (intermediário apresentado na Figura 9) em porfirina base livre, em uma reação de uma etapa, evitando a formação de clorina no meio de reação. Nas metodologias tradicionais (Figura 9), a obtenção de porfirinas ocorria por duas etapas: (i) a formação do porfirinogênio, seguida da (ii) oxidação desse para formar a porfirina. Isso levava à obtenção de rendimentos de reação mais baixos pela formação de subprodutos, aumento do custo devido à utilização de reagentes mais caros como o DDQ e maior tempo de reação.³⁵

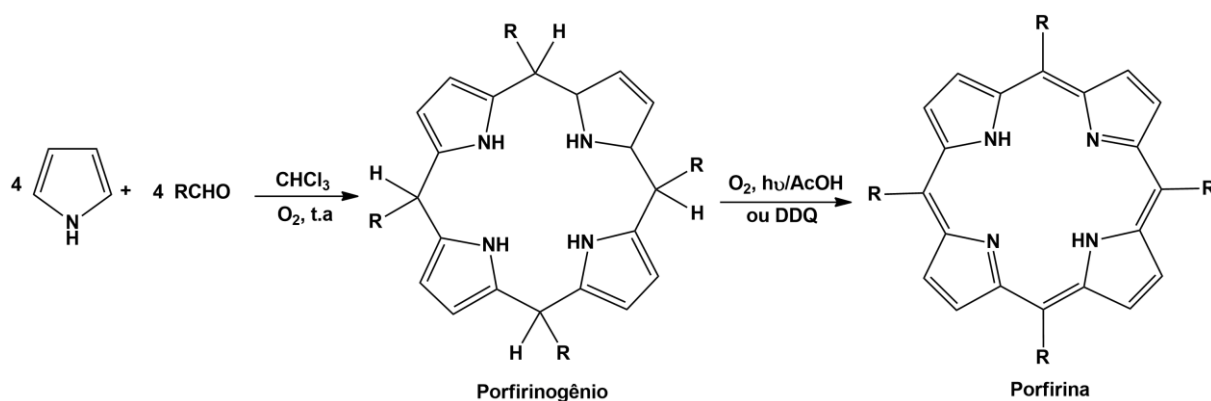


Figura 9 – Metodologia tradicional empregada para obtenção de porfirinas em duas etapas de reação.³⁴

Com o intuito de estudar formas diferentes de se obter a porfirina base livre, foram empregados dois tipos diferentes de aquecimento: o método convencional, por meio de sistema de refluxo em chapa de aquecimento, como descrito por Gonsalves e colaboradores³⁴, e aquecimento por irradiação por micro-ondas, adaptando-se o método descrito por Pineiro³⁵ e Nascimento e colaboradores.³⁶ O rendimento alcançado em cada uma das formas de aquecimento foi igual (19%), o que inicialmente não seria suficiente para destacar um procedimento perante o outro.

A diferença na forma de aquecimento propiciou uma diminuição no tempo de reação; no método convencional a reação ocorreu durante 60 minutos, enquanto utilizando-se o micro-ondas o tempo passou a ser de 15 minutos. Nos estudos descritos por Nascimento e colaboradores³⁶ e Pinto e

colaboradores⁶⁸, na síntese de porfirinas contendo substituintes volumosos nas posições *orto* dos grupos arila, foram observados baixos rendimentos em reações realizadas em micro-ondas em valores comparáveis com qualquer método convencional. Esses rendimentos baixos foram descritos no trabalho de Pineiro e colaboradores³⁵ quando sintetizaram as porfirinas com grupos 2,4,6-metilfenil e 2,4,6-metoxifenil, em meio de reação semelhante ao utilizado nesse trabalho, com rendimentos de 1,5% e 13%, respectivamente. Um ponto a ser destacado, é que o rendimento da reação foi mais influenciado pelo impedimento estérico causado pelos grupos provenientes dos aldeídos, devido à presença de substituintes volumosos na posição *orto* do anel arila do aldeído, e não dos efeitos eletrônicos^{34,68}. A síntese da porfirina H₂T245TMPP, no presente trabalho, utilizando a forma de aquecimento por irradiação com micro-ondas é inédita e pode-se inferir que a utilização do micro-ondas para a obtenção de macrociclos porfirínicos é um processo viável, mesmo com a presença de substituintes em *orto* no grupo arila do aldeído de origem.

A porfirina base livre obtida, H₂T245TMPP, foi caracterizada por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS (Figura 10). Os sólidos obtidos, empregando-se cada uma das duas diferentes formas de aquecimento, apresentaram espectros idênticos, o que indica a formação do mesmo composto.

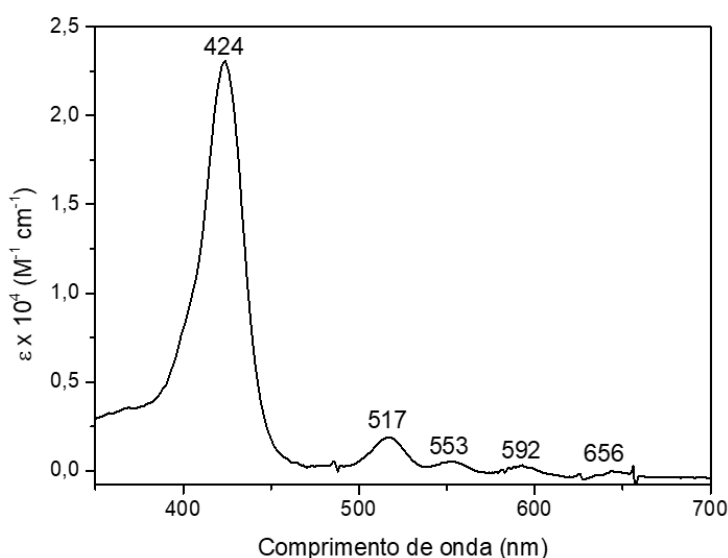


Figura 10 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para a H₂T245TMPP, em CH₂Cl₂.

Na Figura 10 observa-se uma banda com maior intensidade em 424 nm, denominada como banda Soret, e quatro bandas de absorção em valores de comprimento de onda maiores (517, 553, 592 e 656 nm), denominadas como bandas Q, originadas a partir de transições $\pi \rightarrow \pi^*$.⁶⁹ O espectro observado é característico para uma porfirina base livre, com simetria D_{2h}, considerando-se apenas a simetria local do macrociclo. A ausência de uma banda intensa em 650 nm, indicativo da presença clorina,⁶⁹ permite sugerir a não formação desse composto durante o processo de ciclização do macrociclo ou a sua eliminação durante o processo de purificação.

A H₂T245TMPP foi caracterizada por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV, Figura 11, Tabela 2) em nujol. Os resultados evidenciam a obtenção da porfirina base livre, tendo como evidências as bandas referentes aos grupos metoxila do anel arila posicionado na posição *meso*

do macrociclo (estiramento C-O-C em 1100 cm^{-1} e estiramento éter aromático em 1202 cm^{-1}). A banda de estiramento N-H (3316 cm^{-1}), a deformação N-H (1029 cm^{-1}) relacionadas ao pirrol e a deformação do macrociclo confirmam a formação do composto esperado.^{64,70,71,72}

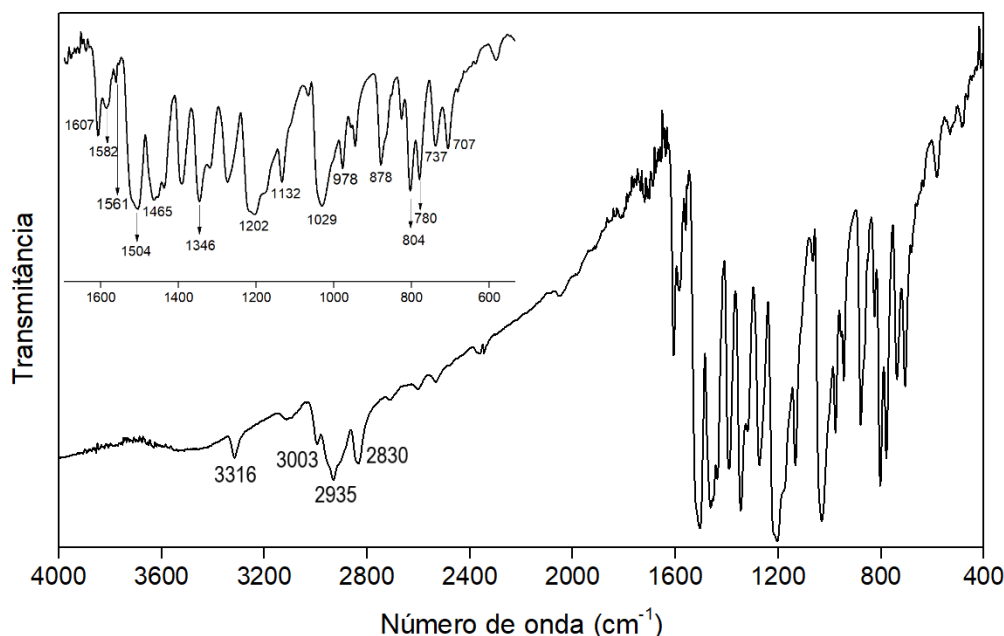
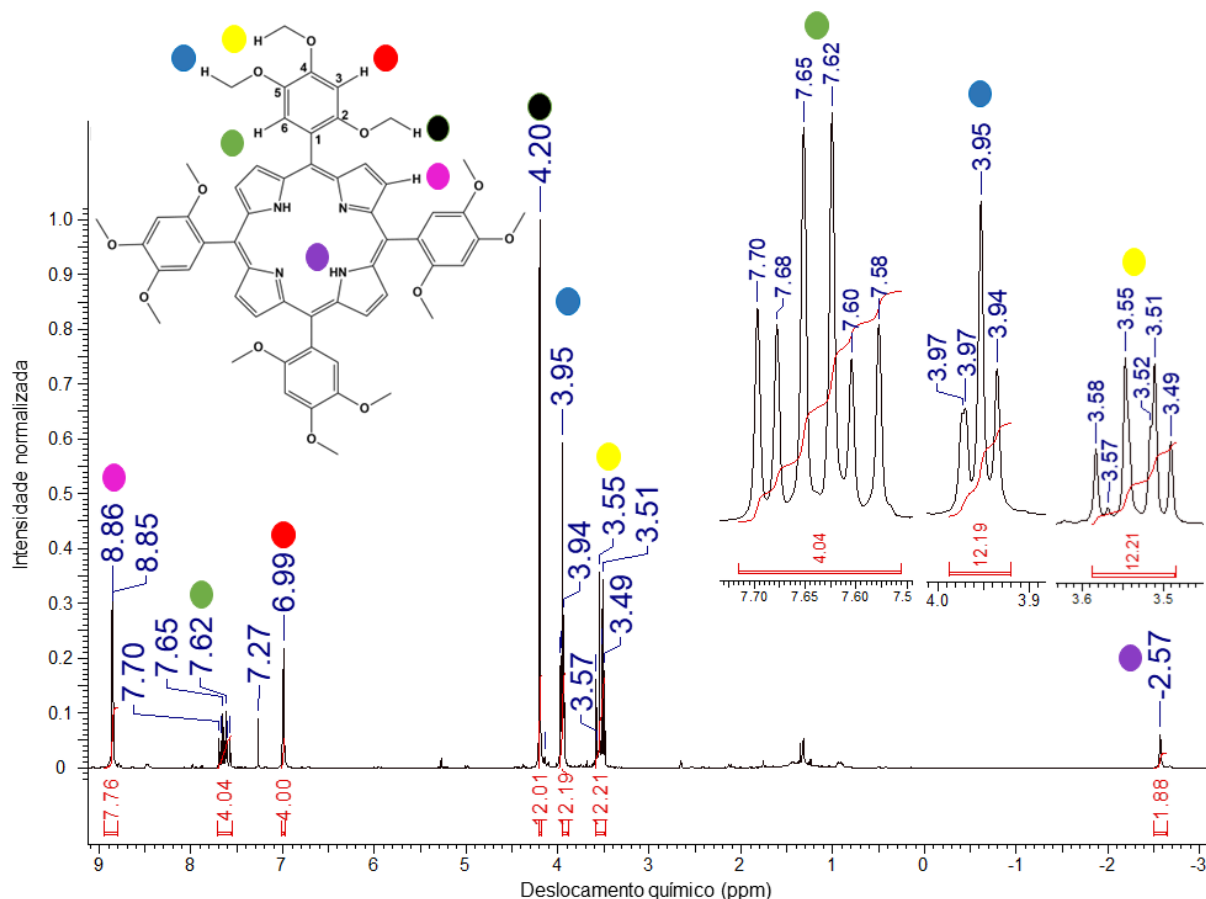


Figura 11 – Espectro de absorção na região do infravermelho da $\text{H}_2\text{T245TMPP}$. As análises foram realizadas em nujol. Expansão da região entre $550\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$, no canto superior esquerdo da imagem.

Tabela 2 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do infravermelho para a porfirina base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$. Análise realizada em nujol.^{64,70,71,72}

Número de onda (cm^{-1}) (intensidade)	Atribuições
3316 (fraca)	Estiramento N-H (pirrol)
3003 (fraca)	Estiramento C-H (aromático)
2935 e 2830 (fraca)	Estiramento C-H (sp^3)
1582 e 1561 (média)	Estiramento C=C e C=N (pirrol)
1504 (forte)	Estiramento C=C
1465 (média)	Estiramento C=N
1346 (média)	Estiramento C-N
1202 (forte)	Estiramento éter aromático
1100 (fraca)	estiramento C-O-C
1029 (forte)	Deformação (N-H pirrol)
978 (fraca)	Deformação do macrociclo porfirínico
878 (fraca)	Deformação C-H aromático (tetrassubstituído)
737 (fraca)	Deformação N-H fora do plano

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) foi uma técnica bastante útil para a identificação dos compostos sintetizados. A caracterização da porfirina $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ foi realizada em clorofórmio deuterado, CDCl_3 . Na Figura 12 estão identificados os diferentes átomos de hidrogênio presentes nessa porfirina base livre e seus sinais no espectro de RMN de ^1H . O sinal com deslocamento químico negativo, $\delta = -2,57\text{ ppm}$ (2H, s), é característico para porfirinas base livre correspondente aos átomos de hidrogênio N-H pirrólicos. Esse deslocamento



O sinal localizado em $\delta = 8,89\text{-}8,82$ ppm (8H, m, Figura 12) corresponde aos átomos de hidrogênio aromáticos β -pirrólicos do macrociclo porfirínico. Esses átomos de hidrogênio periféricos do macrociclo são mais desblindados pelo campo magnético gerado pelos elétrons π da ressonância, provocando um maior deslocamento químico, ou seja, o sinal fica posicionado em região positiva mais distante do TMS.

Nos grupos arila (Figura 12), há quatro átomos de hidrogênio nas posições *meta* ($\delta = 6,99$ ppm, s) e quatro átomos de hidrogênio na posição *orto* (posição 6) ($\delta = 7,71$ - $7,57$ ppm, m). Por meio das estruturas de ressonância (Figura 13), podemos observar que o átomo de hidrogênio na posição 3 (*meta*) está mais blindado do que o hidrogênio na posição 6 (*orto*). Isto ocorre devido à carga negativa em dois híbridos de ressonância dos grupos metoxila na posição 2 e 4 (Figura 13a e 13b) permanecer no carbono que contém o hidrogênio da posição 3, enquanto uma carga negativa permanece no carbono contendo o hidrogênio da posição 6 em apenas um híbrido (Figura 13c). Esse efeito, faz com que se aumente a densidade eletrônica na posição 3, em relação à 6, deixando este átomo de

hidrogênio em 3 mais blindado. Esses dados são compatíveis aos observados na literatura para o 2,4,5-trimetoxibenzaldeído.⁷⁴

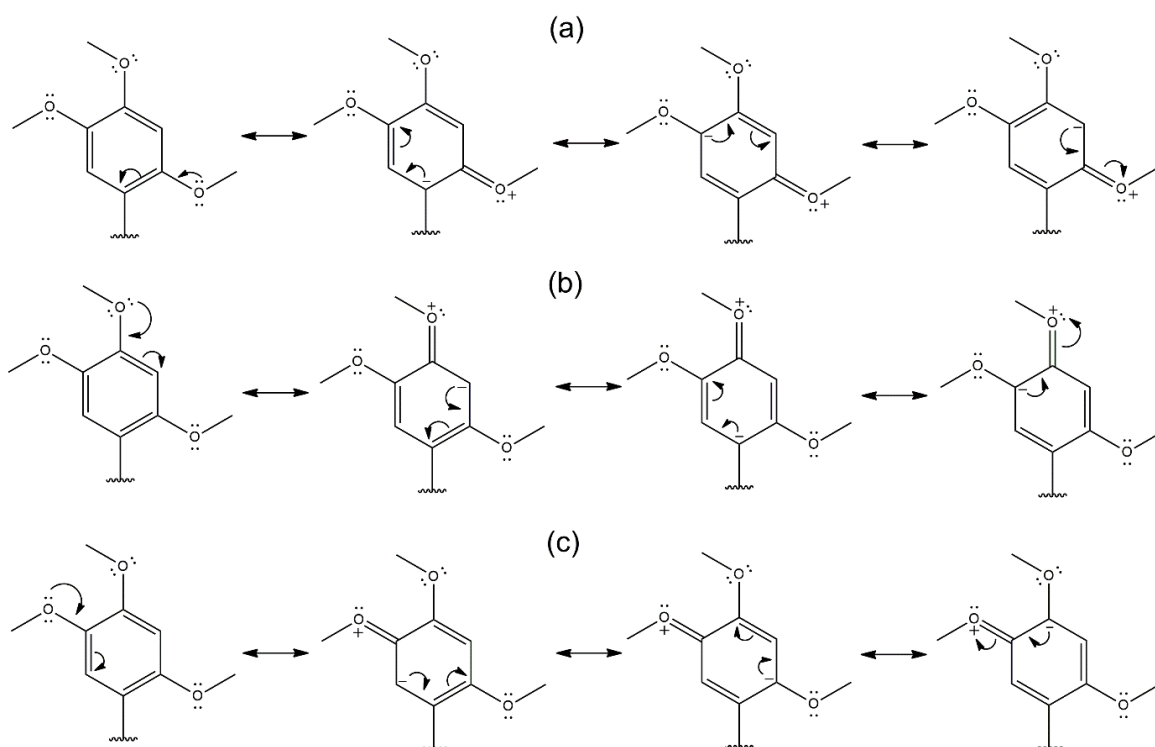


Figura 13 – Estruturas de ressonância para os grupos metoxila nas posições (a) 2, (b) 4 e (c) 5 do grupo arila na posição *meso* do macrociclo porfirínico.

Na Figura 12, observa-se que na molécula há três grupos metoxila em cada anel arila nas posições *meso* do macrociclo. Esses grupos estão localizados em uma posição *orto* (2), *para* (4) e *meta* (5) dos anéis, sendo que eles são não equivalentes entre si, gerando deslocamentos químicos diferentes no espectro de RMN de ¹H. Sabe-se que um substituinte ativador, como o metoxila, aumenta a densidade eletrônica nas posições *orto* e *para* do anel por ressonância e blindada mais esses átomos de hidrogênio que nas posições *meta* como visto na Figura 13.^{72,73} Porém os compostos nem sempre seguem essa regra, pois a presença de estruturas mais complexas, como o macrociclo porfirínico, geram mudanças na densidade eletrônica de toda a estrutura. Desta forma, no espectro (Figura 12), os sinais entre $\delta = 3,59\text{-}3,48$ ppm (12H, m) referem-se aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila na posição 4 (*para*) do grupo arila, que estão mais blindados pela distância do macrociclo porfirínico, sofrendo menos a influência da densidade eletrônica. O sinal centrado em $\delta = 3,98\text{-}3,92$ ppm (12H, t) refere-se aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila na posição 5 (*meta*). Essa multiplicidade pode estar ocorrendo pela diferença de ambiente químico desses átomos de hidrogênio ligados ao mesmo carbono. Isso deve estar ocorrendo devido a presença dos atropisômeros¹, devido aos anéis arila não estarem coplanares ao macrociclo. O sinal em $\delta = 4,20$ ppm (12H, s) refere-se aos átomos de

¹ Atropisômeros são estereoisômeros resultantes da rotação impedida sobre ligações simples, em que a barreira de tensão estérica à rotação é alta o suficiente para permitir o isolamento dos conformeros.

hidrogênio do grupo metoxila da posição 2 (*orto*) do grupo arila, que estão mais próximos ao macrociclo porfirínico, desblindando mais estes átomos de hidrogênio.

Desta forma, para a molécula H₂T245TMPP (Figura 12), os sinais discutidos até o momento referem-se a ela. Porém, ainda neste espectro, também está presente um sinal de intensidade elevada em $\delta = 7,27$ ppm atribuído ao clorofórmio não deuterado, CHCl₃.⁷⁴

A porfirina H₂T245TMPP foi caracterizada por espectrometria de massas MALDI-TOF MS operando no modo positivo (Figura 14). Para a H₂T245TMPP, observou-se um pico em m/z igual a 975,297 com uma intensidade relativa de 100%. A esse pico pode se associar a espécie protonada, [H₂T245TMPP + H]⁺. Uma simulação do espectro de massas para a porfirina base livre (Figura 14, espectro menor, inserido no canto superior esquerdo), obtida por meio do software *ChemCalc* (disponível em <http://www.chemcalc.org/>) é consistente com o espectro obtido experimentalmente, o que corrobora a estrutura proposta para a porfirina. O sinal em $m/z = 974,3015$ pode estar associado à espécie [H₂T245TMPP]^{•+}. Esses íons radicais, juntamente com as espécies protonadas, podem ser formados pela técnica de MALDI-TOF MS. Stulz e colaboradores⁷⁶ observaram a geração do íon radical para a maioria das análises de porfirinas base livre e metaloporfirinas.

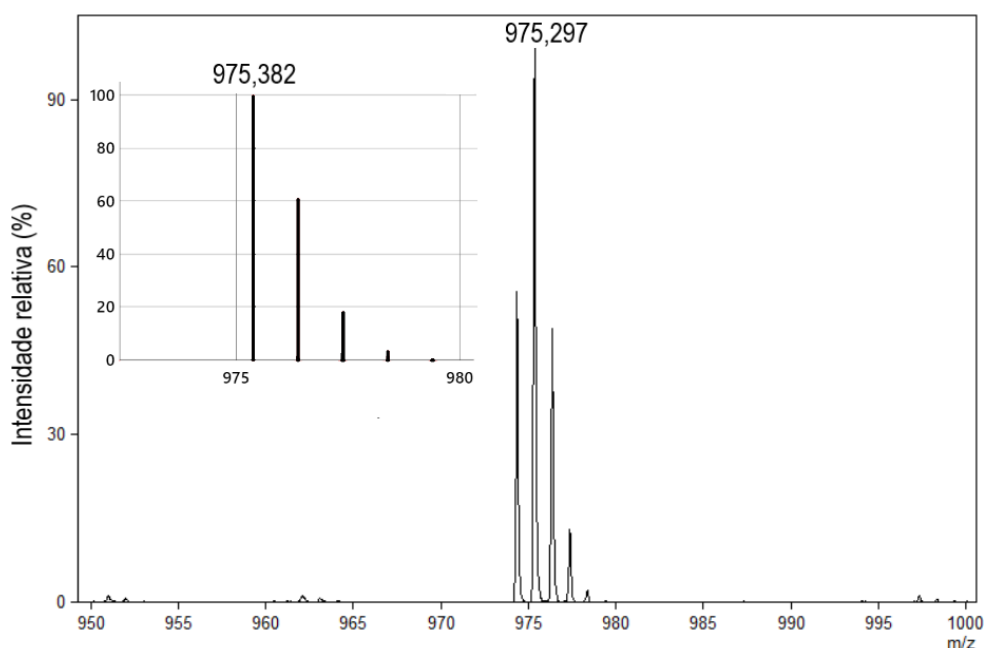


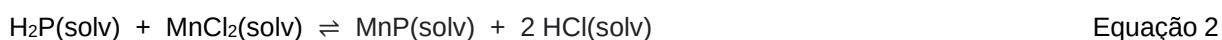
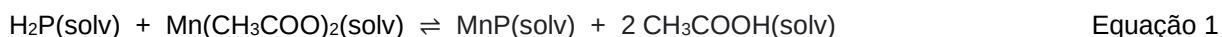
Figura 14 – Espectros de massas da H₂T245TMPP, obtido experimentalmente (MALDI-TOF, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila em modo positivo) e simulado pelo software *ChemCalc* (espectro menor, inserido no canto superior esquerdo).

3.2.2 Obtenção da metaloporfirina de manganês - [Mn^{III}Cl(T245TMPP)]

A porfirina base livre H₂T245TMPP foi metalada com Mn(CH₃COO)₂·4H₂O por adaptação dos métodos de Wijeskera e Dolphin¹, também conhecido como método “clorofórmio e metanol”, e Borovkov e colaboradores³⁷. As reações de metalação (inserção de íon metálico na cavidade do macrociclo) de porfirinas podem ser realizadas usando-se diferentes solventes e sais metálicos, conforme relatado na introdução deste capítulo. Em relação aos solventes, na literatura são relatados métodos para sintetizar metaloporfirinas utilizando-se aquecimento e/ou refluxo com ácido acético glacial ou DMF.⁷⁷ No

entanto, essas condições não podem ser aplicadas para porfirinas sensíveis a ácidos e termicamente instáveis, pois podem levar à decomposição da porfirina e à rápida oxidação dos íons metálicos, diminuindo o rendimento da reação.³⁷

O acetato de manganês, após a formação da metaloporfirina, leva à formação de ácido acético (um ácido fraco), que não interfere no deslocamento do equilíbrio da reação (Equação 1) no meio de reação. Quando é utilizado o cloreto de manganês, na presença de clorofórmio e metanol, forma-se ácido clorídrico, um ácido forte, deslocando o equilíbrio para o sentido de formação dos reagentes, dificultando a obtenção da metaloporfirina e conduzindo a baixos valores de rendimento de reação (Equação 2).



Além da utilização de um sal de manganês que levasse à formação de um ácido fraco, buscou-se outra forma de se evitar que o ácido formado no meio pudesse prejudicar a formação do produto de interesse. Dessa forma, empregou-se a 2,4,6-colidina. Esta é uma base adicionada ao meio de reação devido a sua capacidade de capturar os íons hidrogênio liberados durante a reação de metalação.³⁷ Após a metalação, foi necessário realizar a troca iônica dos íons acetato para íons cloreto, levando à formação de $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ (Figura 15) com rendimento de 92%.



Figura 15 – Representação da reação de obtenção da metaloporfirina $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$.

A reação de metalação foi acompanhada por CCD (Al_2O_3 ; CH_2Cl_2). Na placa de CCD, aplicou-se o complexo de manganês e a porfirina base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, separadamente, obtendo-se um r_f de 0,57 e 0,82, respectivamente. Desta forma, o complexo de manganês permaneceu retido mais próximo ao ponto de aplicação, quando comparada ao ponto de aplicação da $\text{H}_2\text{T245TMPP}$.

A fluorescência alaranjada característica da porfirina base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, observada na placa de CCD, foi desaparecendo durante a reação de metalação, não sendo observada no complexo de manganês. A supressão de fluorescência ocorre devido à inserção do íon Mn^{2+} na cavidade do macrociclo, que é oxidado a Mn^{3+} , na presença de oxigênio atmosférico. Sendo um átomo pesado, o íon Mn^{3+} é responsável por favorecer o acoplamento spin-órbita, o qual aumenta a taxa de decaimento radiativo para um cruzamento intersistemas para o estado excitado tripleto. Esse fenômeno favorece o

processo de fosforescência e um decréscimo no rendimento quântico para a fluorescência.⁷⁸ A perda de fluorescência e diferença de r_f da base livre e da metaloporfirina indicam a obtenção do complexo de manganês.

O espectro obtido pela caracterização da $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS (Figura 16), quando comparado ao espectro da porfirina base livre, apresentou um deslocamento batocrômico da banda Soret de 424 nm para 482 nm, característico para obtenção de porfirinas de manganês.^{64,77} Os valores de comprimento de onda das bandas observadas nos espectros para a porfirina base livre e o respectivo complexo de manganês são apresentados na Tabela 3.

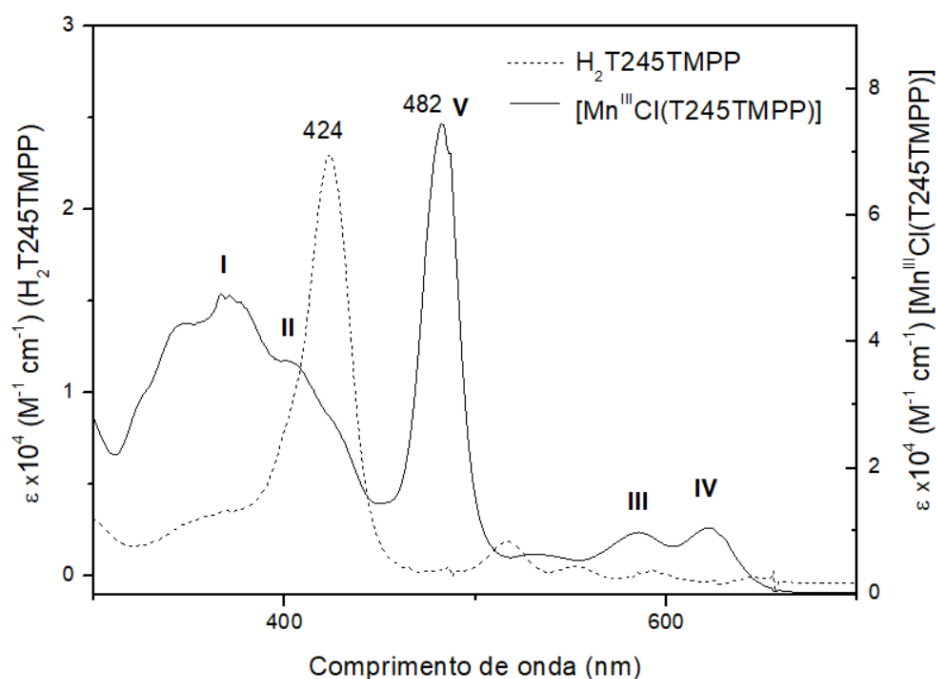


Figura 16 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$, em CH_2Cl_2 .

Tabela 3 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS para $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$, em CH_2Cl_2 . Valores de absorvidade molar ($\log \epsilon$, $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

Compostos	Comprimento de onda (nm)					
$\text{H}_2\text{T245TMPP}$	424 (Soret, 4,36)	517 (3,24)	553 (2,84)	592 (2,74)	656 (2,58)	
$[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$	370 (4,68)	404 (4,56)	482 (Soret, 4,87)	585 (3,99)	622 (4,03)	

Para a metaloporfirina de manganês, observa-se uma diminuição no número de bandas Q, quando comparada à porfirina base livre. Isso ocorre devido ao aumento de simetria local do complexo, em relação ao ligante (porfirina base livre). Levando em consideração apenas o anel porfirínico, sem os substituintes nas posições *meso*, a metaloporfirina possui simetria D_{4h} , enquanto a porfirina base livre, $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, apresenta simetria D_{2h} .⁷⁹

De acordo com dados já descritos na literatura^{64,77}, as metaloporfirinas de $\text{Mn}(\text{III})$ apresentam duas bandas de baixa intensidade na região entre 550 e 650 nm, denominadas bandas III e IV, e uma

banda de baixa intensidade na região de 330 a 550 nm, conhecida como banda **II**. Há duas bandas de alta intensidade, bandas **V** e **I**, sendo a banda Soret **V**, em 482 nm, de maior intensidade.⁷⁷ O espectro da $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ (Figura 16) é característico de uma hiperporfirina do tipo d, em que as bandas extras **I** e **II** são atribuídas à transferência de carga do macrociclo porfirínico para o íon Mn^{3+} (transferência de carga do ligante para o metal, TCLM).^{69,77,80} Esta observação pode ser justificada pelo fato dos orbitais e_g (d_{xz} , d_{yz}) do íon Mn^{3+} apresentarem energia e simetria adequadas para interagir com o orbital e_g^* da porfirina.⁷⁷ A transferência eletrônica ocorre de $a_{1u}(\pi)$, $a_{2u}(\pi) \rightarrow e_g^*(\pi)$ e $b_{2u}(\pi)$, $a'_{2u}(\pi) \rightarrow e_g(d_{xz}, d_{yz})$, para as bandas **I** e **II**, enquanto a banda **V** é resultante da transferência eletrônica de $a'_{2u}(\pi) \rightarrow a_{1g}(d_z^2)$ (Figura 17).^{64,77}

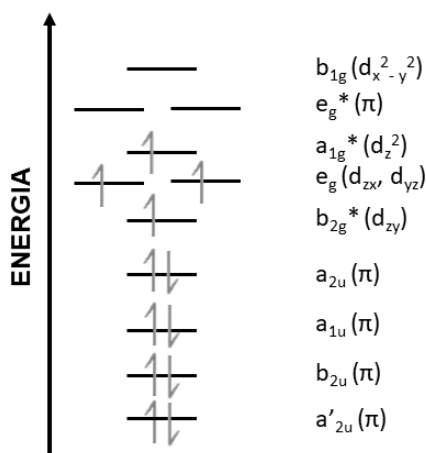


Figura 17 – Esquema do diagrama simplificado de orbitais moleculares para uma porfirina de manganês(III). Adaptado de Boucher (1972)⁶⁴.

A metaloporfirina $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ foi caracterizada por espectroscopia vibracional na região do IV (Figura 18, Tabela 4). Os resultados obtidos confirmam a metalação da porfirina $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, pois não se observam as bandas referentes à deformação (fora do plano) da ligação N-H (em 739 cm^{-1}) dos grupos pirrólicos (visto na Figura 11)^{70,71,72,81} e a banda em torno de 3316 cm^{-1} , referente ao estiramento N-H (pirrol). Além disso, no espectro vibracional para a porfirina metalada uma nova banda é verificada, referente ao estiramento da ligação Mn–N pirrólico (1021 cm^{-1} , Figura 18, Tabela 4).⁸¹ Os resultados são semelhantes aos obtidos por Guimarães e colaboradores⁴¹ para a mesma metaloporfirina de manganês. Entre 2200 e 2100 cm^{-1} , observa-se duas bandas com baixa intensidade, que indicam que o anel possui ortosubstituição, característico do anel arila presente na posição *meso* do macrociclo porfirínico.

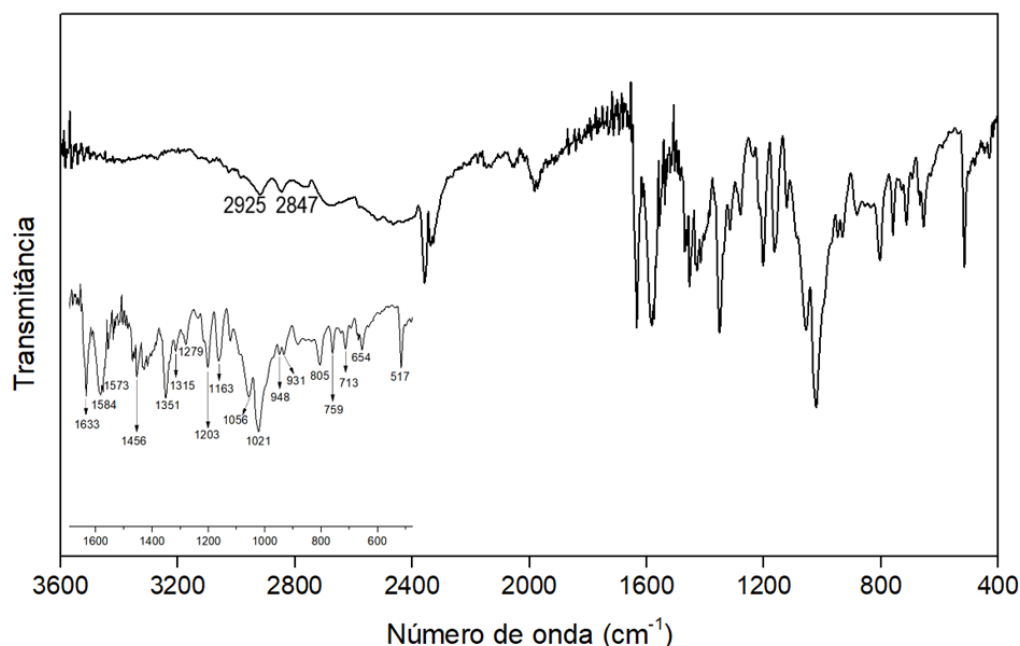


Figura 18 – Espectro de absorção na região do infravermelho para $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$. As análises foram realizadas em nujol. Expansão da região entre 550-1650 cm^{-1} , no canto inferior esquerdo da imagem.

Tabela 4 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do IV para $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$. Análise realizada em nujol.^{70,71,72,81}

Número de onda (cm^{-1}) (intensidade)	Atribuições
3003 (fraca)	Estiramento C-H (sp^2 aromático)
2925 e 2847 (fraca)	Estiramento C-H (sp^3 , assimétrico e simétrico)
1633 (fraca/média)	Estiramento C=C (aromático)
1584 e 1573 (média)	Estiramento C=C e dobramento C=N
1505 (média)	Estiramento C=C
1456 (média)	Estiramento C=N
1351 (média)	Dobramento C-H
1279 (fraca) e 1056 (média)	Estiramento éter fenil alquílico
1163 (média)	Estiramento C-N
1021 (forte)	Estiramento Mn-N (pirrol)
948 (fraca)	Deformação do macrociclo porfirínico
868 (fraca)	Deformação C-H aromático (tetrasubstituído)
759 (fraca)	Deformação de C-H (sp^3)

A metaloporfirina de manganês $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ foi caracterizada por espectrometria de massas MALDI-TOF (Figura 19), no modo positivo. Observou-se um pico em $m/z = 1027,166$ (valor calculado pelo *ChemCalc* foi igual a 1027,296), que corresponde a 100% de intensidade relativa. A esse pico está associada à espécie $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{T245TMPP})]^+$, em que houve perda do íon cloreto da espécie original, como observado no espectro simulado (Figura 19, espectro menor, inserido no canto superior direito).

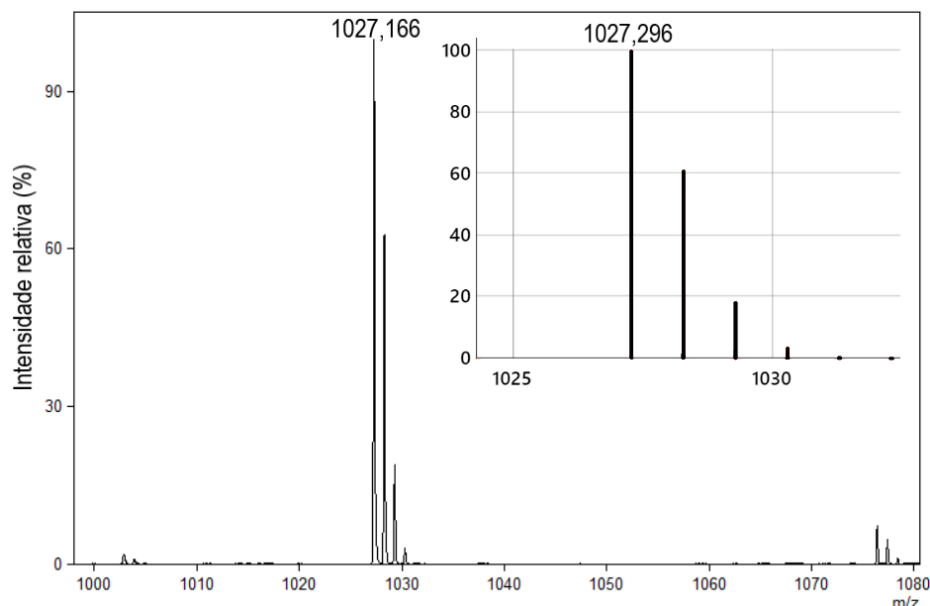
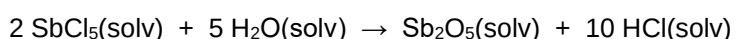


Figura 19 – Espectros de massas da metaloporfirina $[Mn^{III}]Cl(T245TMPP)$ obtido experimentalmente (MALDI-TOF MS, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila em modo positivo) e simulado pelo software *ChemCalc* (espectro menor, inserido no canto superior direito).

3.2.3 Obtenção das porfirinas de antimônio(V)

Na literatura, comparativamente às metaloporfirinas de Mn(III), há poucos relatos sobre obtenção de porfirinas de antimônio^{58,25,27,40,62,82,83}. No trabalho de Gomes e colaboradores²⁵, a metodologia empregada para a síntese da porfirina de Sb(V) é centrada na reação entre a porfirina base livre H_2T4MPP com $SbCl_3$, na presença de 2,4,6-colidina em diclorometano. No processo, ocorre a formação dos complexos de Sb(III), cujo centro metálico é oxidado por Br_2 , formando um complexo de antimônio pentavalente (Sb(V)). Porém, nesse processo realizando-se a oxidação com bromo, ocorre a formação de uma mistura de compostos, observando-se variações dos ligantes axiais do complexo como $[Sb^VBrCl(T4MPP)]^+$, $[Sb^VBr_2(T4MPP)]^+$ e $[Sb^VCl_2(T4MPP)]^+$, variando-se o contra-íon (Br^- ou Cl^-).²⁷ Devido a essa limitação, optou-se por uma metodologia em que a obtenção do complexo empregasse um sal de antimônio pentavalente, neste caso o $SbCl_5$.

O complexo $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (Figura 20) foi obtido pela adaptação dos métodos descritos por Liu e Chen³⁸, Kadish e colaboradores⁴⁰, Tsukamoto e colaboradores³⁹ e Borovkov e colaboradores³⁷. A utilização da colidina foi necessária para capturar os íons hidrogênio presentes no meio, deslocando o equilíbrio para a formação do produto desejado. Além disso, peneiras moleculares ativadas foram utilizadas nesse processo, para absorver resquícios de ácido e água no meio de reação. Devido aos poros e cavidades, as peneiras conseguem absorver moléculas menores, até 25% de sua massa, conseguindo eliminar a água oriunda do ambiente e dos reagentes.^{84,85} Essa estratégia de remoção da água do meio de reação é necessária, pois o $SbCl_5$ é muito higroscópico, o que leva à ocorrência de reações de hidrólise do antimônio (Equação 3)⁸⁶, o que dificulta a formação do produto de interesse, o complexo de antimônio.



Equação 3

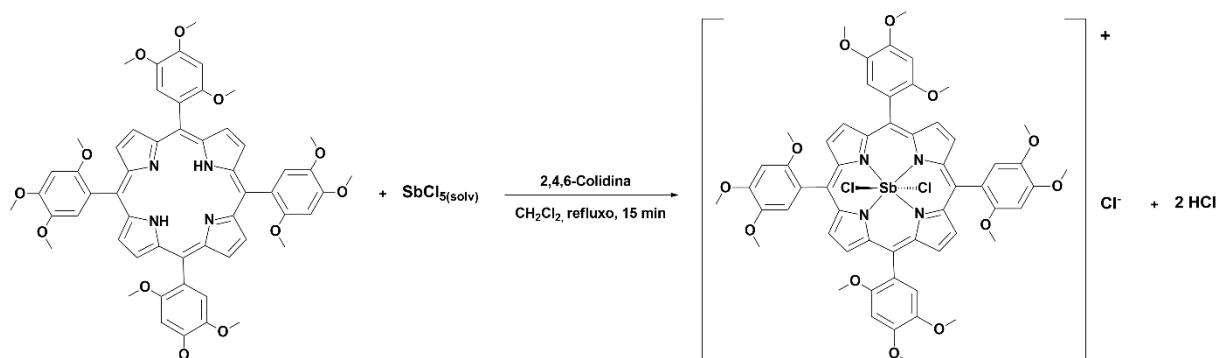


Figura 20 – Representação da reação de obtenção do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ utilizando SbCl_5 .

A reação de metalação foi acompanhada por CCD (Al_2O_3 ; CH_2Cl_2). Na placa de CCD, aplicou-se o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e a porfirina base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, separadamente, obtendo-se um r_f de 0,33 e 0,82, respectivamente.

A $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ foi caracterizada por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS (Figura 21). O espectro do complexo apresentou um deslocamento hipsocrômico da banda Soret, quando comparado ao da base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$, de 424 nm para 415 nm. Considera-se que o espectro de absorção da $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ é classificado como do tipo normal, ou seja, característico de uma metaloporfirina regular cujos espectros de absorção e emissão são determinados essencialmente pelos elétrons π do anel porfirínico, com apenas uma pequena perturbação dos elétrons do substituinte central.⁸⁷

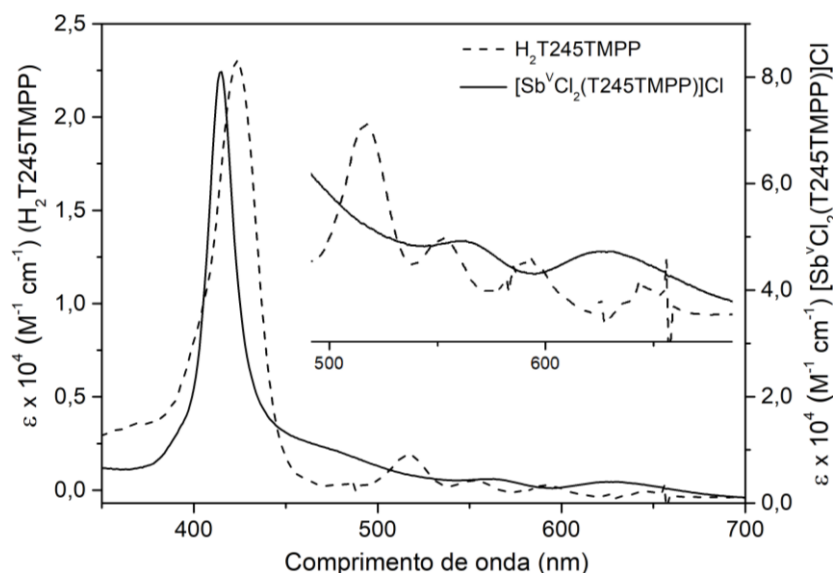


Figura 21 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$, em CH_2Cl_2 .

Além disso, ao se comparar os espectros dos compostos porfirínicos (Figura 21), observa-se uma diminuição no número de bandas Q: a porfirina base livre apresenta quatro bandas Q, enquanto a porfirina de antimônio possui apenas duas bandas Q de baixa intensidade, sendo este um indício da obtenção do complexo. Na Tabela 5, estão apresentados os dados do espectro de UV-VIS e os valores

de absorvidade molar ($\log \epsilon$) para os compostos porfirínicos $H_2T245TMPP$ e $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. Analisando-se o espectro da $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (Figura 21), a inexistência de bandas extras na região entre 300 e 400 nm é um indício de que o número de oxidação do antimônio é +5. As porfirinas de Sb(V) são muito estáveis e não são reduzidas para Sb(III) sob atmosfera de ar.⁸⁶

Tabela 5 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS para $H_2T245TMPP$ e $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$, em CH_2Cl_2 . Valores de absorvidade molar ($\log \epsilon$, $M^{-1} cm^{-1}$).

Compostos	Comprimento de onda (nm)				
$H_2T245TMPP$	424 (Soret, 4,36)	517 (3,24)	553 (2,84)	592 (2,74)	656 (2,58)
$[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$	415 (Soret, 4,92)	564 (3,64)	627 (3,60)	-	-

O complexo $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ foi caracterizado por espectroscopia vibracional na região do IV (Figura 22, Tabela 6). Pode-se confirmar a inserção do cátion Sb(V) pela ausência das bandas referentes à deformação (fora do plano) da ligação N-H (em $739 cm^{-1}$) e da banda de estiramento N-H característico da porfina base livre dos grupos pirrólicos (visto na Figura 11)^{70,71,72,81} e da banda em torno de $3316 cm^{-1}$ que é referente ao estiramento N-H. Além disso, verifica-se um aumento da intensidade da banda em $1204 cm^{-1}$, referente ao estiramento C=N.^{70,71} Ainda pode-se observar um conjunto de bandas bem definidas para o estiramento de éter fenil alquílico (1271 e $1017 cm^{-1}$, Figura 22). A banda em $1017 cm^{-1}$ poderia ser um indício que não ocorreu a inserção do íon metálico, por ser um resultando próximo ao estiramento N-H. Entretanto, em relatos de Xie e colaboradores⁸⁸ essa diminuição no número de onda ocorreu nas reações de metalação da 5,10,15,20-tetraquis(4-carbometoxifenil)porfina-21,23-diato (H_2TCMPP) e derivados com $SbCl_5$, passando de $1019 cm^{-1}$ para $1011 cm^{-1}$.

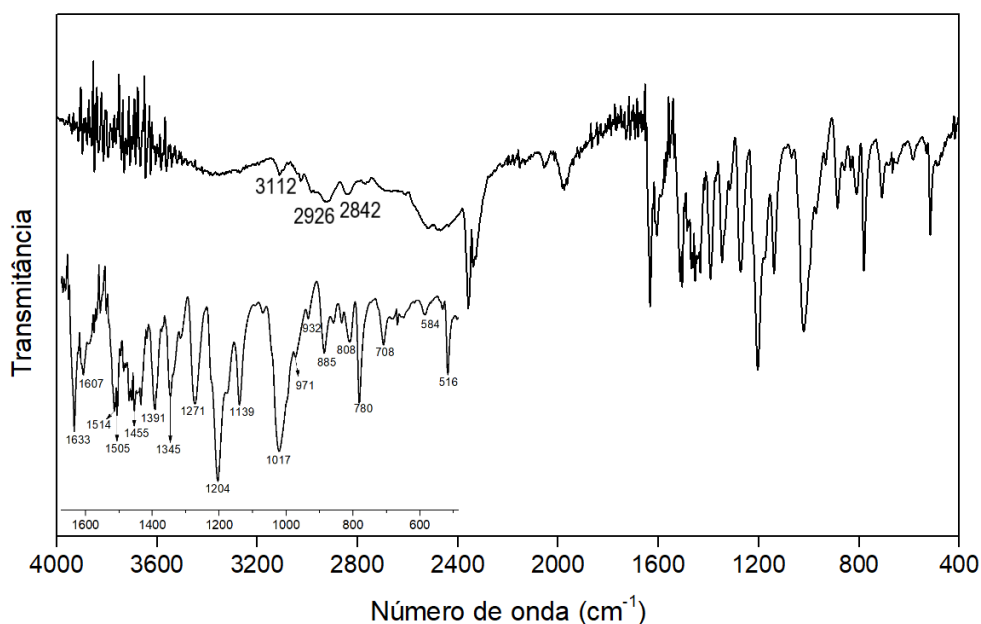


Figura 22 – Espectro de absorção na região do IV da $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. As análises foram realizadas em nujol. Expansão da região entre $550-1650 cm^{-1}$, no canto inferior esquerdo da imagem.

Tabela 6 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do IV para o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$. Análise realizada em nujol.^{70,71,72,81}

Número de onda (cm^{-1}) (intensidade)	Atribuições
3112 (fraca)	Estiramento C-H (sp^2 aromático)
2926 e 2842 (fraca)	Estiramento C-H (sp^3 , assimétrico e simétrico)
1633 (fraca/média)	Estiramento C=C (aromático)
1505 (média)	Estiramento C=C
1455 (média)	Estiramento C=N
1391 (média)	Dobramento C-H (sp^3)
1345 (média)	Dobramento C-H
1271 (média) e 1017 (forte)	Estiramento éter fenil alquílico
1204 (forte)	Vibração do macrociclo porfirínico
971 (média)	Deformação do macrociclo porfirínico
885 (fraca)	Deformação C-H aromático (tetrasubstituído)
780 (média)	Ortosubstituição fora do plano

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H também foi utilizada para verificar a obtenção do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (Tabela 7, Figura 23), a partir da metalação da $\text{H}_2\text{T245TMPP}$. A previsão de alteração no espectro, em comparação com o espectro da porfirina precursora, seria a observação de um deslocamento positivo mais distante do TMS dos sinais presentes no macrociclo porfirínico devido à alteração na distribuição da densidade eletrônica provocada pela presença do íon $\text{Sb}(\text{V})$. Na Figura 23 está representado o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$, com a identificação dos átomos de hidrogênio presentes no macrociclo e seu espectro de RMN de ^1H em CDCl_3 (expansão de sinais no Apêndice F).

Tabela 7 – Sinais do espectro de RMN ^1H da $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

Hidrogênio	Deslocamento químico (δ , ppm)	Deslocamento químico (δ , ppm)
	$\text{H}_2\text{T245TMPP}$	$[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$
β -pirrólico	8,89-8,82 (8H, m)	9,64-9,30 (8H, m)
orto arila	7,71-7,57 (4H, m)	7,74-7,48 (4H, m)
meta arila	6,99 (4H, s)	7,13-7,01 (4H, m)
orto	4,20 (12H, s)	4,30-4,21 (12H, m)
meta	3,98-3,92 (12H, t)	4,02-3,88 (12H, m)
para	3,59-3,48 (12H, m)	3,72-3,56 (12H, m)
N-pirrólico	-2,57 (2H, s)	-

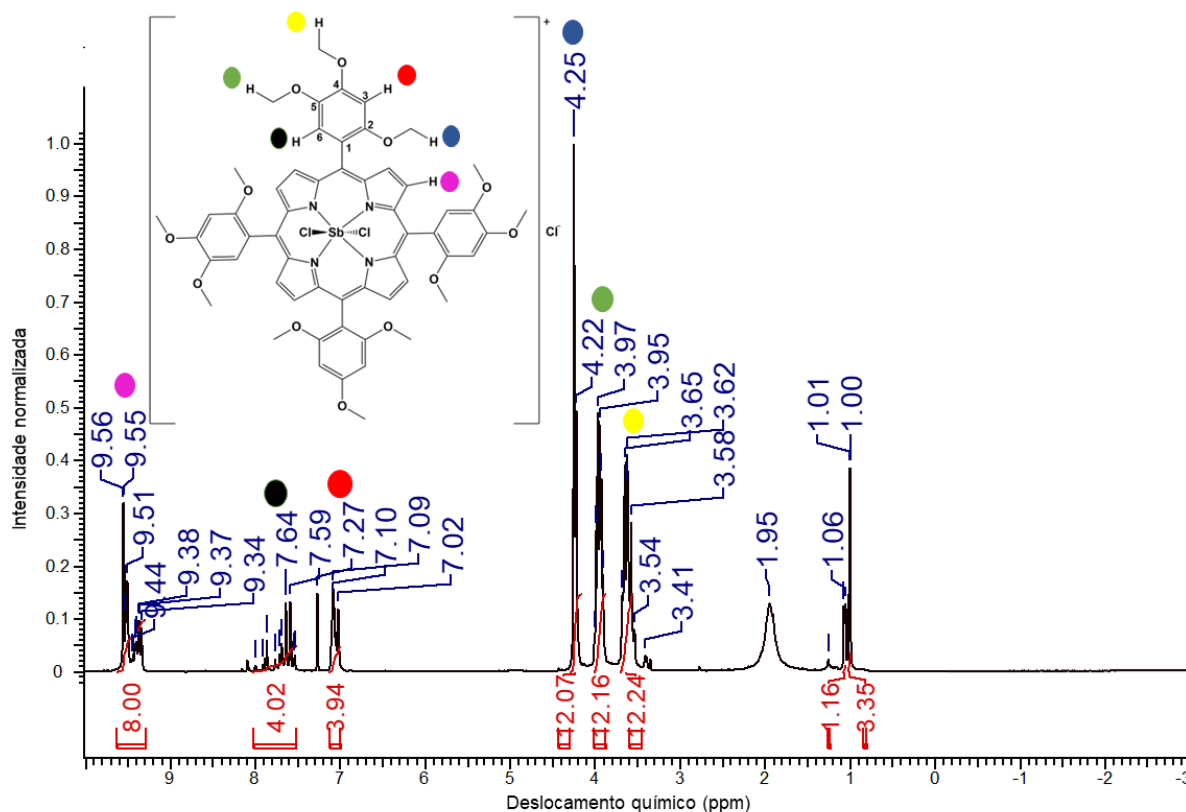


Figura 23 – Espectro de RMN de ^1H da $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C. δ 3,72-3,56 (12H, m, $-\text{OCH}_3$, *para*), δ 4,02-3,88 (12H, m, $-\text{OCH}_3$, *meta*), δ 4,30-4,21 (12H, m, $-\text{OCH}_3$, *orto*), δ 7,13-7,01 (4H, m, *meta* arila), δ 7,74-7,48 (4H, m, *orto* arila), δ 9,64-9,30 (8H, m, β -pirrólico).

O primeiro indicativo de que ocorreu a metalização da porfirina base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ com íons antimônio foi o desaparecimento do sinal em $\delta = -2,61$ ppm (2H, s) (Figura 12), correspondente aos átomos de hidrogênio N-H pirrólicos. O sinal localizado em $\delta = 9,64-9,30$ ppm (8H, m; Figura 23) corresponde aos átomos de hidrogênio aromáticos β -pirrólicos do macrociclo que sofreram um deslocamento químico mais distante positivamente do TMS, devido à presença do $\text{Sb}(\text{V})$. Esses átomos de hidrogênio, que estão em ambiente de menor densidade eletrônica, sofrem efeito de um campo magnético efetivo maior, logo entram em ressonância em frequências mais altas.^{72,73}

Os átomos de hidrogênio dos grupos metoxila (Figura 23), no grupo arila das posições *meso* no macrociclo porfirínico, sofreram menor efeito da presença do íon $\text{Sb}(\text{V})$, gerando um menor deslocamento químico, mais próximo do TMS, no espectro de RMN de ^1H . O sinal centrado em $\delta = 3,64$ ppm (12H, m) refere-se aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila na posição *para* dos grupos arila, o sinal em $\delta = 4,02-3,88$ ppm (12H, m) aos átomos de hidrogênio dos grupos metoxila em *meta*-arila, e por último, o sinal em $\delta = 4,30-4,21$ ppm (12H, m) dos átomos de hidrogênio do grupo metoxila em *orto*-arila (Figura 23).

Os quatro átomos de hidrogênio nas posições *orto* ($\delta = 7,74-7,48$ ppm, m) e quatro átomos de hidrogênio na posição *meta*-arila ($\delta = 7,13-7,01$ ppm, m) apresentam seus respectivos sinais no espectro de RMN de ^1H da $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (Figura 23). Esses átomos de hidrogênio sofreram um deslocamento químico maior que aqueles dos grupos metoxila por dois motivos: i) estarem ligados

ao carbono sp^2 do grupo arila⁷³, e ii) sofrerem maior influência do campo magnético com a presença do Sb(V), estando mais desblindados.

Há alguns sinais extras, localizados entre $\delta = 1,10-0,98$ e $3,43-3,38$ ppm (Expansão no Apêndice F) que sugere-se que seja a presença de metanol (CH_3OH), utilizado nas purificações e na lavagem do tubo de RMN. Esperava-se que esses sinais aparecessem como singletos, entretanto, segundo Fulmer,⁷⁵ em alguns solventes como $CDCl_3$, pode ocorrer uma interação de acoplamento entre os átomos de hidrogênios das espécies CH_3 e OH , ocasionando o observado no espectro da porfirina $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. O sinal em $\delta = 1,95$ ppm refere-se à água presente no $CDCl_3$. Além disso, o sinal na região com $\delta = 7,27$ ppm (Figura 23) é atribuído ao clorofórmio não deuterado do solvente, $CHCl_3$.⁷⁵

O complexo de antimônio $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ foi caracterizado por espectrometria de massas com ionização por electrospray (ESI-MS, Figura 24) no modo positivo. Para auxiliar na interpretação dos dados experimentais, foram realizadas simulações de espectros por meio do software *ChemCalc* (Apêndice G). No espectro pode se verificar a presença do conjunto de sinais mais intenso em $m/z = 1165,53$ (Figura 24). Assim, ao se analisar a expansão desse sinal, sugere-se que mais de uma espécie está sendo formada durante a análise. O sinal centrado em 1165,53 refere-se à espécie $[Sb^VCl_2(T245TMPP) + 2H]^+$, enquanto o sinal centrado em 1163,64 refere-se à espécie $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]^+$, ambas com perda do contra-íon cloreto.

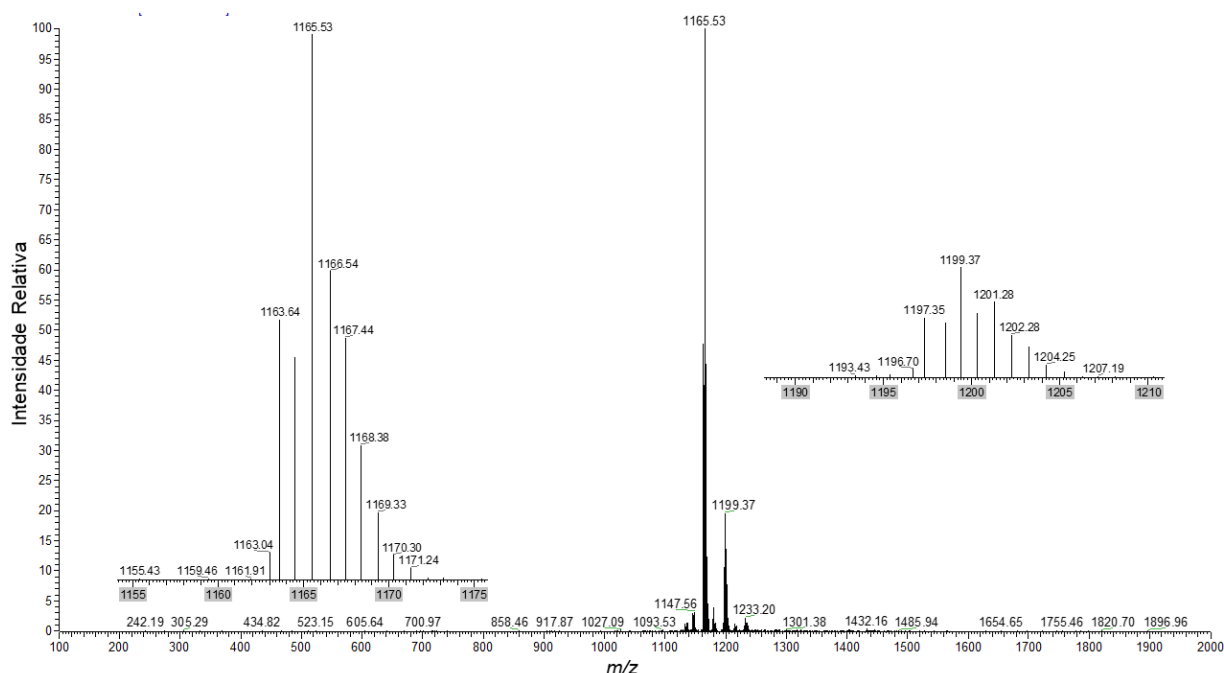


Figura 24 – Espectro de massas do complexo $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ em ESI-MS no modo positivo, em diclorometano.

No espectro de massas do complexo $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (Figura 24) pode se verificar um segundo conjunto de sinais, que novamente após expansão do espectro, indica a presença de mais de uma espécie formada durante a análise. Para o sinal em $m/z = 1199,37$, propõe-se que a espécie possa

ser $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_3(\text{T245TMPP}) + \text{H}]^+$ e para $m/z = 1197,35$ refere-se a $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_3(\text{T245TMPP}) - \text{H}]^+$ (Simulações no Apêndice G).

As condições de reação para a síntese do composto $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (Figura 25) foram as mesmas do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245DMPP})]\text{Cl}$, entretanto o tempo de reação foi de 20 min.

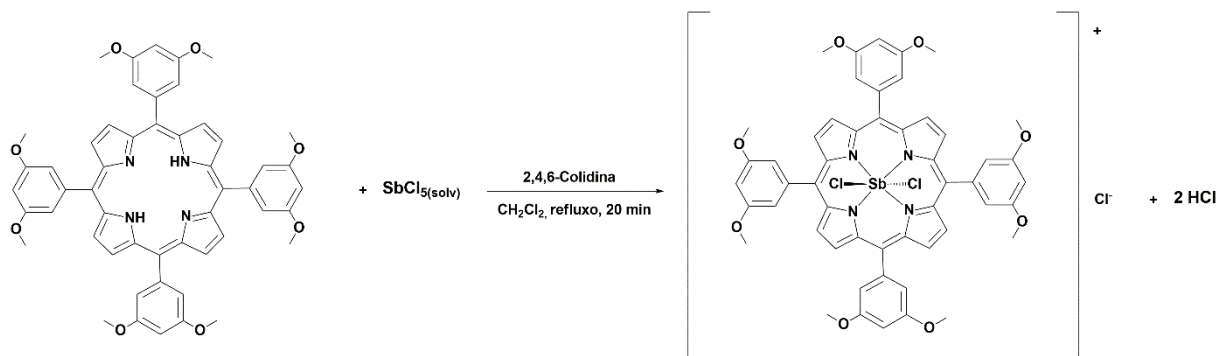


Figura 25 – Representação da reação de obtenção do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$.

A reação de metalação foi acompanhada por CCD (Al_2O_3 ; CH_2Cl_2). Na placa de CCD aplicou-se o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ e a porfirina base livre $\text{H}_2\text{T35DMPP}$, separadamente, obtendo-se um r_f de 0,70 e 0,87, respectivamente. Desta forma, como observado no complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$, a $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ também permaneceu mais retida próximo ao ponto de aplicação, quando comparada o ponto de aplicação da $\text{H}_2\text{T35DMPP}$.

O complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ também foi caracterizado por espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS (Figura 26). Nota-se que após a complexação com antimônio, ocorreu um deslocamento batocrômico da banda Soret de 419 nm para 424 nm. Além disso, houve a diminuição do número de bandas Q e não se observa a presença de bandas extras entre 300 e 400 nm, identificando um espectro de absorção de metaloporfirina normal. No trabalho realizado por Gomes e colaboradores²⁵, explorando porfirinas de antimônio, resultados semelhantes foram obtidos, ocorrendo deslocamento da banda Soret do complexo de antimônio para menor energia em comparação com a respectiva porfirina base livre.

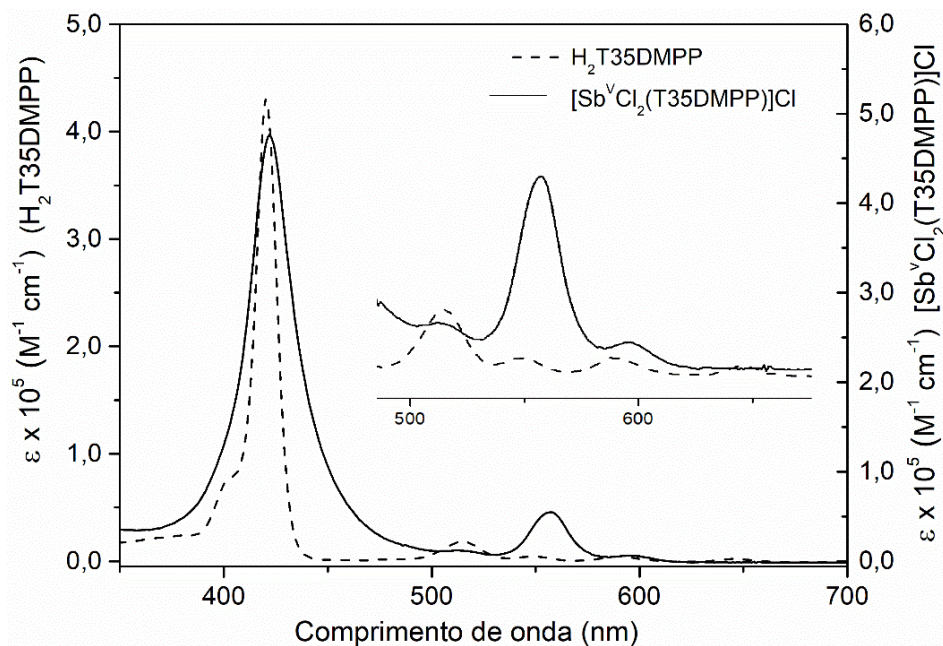


Figura 26 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para $H_2T35DMPP$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, em CH_2Cl_2 .

Os dados referentes à espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS, juntamente com a absorvidade molar ($\log \epsilon$) de cada banda, estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS para $H_2T35DMPP$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, em CH_2Cl_2 . Valores de absorvidade molar ($\log \epsilon$, $M^{-1} cm^{-1}$).

Compostos	Comprimento de onda (nm)				
$H_2T35DMPP$	419 (5,63)	514 (4,24)	552 (3,62)	594 (3,78)	644 (3,02)
$[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$	424 (4,68)	557 (3,75)	597 (2,85)	-	-

O complexo $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ foi caracterizado por espectroscopia vibracional na região do IV (Figura 27, Tabela 9). Pode-se confirmar a obtenção do produto de interesse pela ausência das bandas referentes à deformação (fora do plano) da ligação N-H (em $739 cm^{-1}$) dos grupos pirrólicos (visto na Figura 11) ^{70,71,72,81} e da banda em torno de $3316 cm^{-1}$ que é referente ao estiramento N-H. Ainda na Figura 22, no espectro vibracional para a porfirina metalada há o conjunto de bandas bem definidas para o estiramento de éter fenil alquílico (1292 e $1032 cm^{-1}$, Figura 27), e a ausência da banda de estiramento N-H característico da porfirina base livre ($1029 cm^{-1}$, Figura 11).

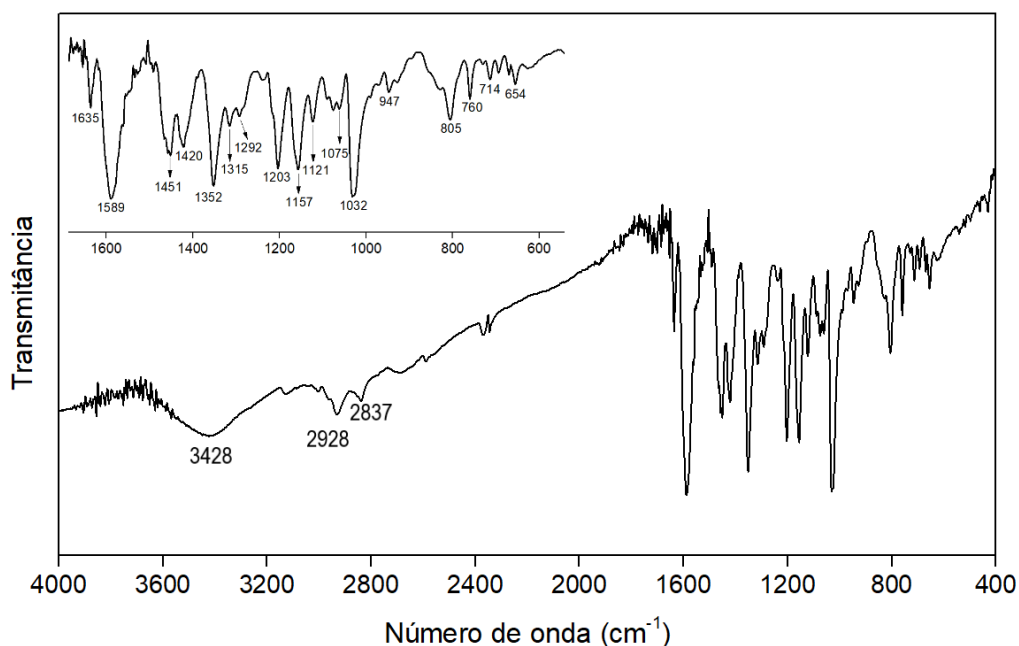


Figura 27 – Espectro de absorção na região do IV da $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. As análises foram realizadas em nujol. Expansão da região entre 550 -1650 cm^{-1} , no canto superior esquerdo da imagem.

A banda em 3428 cm^{-1} (Figura 27) refere-se à presença de estiramento O-H, sugerindo que existe a presença de água na amostra. A diferença entre o espectro de IV da $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (Figura 22) e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, em relação ao grau de substituição do grupo arila das posições *meso* do macrociclo, pode ser observada na região de 850 a 900 cm^{-1} , sendo que para a trissubstituída aparece um sinal em ~880 cm^{-1} .

Tabela 9 – Dados obtidos por espectroscopia de absorção na região do IV para o complexo $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Análise realizada em nujol. ^{70,71,72,81}

Número de onda (cm^{-1}) (intensidade)	Atribuições
3428 (fraca)	Estiramento O-H (água presente na amostra)
2928 e 2837 (fraca)	Estiramento C-H (sp^3 , assimétrico e simétrico)
1635 (média)	Estiramento C=C (aromático)
1589 (forte)	Estiramento C=C com conjugação
1451 (média)	Estiramento C=N (pirrol)
1420 (fraca)	Dobramento C-H (sp^3)
1352 (forte)	Dobramento C-H (aromático) ou o sinal de nujol
1292 (média) e 1032 (forte)	Estiramento éter fenil alquílico
1203 (forte)	Vibração do esqueleto porfirínico
1157 (forte)	Estiramento C-O-C
947 (fraca)	Deformação do macrociclo porfirínico
805 (fraca)	Deformação C-H (aromático trissubstituído)
760 (fraca)	Deformação axial do macrociclo
714 (fraca)	Sinal referente ao nujol

A caracterização do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (Tabela 10) por RMN ^1H foi realizada em CDCl_3 . A previsão para o espectro desse complexo de antimônio, conforme já mencionado, seria o deslocamento para valores de ppm maiores dos sinais presentes no espectro da porfirina base livre $\text{H}_2\text{T35DMPP}$.⁸⁹ Na Figura 28 está representado o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ com a identificação dos átomos de hidrogênio presentes no macrociclo e o seu espectro de RMN de ^1H .

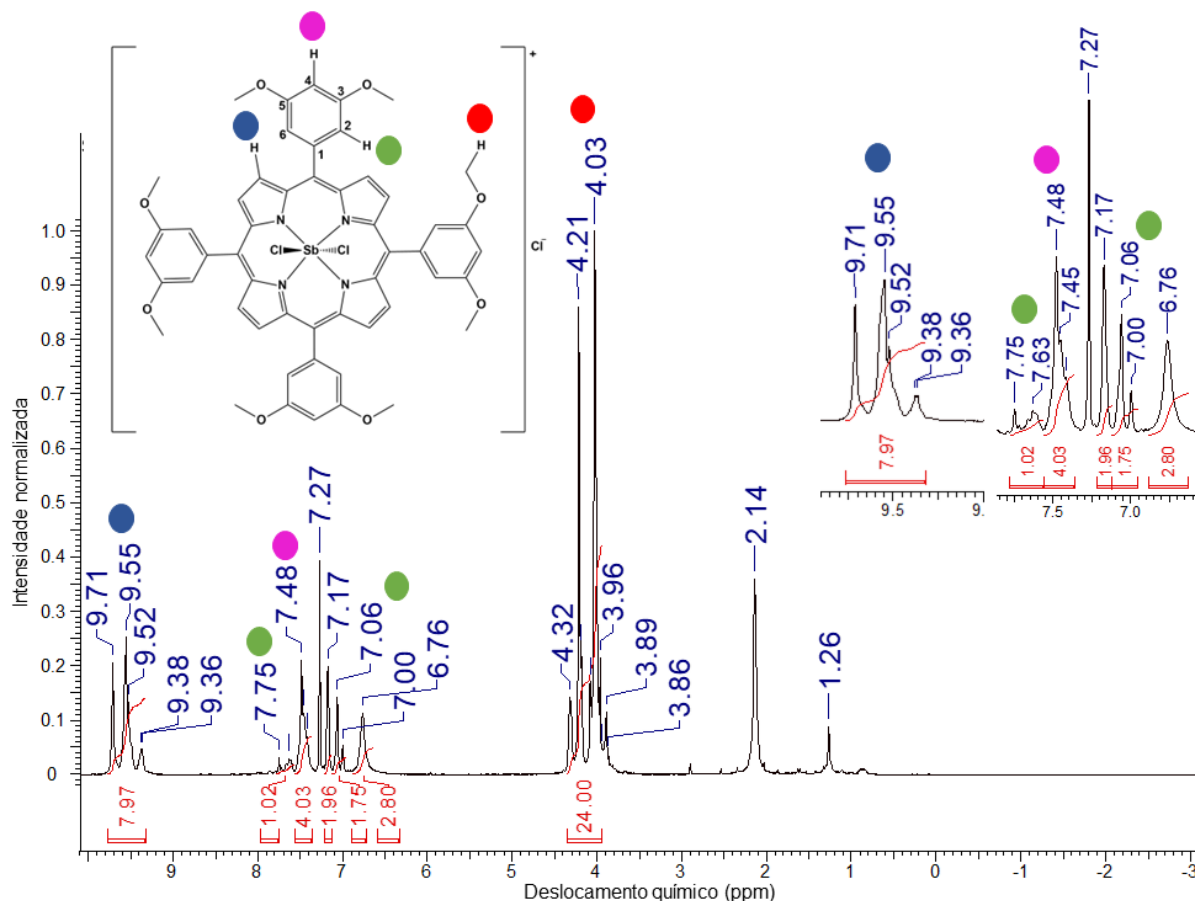


Figura 28 – Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C. δ 4,36-3,93 (24H, m, $-\text{OCH}_3$, *meta*), δ 7,56-7,36 (4H, m, *para* arila), δ 7,22-6,62 e 7,78-7,56 (8H, m, *orto* arila), δ 9,97-9,31 (8H, m, β -pirrólico).

Com a metalação da porfirina base livre $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ com antimônio, ocorreu o desaparecimento do sinal referente aos átomos de hidrogênio N-H pirrólicos.⁸⁹ As posições dos sinais se modificaram de forma semelhante àquela observada para o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (Figura 23), discutida anteriormente. O sinal localizado em $\delta = 9,97-9,31$ ppm (8H, m, Figura 28) correspondente aos átomos de hidrogênio aromáticos β -pirrólicos do macrociclo sofreram um deslocamento químico mais distante positivamente do TMS, em relação ao sinal desses átomos na respectiva porfirina base livre.⁸⁹

Tabela 10 – Sinais do espectro de RMN ^1H da $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

Hidrogênio	Deslocamento químico (δ , ppm)	Deslocamento químico (δ , ppm)
	$\text{H}_2\text{T35DMPP}^{89}$	$[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$
β -pirrólico	8,95 (8H, s)	9,97-9,31 (8H, m)
<i>orto</i> arila	7,42 (8H, s)	7,22-6,62 e 7,78-7,56 (8H, m)
<i>para</i> arila	6,92 (4H, s)	7,56-7,36 (4H, m)
<i>meta</i>	3,98 (24H, s)	4,36-3,93 (24H, m)
N-pirrólico	-2,81 (2H, s)	-

Os quatro átomos de hidrogênio na posição *para*-arila ($\delta = 7,56\text{-}7,36$ ppm, m) estão presentes no espectro do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (Figura 28). Porém, nem todos os oito átomos de hidrogênio na posição *orto* (8H, $\delta = 7,22\text{-}6,62$ e $7,78\text{-}7,56$ ppm, m) apareceram juntos no espectro como visto na integração em região próxima ao sinal do solvente ($\delta = 7,27$ ppm).⁷⁵ Supõe-se que, mesmo a molécula sendo simétrica, em algum momento esses átomos de hidrogênio podem estar em ambientes químicos diferentes uns dos outros. Outro fator que influencia na perturbação dos sinais é a modificação na distribuição de densidade eletrônica ao ser inserido um íon metálico ao macrociclo porfirínico.

No espectro do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (Figura 23), houve um pequeno desdobramento dos sinais referentes aos átomos de hidrogênio dos grupos metoxila do anel arila na posição *meso* do macrociclo. Já no caso do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$, verifica-se que os grupos metoxila na posição *meso* do anel arila ($\delta = 4,36\text{-}3,93$ ppm) (Figura 28) desdobraram-se em vários sinais. Sabe-se que, pela equivalência de seus átomos de hidrogênio, que deveria ser observado apenas um simpleto com integração de 24 átomos de hidrogênio. Acredita-se, portanto, que os sinais desses átomos de hidrogênio sofreram um deslocamento químico devido à presença do íon $\text{Sb}(\text{V})$ no macrociclo. O sinal em $\delta = 2,14$ ppm refere-se à acetona, solvente utilizado para lavagem do tubo de RMN.

O complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ também foi caracterizado por espectrometria de massas MALDI-TOF (Figura 29). No modo positivo, observaram-se vários conjuntos de sinais, e, para as principais razões m/z foram realizadas simulações por meio do software *ChemCalc* (Figura 30). O sinal em m/z igual a 973,228 corresponde à espécie $[\text{Sb}^{\text{III}}(\text{T35DMPP})]^+$, indicando a redução do antimônio pentavalente para trivalente, com a perda dos ligantes e do contraíon cloreto, em relação ao composto original, ocorrendo esse processo durante a análise. No espectro simulado (Figura 30a), verifica-se que a distribuição isotópica corrobora o resultado obtido experimentalmente. O segundo conjunto de sinais importante em m/z igual a 1043,170 pode ser associado à espécie $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]^+$, com perda do contraíon cloreto, em relação à espécie original, como observado na simulação (Figura 30b).

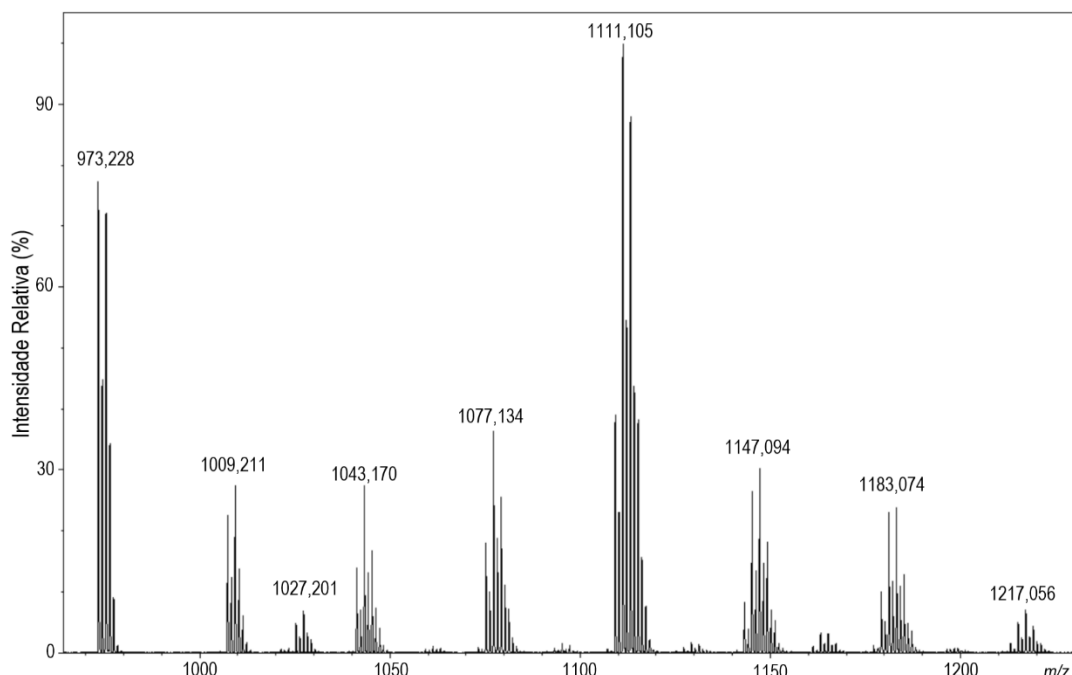


Figura 29 – Espectro de massas do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (MALDI-TOF MS, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila).

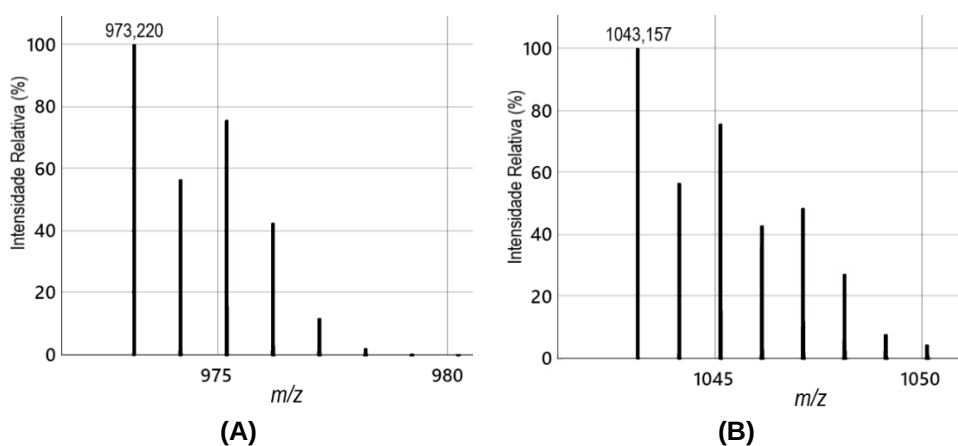


Figura 30 – Espectro simulado pelo software *ChemCalc* para as espécies (A) $[\text{Sb}^{\text{III}}(\text{T35DMPP})]^+$ e (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]^+$.

Analisando-se apenas a razão m/z dos demais sinais pode-se propor algumas espécies que provavelmente estão sendo formada *in situ* na técnica de MALDI-TOF.^{76,90} Em $m/z = 1009,211$ pode-se atribuir à espécie $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T35DMPP}) + \text{H}]^+$. Já para o sinal em $m/z = 1077,134$, sugere-se a presença da espécie $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_3(\text{T35DMPP}) - \text{H}]^+$. O sinal mais intenso do espectro (Figura 29), em $m/z = 1111,105$ pode ser atribuído à espécie $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_3(\text{T35DMPP}) + \text{CH}_3\text{OH} + \text{H}]^+$.

CAPÍTULO 4 – OXIDAÇÃO DE CARVACROL CATALISADA POR PORFIRINAS DE MANGANÊS(III)

4.1 OXIDAÇÃO DO CARVACROL

Nas últimas duas décadas, estima-se que mais de 25% dos medicamentos descobertos são obtidos diretamente de plantas e outros 25% são compostos naturais quimicamente modificados.⁹¹ Estes dados incentivam pesquisadores de todo o mundo a estudar as propriedades dos compostos naturais, por não apresentarem alta toxicidade e que na maioria das vezes podem ser encontrados em altas quantidades na natureza.⁹²

O orégano está presente na culinária mundial e é amplamente utilizado como planta aromática, sendo que o seu óleo essencial possui diversas propriedades terapêuticas.⁹³ O carvacrol é um monoterpene extraído do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) e é um dos principais precursores das benzoquinonas, que podem ser obtidas na oxidação desse substrato. A timoquinona (Figura 31), representante dessa classe, apresenta uma variedade de propriedades biológicas e farmacológicas como ser um agente antitumoral, hepatoprotetor, anticonvulsivante^{94,95} e atuar no controle de distúrbios patológicos⁹⁵. Entretanto, sua disponibilidade em fontes naturais é limitada.⁹⁶ Portanto, novas rotas para a oxidação do carvacrol, com o objetivo de produzir timoquinona e outros produtos com maior valor agregado (Figura 31) foram tentadas ao longo das últimas décadas.

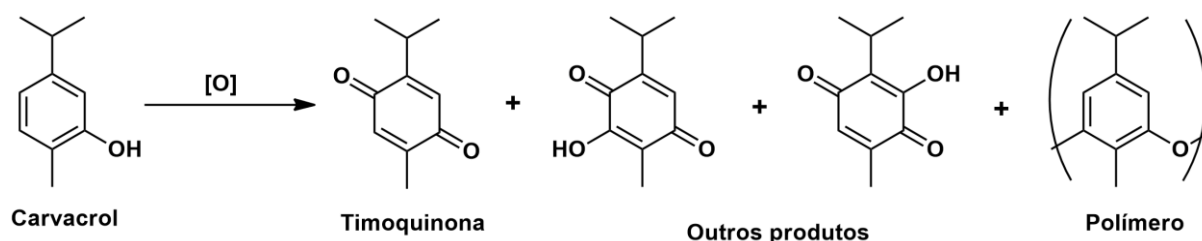


Figura 31 – Estrutura dos possíveis produtos de oxidação do carvacrol.

Alguns trabalhos descrevem a oxidação do carvacrol empregando metaloporfirinas,^{97,98,99,100,101} especialmente as porfirinas de manganês, como catalisadores nessas reações. Essas metaloporfirinas conseguem mimetizar os sistemas enzimáticos do CP450,¹⁰² catalisando reações de oxidação em condições moderadas de temperatura e pressão.^{103,104} Esses trabalhos apresentaram a atividade catalítica das porfirinas de ferro(III) [Fe^{III}Cl(TPP)],¹⁰¹ e porfirinas de manganês(III) [Mn^{III}Cl(TPP)].¹⁰³ Deve-se destacar que as metaloporfirinas que possuem substituintes no anel arila, geralmente apresentam melhor atividade catalítica do que aquelas que não contém, pois os substituintes presentes no grupo arila das posições *meso* tendem a alterar a reatividade da espécie ativa de alta valência e aumentar a estabilidade desses compostos no meio de reação.^{105,106}

O primeiro trabalho que descreveu a oxidação do carvacrol foi realizado por Martins e colaboradores⁹⁷ utilizando quatro metaloporfirinas como catalisadores, [Mn^{III}Cl(TDCPP)], [Mn^{III}Cl(β-NO₂TDCPP)], [Mn^{III}Cl(TF₅PP)] e [Mn^{III}Cl(β-NO₂TF₅PP)] (Figura 32). O sistema estudado foi homogêneo, usando peróxido de hidrogênio (H₂O₂) como oxidante, acetato de amônio (NH₄CH₃CO₂) como cocatalisador e acetonitrila (ACN) como solvente.

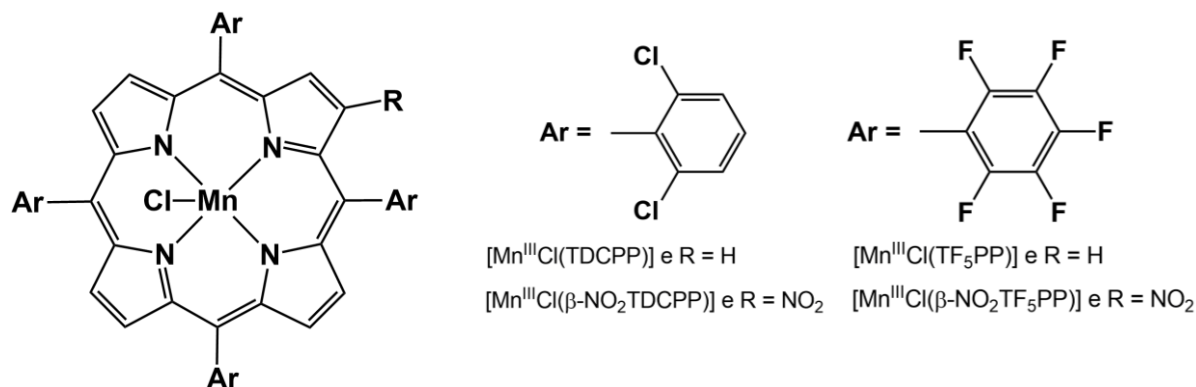


Figura 32 – Estrutura química dos catalisadores porfirínicos utilizados na oxidação do carvacrol por Martins e colaboradores.⁹⁷

Nesses sistemas, os autores relatam a formação exclusiva de timoquinona, com seletividade de 69,9 a 99,6%, resultado da hidroxilação seletiva do anel aromático na posição *para* em relação ao grupo OH, seguida pela subsequente oxidação da hidroquinona. As metaloporfirinas $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{TDCPP})]$ e $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\beta\text{-NO}_2\text{TDCPP})]$ mostraram-se mais eficazes do que as demais, pois as conversões e a seletividade foram maiores quando comparado aos demais catalisadores. Além disso, os autores observaram que a presença do grupo nitro (NO_2) na posição β -pirrólica não teve grande influência na atividade como catalisador para a oxidação do carvacrol. Entretanto, quando realizaram reações de oxidação com o isômero do carvacrol, *p*-cimeno, os catalisadores contendo grupos retiradores de elétrons nas posições β , apresentaram maiores rendimentos e seletividade. Desta forma, segundo os autores, em princípio, esses catalisadores são melhores do que as metaloporfirinas que contém apenas substituintes fenil nas posições *meso* arila, pela maior resistência à destruição oxidativa e uma maior ativação eletrônica.⁹⁷ Os autores não relataram o motivo da atividade catalítica das metaloporfirinas variarem dependendo do substrato. Entretanto, uma observação importante foi que dependendo da variação do grupo presente no anel arila, o produto principal de oxidação variou, indicando a possibilidade de modular o catalisador para direcionar a formação de um determinado produto.

Após o primeiro trabalho, em 2003, Skrobot e colaboradores¹⁰⁰ utilizaram uma metaloporfirina catiônica $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TBzPyP})]^{5+}$ (Figura 33a) em um sistema homogêneo e também imobilizada em uma zeólita, utilizando o mesmo sistema de Martins e colaboradores⁹⁷ ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2/\text{ACN}$). O tempo de reação foi 24 h e, nesses sistemas, a conversão do carvacrol foi de 14% e 25%, com 100% de seletividade para timoquinona, nos sistemas homogêneo e heterogêneo, respectivamente. Os autores testaram a substituição da solução aquosa de H_2O_2 (30%) por quantidades proporcionais de H_2O_2 anidro, um aduto de ureia- H_2O_2 , e verificaram que a conversão de carvacrol em 6 e 24 h de reação foi a mesma (23%). Desta forma, a desativação catalítica devido à presença de H_2O não é significativa. Os autores relataram a lixiviação do complexo porfirínico da zeólita na presença de H_2O_2 que causou inativação irreversível.

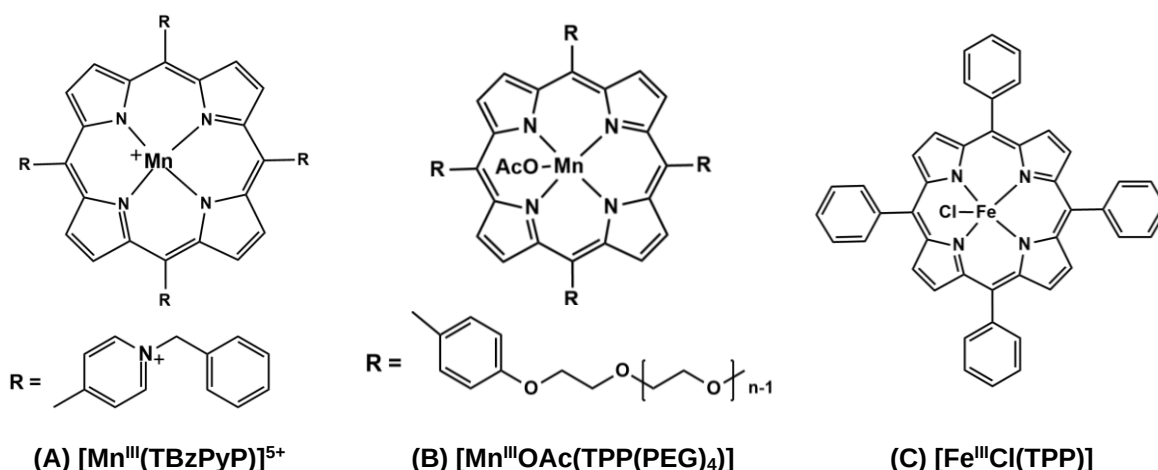


Figura 33 – Estruturas químicas das metaloporfirinas utilizada como catalisadores na oxidação do carvacrol.^{99,101}

Neves e colaboradores,⁹⁹ em 2018, relataram a utilização do complexo $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{OAc}(\text{TPP}(\text{PEG})_4)]$ (Figura 33b) em um sistema homogêneo (ACN) e em um bifásico (água/hexano-1:1) para a oxidação do carvacrol. O terc-butil-hidroperóxido (*t*-BuOOH) foi usado como oxidante nesse estudo, uma vez que o H_2O_2 não foi eficiente com os catalisadores $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{acac}(\text{TPP})]$ e seu análogo funcionalizado com polietilenoglicol (PEG), $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{OAc}(\text{TPP}(\text{PEG})_4)]$, usando o $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2$ como cocatalisador. A utilização do *t*-BuOOH proporcionou a conversão quase total do substrato (94%) após 45 min e o catalisador permaneceu estável no meio, independente da funcionalização com PEG. Eles também aplicaram o mesmo sistema catalítico para oxidar carvacrol presente no óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (33,2% de carvacrol); os catalisadores foram capazes de converter o carvacrol e o timol (um isômero posicional do carvacrol) em timoquinona (98% e 89%, respectivamente), deixando os demais componentes do óleo sem alteração estrutural.

Outros trabalhos antes de Neves e colaboradores¹⁰¹, já haviam descrito a oxidação do carvacrol em óleo essencial, como Milos⁹⁹ e Jukic e Milos¹⁰⁷, que estudaram o óleo extraído de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgarae* L., respectivamente. O complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{TPP})]$ (Figura 33c) foi utilizado como catalisador e como oxidante foram estudados Oxone®, peroximonosulfato de potássio (KHSO_5) ou H_2O_2 . Como resultado, esses autores observaram que os compostos presentes no óleo essencial do orégano podem ser facilmente oxidados a timoquinona e timohidroquinona, sendo que o último produto de oxidação foi observado apenas no sistema com óleo de *Thymus vulgarae* L.

Em um estudo preliminar realizado por Skrobot e colaboradores¹⁰⁰, eles descreveram que o complexo $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{TMePyP})]^{5+}$, análogo ao $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TBzPyP})]^{5+}$ (Figura 33a), heterogeneizado em zeólita e nas mesmas condições utilizados nos sistema de Martins e colaboradores ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2/\text{ACN}$), não levou a oxidação do carvacrol. Porém, a busca por sistemas alternativos heterogeneizados com a com metaloporfirinas de ferro(III) continuou e foi realizada por Semerci e colaboradores.¹⁰³ Eles relataram a oxidação do carvacrol por KHSO_5 , em sistemas homogêneos e heterogeneizados, usando a cloreto-5,10,15,20-tetraquis(4-carboxifenil)porfirinatoferro(III), $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{TCPP})]$, e suas respectivas estruturas metal-orgânicas (MOF) como catalisadores. Para os sistemas homogêneos, eles alcançaram uma conversão de 94,9-99,2%, um rendimento de timoquinona próximo a 30% e seletividade de 20-

29,5%. Nos sistemas heterogêneos, a conversão variou de 83,2-99,3%, com seletividade superior a 23% para timoquinona. Os autores obtiveram um produto polimérico na oxidação do carvacrol mediada por metaloporfirinas, que já havia sido relatado em um sistema semelhante usando uma ftalocianina de ferro como catalisador.⁴⁵

Assim, considerando as importantes propriedades apresentadas pela timoquinona, o recente isolamento de um polímero obtido a partir do carvacrol mediado por metaloporfirina de ferro e os poucos estudos que exploram o uso de metaloporfirinas como catalisadores para esse fim, a oxidação do carvacrol catalisada pelas metaloporfirinas [Mn^{III}Cl(TPP)] (**Cat1**) e [Mn^{III}Cl(T245TMPP)] (**Cat2**) foi realizada na presença de dois oxidantes, iodobenzeno diacetato [PhI(OAc)₂] e iodossilbenzeno (PhIO), empregando como solventes carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano.

Para que se possa entender a origem do uso de metaloporfirinas como catalisadores, será realizada uma breve descrição do mecanismo de ação dos CP450 nas reações de oxidação de substratos orgânicos.

4.1.1 Por que metaloporfirinas são usadas como catalisadores biomiméticos do CP450?

A estrutura dos CP450 possui um grupo heme (sítio ativo) e uma matriz proteica. O grupo heme está ligado à matriz proteica por meio de um átomo de enxofre (pertencente ao grupo tiolato da L-cisteína) coordenado ao íon ferro(III), na região proximal do sítio ativo localizado abaixo do plano do macrociclo, onde não ocorre troca de ligantes. O ligante proximal facilita a clivagem da ligação estabelecida entre o oxigênio molecular (O₂) e o íon ferro(III), gerando a espécie ativa responsável por realizar a transferência de um dos átomos de oxigênio para o substrato orgânico.^{4,108} Acima do plano do macrociclo encontra-se a região distal, onde ocorre as trocas de ligantes no ciclo catalítico.¹³ Cada parte da estrutura possui sua função, a matriz proteica proporciona o ambiente hidrofóbico que direciona o substrato orgânico ao sítio ativo, em que grupos polares específicos posicionam a molécula de forma que a ligação R-H do substrato fique próxima do fragmento Fe=O.⁴ Da mesma forma que a matriz direciona o substrato, ela também direciona a saída do produto após ocorrer a oxidação do substrato, tendo um papel importante para o ciclo catalítico.

O ciclo catalítico dos CP450 é conhecido. Na Figura 34 são apresentadas as etapas para a oxidação de substratos orgânicos (representados pela sigla RH) catalisadas pelos CP450.

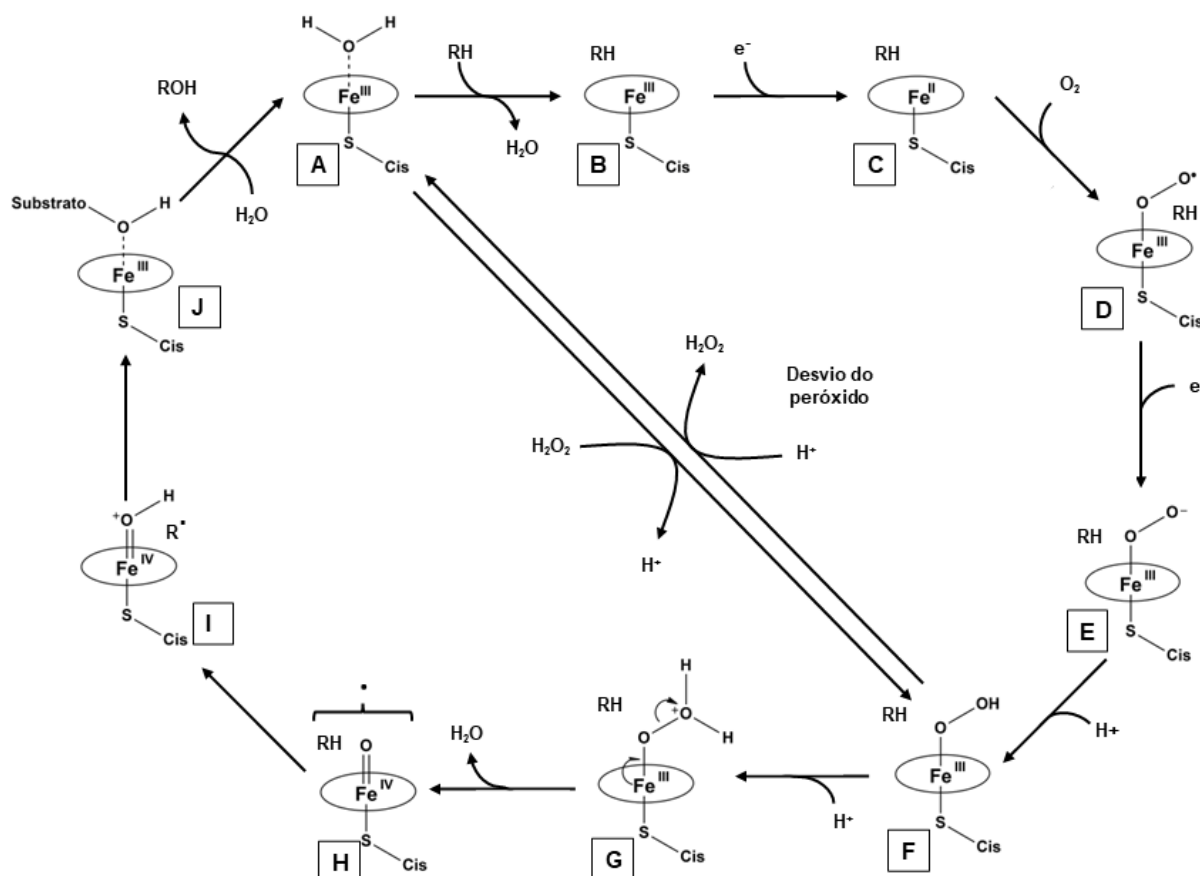


Figura 34 – Ciclo catalítico para oxidação de substratos orgânicos catalisada pelos CP450 (RH se refere ao substrato e ROH ao produto hidroxilado ou de oxidação). Adaptada de Stanfield e Shoji.¹¹⁰

O ciclo inicia-se pela aproximação do substrato RH, que se liga ao sítio ativo do CP450, e desloca a molécula de água, coordenada inicialmente ao ferro(III) (A). Isto faz com que o complexo de ferro(III) passe de um sistema de spin baixo para um estado férrico de spin alto (B)¹⁰⁹, sendo posteriormente reduzido a ferro(II) por um elétron oriundo da enzima redutase (C). O oxigênio molecular então se liga ao centro metálico, gerando o intermediário radical peróxido (D) que recebe uma segunda transferência de elétrons para formar o intermediário chave do ânion Fe(III)-peroxo, sendo uma transferência eletrônica intramolecular. Esse aduto pode coexistir na forma de uma espécie de ferro(III) coordenada ao ânion superóxido (FeO₂⁻, E) ou na forma Fe(II) como FeO₂. Na etapa seguinte, ocorre protonação do nucleófilo, formando a espécie hidroperoxido férrico (F). Um segundo evento de protonação facilita a etapa de clivagem oxigênio-oxigênio (G), gerando o composto ferro-oxo de alta valência (H), resultando na liberação de uma molécula de água. O composto H tem habilidade de abstrair um átomo de hidrogênio do substrato orgânico (RH), resultando na espécie [Fe^{IV}(OH)P], ou composto I, e no radical orgânico R'. Essa etapa só é possível devido ao forte caráter básico do composto H, proporcionado pela L-cisteína que atua como ligante proximal.¹¹¹ Por fim, o radical orgânico R' é hidroxilado pela espécie I, regenerando o sítio ativo.

Na década de 70, pesquisadores demonstraram uma rota alternativa ao ciclo catalítico, conhecido como "desvio do peróxido" (Figura 34, seta central). Nesse ciclo curto, o CP450 é capaz de hidroxilar substratos orgânicos na presença de doadores de oxigênio como peróxidos, perácidos e iodoarenos, evitando a utilização de doadores de elétrons e íons hidrogênio.^{1,4}

Com base nos resultados dos estudos realizados com os CP450, diversos pesquisadores têm buscado mimetizar o comportamento e a atividade dessas enzimas. Groves e colaboradores¹¹² tornaram-se pioneiros, em 1979, por utilizarem uma metaloporfirina de ferro(III), como catalisador em reações de hidroxilação de alcanos e epoxidação de alcenos por PhIO. Devido ao resultado desses estudos¹¹², diversas metaloporfirinas sintéticas vem sendo obtidas e testadas em reações de oxidação de substratos orgânicos utilizando sistemas homogêneos^{97,98,99,114} e heterogêneos¹¹⁵, pois elas conseguem mimetizar os CP450, catalisando reações de oxidação em condições moderadas de temperatura e pressão. Desta maneira, no próximo tópico os resultados obtidos nas reações de oxidação do carvacrol serão apresentados e discutidos.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As metaloporfirinas e alguns outros complexos metálicos têm sido usados como catalisadores para a oxidação de vários produtos naturais.^{94,97,98,116} Na literatura, conforme supracitado, há poucos relatos a respeito da oxidação do carvacrol catalisada por porfirinas de manganês^{97,99,100}. Em relação à oxidação desse produto natural, poucas Mn(III)-porfirinas foram usadas como catalisadores na presença de H₂O₂ ou t-BuOOH, sendo a timoquinona o principal produto.^{100,101} Além disso, outros trabalhos investigaram a oxidação do carvacrol por Oxone® empregando metaloporfirinas ou ftalocianinas como catalisadores.^{45,99,103,107}

Apesar do baixo número de estudos (seis, sem considerar o trabalho publicado a partir dos dados descritos nessa tese) envolvendo a oxidação do carvacrol por metaloporfirinas, uma análise dos solventes utilizados e dos produtos formados nos leva a crer que os efeitos do solvente podem fornecer informações únicas sobre os mecanismos da reação. Na literatura, os solventes utilizados na oxidação do carvacrol apresentam constantes dielétricas altas, como a água ($\epsilon = 80,4$), acetonitrila ($\epsilon = 37,5$) e metanol ($\epsilon = 32,7$) e favorecem a formação de timoquinona.^{97,99,100,107} Para avaliar o desempenho, a influência e expandir o espectro de polaridades dos solventes usados nas reações de oxidação do carvacrol, foram escolhidos o carbonato de dimetila ($\epsilon = 3,09$) e o acetato de etila ($\epsilon = 6,08$), que também são considerados solventes verdes.^{117,118} Em nosso grupo de pesquisa, foram testados esses solventes com menores constantes dielétricas na oxidação, na presença das metaloporfirinas deste trabalho, [Mn^{III}Cl(TPP)] (**Cat1**) ou [Mn^{III}Cl(T245TMPP)] (**Cat2**), para a oxidação do ciclo-hexano, com bons resultados.^{41,130} O solvente clássico diclorometano ($\epsilon = 8,93$), empregado em oxidações catalisadas por porfirinas de manganês¹⁰⁴, também foi testado. Esse solvente clorado é considerado carcinógeno para os humanos, mas foi utilizado por ser clássico e poder solubilizar eficientemente os catalisadores, sem se coordenar ao íon metálico e se mostrar eficiente em reações relatadas na literatura.¹¹⁹

Guimarães⁴¹ realizou estudos da oxidação do carvacrol na presença de H₂O₂ e t-BuOOH como oxidantes e os complexos **Cat1** ou **Cat2**, como catalisadores na presença de carbonato de dimetila como solvente. Para avaliar a eficiência do **Cat2**, o catalisador **Cat1** foi empregado para comparação. Estas reações foram realizadas em uma proporção em quantidade de substância de catalisador:oxidante:carvacrol de 1:100:10. Nos sistemas com H₂O₂ não foi observada conversão de carvacrol, enquanto nas reações com t-BuOOH foi obtido um baixo valor de conversão (<5%), associado à ausência de timoquinona como produto. Esta observação pode ser justificada pela baixa

solubilidade dos oxidantes no solvente ou pela decomposição espontânea desses peróxidos,^{120,121} diminuindo a quantidade de oxidante no meio reacional. Ainda neste trabalho, Guimarães⁴¹ avaliou o efeito do imidazol buscando tornar os sistemas mais eficientes, com solventes carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano. No entanto, os resultados não foram satisfatórios, pois tanto as conversões do carvacrol quanto os rendimentos para a timoquinona praticamente não se alteraram na presença do imidazol.⁴¹

Devido aos baixos valores de conversão obtidos nas reações com H_2O_2 e $t\text{-BuOOH}$, para os catalisadores estudados, optou-se por investigar $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ como oxidante. O $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ é um iodoareno versátil empregado na oxidação de vários compostos orgânicos em condições brandas.¹²²⁻¹²⁵ Esse oxidante é solúvel na maioria dos solventes orgânicos, seguro, fácil de manusear e disponível comercialmente, sendo assim uma alternativa interessante para o desenvolvimento de reações de oxidação seletiva.¹²⁶⁻¹²⁸ Em nosso grupo, o uso de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ associado a **Cat2** levou a um sistema eficiente para a oxidação do ciclo-hexano (um substrato inerte).⁴¹

Guimarães⁴¹ também realizou estudos para determinar a melhor proporção catalisador:oxidante:substrato, usando a metaloporfirina **Cat1** como catalisador, e avaliou o tempo de reação para a conversão do carvacrol em produtos oxigenados. Ele constatou que a proporção de 1:10:10 levou a uma alta conversão de carvacrol (99%) em 120 min, pois este sistema requer a menor quantidade de oxidante capaz de garantir os maiores valores de conversão. Desta forma, neste trabalho foram utilizadas essas condições de reação.

A partir da revisão bibliográfica, acredita-se que este é o segundo trabalho que descreve o uso de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ na oxidação de carvacrol. Desta forma, optou-se por realizar reações controle na presença exclusiva desse oxidante e na presença exclusiva de **Cat1** e **Cat2**, separadamente, para verificar se o oxigênio atmosférico atuaria como oxidante na reação. Foram utilizados os solventes carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano. Os resultados estão apresentados na Tabela 11, ressaltando que não ocorreram reações de oxidação do carvacrol na ausência de catalisador e oxidante, para todos os solventes estudados.

Para as reações controle apenas na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (reações 1, 8 e 15, Tabela 11), foram observados elevados valores de conversão de carvacrol, variando de 75 a 93%. Nas condições estudadas, pode-se sugerir que o solvente consegue influenciar de alguma forma o comportamento do oxidante, uma vez que a formação de timoquinona foi verificada apenas quando acetato de etila (4%) foi empregado na reação (Reação 8, Tabela 11). A conversão do carvacrol atingiu valores máximos em diclorometano (93%), seguido pelo sistema com carbonato de dimetila (84%).

Tabela 11 – Reações de oxidação de carvacrol nos solventes carbonato de dimetila, acetato de etila ou diclorometano, catalisada por **Cat1** ou **Cat2** na presença/ausência de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$.^a

Reação	Sistema	Solvente	Conversão do carvacrol (%)	Rendimento (%)		Rendimento do polímero (%) ^c
				Timoquinona	Outros produtos ^b	
1 ^d	$\text{PhI}(\text{OAc})_2$	Carbonato de dimetila	84	0	100	-
2 ^e	Cat1		50	0	100	-
3 ^e	Cat2		42	0	100	-
4 ^e	MnCl_2		49	0	100	-
5	Cat1 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		100	0	100	18 ^f
6	Cat2 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		91	0	100	29 ^f
7	MnCl_2 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		91	0	100	-
8 ^d	$\text{PhI}(\text{OAc})_2$	Acetato de etila	75	4	96	-
9 ^e	Cat1		30	0	100	-
10 ^e	Cat2		36	0	100	-
11 ^e	MnCl_2		33	0	100	-
12	Cat1 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		94	1	99	17 ^f
13	Cat2 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		88	2	98	47 ^f
14	MnCl_2 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		85	0	100	-
15 ^d	$\text{PhI}(\text{OAc})_2$	CH_2Cl_2	93	0	100	-
16 ^e	Cat1		45	0	100	-
17 ^e	Cat2		55	0	100	-
18 ^e	MnCl_2		40	0	100	-
19	Cat1 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		92	6	94	16 ^f
20	Cat2 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		83	8	92	31 ^f
21	MnCl_2 / $\text{PhI}(\text{OAc})_2$		89	0	100	-

^a Condições de reação: **Cat1**, **Cat2** ou $\text{MnCl}_2 = 2 \times 10^{-6}$ mol, PhIO ou $\text{PhI}(\text{OAc})_2 = \text{Carvacrol} = 2 \times 10^{-5}$ mol; volume total de 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 minutos. ^b Outros produtos formados não foram identificados devido às áreas baixas na análise por cromatografia a gás ou por não aparecerem no cromatograma. ^c Rendimentos baseados na quantidade de substrato. ^d As reações foram realizadas na ausência de catalisador. ^e Reações foram realizadas na ausência de oxidante. ^f Rendimento baseado na quantidade de substrato.

Nos sistemas com presença exclusiva de **Cat1** (reações 2, 9 e 16, Tabela 11) ou **Cat2** (reações 3, 10 e 17, Tabela 11), verificamos que o carvacrol foi convertido em outros produtos, apresentando a mesma tendência observada nos sistemas que empregaram apenas $\text{PhI}(\text{OAc})_2$. Indiferentemente do solvente utilizado nas reações controle (Tabela 11), na presença apenas dos catalisadores, foram observados baixos valores de conversão. Esses baixos valores devem estar associados à pequena quantidade de oxigênio dissolvido no meio, uma vez que ele pode atuar como oxidante.^{116,129} Possivelmente, a interação entre o catalisador, solvente e oxigênio dissolvido poderia levar à formação de espécies ativas de alta valência $[\text{Mn}^{\text{V}}(\text{O})\text{P}]$ ou $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\text{O})\text{P}]$. No entanto, como a solubilidade do oxigênio no meio é baixa,^{41,130} a conversão do substrato não é completa. Dependendo do sistema, o oxigênio atmosférico não é suficiente para garantir a oxidação de um determinado substrato, necessitando de alta pressão de oxigênio no meio de reação. Isto pode ser visto no trabalho de Melo e colaboradores¹¹⁶, em que verificaram que a metaloporfirina $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T35DMPP})]$, que possui grupos metoxilas ($-\text{OCH}_3$) nos anéis arila da posição meso do macrociclo porfirínico, foi capaz de catalisar a oxidação do valenceno pelo O_2 a 25 °C, em elevada pressão (10 atm).

Nas reações que associaram os catalisadores e $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (reações 5, 6, 12 e 13, Tabela 11), foi observado um aumento nos valores de conversão do carvacrol quando os solventes verdes carbonato de dimetila e acetato de etila foram empregados, em relação aos sistemas contendo apenas o oxidante (reações 1 e 8, Tabela 11). Para o diclorometano, verificamos um decréscimo neste valor

quando utilizado o **Cat2** (queda de 93% para 83%). Nas condições empregadas, a formação de timoquinona foi observada apenas nos sistemas com acetato de etila (até 2%) e diclorometano (até 8%), mesmo em baixos rendimentos, enquanto as reações com carbonato de dimetila levaram à produção exclusiva de outros produtos. Um estudo que aponta a influência do solvente nas reações de oxidação de compostos orgânicos é o trabalho de Guimarães.⁴¹ Nas reações de oxidação do ciclohexano com o oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, catalisadas pelas metaloporfirinas $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T234TMPP})]$, **Cat1** e **Cat2**, nos sistemas com o solvente acetato de etila ($\epsilon = 6,08$), apresentaram-se rendimentos totais para os produtos oxigenados significativamente maiores, em relação aos sistemas catalíticos em carbonato de dimetila ($\epsilon = 3,09$). Desta forma, acredita-se que ao aumentar a constante dielétrica do solvente do sistema, a formação da timoquinona é favorecida.⁴¹

É importante ressaltar na Tabela 11 que nas reações com $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ e **Cat1** (reações 5, 12 e 19) ou **Cat2** (reações 6, 13 e 20), foi observada a formação de um produto majoritário, que ao isolar, obteve-se um sólido amarelo claro, que foi identificado como um polímero pela análise de cromatografia de permeação em gel (GPC, as caracterizações serão discutidas na sessão 4.2.2). Günay e colaboradores⁴⁵ descreveram a obtenção de produtos poliméricos a partir da oxidação do carvacrol e do timol (isômero do carvacrol) com peroximonossulfato de potássio (KHSO_5) catalisada por tetrassulfonato ftalocianina de ferro (FePcTS) em mistura de metanol:água (8:1 v/v) a temperatura ambiente, com razão em quantidade de substância catalisador:substrato:oxidante de 1:300:600. Quando comparado à oxidação do carvacrol e do timol, o polímero foi formado em grandes quantidades apenas nas reações com o carvacrol (15 mg, correspondendo a cerca de 34% da conversão do substrato ou 2% de rendimento). Quando o timol foi utilizado como substrato, a timoquinona foi verificada como o produto majoritário com rendimentos entre 8 a 20%, enquanto o rendimento do polímero foi de 0,2% (valor calculado com base nos dados do artigo, $m = 3$ mg, equivalente a 7% da conversão do timol). Outro trabalho que mostrou formação de polímero foi apresentado por Semerci e colaboradores¹⁰³ em sistemas empregando uma ferro(III)-porfirina imobilizada em estrutura de MOF. Nesse estudo, o polímero foi isolado na presença de grandes quantidades de metanol, o que aumentou a polaridade do meio.

Para a oxidação do carvacrol, o catalisador **Cat1** mostrou-se igualmente ou mais eficiente que o **Cat2**, independentemente do solvente utilizado. Esperava-se que a presença de substituintes metoxila ($-\text{OCH}_3$), nos grupamentos arilas das posições meso do macrociclo, influenciassem os rendimentos das reações catalíticas, devido ao seu potencial como doador de densidade eletrônica. No entanto, este catalisador comportou-se de forma semelhante ao **Cat1**. A presença de substituintes metoxila ($-\text{OCH}_3$) na posição orto para **Cat2**, pode gerar atropisômeros em solução,^{131,132,133} e devido ao maior impedimento estérico, esses grupos podem estar dificultando, de alguma forma, a aproximação do substrato ou $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ ao sítio ativo do catalisador, resultando em menor oxidação do carvacrol. Por outro lado, **Cat2** foi mais eficiente em gerar o polímero de carvacrol do que **Cat1**, em todos os solventes utilizados, provavelmente devido à combinação de efeitos eletrônicos e estéreos observados em sua estrutura. No sistema com acetato de etila como solvente, 47% de rendimento para o polímero foi obtido com **Cat2**. Segundo Martins e colaboradores⁹⁷ na oxidação do carvacrol com sistemas catalíticos em diferentes condições de reação utilizando a metaloporfirina $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{TDCPP})]$

com dois substituintes cloro nas posições orto no anel *meso*-arila, na presença do aditivo acetato de amônio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), houve alta conversão do substrato carvacrol, com seletividade para a formação de timoquinona. Isso pode estar associado à capacidade de remoção da densidade eletrônica dos substituintes cloro, que pode tornar o catalisador mais reativo, diferentemente dos grupos metoxila do catalisador **Cat2**. Outro fator que pode interferir na oxidação do carvacrol é a doação de elétrons pelos grupos metoxila que permitem a estabilização de espécies oxo, deixando-as menos reativas, como $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\text{O})\text{P}]$,¹⁰⁶ podendo diminuir a eficiência na conversão de carvacrol e na produção de timoquinona. No entanto, as condições de reação utilizadas pelos autores evitaram uma comparação detalhada com os dados obtidos neste trabalho.

Reações com o sal MnCl_2 foram realizadas com o objetivo de verificar o efeito do íon manganês(II) nas reações de oxidação do carvacrol e se o macrociclo afeta a atividade catalítica do centro metálico. Conforme observado na Tabela 11, as reações na presença exclusiva do MnCl_2 (reações 4, 11 e 18) levaram à conversão do carvacrol em valores semelhantes aos obtidos com o **Cat1** e **Cat2** na presença de carbonato de dimetila ou acetato de etila e os menores valores foram observados em diclorometano. O fato de que para todos os solventes, os sistemas com uma metaloporfirina apresentaram maiores conversões do que aqueles com MnCl_2 , torna-se um indicativo que o macrociclo influencia positivamente nas reações de oxidação do carvacrol. Nenhum dos sistemas que empregaram MnCl_2 como catalisador (reações 7, 14 e 21, Tabela 11) foi eficiente na produção de timoquinona. Os íons manganês(II) podem atuar como catalisadores em algumas transformações de substratos orgânicos, como a ativação C-H,¹³⁴ borilação de cloretos de alquila¹³⁵ e acoplamento cruzado de haletos de arila.¹³⁶ Assim, podemos sugerir que MnCl_2 poderia estar levando à formação de oligômeros indetectáveis pela análise de cromatografia a gás.⁸⁹ Essa observação poderia justificar o fato de que a presença do macrociclo da porfirina desempenha um papel fundamental na modulação da atividade do íon metálico para a produção de timoquinona, no caso dos estudos já publicados,^{97,99-101} e do polímero (nesse estudo e o de Semerci e colaboradores¹⁰³).

Na literatura, as reações de oxidação de compostos orgânicos catalisadas por metaloporfirinas na presença de doadores de oxigênio ocorrem pela geração de espécies ativas de alta valência, em que a principal espécie formada é um complexo oxomanganês(V), $[\text{Mn}^{\text{V}}(\text{O})\text{P}]$,^{104,137} ou a menos reativa $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\text{O})\text{P}]$.¹³⁸ Além disso, ainda podem ser formados dímeros em que há uma ponte oxo ($[\text{MnP-O-MnP}]$)¹³⁹ e adutos com os oxidantes ($[\text{Mn}^{\text{III}}\text{P-iodoareno}]$)¹⁴⁰, em que essas espécies podem atuar como espécies ativas no meio de reação. Neste trabalho não foram obtidas quantidades significativas de timoquinona (1% a 8%), como visto em alguns trabalhos de oxidação do carvacrol (10,5% a 32,3%), em que a presença de uma espécie ativa de alta valência foi associada à formação deste produto principal.^{45,103} Desta forma, o mecanismo das reações para a formação de polímero pode ocorrer de outro modo, podendo ou não envolver espécies ativas de $[\text{Mn}(\text{O})\text{P}]$ em alguma etapa da reação.

Assim, a partir dos resultados positivos e com altas conversões do carvacrol obtidos para o oxidante menos tóxico $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, foram estudadas as reações de oxidação deste mesmo substrato na presença de PhIO , um oxidante clássico empregado na transformação de alcanos e alcenos catalisadas por metaloporfirinas.¹¹⁶ O PhIO não é considerado um reagente ambientalmente verde, por sua baixa estabilidade e propriedades potencialmente explosivas sob aquecimento moderado e insolubilidade na

maioria dos solventes como resultado de sua estrutura polimérica.^{141,142} Apesar desses inconvenientes, o PhIO é um oxidante clássico utilizado em reações de oxidação catalisadas por metaloporfirinas^{112,113} e geralmente é utilizado como um padrão de comparação para a avaliação da eficiência catalítica destes compostos. No meio de reação, suas espécies ativas formadas são bem conhecidas ([Mn^V(O)P] ou ([Mn^{IV}(O)P])).^{4,128,138} Para o PhIO, foram realizadas reações nas mesmas condições utilizadas para o PhI(OAc)₂, e os resultados estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Reações de oxidação do carvacrol por PhIO catalisadas por **Cat1**, **Cat2** ou MnCl₂ em carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano.^a

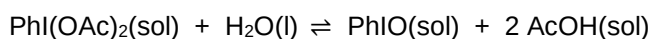
Reações	Sistema	Solvente	Conversão	Rendimentos (%) ^b		
			Carvacrol (%)	Timoquinona	Outros produtos ^c	Polímero
22 ^d	PhIO		89	0	100	-
23	Cat1 /PhIO	Carbonato de dimetila	99	0	100	-
24	Cat2 /PhIO		100	0	100	-
25	MnCl ₂ /PhIO		96	0	100	-
26 ^d	PhIO		72	0	100	-
27	Cat1 /PhIO	Acetato de	100	1	99	-
28	Cat2 /PhIO	Etila	93	0	100	-
29	MnCl ₂ /PhIO		97	0	100	-
30 ^d	PhIO		100	1	99	-
31	Cat1 /PhIO	Diclorometano	99	7	93	-
32	Cat2 /PhIO		97	3	97	-
33	MnCl ₂ /PhIO		98	2	98	-

^a Condições de reação: **Cat1** ou **Cat2** ou MnCl₂ = 2 × 10⁻⁶ mol, PhIO = Carvacrol = 2 × 10⁻⁵ mol; Volume total: 400 µL; 25°C; agitação magnética; 120 minutos, ^b Rendimentos baseados no substrato. ^c Outros produtos formados não foram identificados devido às áreas baixas na análise por cromatografia a gás ou por não aparecerem no cromatograma. ^d As reações foram realizadas na ausência do catalisador.

Analizando os resultados da Tabela 12, os sistemas combinando o oxidante PhIO e os catalisadores (reações 23, 24, 27, 28, 31 e 32) apresentaram valores de conversão de carvacrol semelhantes ou superiores quando comparado aos sistemas controle (reações 22, 26 e 30, Tabela 12). A timoquinona foi obtida com baixos rendimentos nos sistemas com acetato de etila (1%, reação 27, Tabela 12) e diclorometano (até 7%, reação 31, Tabela 12). Novamente, os maiores rendimentos para a timoquinona foram observados na presença de diclorometano, que possui maior constante dielétrica ($\epsilon = 8,93$), que de alguma forma, pode favorecer a formação desse produto. Na literatura, sistemas que utilizaram solventes com maior constante dielétrica como acetonitrila ($\epsilon = 38,8$), água ($\epsilon = 80,4$) e metanol ($\epsilon = 32,7$) favorecem a formação de timoquinona.^{97,99, 100, 104,107}

As reações de oxidação usando PhIO como oxidante (reações 23, 24, 27, 28, 31 e 32, Tabela 12) levaram a valores semelhantes ou maiores de conversão do carvacrol quando comparados aos sistemas que utilizaram PhI(OAc)₂ (reações 5, 6, 12, 13, 19 e 20, Tabela 11). Essa diferença pode estar relacionada à ausência de água nos sistemas contendo PhI(OAc)₂. Na literatura,^{116,127,128} alguns

trabalhos destacam que a adição de água na oxidação de hidrocarbonetos, como o ciclo-hexano, por $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ aumentou o rendimento total para os produtos oxigenados. In e colaboradores¹²⁸ demonstraram em seus estudos que na presença de água, a oxidação de ciclo-hexeno por $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, catalisada por uma porfirina de ferro, $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{TPFPP})]$, leva à formação mais rápida dos produtos oxigenados e com rendimentos semelhantes ao sistema no qual se utiliza o oxidante PhIO . Quando a epoxidação por $[\text{Fe}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{TPFPP})]$ e $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ foi realizada na ausência de água, a reação prosseguiu lentamente, com menor valor de conversão. Eles indicam que a água pode estar envolvida no processo de hidrólise do $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, de maneira que o PhIO é gerado *in situ* durante a reação, como representado na Equação 4.¹²⁸ Com isso, pode-se supor que os menores valores de conversão para o $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ ao comparar com o oxidante clássico PhIO neste trabalho, pode ser devido à ausência desse aditivo. Estes resultados demonstram que $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ pode substituir PhIO polimérico em reações de oxigenação mediadas por complexos metálicos.¹²⁸



Equação 4

Buscou-se analisar a formação do produto polimérico nas reações com PhIO catalisadas por metaloporfirinas, para ver a semelhança com os sistemas com $\text{PhI}(\text{OAc})_2$. Verificou-se a ausência de sólido após a adição de metanol aos frascos de reação. Para todos os sistemas com PhIO , realizados no presente estudo, a formação de oligômeros pode ser a principal via de oxidação do carvacrol, uma vez que a timoquinona foi o produto minoritário em três sistemas (reações 27, 31 e 32, Tabela 12) e o polímero não foi identificado, após o processo de precipitação, para qualquer um dos sistemas avaliados.

Analisando os sistemas com os dois oxidantes, tanto as conversões, quanto a presença de timoquinona foram semelhantes podendo sugerir a presença da mesma espécie ativa nessas reações. Porém, o que nos indica que os mecanismos ou as espécies ativas formadas nos sistemas de cada oxidante sejam diferentes foi a obtenção do produto polimérico apenas nos sistemas com $\text{PhI}(\text{OAc})_2$. Para analisar se durante as reações formavam-se espécies ativas de alta valência no meio reacional, acompanhou-se a reação com **Cat2**/ PhIO /carvacrol (Figura 35) em diclorometano por meio da análise de UV-VIS. As condições de reação foram iguais as descritas para a reação 23 (Tabela 12). Durante os 120 minutos de reação não ocorreram mudanças espectrais e a coloração da solução ficou inalterada, sugerindo a ausência de espécies ativas de alta valência nessas condições.

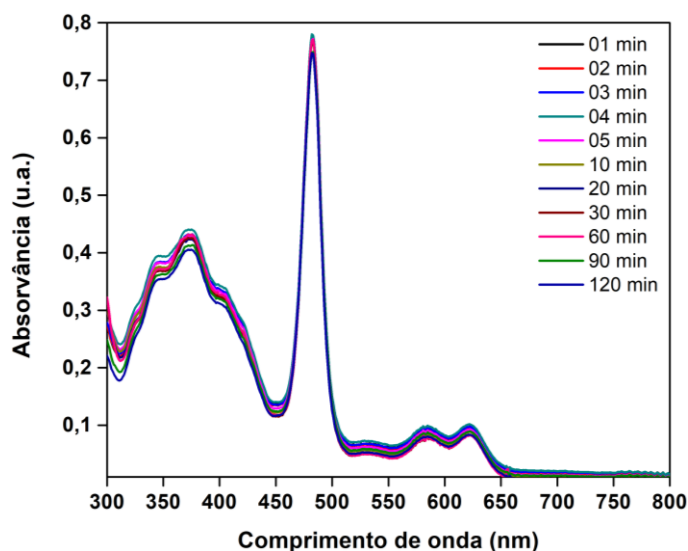


Figura 35 – Espectro de absorção UV-VIS durante a reação de oxidação do carvacrol catalisada por **Cat2** na presença de PhIO e diclorometano.

Nos estudos apresentados por Guimarães e colaboradores⁴¹ foi relatada a presença de uma espécie ativa na oxidação do ciclo-hexano por **Cat2**/PhIO e **Cat2**/PhI(OAc)₂, devido à presença de uma banda em ~400 nm, atribuída a espécie [Mn(O)P], associada à diminuição da banda Soret em 480 nm. Porém, a diferença na reatividade dos substratos pode influenciar no consumo das espécies ativas. O ciclo-hexano é um substrato padrão para as reações de hidroxilação, e é considerado um substrato inerte, pois as ligações C-H possuem elevada energia de ligação (412 kJ mol⁻¹)¹⁴³. Isso faz com que a velocidade da reação entre o ciclo-hexano e a espécie ativa seja menor e, conseqüentemente, o tempo de vida da espécie ativa no meio reacional será maior, permitindo sua detecção nos espectros UV-VIS. Entretanto, o carvacrol é um monoterpene fenólico e, possivelmente, mais reativo que o ciclo-hexano, fazendo com que o tempo em que a espécie ativa [Mn(O)P] permaneça no meio reacional torne-se menor, por ser consumida rapidamente durante a oxidação do carvacrol, dificultando seu monitoramento pelos espectros UV-VIS na escala de tempo de análise. Desta forma, nos estudos destas reações não pode ser excluída a presença de espécies ativas de alta valência, mas pode-se sugerir que outro tipo de mecanismo esteja envolvido na polimerização do carvacrol.

Como alternativa à formação de espécies ativas de alta valência na oxidação do carvacrol, a presença de metaloporfirinas de Mn(III) e PhI(OAc)₂ poderia deslocar o mecanismo para uma via radicalar. Os mecanismos radicalares já foram descritos em estudos envolvendo iodoarenos na presença de O₂ atmosférico.^{116,129} Nascimento e colaboradores¹²⁹ nos estudos de oxidação do ciclo-hexeno, relataram que os altos rendimentos para os produtos alílicos foram atribuídos à capacidade do PhIO atuar como iniciador de cadeia radicalar na presença de O₂, mediado ou não pelo catalisador porfirínico. Na ausência de PhIO, todas as metaloporfirinas de Mn(III) testadas foram incapazes de catalisar a oxidação do ciclo-hexeno na presença de O₂. Entretanto, na presença de PhIO, o sistema foi extremamente ativo para oxidação alílica na presença de O₂, independentemente de um catalisador estar presente ou não.¹²⁹

Além do PhIO, os iodoarenos são usados como iniciadores de polimerização desde os anos de 1949.¹⁴⁴ No trabalho de Georgiev e colaboradores¹⁴⁵, eles demonstraram por estudos cinéticos de

polimerização, que o $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ atua como um iniciador radicalar para a polimerização do metacrilato de metila em solventes como diclorometano, acetonitrila e tolueno. Georgiev e colaboradores¹⁴⁵, em estudos anteriores, observaram que ocorre a inicialização devido à termodegradação desses compostos de iodo hipervalente, levando à formação de radicais e cátions. Com isso, estudar as reações adicionando captadores de radicais, pode ser uma alternativa para conhecer um pouco melhor o mecanismo da oxidação do carvacrol nos sistemas apresentados até o momento.

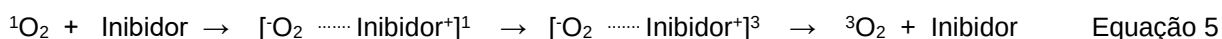
A fim de verificar a hipótese de que a via radicalar é predominante para a polimerização do carvacrol, foram realizadas reações a temperatura ambiente (25 °C) na presença de **Cat1** ou **Cat2** no solvente diclorometano com os captadores de radicais manitol, azida de sódio (NaN_3) e 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol (BHT), testados individualmente.^{116,146,147} As reações foram realizadas apenas em diclorometano uma vez que estes sistemas apresentaram os maiores rendimentos para timoquinona (Reações 19 e 20 na Tabela 11; Reações 31 e 32 na Tabela 12) além de apresentar a formação de polímero (Reações 19 e 20 na Tabela 11). Os experimentos foram realizados em uma razão em quantidade de substância catalisador:oxidante:carvacrol:radical de 1:10:10:10. Para os sistemas na presença de azida de sódio ou manitol, a conversão de carvacrol manteve-se perto de 100% (Tabela 13).

Tabela 13 – Reações de oxidação do carvacrol por $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ e PhIO catalisada por **Cat1**, **Cat2** e MnCl_2 na presença de manitol ou NaN_3 como captadores de radicais, em diclorometano.^a

Reações	Sistema	Conversão carvacrol (%) ^b	Reações	Sistema	Conversão carvacrol (%) ^b
1	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{Manitol}^c$	98	9	$\text{PhIO}/\text{Manitol}^c$	100
2	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{Cat1}/\text{Manitol}$	100	10	$\text{PhIO}/\text{Cat1}/\text{Manitol}$	100
3	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{Cat2}/\text{Manitol}$	99	11	$\text{PhIO}/\text{Cat2}/\text{Manitol}$	100
4	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{MnCl}_2/\text{Manitol}$	99	12	$\text{PhIO}/\text{MnCl}_2/\text{Manitol}$	100
5	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{NaN}_3^c$	100	13	$\text{PhIO}/\text{NaN}_3^c$	99
6	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{Cat1}/\text{NaN}_3$	100	14	$\text{PhIO}/\text{Cat1}/\text{NaN}_3$	100
7	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{Cat2}/\text{NaN}_3$	99	15	$\text{PhIO}/\text{Cat2}/\text{NaN}_3$	100
8	$\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{MnCl}_2/\text{NaN}_3$	98	16	$\text{PhIO}/\text{MnCl}_2/\text{NaN}_3$	98

^a Condições: **Cat1** ou **Cat2** ou $\text{MnCl}_2 = 2 \times 10^{-6}$ mol, PhIO ou $\text{PhI}(\text{OAc})_2 = \text{Carvacrol} = \text{captador de radicais} = 2 \times 10^{-5}$ mol; Volume total = 400 μL , 25 °C; agitação magnética; 120 min. ^b Valores baseados no substrato. ^c As reações foram realizadas na ausência do catalisador.

Para as reações na presença de manitol e NaN_3 (Tabela 13), os valores de conversão para todas as reações foram acima de 98%. A NaN_3 atua transferindo elétrons para o $^1\text{O}_2$, regenerando o oxigênio para o estado fundamental¹⁴⁶ (Equação 5), diminuindo a quantidade de $^1\text{O}_2$ no meio de reação¹⁴⁷. Na presença desse inibidor, não ocorreu diminuição das conversões do carvacrol, e a presença de $^1\text{O}_2$ foi excluída.



O manitol é um captador de radicais seletivo para a presença do radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$),¹⁴⁸ e devido às altas conversões do carvacrol na sua presença (Tabela 13), há um indicativo que esses radicais não são formados no meio de reação. Adicionando-se metanol nas reações contendo o oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, na presença de manitol ou NaN_3 foi observada formação do polímero, para os sistemas utilizando $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ como oxidante.

Ao ser utilizado o BHT (Figura 36), a conversão do carvacrol foi menor quando comparada aos sistemas sem a adição desse captador de radicais. Para os sistemas com o BHT que apresentaram diminuição significativa na conversão do carvacrol, sugere-se que a presença de radical orgânico pode ser responsável por iniciar a reação de polimerização e, na presença desse aditivo, a cadeia radicalar é inibida. Resultados semelhantes foram obtidos por Melo e colaboradores¹¹⁶, nos estudos das reações de oxidação do valenceno catalisados por metaloporfirinas de $\text{Mn}(\text{III})$. Na presença do aditivo BHT, ocorreu a interrupção da via radicalar nas reações e o mecanismo foi deslocado para a formação de espécies ativas de alta valência, devido à presença do epóxido de valenceno como produto majoritário (obtido por meio deste tipo de mecanismo), indicando que este produto pode ser gerado, preferencialmente, por uma rota que envolva espécies metal-oxo.¹¹⁶

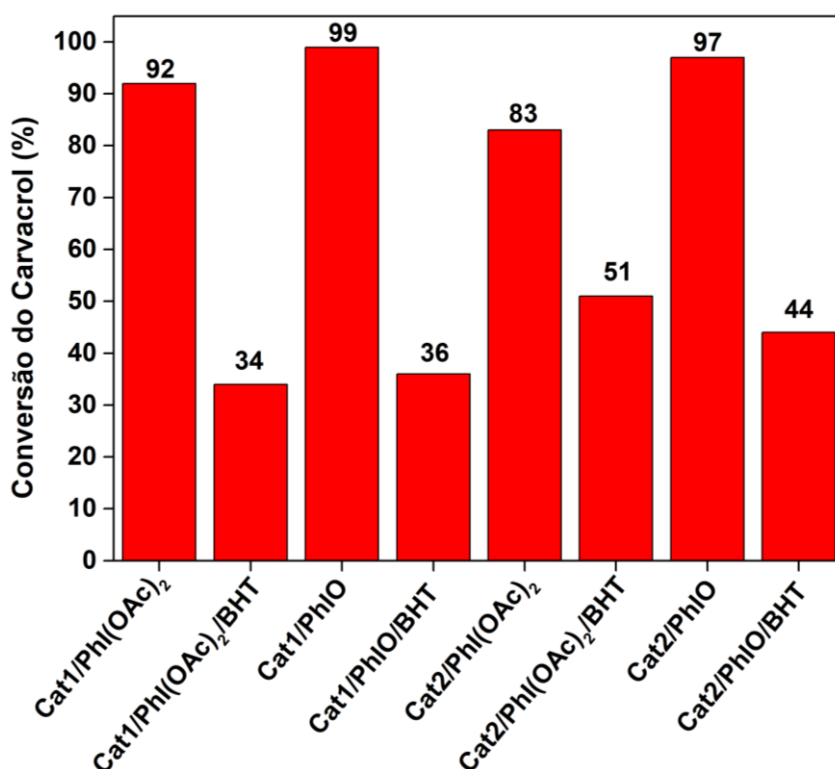


Figura 36 – Oxidação do carvacrol por $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ ou PhIO catalisada por **Cat1** ou **Cat2**, na presença de BHT, em diclorometano. Condições: **Cat1** ou **Cat2** = 2×10^{-6} mol, PhIO ou $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = BHT = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min.

No entanto, nos estudos de oxidação do carvacrol apresentados neste trabalho, a presença dessas espécies de alta valência permanecem incertas, uma vez que a timoquinona também não foi detectada nas reações na presença de BHT. Visto os resultados, pode-se sugerir que a reação de polimerização do carvacrol é dependente do catalisador metaloporfirínico e do oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, uma

vez que as reações com este oxidante na presença de BHT exibiram uma diminuição nos valores de conversão associados à ausência de polímero ou timoquinona como já foi dito. Com isso, uma proposta de mecanismo pôde ser sugerida (Figura 37).

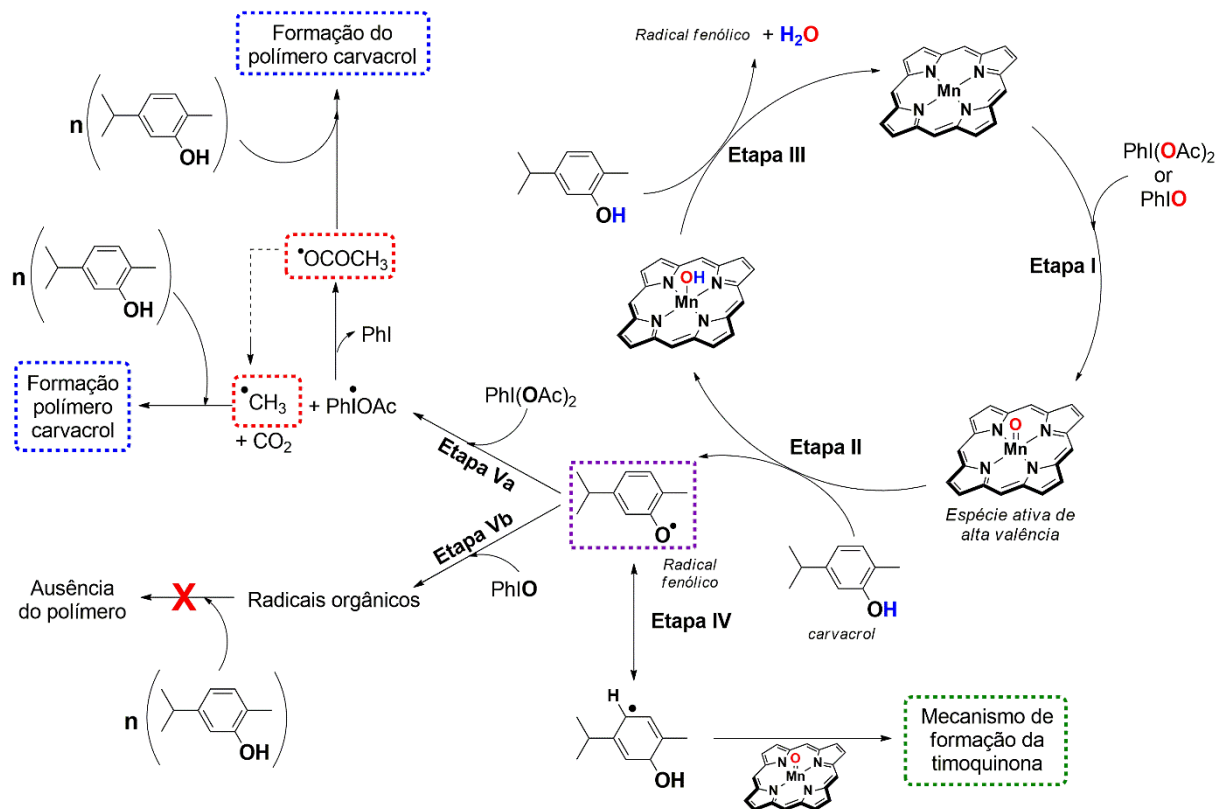


Figura 37 – Rota mecanística proposta para polimerização de carvacrol na presença de PhI(OAc)₂ e Cat1 ou Cat2.

Na **Etapa I**, a interação da metaloporfirina de Mn(III) e o oxidante, PhIO ou PhI(OAc)₂, é responsável pela formação de espécies ativas de alta valência.^{4,128,138} Na literatura, essas espécies são conhecidas por abstrair um átomo de hidrogênio de substratos orgânicos (**Etapa II**), semelhante ao mecanismo de “oxygen rebound” para as enzimas do CP450,^{102,111} levando à formação de radicais orgânicos a partir do carvacrol. Esta pode ser considerada uma reação rápida, visto que nenhuma mudança espectral nos espectros UV-VIS foi observada nos testes de formação de espécies ativas de alta valência (Figura 35). Para explorar outras análises em busca de detectar a presença de espécies ativas, foi realizada uma reação com razão em quantidade de substância de 1:10:10:10 de **Cat1**/PhI(OAc)₂/BHT/carvacrol e medido seu espectro de massas (ESI-MS). No espectro (Figura 38), podemos verificar a presença de um pico em $m/z = 683,89$, sugerindo a presença da espécie $[Mn(O)P]^+$ (derivada de **Cat1**), no meio de reação.

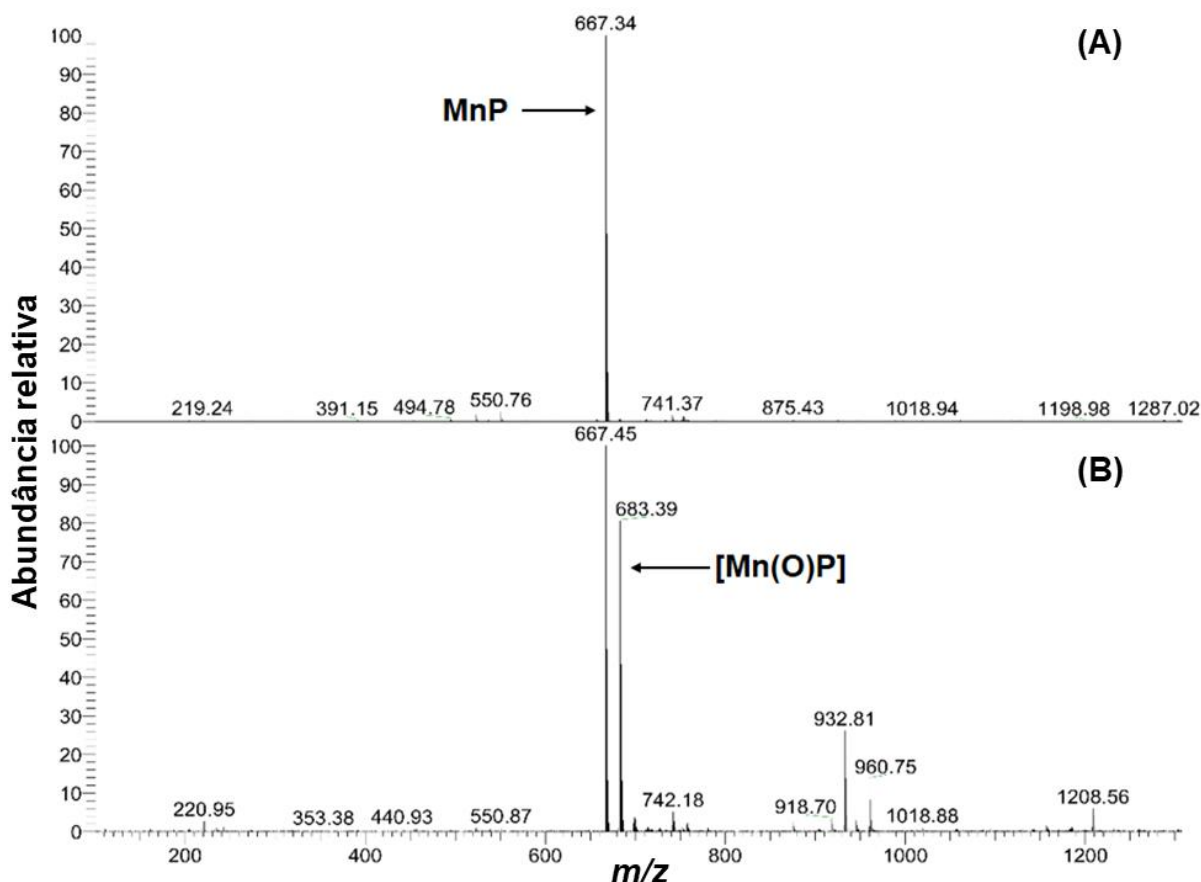


Figura 38 – Espectro de massas (ESI-MS) do (A) **Cat1** ($m/z = 667,34$; $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TPP})]^+$) e (B) sistema **Cat1**/PhI(OAc)₂/BHT/Carvacrol ($m/z = 667,45$ $[\text{Mn}^{\text{III}}(\text{TPP})]^+$; e $m/z = 683,39$ $[\text{Mn}^{\text{V}}(\text{O})\text{P}]^+$), no modo positivo.

Na **Etapa III**, as espécies hidroxila podem abstrair outro átomo de hidrogênio do carvacrol, levando à formação de outro radical fenólico e à regeneração do catalisador com a liberação de uma molécula de água. O radical fenólico do carvacrol deve apresentar certa estabilidade¹⁴⁹ devido à possibilidade de deslocalização do radical por ressonância em sua estrutura. Gunay e colaboradores⁴⁵ e Semerci e colaboradores¹⁰³ propuseram que a deslocalização do radical é necessária para a formação da timoquinona (**Etapa IV**) na presença de espécies ativas de alta valência. No entanto, o radical fenólico pode interagir com os oxidantes, deslocando a reação para um mecanismo radicalar complexo, comum para as espécies de iodo(III).^{144,145,150} Na **Etapa Va**, os radicais fenólicos podem interagir com o PhI(OAc)₂, em uma única reação de transferência de elétrons,¹⁵⁰ levando à formação do radical iodanila (Ph•IOAc) e acila (•OCOCH₃).^{144,145} O radical •OCOCH₃ pode se decompor em radical metila (•CH₃) e CO₂, sendo o radical •CH₃ conhecido por iniciar reações de polimerização.^{144,145} Radicais Ph•IOAc são estáveis e menos eficazes para iniciar o crescimento do polímero, atuando como um finalizador da propagação.^{144,145} Desta forma, sugere-se que os radicais •CH₃ ou •OCOCH₃ são os responsáveis por iniciar a polimerização do carvacrol nos sistemas deste trabalho. Nas reações com BHT, esses radicais (fenólicos, •CH₃ e/ou •OCOCH₃) devem ser inibidos em alguma extensão, evitando o crescimento do polímero e diminuição dos valores de conversão. No entanto, a formação de outros

produtos não detectáveis pode justificar os valores de conversão obtidos mesmo na presença do BHT como sequestrador de radicais.

Na **Etapa Vb**, sugere-se que a interação do radical fenólico e PhIO pode gerar outras espécies de radicais, diferentes daqueles gerados na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, pois nas reações com BHT foi observada diminuição na conversão do carvacrol. Porém, podem ser radicais diferentes dos $\bullet\text{CH}_3$ e/ou $\bullet\text{OCOCH}_3$, o que justificaria a ausência do polímero nos sistemas que empregaram PhIO como oxidante.

4.2.1 Reações de reúso dos catalisadores Cat1 e Cat2

Para avaliar a eficiência de reúso de catalisadores porfirínicos em uma sequência de quatro ciclos (Figura 39 a Figura 41) as reações de sistemas contendo carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano como solvente foram analisadas na presença do oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ e dos catalisadores **Cat1** e **Cat2**. No primeiro ciclo, foram adicionados catalisador:oxidante:carvacrol na relação em quantidade de substância de 1:10:10. A cada novo ciclo substrato e oxidante foram adicionados na quantidade de 2×10^{-5} mol. De modo geral, a destruição dos catalisadores aumentou a cada novo ciclo de reúso, para todos os solventes. A destruição do catalisador foi quantificado ao final de cada corrida, por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS.

Nos sistemas com acetato de etila (Figura 39), o reúso do catalisador foi promissor, tanto para o **Cat1** ou **Cat2**, pois nos dois primeiros ciclos houve 100% de conversão, com diminuição a partir do terceiro ciclo de uso. O **Cat2** (Figura 39b) mostrou-se mais eficiente até o terceiro ciclo, com uma conversão de 65% e uma destruição de 49% do catalisador.

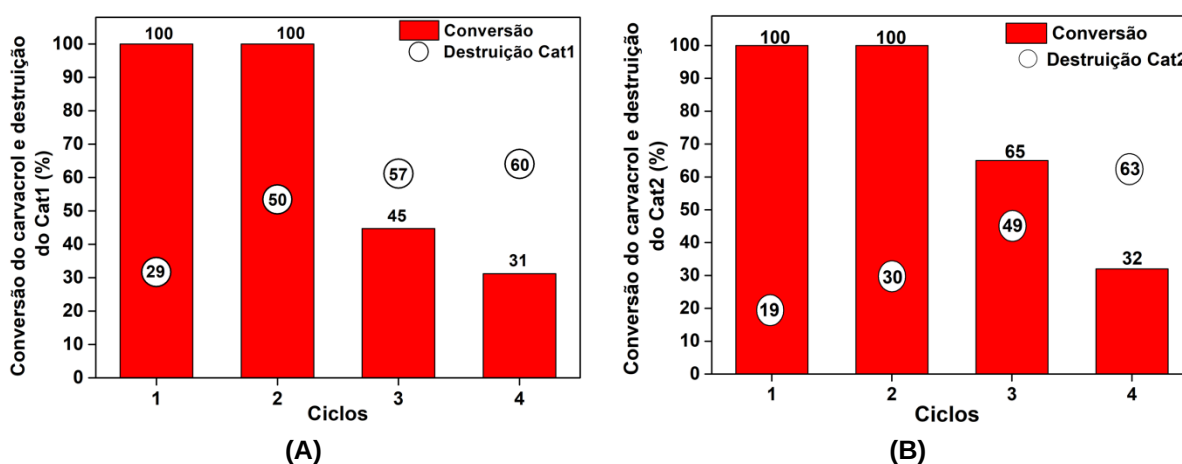


Figura 39 – Reutilização do catalisador nas reações de oxidação de carvacrol nos sistemas: A) **Cat1** e B) **Cat2** na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em acetato de etila. Condições: **Cat1** ou **Cat2** = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min.

Nos sistemas com carbonato de dimetila pode-se observar que tanto para **Cat1** (Figura 40a) ou **Cat2** (Figura 40b), o grau de destruição dos catalisadores em cada novo ciclo foi semelhante, restando ao final 44 e 41% de catalisador, respectivamente. Nos dois primeiros ciclos a conversão do carvacrol na presença de **Cat1** foi 100% e para o **Cat2** foi de 100 e 89%, sendo resultados semelhantes

na Tabela 11 para apenas um ciclo. Pelos resultados se torna viável a utilização de três ciclos consecutivos em carbonato de dimetila, pois a partir disto, as conversões do carvacrol são muito baixas.

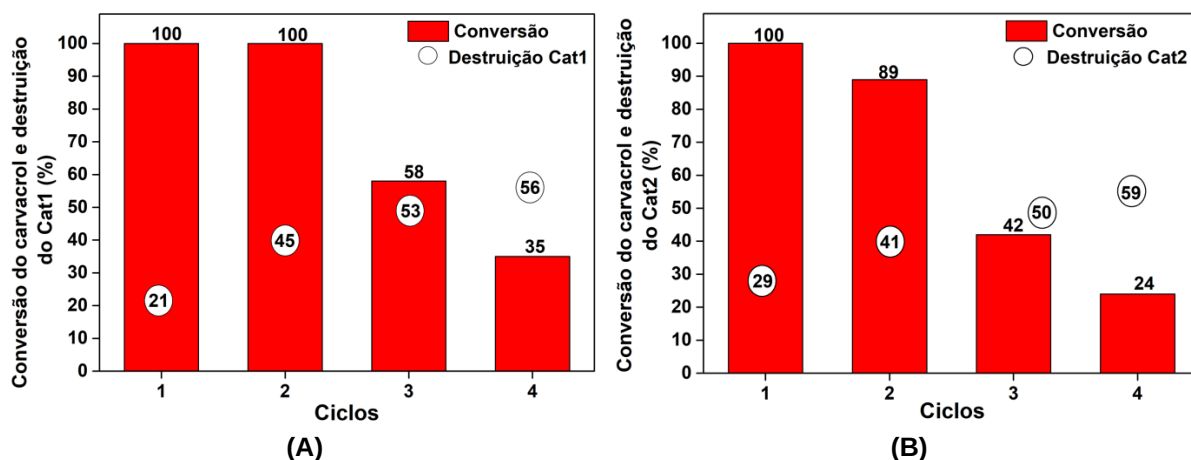


Figura 40 – Reutilização do catalisador nas reações de oxidação de carvacrol nos sistemas: a) **Cat1** e b) **Cat2** na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em carbonato de dimetila. Condições: **Cat1** ou **Cat2** = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min.

Na presença do solvente diclorometano (Figura 41), a conversão do carvacrol em **Cat1** e **Cat2** para o primeiro ciclo foi de 100 e 98%, respectivamente. Entretanto, após o primeiro ciclo, a conversão foi diminuindo em uma proporção muito maior do que nos outros solventes, acetato de etila e carbonato de dimetila. Sugere-se que isso ocorre devido a maior destruição do catalisador. Quando comparado os sistemas em diclorometano (Figura 41a e Figura 41b) com os solventes acetato de etila (Figura 39) e carbonato de dimetila (Figura 40), a destruição do catalisador foi muito maior desde o primeiro ciclo. Sugere-se que o valor da constante dielétrica de cada solvente possa influenciar na estabilização das espécies ativas formadas no meio, propiciando a reação entre essas espécies e, conseqüentemente, aumentando o grau de destruição do catalisador. Como o diclorometano possui maior constante do que os demais solventes, isso pode gerar uma destruição do catalisador maior.

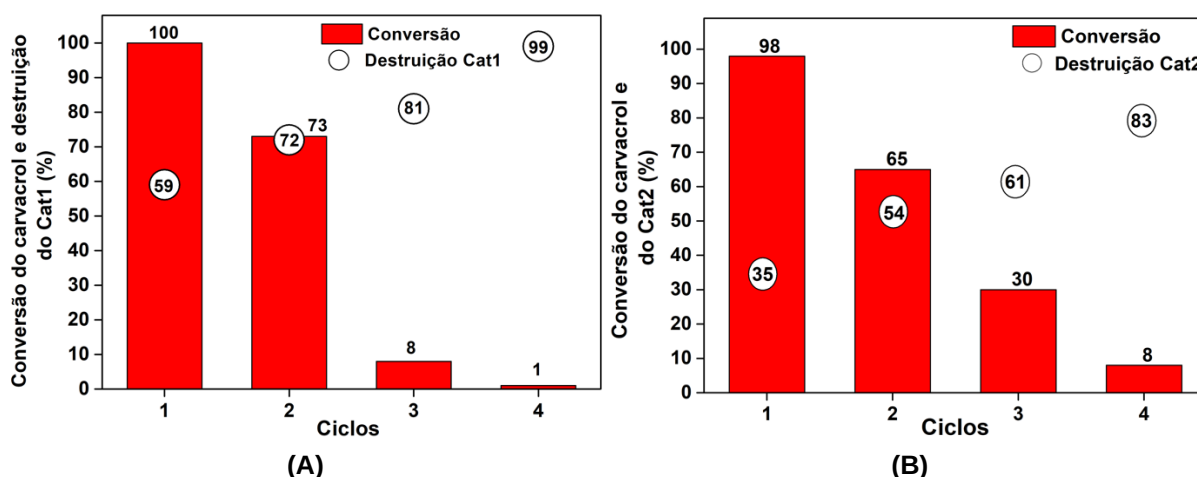


Figura 41 – Reutilização do catalisador nas reações de oxidação de carvacrol nos sistemas: A) **Cat1** e B) **Cat2** na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em diclorometano. Condições: **Cat1** ou **Cat2** = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; Volume total = 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 min.

Dentre todos os sistemas, em carbonato de dimetila a destruição do catalisador foi menor do que em diclorometano e acetato de etila. Essa observação pode ser justificada pela menor solubilidade do $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ nesse solvente, diminuindo a velocidade de formação das espécies ativas. Isso também foi relatado pelos estudos de Guimarães⁴¹ para a oxidação do ciclo-hexano, em carbonato de dimetila, em que sugere que metaloporfirina em carbonato de dimetila não foi totalmente convertida para a espécie ativa, mantendo uma parte na forma de $\text{Mn}^{\text{III}}\text{P}$, para ambos os oxidantes testados, PhIO e $\text{PhI}(\text{OAc})_2$.

A diminuição da conversão a cada novo ciclo, pode ser devido ao aumento da quantidade de substrato e oxidante a cada novo ciclo. Guimarães⁴¹ estudou as condições ideais para a conversão do carvacrol variando as proporções em quantidade de substância de substrato e oxidante no meio de reação, mantendo a quantidade de catalisador constante (2×10^{-6} mol). Ele observou que na proporção 1:10:200 (catalisador:oxidante:substrato), não ocorreu conversão do carvacrol pelo excesso de substrato no meio. Diminuindo a quantidade de substrato (1:10:100), a conversão do carvacrol aumentou de 0 para 22%. Quando ele fez o teste com as proporções 1:10:10, 1:100:10 e 1:100:100, as conversões foram de 99, 100 e 67%. O autor constatou que o excesso de substrato no meio possivelmente inibe o catalisador, impedindo-o de exercer sua atividade. Isso explicaria o motivo da baixa conversão, principalmente após o segundo ciclo.

Este estudo mostrou a importância de avaliar sistemas utilizando solventes considerados “verdes” ou com menores valores de constante dielétrica em reações de oxidação de substratos orgânicos, pois no presente trabalho, o acetato de etila e o carbonato de dimetila propiciaram a obtenção de sistemas catalíticos que apresentaram melhor conversão do carvacrol do que o solvente clorado.

4.2.2 Caracterização do polímero

Nos sistemas de oxidação do carvacrol contendo o oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ e os catalisadores metaloporfirínicos **Cat1** e **Cat2**, o produto majoritário obtido e isolado foi o polímero. Com o objetivo de conhecer um pouco mais sobre a sua estrutura, foram realizadas as análises por cromatografia de permeação em gel (GPC), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com reflexão total atenuada (FTIR-ATR), termogravimetria (TGA), calorimetria de varredura diferencial (DSC) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135).

Segundo Nogueira e colaboradores,¹⁵¹ a principal propriedade de um polímero é determinada pela sua massa molar, que dependendo o valor, resultará em diferentes propriedades mecânicas que podem ser úteis para uma determinada aplicação. Foram realizadas curvas de GPC para os polímeros obtidos nos solventes carbonato de dimetila, acetato de etila e diclorometano. Os dados de massa molar e índice de polidispersividade (PDI) estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 – Dados obtidos das curvas cromatográficas por GPC dos polímeros sintetizados a partir das reações de oxidação do carvacrol catalisado **Cat1** e **Cat2** em $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, nos solventes diclorometano, carbonato de dimetila e acetato de etila.^a

Sistema ^b	M_{W1} (g mol ⁻¹)	M_{n1} (g mol ⁻¹)	M_{W2} (g mol ⁻¹)	M_{n2} (g mol ⁻¹)	PDI
Cat1 /Diclorometano	-	-	11200	3300	3,39
Cat2 /Diclorometano	-	-	11500	3400	3,38
Cat1 /Acetato de etila	33500	28800	12300	10500	3,19
Cat2 /Acetato de etila	36300	29800	12900	10700	3,39
Cat1 /Carbonato de dimetila	38,400	32,600	13600	17100	2,24
Cat2 /Carbonato de dimetila	39,800	31,900	13800	17300	2,29

^a Condições de reação: **Cat1** ou **Cat2** = 2×10^{-6} mol, $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ = Carvacrol = 2×10^{-5} mol; volume total de 400 μL ; 25 °C; agitação magnética; 120 minutos. ^b Para cada sistema, foram realizadas cinco reações, obtendo uma massa média de ~ 4,5 mg ao total para fazer a análise.

A curva GPC do polímero (Figura 42a), utilizando diclorometano como solvente, mostrou uma distribuição de massa molar multimodal com polidispersividade relativamente alta, indicando que polímeros com diferentes massas molares estão presentes na amostra. No entanto, a massa molar média (M_w) do polímero, associada ao pico principal, foi de 11.200 g mol⁻¹. Observou-se um alto valor de índice de polidispersividade (PDI = 3,39, Figura 42a), que pode estar associado a um mecanismo de polimerização de crescimento em cadeia, conforme sugerido pela rota proposta para a formação do polímero carvacrol (Figura 37).¹⁵²

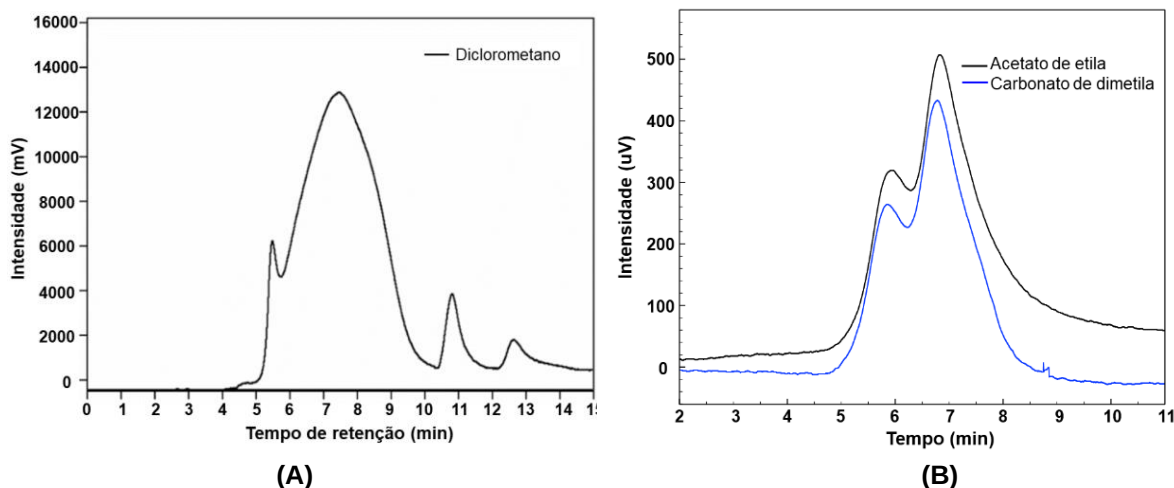


Figura 42 – Curvas cromatográficas obtidas por cromatografia de permeação em gel do polímero sintetizado nas reações de oxidação do carvacrol: A) diclorometano na esquerda e B) acetato de etila e carbonato de dimetila na direita.

No trabalho de Günay e colaboradores⁴⁵, em reações de oxidação do carvacrol em condições diferentes das apresentadas neste trabalho, foi obtido como produto secundário um polímero da família dos poli(óxidos de fenileno) (PPO), o poli(óxido de 5-isopropil-2-metil-1,3-fenileno). Os resultados do GPC indicam que o principal material formado pode ser classificado como um polímero de baixa massa molar e o polímero obtido apresenta uma massa molar superior à obtida por Günay e colaboradores (2.763 g mol⁻¹). O interesse em derivados de PPO de baixa massa molar vem crescendo devido a sua

aplicabilidade na síntese de resinas epóxi.^{153,154} Além disso, muitos derivados de PPO possuem baixo custo comercial e são candidatos promissores para uso em processos de separação baseados em membrana, bem como na remoção de poluentes de fluxos de processo.

As curvas GPC e os dados dos polímeros obtidos na presença de carbonato de dimetila e acetato de etila (Figura 42b, Tabela 14) exibiram uma distribuição GPC bimodal. Duas grandes populações de cadeias foram formadas, uma de baixa massa molar com M_w variando de 12.300 a 13.800 g mol⁻¹ e outra de alta massa molar variando na faixa de 33.500 a 39.800 g mol⁻¹ (Tabela 14). A massa molar dos polímeros obtidos aumentou com a diminuição da constante dielétrica dos solventes utilizados nas sínteses. O baixo valor de PDI foi obtido para sistemas com carbonato de dimetila (Tabela 14) devido à maior homogeneidade do polímero. Os resultados indicam que a reação de polimerização do carvacrol, nestas condições, é influenciada pelo solvente e o mecanismo de polimerização foi favorecido na presença de carbonato de dimetila.

O espectro de FTIR-ATR (Figura 43) foi importante para se verificar as funções orgânicas do polímero e comparar com as principais bandas que foram herdadas do carvacrol (Tabela 15). A banda em 1389 cm⁻¹ está associada à deformação angular do grupo isopropil e as bandas em 1173 cm⁻¹, 998 cm⁻¹ e 896 cm⁻¹ são relativas às vibrações do anel aromático 1:2:5-substituído.¹⁵⁵ A banda relacionada à ligação C-O-C foi observada em aproximadamente 1270 cm⁻¹ e 1030 cm⁻¹, referente ao estiramento de C-O, indicando que há um grupo funcional éter.¹⁵⁶ Isso confirma o desaparecimento das bandas associadas às vibrações do grupo fenólico O-H, aproximadamente em 3380-3300 cm⁻¹ e deformação angular em 1640 cm⁻¹, que são verificadas para o espectro de FTIR do carvacrol.⁷³ Assim, verifica-se que após a reação de oxidação do carvacrol, o grupo fenol foi transformado em éter. As bandas em 1602 cm⁻¹ e 1573 cm⁻¹ tiveram sua intensidade relativa reduzida quando comparadas com o espectro do carvacrol, sendo estas relacionadas aos estiramentos do anel aromático C=C e podem sofrer modificações dependendo dos substituintes do anel. Quando grupos com pares de elétrons livres estão ligados ao anel aromático, as bandas de FTIR associadas a eles tendem a ser mais intensas, o oposto ocorre para ligações com grupos alquila, como pode ser exemplificado nos espectros de FTIR de carvacrol e cimeno.^{155,157} Então, as análises de FTIR sugerem que a reação de polimerização por oxidação do carvacrol permitiu a síntese controlada que deu como produto principal o poli(óxido de 2,5-dialquil-1,3-fenileno), como visto no trabalho de Günay e colaboradores⁴⁵.

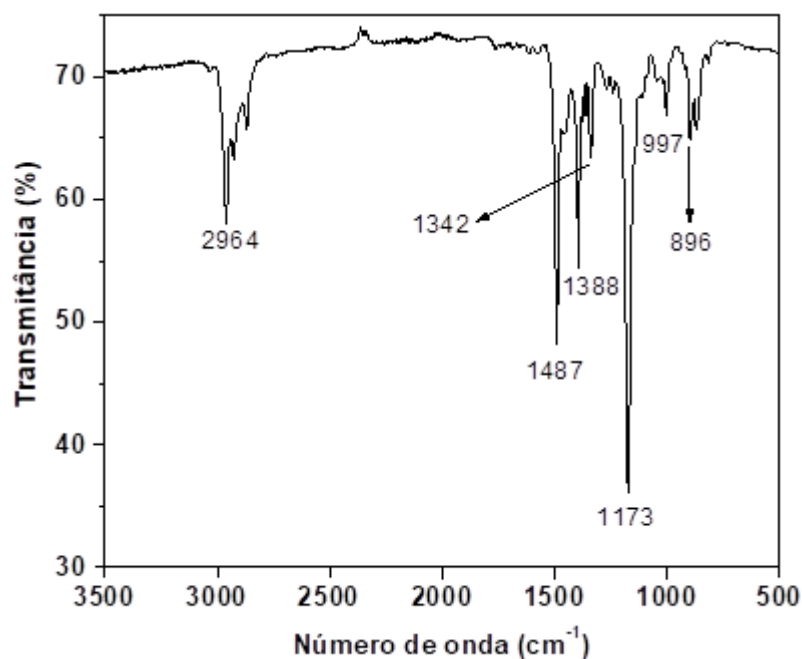


Figura 43 – Espectro de FTIR-ATR do polímero obtido nas reações de oxidação do carvacrol na presença de metaloporfirinas e $\text{PhI}(\text{OAc})_2$.

Tabela 15 – Dados referentes aos grupos funcionais e modo de vibração do polímero sintetizado associados as bandas observadas no espectro de FTIR-ATR.^{73,155,157}

Número de onda (cm^{-1})	Modos vibracionais	Intensidade
2964	ν C-H simétrico e assimétrico	Médio
2924		
2871		
1602	ν C=C (Anel aromático)	Fraco
1573		Fraco
1487		Forte
1388	δ C-H (Grupo isopropilmetil)	Forte
1360		Médio
1173	δ $\text{R}_2\text{C}=\text{CH}_2$ (Substituição 1:2:5)	Forte
996		Médio
896		Forte
863	Dobramento δ C-H	Forte
810	δ C-H fora do plano (Anel aromático)	Fraco

Na Figura 44 estão apresentados os resultados da curva termogravimétrica (Figura 44a) e da análise de DSC (Figura 44b) para o polímero. O perfil de degradação térmica do polímero (Figura 44a), está em boa concordância com aqueles previamente relatados na literatura¹⁵⁸ sobre poli(óxido de fenileno), que são polímeros com alta estabilidade térmica.¹⁵⁴ A perda de massa observada na Figura 44a, com valores baixos de temperatura ocorreu provavelmente pela eliminação de solventes residuais.

A decomposição do polímero ocorreu em etapas acopladas a partir de temperatura de aproximadamente 400 °C (T_{onset}) e com teor de resíduos de 18% a 800 °C.

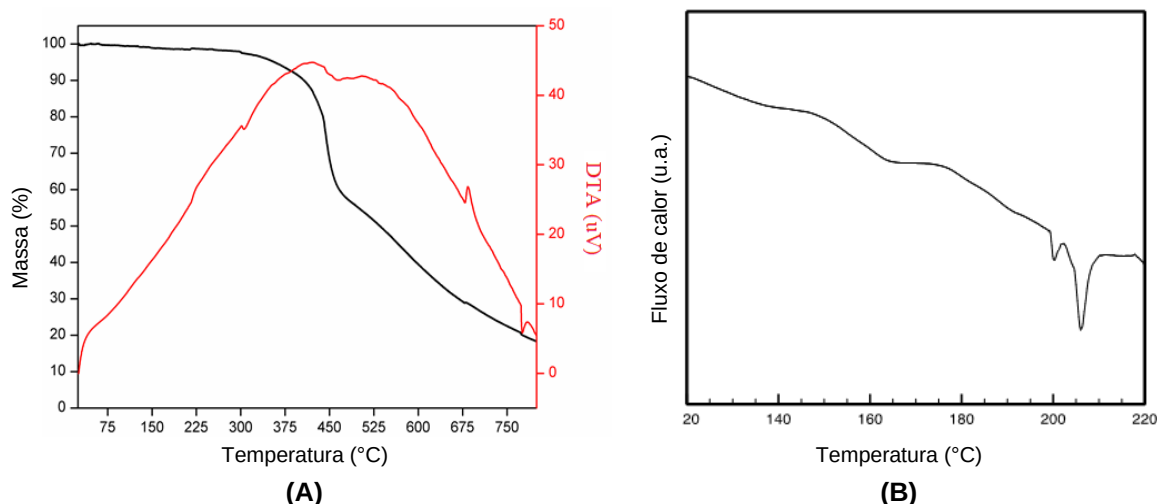


Figura 44 – Curvas de termogravimetria (A) em atmosfera de N_2 e DSC (B) do polímero obtido nas reações de oxidação do carvacrol.

Para a análise de DSC (Figura 44b), a presença de um pico de fusão, à temperatura de 206 °C indica que o polímero é semicristalino. Embora o PPO seja um polímero amorfo, alguns autores já identificaram fase cristalina na estrutura do PPO, como o óxido poli-(2,6-dimetil-1,4-fenileno) de baixa massa molar ($T_m = 239,6$ °C).¹⁵³ Porém, esses autores descrevem o tratamento dos filmes amorfos com vapores de benzeno seguido de sua remoção por um extrator de dióxido de carbono supercrítico.¹⁵³ Neste trabalho, a fase semicristalina pode ter sido obtida devido à metodologia DSC aplicada, um aquecimento até 150 °C, levando à vaporização do solvente e de reagentes residuais, pelo resfriamento adicional na presença do gás de arraste antes da segunda corrida, e as cadeias poliméricas puderam ser capazes de se organizar, possibilitando a formação de uma fase cristalina.

Para finalizar as caracterizações do polímero, foram realizadas análises de RMN de ^1H (Figura 45), ^{13}C (Figura 86, Apêndice H) e DEPT 135 (Figura 87, Apêndice H)⁷² com $CDCl_3$ como solvente. Para melhor analisar os espectros de RMN do polímero, foram realizadas as mesmas análises em $CDCl_3$ para o carvacrol (Figura 88-Figura 90, Apêndice I), reagente de partida nas reações de oxidação. Analisando-se o espectro de RMN de ^1H do polímero (Figura 45) e comparando-o com o do carvacrol (Figura 88, Apêndice I), podemos verificar a ausência dos sinais em 4,92 ppm e em 7,08 ppm, referentes aos átomos de hidrogênio das ligações O-H e C-H (círculo preto), respectivamente, presentes no carvacrol e ausentes no polímero. Isso ajuda a comprovar a estrutura proposta para o monômero, pois são os átomos de hidrogênio laterais que propagam a cadeia. Essa ausência dos sinais também foi observada por Günay e colaboradores⁴⁵ nos espectros de RMN de ^1H . Nos espectros de ^{13}C e DEPT 135 (Figura 86 e Figura 87, Apêndice H) obtidos para o polímero, foi possível identificar todos os sinais dos átomos de carbono presentes na estrutura do monômero, corroborando as informações obtidas no espectro de RMN de ^1H (Figura 45).

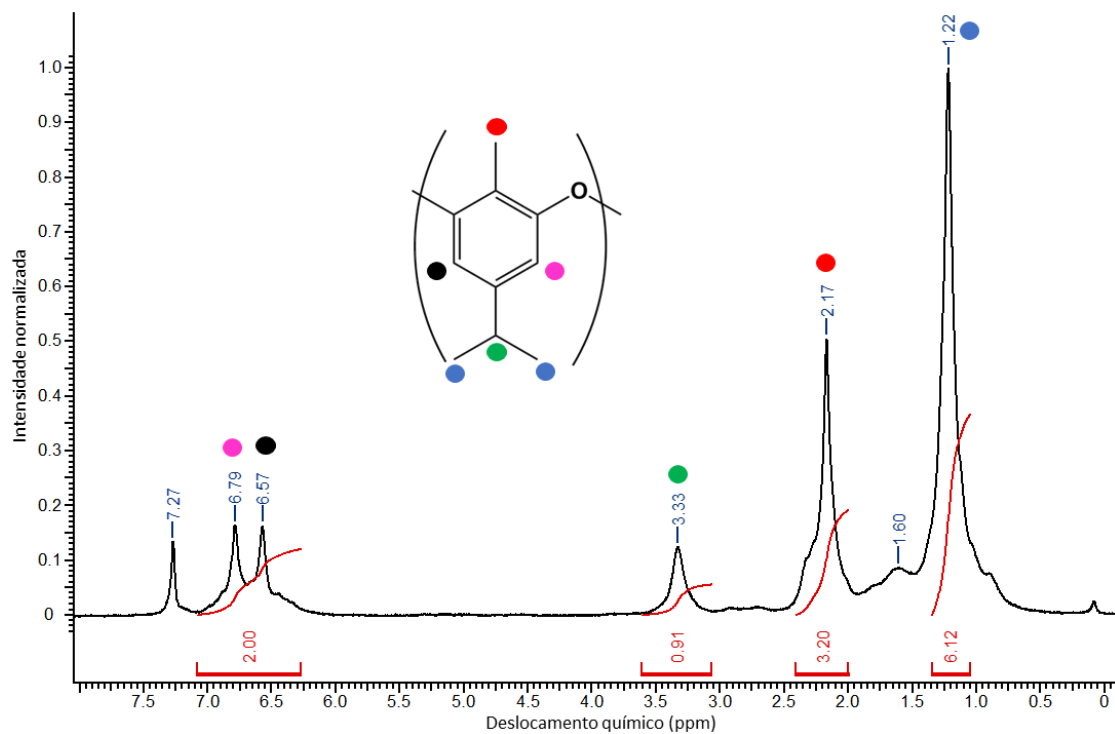


Figura 45 – Espectro de RMN de ^1H do polímero formado nas reações de oxidação do carvacrol na presença das metaloporfirinas **Cat1** e **Cat2** na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C. δ 1,22 (6H, s, $-\text{CH}_3$), δ 2,17 (3H, s, $-\text{CH}_3$), δ 3,33 (1H, s, $-\text{CH}$), δ 7,11-6,28 (2H, d, CH aromático).

CAPÍTULO 5 – ATIVIDADE LEISHMANICIDA DOS COMPOSTOS PORFIRÍNICOS

5.1 INTRODUÇÃO

5.1.1 Leishmaniose

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são aquelas causadas por agentes infecciosos como vírus e bactérias, presentes especialmente entre as populações pobres da África, Ásia e América Latina.¹⁵⁹ Essas doenças são ditas negligenciadas, pois embora existam financiamentos para pesquisas nessas doenças, os conhecimentos produzidos não são revertidos em novos fármacos, métodos para diagnósticos ou vacinas. Além disso, há um baixo interesse pelas indústrias farmacêuticas em estudos para novos tratamentos dessas doenças, pelo baixo retorno lucrativo, sendo que a população atingida é de baixa renda e presente, em sua maioria, nos países em desenvolvimento.¹⁶⁰ O manejo das DTNs é difícil por estar relacionado a questões ambientais, pois na maioria das vezes elas são transmitidas por vetores, que carregam parasitos que apresentam ciclos de vida complexos. Todos estes fatores tornam o controle das DTNs um problema de saúde pública desafiador.¹⁶¹ As DTNs afetam mais de 1,7 bilhão de pessoas no mundo, sobretudo comunidades pobres e, principalmente, mulheres e crianças. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 20 doenças* são consideradas como DTNs, sendo as mais conhecidas a malária, a doença de chagas, a dengue, a tuberculose, a lepra e a leishmaniose.¹⁶² Neste trabalho, será dada atenção à leishmaniose uma vez que, devido ao aumento significativo no número de casos nos últimos anos, ela passou a ser uma das prioridades dentre as DTNs de acordo com a Organização Mundial de Saúde.¹⁶³

A leishmaniose é causada por mais de 20 espécies de protozoários parasitos do gênero *leishmania*, sendo transmitida por mais de 90 espécies de flebotomíneos do mosquito palha. Segundo os dados divulgados pela OMS em 2023,¹⁶⁴ de todos os casos da doença que ocorrem mundialmente, apenas 25-45% são relatados, gerando grande potencial para surto e aumento da mortalidade. Cerca de 70 espécies de animais, incluindo os humanos, podem ser hospedeiros do parasito, aumentando este número anualmente.¹⁶⁴ As principais formas clínicas da leishmaniose são a cutânea (LC), a tegumentar (LT) e a visceral (LV).¹⁶³ Para a **leishmaniose cutânea**, a estimativa do número de novos casos por ano varia de aproximadamente 600.000 a 1 milhão ou mais de pessoas. Para a **leishmaniose visceral**, o número estimado por ano varia de 50.000 a 90.000 novos casos em todo o mundo, com apenas 25 a 45% relatados à OMS. A **leishmaniose tegumentar** tem registro anual de 700.000 a 1,3 milhão de casos novos e é considerada pela OMS como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e a capacidade de produzir deformidades.¹⁶⁵ Além desses casos descritos, há mais de um bilhão de pessoas em risco, vivendo em áreas endêmicas e com recursos de saúde precários, que propiciam o aumento da probabilidade de infecção pelo parasito.¹⁶⁶ Os dez países mais afetados por leishmanioses são o Brasil, China, Eritreia, Etiópia, Índia, Lêmen, Quênia, Somália, Sudão e Sudão do Sul que representam mais de 90% dos novos casos.¹⁶⁴

*Outras DTNs: úlcera de Buruli; chikungunya; dracunculíase; equinococose; trematodiasas; tripanossomíase africana humana; lepra; filariose linfática; micetoma, cromoblastomicose; oncocercose; raiva; sarna e outras ectoparasitoses; esquistossomose; helmintíases; envenenamento por picada de cobra; teníase/cisticercose; tracoma; e boubá.

5.1.1.1 Características da doença

As espécies *Leishmania* são transmitidas aos mamíferos pela picada, por exemplo, do mosquito palha no tecido subcutâneo, no momento de sua alimentação, iniciando o ciclo de vida desses parasitos nos mamíferos (Figura 46). Os parasitos do gênero *Leishmania* apresentam, em seu ciclo de vida, apenas duas formas evolutivas: a forma promastigota, que é flagelada e extracelular, e a forma amastigota, que é intracelular e sem movimentos.¹⁶⁷

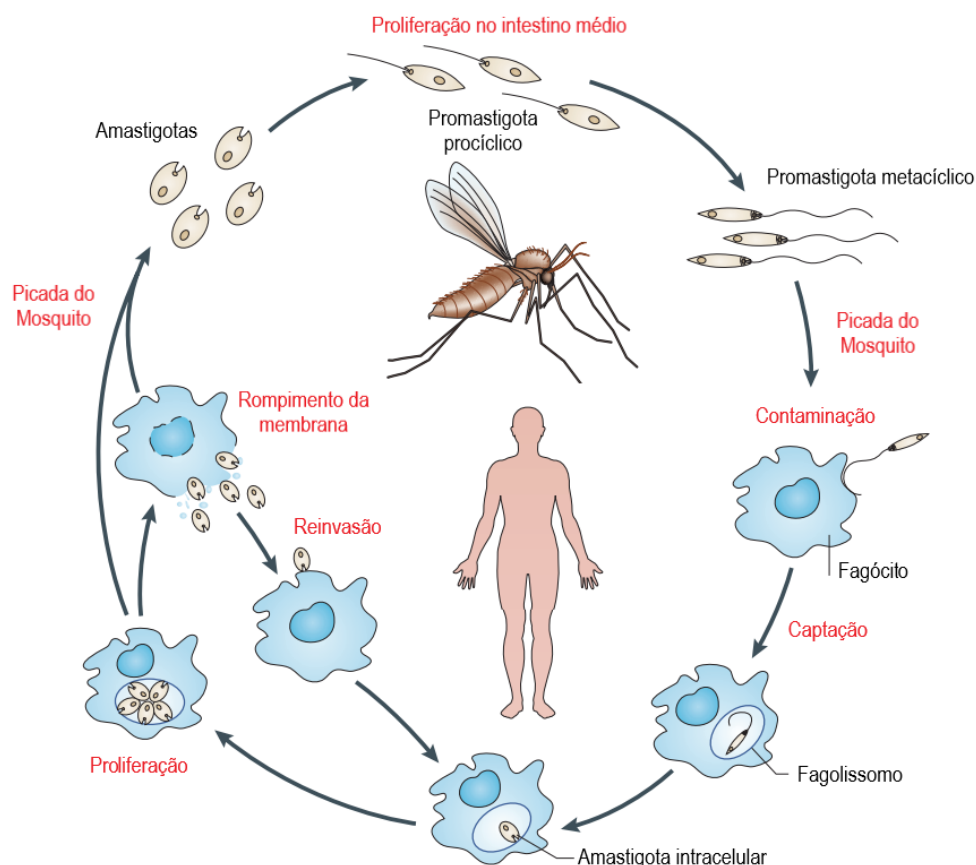


Figura 46 – Ciclo de infecção dos mamíferos pelo parasito *Leishmania*. Adaptada de Kaye e colaboradores.¹⁶⁷

O ciclo de vida do parasito no hospedeiro inicia-se no momento da picada, sendo inseridos os promastigotas metacíclicos que estão localizados na válvula estomodeal (região anterior do intestino que regula a passagem de alimentos entre o intestino anterior e o intestino médio) do inseto. No mamífero, os promastigotas metacíclicos são fagocitados por macrófagos e fagócitos, que são responsáveis pela defesa do organismo. Ao estabelecer residência intracelular, os promastigotas transformam-se em amastigotas aflagelados. Esses amastigotas replicam-se de forma acelerada dentro das células hospedeiras. Devido ao aumento do volume intracelular, a membrana rompe-se liberando os amastigotas, permitindo a infecção de outros fagócitos ou macrófagos locais. O ciclo de transmissão é concluído quando os fagócitos ou macrófagos infectados são absorvidos por outro mosquito, no momento de sua alimentação, por meio de sangue do mamífero. Esses amastigotas ingeridos são convertidos em promastigotas procíclicos no estômago médio do mosquito, que no

processo de ingestão transformam-se em promastigotas metacíclicos infecciosos e não reprodutíveis.¹⁶⁷

As manifestações clínicas, após a infecção, variam para cada paciente, podendo haver o desenvolvimento de úlceras simples ou até doenças viscerais mais graves. Conforme já informado, as principais formas clínicas da leishmaniose são LC, LT e LV.¹⁶⁴ Nestas, há subdivisões adotadas por alguns países, sendo determinadas pelo histórico e desenvolvimento da doença no paciente.¹⁶⁸ As formas clínicas da leishmaniose não levam o paciente à morte de imediato. Entretanto, devido à graves lesões cutâneas, orofaríngeas e no sistema reticuloendotelial, podem dificultar ou impedir a alimentação deste. Além disso, o tratamento impede a realização de atividades escolares por milhares de crianças, diminui a capacidade de trabalho em adultos e favorece o aparecimento de outras doenças, às vezes fatais.¹⁶⁹

O diagnóstico dessas doenças inicia-se na investigação do ambiente frequentado pelo paciente e pelos sintomas apresentados. Para a comprovação da doença, são realizados testes sorológicos, parasitológicos, biópsias do tecido subcutâneo quando os pacientes apresentam úlceras, análise da medula óssea e, em alguns casos, a detecção do ADN (ácido desoxirribonucleico) do parasito.¹⁶⁶ Porém, a obtenção de diagnósticos não tem sido uma prática em países com baixos recursos na área da saúde, mas quando ocorre, inicia-se imediatamente o tratamento dos pacientes com os medicamentos disponíveis.¹⁶⁸

A existência de uma diversidade de medicamentos e terapias para o tratamento das leishmanioses é essencial, pelas escolhas de uso serem baseadas na apresentação clínica, hospedeiro e tipo de espécie *Leishmania*. Porém, nenhum dos medicamentos atuais são eficazes para a cura da doença. É notória a necessidade de se realizar novos estudos para o desenvolvimento de possíveis fármacos que visem seletividade para tratar essa doença, levando à morte dos parasitos e que proporcionem a compreensão sobre o mecanismo de ação, a fim de se minimizar os efeitos colaterais.

5.1.1.2 Tratamentos

O tratamento de pacientes com leishmaniose depende de alguns fatores, incluindo o tipo clínico da doença, patologias concomitantes, espécies de parasitos *Leishmania* e localização geográfica do paciente. A leishmaniose é uma doença tratável, porém, não curável na maioria dos casos. O tratamento requer um sistema imunocompetente do paciente, pois os medicamentos não eliminam o parasito do corpo, havendo risco de recidiva se ocorrer imunossupressão.¹⁶⁵

Atualmente, os medicamentos utilizados para o tratamento da leishmaniose são os antimoniais pentavalentes contendo o Sb(V), como antimoniato de meglubina (Glucantime®, Sanofi-Aventis) e estibogluconato de sódio (Pentostan®, GlaxoSmithKline), com uma eficiência de 50% e utilizado há 70 anos.¹⁷⁰ Além dos antimoniais pentavalentes, há os medicamentos sem a presença de íon metálico como o desoxicolato de anfotericina B e anfotericina B lipossomal, miltefosina, paranomicina e pentamidina. (Figura 47).¹⁷⁰⁻¹⁷³

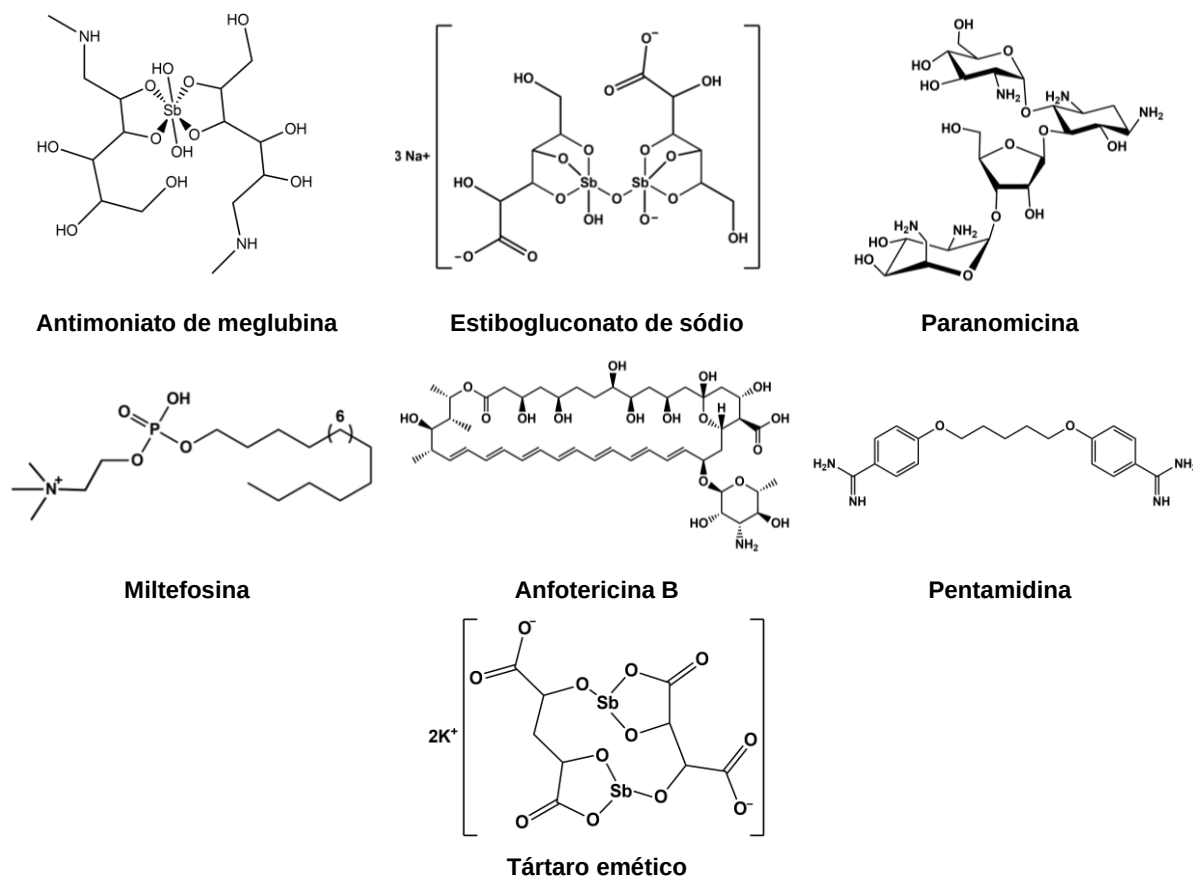


Figura 47 – Fármacos empregados para o tratamento das doenças de leishmaniose. Adaptada de Regueira e colaboradores.¹⁷⁰⁻¹⁷³

O primeiro antimonial pentavalente utilizado para o tratamento das leishmanioses foi o tártaro emético (Figura 47). Gaspar Vianna, médico brasileiro, foi o pesquisador pioneiro que relatou a eficácia do tártaro emético para o tratamento de leishmaniose mucocutânea,¹⁷⁴ posteriormente foram verificadas a sua atividade para a leishmaniose visceral na Itália, África e Índia.¹⁷¹ Devido aos graves efeitos colaterais desse composto que contém o antimônio trivalente, Sb(III), um íon tóxico, os pacientes desistiam do tratamento e em outros casos o paciente não suportava os efeitos adversos, levando-os a óbito, o que interrompeu o seu uso clínico. A partir de 1940, os complexos de antimônio pentavalente, Sb(V), que incluem antimoniato de meglumina e estibogluconato de sódio, foram introduzidos para o tratamento das doenças de leishmaniose, por serem menos tóxicos que o Sb(III).¹⁷³ Por mais que os antimonias pentavalentes sejam os medicamentos de primeira escolha para o tratamento da leishmaniose,¹⁷¹ eles ainda possuem diversas limitações.

Os compostos antimonias pentavalentes estão disponíveis no mercado há sete décadas e constituem o tratamento de primeira linha contra a leishmaniose.¹⁷⁵ Eles são utilizados no tratamento da leishmaniose visceral, cutânea e mucocutânea. Porém, devido a sua utilização em larga escala, por terem sido os medicamentos iniciais para o tratamento dessa doença, ocorreu o desenvolvimento de espécies resistentes a esses compostos em algumas regiões do mundo.¹⁷⁵ A utilização de antimonias pentavalentes em pacientes co-infectados com HIV/leishmaniose leva à ocorrência de efeitos adversos mais graves, aumentando a taxa de falha no tratamento e recidiva, além do aumento da mortalidade.¹⁷⁶

Quando os antimoniais não podem ser utilizados, devido à resistência das espécies de *Leishmania* ou pelo paciente apresentar outros problemas clínicos, são empregados outros fármacos como a anfotericina B, a paranomina e a pentamidina. A anfotericina B, na forma de desoxicolato, apresenta desvantagens, pois requer hospitalização para infusão intravenosa contínua e seus efeitos tóxicos cumulativos são intensos. A formulação lipossomal da anfotericina B reduziu a dose necessária para o tratamento da leishmaniose visceral, porém com custos proibitivos para o tratamento em larga escala em áreas endêmicas.¹⁷⁷

A pentamidina, um agente anti-infeccioso de amplo espectro, é frequentemente reservada para casos de falha terapêutica com antimoniais e anfotericina B. No entanto, sua eficácia para leishmaniose cutânea, varia da região geográfica do paciente e da espécie parasitária.¹⁷⁸

A paranomina apresenta baixa biodisponibilidade oral; porém, em estudos realizados na Índia, esse medicamento mostrou atividade promissora em pacientes refratários aos antimoniais. Foi relatada a eficácia parcial da paranomina em formulações tópicas específicas ou associada a antimoniais ou antibióticos.^{178,179}

A miltefosina é o único medicamento utilizado no tratamento da leishmaniose visceral por via oral. Ela apresenta menores efeitos colaterais, porém após 10 anos de seu uso, ocorreu aumento na resistência, com redução da eficácia, dobrando-se a taxa de recidiva dos pacientes. Em algumas regiões da Índia, foram trocados os tratamentos de miltefosina por anfotericina B lipossomal, como estratégia para a diminuir a resistência criada pelo parasito.^{175,179}

Apesar da diversidade estrutural dos medicamentos usados no tratamento das leishmanioses, eles apresentam semelhanças na toxicidade e na ineficácia para levar à cura da doença. Algumas informações referentes a esses medicamentos podem ser observadas no Quadro 1. Pelas informações contidas no Quadro 1, várias desvantagens podem ser indicadas como, a alta dosagem utilizada para o tratamento, longa duração das terapias, custos advindos do tratamento e da dificuldade do paciente em exercer sua profissão e os efeitos colaterais.

Novos compostos estão sendo estudados para o tratamento de leishmanioses. Neste cenário, destaca-se uma organização de pesquisa sem fins lucrativos que atua no desenvolvimento de tratamentos para doenças negligenciadas, a DNDi.^{180,181} No momento, o composto em estudo da DNDi mais adiantado para tratamento da leishmaniose é o LXE408 Novartis (Figura 48) que está na prova de conceito de fase II, em que são testados em um número limitado de pacientes para avaliar se o medicamento tem o efeito desejado na doença-alvo.^{170, 180-182} O LXE408, quando administrado por via oral, demonstrou excelente eficácia em modelos de doenças em camundongos. Entretanto, a dose estudada foi alta e o composto provavelmente será administrado em combinação com outros agentes para maior segurança aos pacientes.¹⁸³

Quadro 1 – Medicamentos atualmente utilizados no tratamento de leishmanioses. Adaptado de Regueira e colaboradores.¹⁷³⁻¹⁷⁹

Medicamento	Via de administração	Vantagens	Desvantagens	Efeitos adversos
Antimoniais pentavalentes	Intramuscular 20 mg kg ⁻¹ (28-30 dias)	Baixo custo	Resistência pelos parasitos na Índia	Dores musculares, cardiotoxicidade, pancreatite
Desoxicolato de anfotericina B	Intravenosa lenta 1 mg kg ⁻¹ (30 dias)	Eficaz contra cepas resistentes ao Sb ⁵⁺	Requer hospitalização	Nefrotoxicidade, pancreatite, miocardite
Anfotericina B lipossomal	Intravenosa lenta 10 mg kg ⁻¹ (dose única)	Eficaz em dose única	Caro e quimicamente instável	Febre, dores, nefrotoxicidade
Miltefosina	Via oral 50–100 mg kg ⁻¹ (28 dias)	Sem hospitalização	Desenvolvimento de resistência pelas cepas	Problemas gastrointestinais, teratogênico
Paranomicina	Parenteral (im)* 15 mg kg ⁻¹ diária (21 dias)	Baixo custo	Fracos resultados contra LV africana	Dores musculares, hepatotoxicidade
Pentamidina	Intravenosa lenta 4 mg kg ⁻¹ mensal (12 meses)	Uso em HIV positivo em coinfeções	Múltiplos efeitos adversos	Miocardite, nefrotoxicidade, diabetes tipo 1

* im: Administração direta do injetável na massa muscular.

É importante destacar que o processo para que um medicamento seja aprovado clinicamente e esteja disponível para a população dura anos, isso devido aos diversos testes exigidos, falta de financiamento e em alguns casos, devido aos efeitos colaterais, os estudos são interrompidos. Exemplo disso são os compostos da classe de nitroimidazol (DNDi-6148, Figura 48) e oxaborol (DNDi-0690, Figura 48), que seguem na DNDi desde 2016, sendo estudados para o tratamento de leishmaniose visceral e possivelmente para leishmaniose tegumentar.^{170,182} Esses dois compostos mostraram elevada atividade leishmanicida com baixa citotoxicidade para células saudáveis, mas ainda podem demorar a chegar ao mercado para uso pelos pacientes.

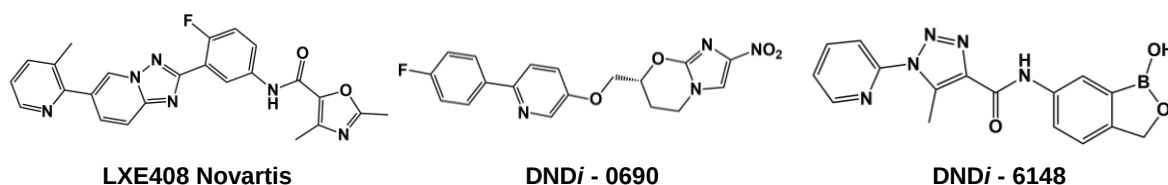


Figura 48 – Compostos em estudos pela DNDi para o tratamento de leishmaniose visceral.^{170,182}

No portfólio dos estudos da DNDi, publicado em junho de 2022,¹⁸⁰ não há qualquer composto estudado diretamente para o tratamento da leishmaniose tegumentar, sendo mais um incentivo a desenvolver estudos para a obtenção de medicamentos que possam ser usados contra forma clínica da doença. Na busca por novos medicamentos, conhecer os mecanismos de ação dos compostos já

utilizados na clínica pode auxiliar na busca de moléculas que levem à elevada eficácia associada a efeitos adversos pouco significativos. Dessa forma, o próximo item apresentara de forma breve o que já se conhece sobre os mecanismos de ação dos medicamentos usados na terapia de leishmaniose.

5.1.1.3 Mecanismos de ação sugeridos para os medicamentos usados na terapia para leishmaniose

Cada medicamento atua de forma diferente ao entrar no organismo do hospedeiro contendo os parasitos *Leishmania*. Os mecanismos de ação podem explicar como o composto químico torna-se ativo e combate os patógenos. Até o momento, existem apenas propostas de mecanismos de ação para os fármacos citados na Figura 47.

Os estudos realizados para avaliação do possível mecanismo de ação da anfotericina B lipossomal, apontam indícios de que o fármaco se liga ao ergosterol presente na membrana plasmática dos amastigotas de *Leishmania*, levando à ruptura da estrutura da membrana. Assim, nesses locais há passagem de moléculas do meio intracelular e, consequentemente, distúrbios metabólicos levando à apoptose celular.¹⁷³

O mecanismo de ação da miltefosina não está claramente definido, pois se acredita que ela consegue ter atividade em diversas partes da célula infectada do hospedeiro, incluindo atividade no parasito. As propostas indicam que pode estar ocorrendo o impedimento da biossíntese de âncora de glicosilfosfatidilinositol, que são estruturas essenciais para a síntese de glicoconjugados e proteínas na superfície celular dos parasitos e, dessa forma, a perturbação do metabolismo éter-lipídeo do parasito seriam os possíveis alvos da miltefosina.^{170,173} Estudos *in vitro* mostraram que esse fármaco interfere no metabolismo de ácidos graxos e esteróis em amastigotas, sendo esse mecanismo responsável por alterações na composição e fluidez da membrana plasmática do parasito.¹⁸⁴ Além de ser tóxico para as células contendo *Leishmania*, dados experimentais permitiram sugerir que a miltefosina induz a produção de IFN- γ (interferon-gama), TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IL-12 (interleucina-12) a partir de macrófagos, o que estimularia a resposta imune do hospedeiro.¹⁸⁵

O possível mecanismo de ação para a paranomocina baseia-se na inibição da síntese de proteínas do parasito, tendo como alvo as proteínas ribossomais, gerando problemas respiratórios e despolarização da membrana mitocondrial no parasito. Esses danos levam à morte do parasito e, consequentemente, à apoptose da célula infectada.^{173,182,186}

Para a pentamidina, estudos referentes ao seu mecanismo de ação, sugerem um acúmulo do fármaco no parasito. Isto permitiria sua associação com o ADN mitocondrial do parasito, bloqueando seu processo de replicação e, esse tipo de interferência seria um possível mecanismo subjacente à inibição do crescimento do parasito.¹⁸⁷

Muitos estudos sugerem os mecanismos de ação dos antimoniais, mas até o momento não há uma comprovação. Goodwin e Page,¹⁸⁸ em 1943, realizaram uma série de estudos *in vitro* e *in vivo* com gluconato de sódio e antimônio(V), estibofeno (Sb³⁺) e tártaro emético, utilizando o método de análise polarográfica para a determinação de antimônio em materiais biológicos. Por encontrar quantidades significativas de antimônio trivalente na urina e no fígado dos animais testados, sugeriram que os antimoniais pentavalentes atuassem como um pró-fármaco, que seria convertido em Sb(III) ativo e mais

tóxico.¹⁸⁸ Pelo avanço dos estudos, foi comprovado que parte do Sb^{5+} era reduzido para Sb^{3+} após a ingestão de antimoniais em humanos, devido à presença desse íon em amostras de urina.¹⁸⁹

Com isso, várias propostas de mecanismos de ação têm sido estudadas para se descrever o funcionamento dos antimoniais pentavalentes para o tratamento de leishmaniose (Figura 49). Segundo Frézard e colaboradores^{190,191}, os compostos de Sb(V) comportam-se como um pró-fármaco, que são reduzidos dentro do organismo para a forma Sb(III) , um íon limítrofe com alta afinidade para ligantes contendo grupo sulfidril e átomos de nitrogênio (Figura 49, mecanismo A). Segundo Frézard e colaboradores¹⁹⁰ e Yan e colaboradores¹⁹², a mudança de estado de oxidação dos antimoniais pentavalentes ocorre mais facilmente em ambientes ácidos ($\text{pH} = 5$), em temperatura de 37°C e na presença de tióis como a GSH (Figura 50) e a tripanotona reduzida (T(SH)_2 , Figura 50).

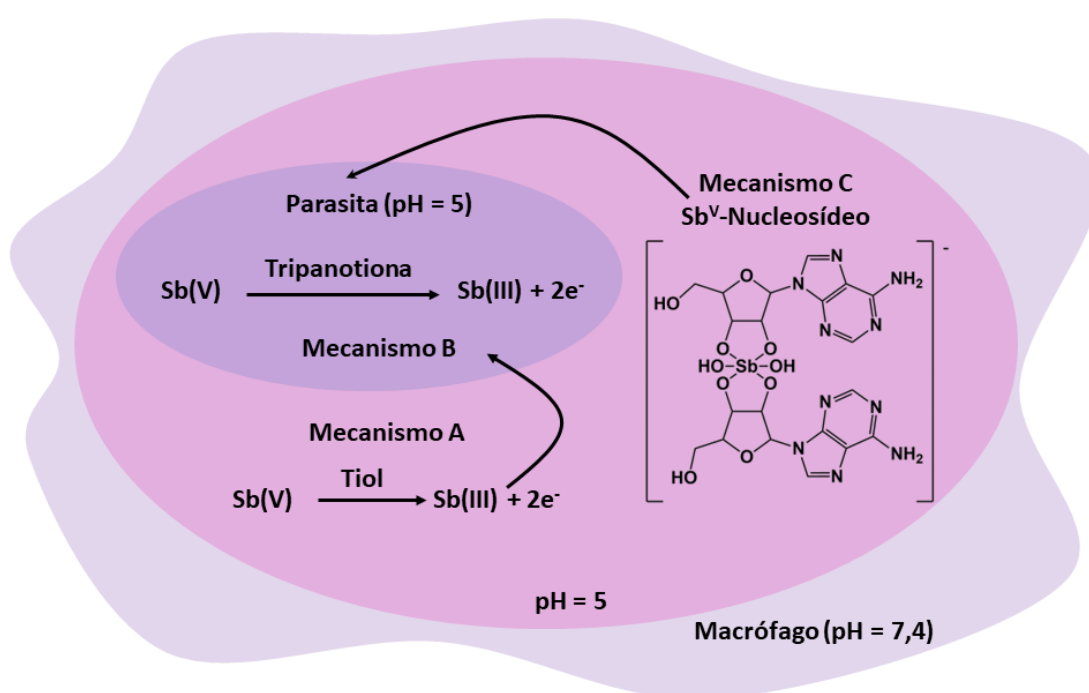


Figura 49 – Mecanismos propostos na literatura, para a atividade antileishmaniana dos antimoniais pentavalentes.¹⁹³

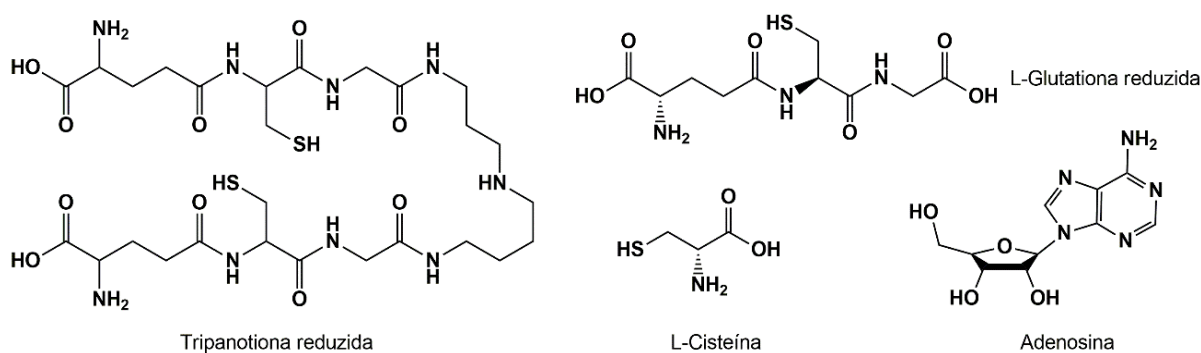
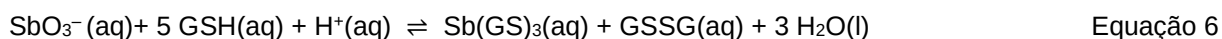


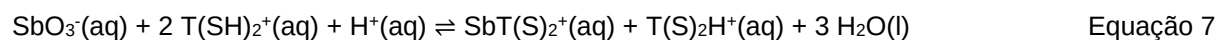
Figura 50 – Estruturas químicas da tripanotona reduzida (T(SH)_2), L-glutaciona reduzida (GSH), L-cisteína e adenosina.^{171, 193}

A GSH (Figura 50) é um dos tióis mais abundantes do citosol, em altas concentrações variando de 2 a 10 mM.¹⁹⁰ Ela pode ser considerada um ligante polidentado, que atua como substrato para a GSH peroxidase, uma enzima capaz de remover o peróxido de hidrogênio das células e reparar membranas danificadas por peroxidação. A GSH consegue formar complexos com vários íons e, em particular, seu átomo de enxofre tem uma alta afinidade por íons metálicos macios e limítrofes, resultando na formação de complexos GS-M.¹⁹⁴

O Sb(V) também pode reagir com o tiolato, como visto na Equação 6, podendo estar na sua forma predominante em solução como oxoânion, o SbO_3^- , mas pouco se sabe sobre seu modo de ligação com a GSH. Tais interações podem desempenhar um papel importante na farmacologia do antimônio, apresentando-se assim a GSH como um candidato a redutor de Sb(V) a Sb(III) (Figura 49, mecanismo A).^{171,190}



As espécies de *Leishmania* quando no organismo do hospedeiro, podem conjugar o tripeptídeo GSH e a poliamina espermidina para formar tripanotiona. A tripanotiona reduzida ($\text{T}(\text{SH})_2$, Figura 50) é o tiol de baixa massa molar mais abundante dentro das espécies de *Leishmania*, sendo essencial para o crescimento e sobrevivência do parasito, proporcionando um ambiente redutor intracelular único. Ela pode atuar como um antioxidante, sendo crucial para os mecanismos defensivos empregados pelos parasitos na prevenção do estresse oxidativo. Visto que a tripanotiona não está presente nos mamíferos, ela se torna um alvo para novas drogas.¹⁹⁵ Em estudos realizados por Sun e colaboradores^{192,196}, os autores relatam que a redução de Sb(V) presente no estibogluconato de sódio sob condições levemente ácidas ($\text{pH} = 5$) e neutras ($\text{pH} = 7,4$) e na presença de $\text{T}(\text{SH})_2$ ocorreu rapidamente (Figura 49, mecanismo B e Equação 7). Entretanto, essa redução foi insignificante na presença da GSH, nas mesmas condições. Isso pode estar ocorrendo devido a $\text{T}(\text{SH})_2$ contribuir mais efetivamente devido a elevada atividade redutora, por conter em sua estrutura dois grupos tióis (Figura 50).^{192,196}



Em outro estudo realizado por Sun e colaboradores¹⁹⁷, eles mostraram que Sb(III) (do tartarato de antimônio e potássio) pode formar um novo complexo com tripanotiona, por meio da ligação com dois átomos de enxofre nos resíduos de L-cisteína (Figura 50). Isso torna a L-cisteína outro alvo para estudos, pois ela está presente nos lisossomos, que são as organelas mais ácidas dos macrófagos. Nos estudos de Frézard e colaboradores¹⁹¹, focados em outros tióis biologicamente relevantes, como L-cisteína-glicina, L-cisteína e GSH, foram determinadas as velocidades iniciais de redução de Sb(V) na forma de antimoniato de meglumina e hexahidroxidoantimoniato(V) de potássio. As reações foram mais rápidas em meio ácido ($\text{pH} = 5$) quando comparado ao meio neutro ($\text{pH} = 7,4$), em 37 °C. A ordem decrescente das velocidades de redução observadas com os diferentes tióis foram L-cisteína-glicina > L-cisteína > GSH. Desta forma, a L-cisteína também pode atuar como um redutor para antimoniais pentavalentes.¹⁹¹

Por fim, um modelo proposto por Demicheli e colaboradores¹⁹³ (Figura 49, mecanismo C), sugere a formação de complexos entre Sb(V) e ribonucleosídeos de adenosina (Figura 50), por exemplo, em condições de temperatura e pH próximos aos fisiológicos. Os autores sugerem que a formação desse complexo é favorecida em pH = 5 e que ele se forma nos compartimentos ácidos, incluindo o fagolissomo de macrófagos contendo *Leishmania*. As consequências fisiológicas dessa formação de complexo de Sb(V)-nucleosídeo ainda devem ser determinadas. Caso a formação de complexos de purina* ocorra *in vivo*, estes podem inibir os transportadores de purina da *Leishmania*.¹⁹³

O estudo dos mecanismos de ação dos medicamentos é necessário para se entender como essas drogas combatem os agentes patógenos. Entretanto, os estudos de interação entre compostos candidatos a fármacos e biomoléculas, que sejam essenciais para a sobrevivência dos patógenos ou da célula hospedeira, podem ser um meio de entender onde os medicamentos podem se alojar no mamífero, além do seu mecanismo de ação.

5.1.2 Interação entre o ácido desoxirribonucleico e compostos porfirínicos

O desenvolvimento de moléculas que possam apresentar atividades biológicas envolve uma série de etapas, dentre elas destaca-se a interação das mesmas com o ácido desoxirribonucleico (ADN), uma vez que essa interação pode ser um dos mecanismos de ação da molécula em estudo. Dessa forma, neste item, serão abordados brevemente alguns aspectos importantes para nortear a discussão dos experimentos realizados para avaliar a interação de compostos porfirínicos com o ADN.

5.1.2.1 Ácido Desoxirribonucleico - ADN

O ADN é formado por uma sequência de nucleotídeos que, por sua vez, são compostos por uma base nitrogenada, uma pentose e um fosfato inorgânico (Figura 51).¹⁹⁸ Os nucleotídeos consecutivos do ADN são ligados covalentemente por ligações de grupos fosfatos, nas quais o grupo 5'-fosfato de uma unidade nucleotídica é ligado ao grupo 3'-hidroxila do próximo nucleotídeo, formando uma ligação fosfodiéster (Figura 51).¹⁹⁹ Desta forma, é formado um esqueleto covalente no ADN com grupos fosfatos inorgânicos e pentoses alternados, e as bases nitrogenadas podem ser consideradas como grupos laterais, ligados ao esqueleto em intervalos regulares (Figura 51). Os grupos fosfatos apresentam um pKa próximo a 0 e, desta forma, eles estão totalmente ionizados e carregados negativamente em meio fisiológico.¹⁹⁹

* Purinas: bases nitrogenadas que compõem o nucleotídeo, que incluem a Adenina e Guanina.

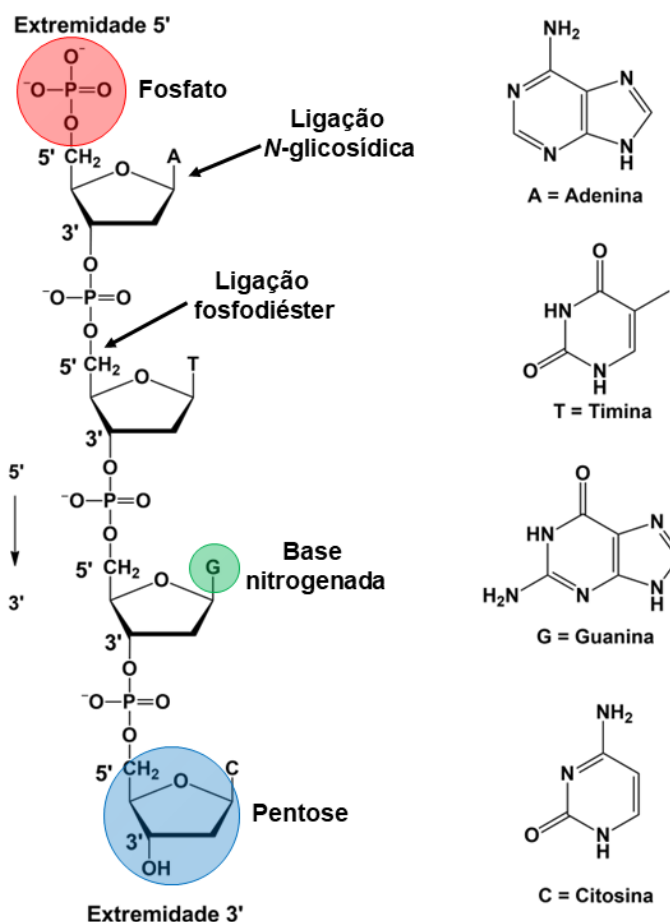


Figura 51 – Estrutura química do ADN, com extremidade 5' → 3', identificando o esqueleto de pentose, grupamentos fosfatos e bases nitrogenadas.¹⁹⁹

A estrutura de dupla-hélice do ADN foi proposta em 1953 por Watson e Crick em um artigo publicado na revista *Nature*, o que gerou um avanço significativo na biologia molecular.²⁰⁰ Segundo esses cientistas, a estrutura do ADN consistia em duas cadeias de ADN helicoidal enroladas em torno do mesmo eixo para formar uma dupla hélice (Figura 52a). A dupla hélice é composta por duas fitas em sentidos opostos, uma de 5' → 3' e outra de 3' → 5'.¹⁹⁸ O esqueleto hidrofílico dos grupos fosfatos e a desoxirribose estariam no lado externo da dupla hélice, podendo interagir com água e proteínas. O restante da estrutura, no caso as bases nitrogenadas que são menos hidrofílicas, estariam empilhadas dentro da dupla hélice em forma de anel. As torções das duas fitas formam o sulco menor (~1,2 Å de largura) e o sulco maior (~22 Å de largura) (Figura 52a).¹⁹⁸

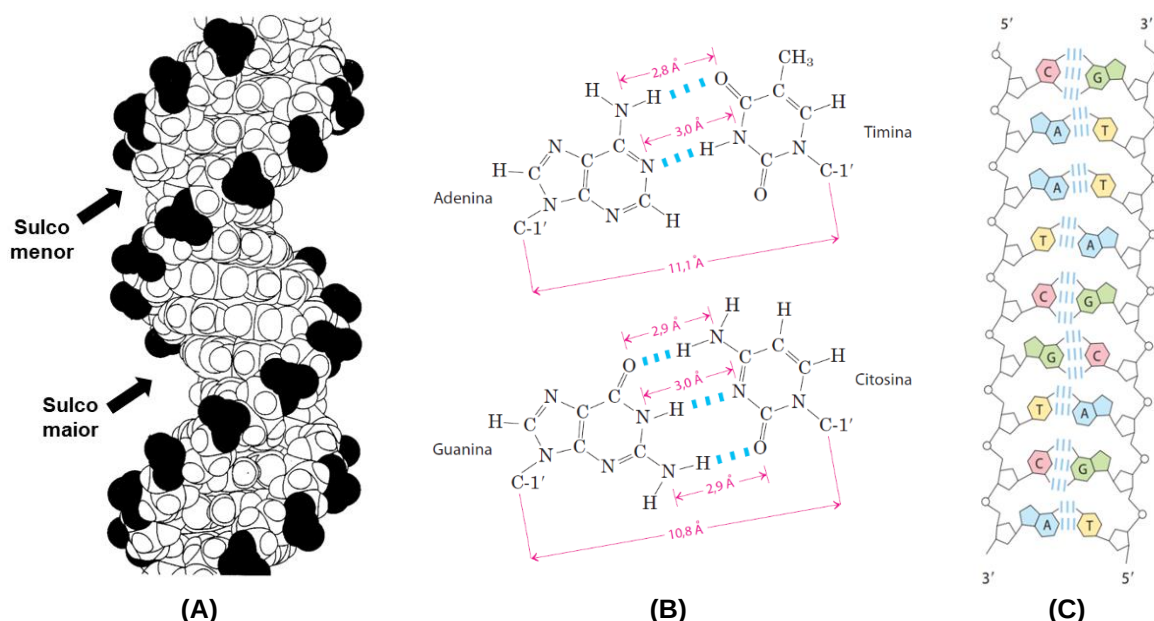


Figura 52 – (A) Representação do ADN de dupla hélice identificando os sulcos maior e menor, **(B)** padrões de ligações de hidrogênio no pareamento de bases definido por Watson e Crick, **(C)** complementaridade das cadeias na dupla hélice de ADN. Adaptado de Nelson e Cox.¹⁹⁹

Watson e Crick identificaram que cada base nucleotídica de uma fita está pareada no mesmo plano com a base, da outra fita, e que os pares de bases estão unidos por ligações de hidrogênio. Assim, eles identificaram que a guanina interage com a citosina (G-C), enquanto a adenina interage com a timina (A-T). Conforme representado na Figura 52b, o par G-C é mantido por três interações do tipo ligação de hidrogênio, enquanto o par A-T é mantido por duas dessas interações. Dessa forma, a separação das fitas pareadas de ADN é mais difícil quanto maior for a razão do pareamento de bases G-C para A-T.¹⁹⁹ Como visto na Figura 52c, as duas fitas estão antiparalelas, não idênticas, nem na sua sequência de bases e nem na sua composição. Na Figura 52c, por exemplo, a cadeia da esquerda tem a composição $A_3T_2G_1C_3$ e a da direita possui a sequência de $A_2T_3G_3C_1$.¹⁹⁹ A dupla hélice é mantida pelas interações do tipo ligação de hidrogênio, mas também pela interação de empilhamento entre as bases. A complementaridade entre as cadeias de ADN é atribuída às ligações de hidrogênio e, as interações de empilhamento de bases determinam a maior contribuição para a estabilidade da dupla-hélice.¹⁹⁸

Sabe-se que muitas moléculas (candidatas a fármacos) podem interagir com o ADN de diferentes modos e interferir em seu processo de replicação ou reparação. Nesse sentido, é importante o conhecimento das principais forma de interação entre o ADN e essas moléculas, como descrito no item a seguir.

5.1.2.2 Interação de moléculas com o ADN

Diferentes modos de interação com o ADN têm sido descritos para moléculas candidatas a fármacos, desde ligações covalentes até interações eletrostáticas. Os modos de interação não covalentes desencadeiam mudanças na estereoquímica dessa biomolécula, quebra da fita e/ou impedimento de replicação. De maneira geral, muitos resultados foram acumulados na literatura sobre

os modos de ligação entre compostos porfirínicos e ADN, resumindo-as em: Intercalação (Figura 53a)^{201,202}, ligação ao sulco menor (Figura 53b),²⁰³ ligação ao sulco maior (Figura 53c),²⁰³ interação por via externa (Figura 53d)²⁰⁴.

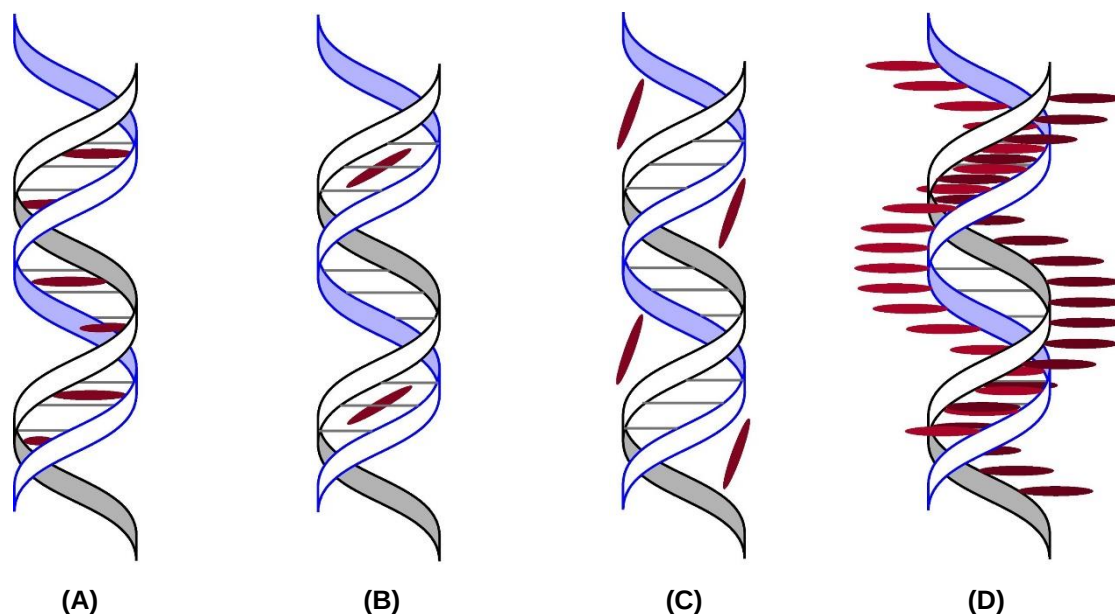


Figura 53 – Apresentação esquemática dos modos de interação com compostos (elipses marrons) ao ADN (A) intercalação, (B) sulco menor, (C) sulco maior e (D) vias externas. Adaptado de Lebedeva²⁰⁵.

Devido ao seu núcleo macrociclo aromático, alguns compostos porfirínicos catiônicos podem interagir com o ADN por via intercalativa (Figura 53a).²⁰⁵ A intercalação no ADN ocorre pelo empilhamento de um anel aromático porfirínico entre os pares de bases da dupla hélice. Este tipo de interação ocorre preferencialmente nas sequências ricas em interações guanina-citosina (GC),²⁰⁶ que possuem menor carga negativa quando comparadas às sequências ricas em interações adenina-timina (AT). Compostos porfirínicos catiônicos conseguem interagir com ADN rico em GC via intercalação quando adotam uma condição de planaridade, incluindo os grupos *meso*-arila, como visto em trabalhos com metaloporfirinas de níquel(II) e cobre(II) (Figura 54).^{207,208} Estruturas cristalinas das porfirinas $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{T4MPyP})]^{4+}$ e $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{T4MPyP})]^{4+}$ na presença de oligonucleotídeos curtos confirmam interação via empilhamento π , mostrando intercalação total ou parcial entre sequências ricas de bases CG.²⁰⁹

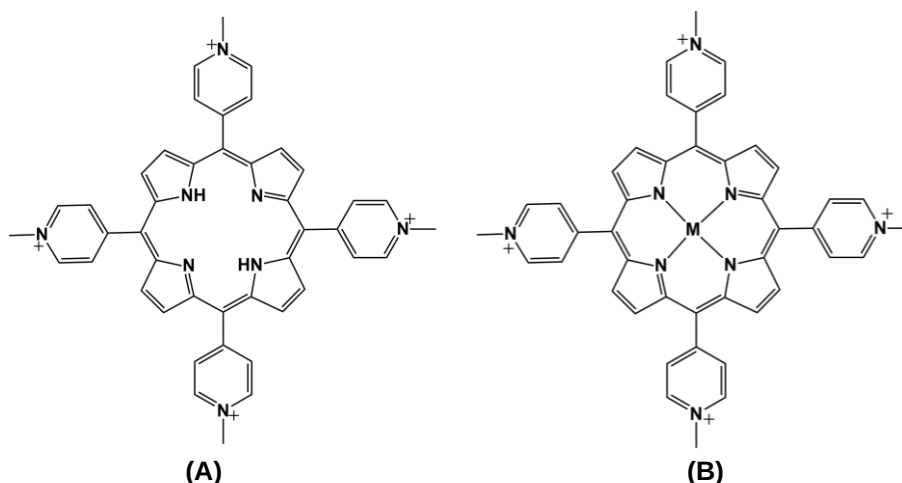


Figura 54 – Estrutura dos compostos porfirínicos (A) $\text{H}_2\text{T4MPyP}^{4+}$ e (B) $[\text{M}^{\text{II}}(\text{T4MPyP})]^{4+}$ ($\text{M} = \text{Cu}^{2+}$ ou Ni^{2+}).²⁰⁹

Em alguns casos, o modo intercalativo não é estereamente viável, por exemplo, quando se utilizam compostos porfirínicos que contenham substituintes *meso* que giram livremente e, assim, diminuem a extensão da aromaticidade por estarem em posição perpendicular ao plano do macrociclo porfirínico, restringindo a possibilidade de empilhamento π . Outros fatores que diminuem o potencial desse empilhamento é a presença de um ou dois ligantes axiais em um íon metálico, inserido no centro da porfirina, aumentando a dimensão axial, e também a presença de substituintes muito volumosos na periferia do macrociclo porfirínico.²¹⁰

A interação no sulco menor do ADN (Figura 53b), em sequências ricas em interações do tipo AT (pelo menos três sequências consecutivas), são comuns para compostos porfirínicos catiônicos.⁵⁶ Isto ocorre por esta sequência ter mais cargas negativas do que a sequência GC, o que atrai as moléculas catiônicas. Desta forma, quanto maior for o número de cargas positivas nos compostos porfirínicos, maior a afinidade.²¹⁰ Porém, as posições destas cargas nos compostos interferem no modo de interação. Por exemplo, compostos porfirínicos que contenham cargas positivas em posicionamento *trans* (no grupo arila das posições *meso* do macrociclo) não interagem no sulco menor, podendo intercalar-se entre pares de bases de ADN com sequências ricas em GC ou AT.^{210,211} Desta forma, para interagir por meio de sulco menor, os compostos porfirínicos devem conter substituintes catiônicos em grupo *meso*-arilas adjacentes. Como visto no modo intercalativo, compostos porfirínicos contendo substituintes *meso* perpendiculares ao plano do macrociclo não conseguem sofrer intercalação por razões estereas.²¹⁰ Esse arranjo espacial também impede a interação pelo sulco menor para compostos com grupos perpendiculares ao plano do macrociclo. Diferentemente do modo intercalativo, a presença de ligantes axiais na metaloporfirina não impede a interação pelo sulco menor.^{205,210} O importante é que esses compostos porfirínicos precisam ter uma forma curva com sítios que permitam a formação de ligação de hidrogênio ou interação eletrostática, adequados para que se possa aproximar-se do interior do sulco do ADN. O volume ocupado por substituintes nos compostos porfirínicos não impede a interação com o sulco.²¹² O sulco maior (Figura 53c) é 1,2 vezes maior que o sulco menor, o que o torna mais acessível a interações entre compostos com potenciais de interação e o ADN.

A interação eletrostática (Figura 53d) ocorrerá por meio da interação de compostos porfirínicos catiônicos com os grupos fosfato, carregados negativamente, e pode ocorrer concomitantemente quando há interação de empilhamento π entre esses compostos. Essa interação pode ter o papel de estabilizar o meio para que ocorra a intercalação ou interação no sulco de maneira mais efetiva.²¹⁰ Desta forma essa interação se enquadra no modo por via externa.

A interação entre uma molécula e o ADN leva também a mudanças no comportamento eletrônico observado para a molécula do ADN e, por isso, o monitoramento de seu comportamento espectral pode ser utilizado para se monitorar essa interação. Como estes fenômenos envolvem processos de interações reversíveis, ou seja, equilíbrios, eles podem ser descritos por meio de constantes de ligação, (K_b), obtidas por meio de titulações espectrofotométricas ou fluorimétricas.²¹³

Dessa forma, a titulação espectrofotométrica tem sido um método amplamente empregado para se verificar o comportamento da interação entre o ADN e compostos de coordenação, incluindo os compostos porfirínicos.²⁰⁰ O estudo do modo de interação entre as moléculas (candidatas a fármacos) e o ADN torna-se, então, uma ferramenta importante para se compreender o possível mecanismo de ação de fármacos.

Quando uma molécula interage com o ADN, pode-se determinar a constante de ligação intrínseca (K_b), por meio de uma titulação espectrofotométrica. O valor desta constante serve como um indicativo do modo de interação ADN-molécula estabelecido. Para derivados de $H_2T4MPyP^{4+}$ (Figura 54a), por exemplo, para a interação pelo sulco menor, K_b está na ordem de 10^6 - $10^7 M^{-1}$, a intercalação está associada a valores de K_b em torno de $10^6 M^{-1}$ e as interações eletrostáticas não específicas são responsáveis por K_b com valores em cerca de 10^4 - $10^5 M^{-1}$.^{207,214,215} Com base nesses valores, pode-se ter uma previsão do modo de interação, quando a interação de diferentes compostos porfirínicos é avaliada com o ADN.

Com todas as informações referentes aos modos de interação de uma molécula com o ADN, pode-se notar que, a princípio, os compostos não catiônicos não apresentariam grande potencial para interagir com o ADN, em condições fisiológicas, sendo que os compostos porfirínicos não planos não intercalariam com o ADN.²¹⁰ Outro aspecto interessante a se observar é que metaloporfirinas, com grupos *meso*-arila estereamente rígidos e que possuam ligantes axiais, não se intercalariam com as nucleobases do ADN. Porém, elas poderiam interagir pelo sulco menor ou por interação eletrostática, no caso de compostos catiônicos.²¹⁶ Apesar disso, observam-se na literatura exemplos de compostos porfirínicos não carregados que atuam na interrupção da replicação de ADN carcinogênico.²¹⁷

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.2.1 Avaliação da atividade leishmanicida dos compostos porfirínicos

5.2.1.1 Atividade leishmanicida contra formas promastigotas do parasito

A atividade leishmanicida dos compostos porfirínicos $H_2T245TMPP$, $H_2T35DMPP$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, foi avaliada contra formas promastigotas de *Leishmania braziliensis* H3227, mediante determinação da concentração inibitória de 50% do

crescimento do parasito (CI_{50} , Tabela 16), na faixa de concentração de 0 a 50 μM , de acordo com o procedimento descrito na seção 2.1.7.2. A *L. braziliensis* causa a leishmaniose tegumentar, que provoca úlceras na pele e mucosas.

Tabela 16 – Concentrações inibidoras do crescimento (CI_{50}) dos compostos porfirínicos contra a forma promastigota de espécies de *L. Braziliensis* H3227, citotoxicidade (CC_{50}) contra monócitos THP1 e índice de seletividade (IS).

Compostos	^a CI_{50} (μM) $\pm$ ^b DS	^c CC_{50} (μM) $\pm$ DS	^d IS
H ₂ T245TMPP	17,19 $\pm$ 3,74	26,65 $\pm$ 0,38	1,55
H ₂ T35DMPP	13,04 $\pm$ 3,30	25,69 $\pm$ 1,00	1,97
[Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl	4,18 $\pm$ 1,09	34,37 $\pm$ 1,90	8,22
[Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl	14,17 $\pm$ 2,55	24,07 $\pm$ 0,19	1,70
Miltefosina	ND	39,08 $\pm$ 1,49	^e ND ²¹⁸
Anfotericina B	0,10 $\pm$ 0,01	12,00 $\pm$ 0,59	120 ²¹⁸

^a CI_{50} : Concentração do composto que inibe 50% do crescimento do parasito. ^bDS: Desvio padrão. ^c CC_{50} : Concentração do composto que mata 50% da célula macrófago. ^dIS: índice de seletividade, calculado como a razão entre CC_{50} em monócitos THP1 e CI_{50} . ^eND: não determinado.

Considerando o desvio padrão dos resultados de CI_{50} (Tabela 16) para os compostos porfirínicos H₂T245TMPP, H₂T35DMPP e [Sb^VCl₂(T35DMPP)]Cl, os valores de toxicidade são semelhantes. Ao compararmos os dados da H₂T35DMPP e de seu respectivo complexo, a inserção do cátion Sb(V) não ocasionou um aumento na toxicidade para os promastigotas (Tabela 16). Já analisando os valores de CI_{50} da H₂T245TMPP e seu respectivo complexo (Tabela 16), ao inserir o cátion Sb(V) no macrociclo ocorreu um aumento na toxicidade contra a forma promastigota. Assim, dentre todos os compostos porfirínicos avaliados, a [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl inédita foi a mais tóxica para a forma promastigota, podendo sugerir que o aumento de atividade ocorreu devido à inserção do cátion e possivelmente aos ligantes axiais.

Em estudos com a metaloporfirina hidrossolúvel [Zn^{II}(TE-2-PyP)]⁴⁺ (Figura 91, Apêndice J) para avaliação da atividade leishmanicida contra a forma promastigota de espécies de *L. braziliensis*, Andrade e colaboradores²⁶ mostraram a importância do tempo de incubação na determinação dos valores de CI_{50} (Figura 92, Apêndice J). O estudo foi realizado com medições em 24, 48 e 72 horas, variando as concentrações de [Zn^{II}(TE-2-PyP)]⁴⁺. Os resultados obtidos indicam que a partir de 48 horas que o composto apresentou atividade relevante contra os promastigotas, e que se fossem determinados os valores de CI_{50} com base em 24 horas, os resultados não refletiriam o potencial da [Zn^{II}(TE-2-PyP)]⁴⁺. Devido a este estudo, para a comparação dos resultados obtidos neste trabalho, utilizaram-se apenas estudos em que os valores de CI_{50} foram determinados com 72 horas. Voltando aos estudos de Andrade e colaboradores²⁶, para a espécie *L. braziliensis*, após 72 h de tratamento com a porfirina de zinco hidrossolúvel, verificou-se um valor de CI_{50} de 45 μM . Comparando esse valor com os obtidos neste estudo, a [Zn^{II}(TE-2-PyP)]⁴⁺ apresentou baixa toxicidade contra os promastigotas.

Na literatura existem dois trabalhos utilizando porfirinas de Sb(V) no estudo da atividade leishmanicida.^{25,27} Gomes²⁷ realizou ensaios da porfirina base livre H₂T4MPP e [Sb^VBrCl(T4MPP)]Br contra a espécie *L. braziliensis* M2904 e verificou que ao ser inserido o íon metálico no macrociclo,

ocorreu um aumento na toxicidade em promastigotas. A porfirina H₂T4MPP apresentou valores de Cl₅₀ maiores que 10 µM, pois a partir dessa concentração não foi mais possível medir a atividade leishmanicida devido a sua precipitação, colorindo o meio de cultura. O complexo [Sb^VBrCl(T4MPP)]Br apresentou atividade leishmanicida com valores de Cl₅₀ de (0,52 ± 0,07) µM para a espécie *L. braziliensis* M2904, sendo mais tóxico quando comparado com o composto [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl desta tese. Gomes e colaboradores²⁵ também estudaram a atividade leishmanicida dos compostos porfirínicos H₂T4CMPP e [Sb^VBr₂(T4CMPP)]Br em espécies *L. amazonensis*, na forma promastigota durante 72 horas, encontrando valores de Cl₅₀ de (93,8 ± 1,2) µM e (4,4 ± 1,2) µM, respectivamente. Pode-se observar novamente que a inserção do Sb(V) aumentou a toxicidade contra a forma promastigota, e que a H₂T245TMPP se mostrou mais eficiente que a H₂T4CMPP.

Apenas os valores de Cl₅₀ dos compostos não são suficientes para avaliar a atividade leishmanicida, pois se os compostos apresentarem alta citotoxicidade para macrófagos sem parasitos, os efeitos adversos aos humanos podem ser severos. Desta forma, ensaios de citotoxicidade (concentração tóxica para 50% das células, CC₅₀) foram realizados utilizando monócitos humanos imortalizados. Muitos ensaios *in vitro* usam essas linhagens celulares como THP1 humana, pertencente a leucemia monocítica humana, um modelo bem estabelecido e amplamente utilizado para investigar a função biológica de monócitos e macrófagos humanos^{219,220}. Os ensaios foram realizados utilizando o corante resazurina, um indicador redox que se converte em corante resorufina fluorescente e colorimétrico pelas células metabolicamente ativas.^{47,221} Os resultados de CC₅₀ (Tabela 16) mostram que a [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl é a menos citotóxica dentre todos os compostos estudados com valor de CC₅₀ de (34,37 ± 1,90) µM, semelhante ao valor da miltefosina (39,08 ± 1,49 µM), medicamento de referência. Além disso, os outros compostos porfirínicos apresentaram citotoxicidade semelhante (24,07 a 26,65 µM).

Gomes²⁷ determinou os valores de CC₅₀ dos compostos porfirínicos H₂T4MPP e [Sb^VBrCl(T4MPP)]Br contra monócitos THP1 utilizando a mesma metodologia do presente trabalho, obtendo os valores > 25 µM e (2,00 ± 0,56) µM, respectivamente. Com esses valores, podemos verificar que as porfirinas de Sb(V) deste trabalho são menos citotóxicas que a descrita na literatura para o mesmo monócito, sendo o único trabalho que relata este estudo com porfirina de Sb(V). Relacionando os valores de Cl₅₀ e CC₅₀ da [Sb^VBrCl(T4MPP)]Br,²⁷ podemos verificar que mesmo ela sendo mais ativa contra a forma promastigota ao comparar com a [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl, simultaneamente, ela é mais citotóxica para macrófagos.

O índice de seletividade (IS) é um parâmetro que permite avaliar o quanto um composto é ativo contra o parasito sem causar danos à viabilidade das células de mamíferos. Quanto maior o valor de IS, mais seletivo é o composto sobre o parasito e, conseqüentemente, menor efeito ele tem sobre a THP1.²¹⁸ Os valores de IS foram obtidos pela razão entre CC₅₀ e Cl₅₀. Devido a problemas com as placas de leitura, não foi possível determinar os valores de Cl₅₀ e CC₅₀ dos controles positivos Anfotericina B e a Miltefosina, medicamento de referência para o tratamento da leishmaniose. Portanto, foram utilizados os dados dos estudos de Chaves e colaboradores²¹⁸ que determinaram as concentrações das citotoxicidades contra as formas promastigotas de *L. Braziliensis* H3227 e a citotoxicidade contra monócitos THP1, utilizando a mesma metodologia descrita neste trabalho.

Comparando os resultados de todos os compostos porfirínicos estudados (Tabela 16) com o controle positivo anfotericina B, pode-se verificar que os compostos apresentaram menor IS. A anfotericina B apresentou um IS de 120, sendo potencialmente seletiva para a forma promastigota. Entretanto, quando comparados os valores de CC₅₀, podemos verificar que as porfirinas são menos tóxicas que o medicamento. Os dados da Miltefosina não foram determinados pelo autor.²¹⁸

Considerando a atividade dos compostos porfirínicos contra a forma promastigota, com IS indicando que esses compostos são mais tóxicos para o parasito do que para as células saudáveis, torna-se interessante verificar sua atividade frente às formas amastigotas do parasito, como será descrito no item a seguir.

5.2.1.2 Atividade leishmanicida contra formas amastigotas do parasito

Poucos estudos (15 trabalhos) a respeito da avaliação da atividade leishmanicida de compostos porfirínicos foram publicados até o presente momento.^{25,26,27,261-272} Porém, os que foram publicados que poderiam ser relacionados a este trabalho: (a) não apresentam dados na forma de CI₅₀ e CC₅₀; (b) possuem dados apenas na forma promastigota e (c) apresentam resultados obtidos em condições muito diferentes (espécies *leishmania*, tempo de estudo, faixa de concentração, ligantes e metais diferentes), o que não permite uma comparação adequada entre os dados.

Após verificar que os compostos são tóxicos para a forma promastigota, foi testada a atividade leishmanicida contra a forma amastigota intracelular no modelo macrófago-infectado, o qual reproduz de forma mais próxima a condição de infecção no hospedeiro mamífero.²⁵ Na Tabela 17 estão apresentados os dados de CI₅₀ dos compostos porfirínicos contra a forma amastigota de espécies de *L. Braziliensis* H3227, os valores de CC₅₀ contra monócitos THP1 e IS. Para controle positivo foram utilizados os dados do trabalho de Espinosa e colaboradores²²² que realizaram os estudos nas mesmas condições apresentadas na sessão 2.1.7.3, com a mesma espécie de *Leishmania*.

Tabela 17 – Concentrações inibidoras do crescimento (CI₅₀) dos compostos porfirínicos contra a forma amastigota de espécies de *L. Braziliensis* H3227, citotoxicidade (CC₅₀) contra monócitos THP1 e índice de seletividade (IS)

Compostos	^a CI ₅₀ (μM) ± ^b DP	^c CC ₅₀ (μM) ± DP	^d IS
H ₂ T245TMPP	1,79 ± 0,09	26,65 ± 0,38	14,89
H ₂ T35DMPP	1,38 ± 0,10	25,69 ± 1,00	18,62
[Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl	3,70 ± 0,37	34,37 ± 1,90	9,29
[Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl	3,00 ± 0,02	24,07 ± 0,19	8,02
Miltefosina	6,68 (5,55 – 8,03)	39,08 (37,65 – 40,57)	5,85 ²²²
Anfotericina B	0,12 (0,10 – 0,15)	12 (11,43 – 12,59)	100 ²²²

^aCI₅₀: Concentração do composto que inibe 50% do crescimento do parasito. ^bDP: Desvio padrão. ^cCC₅₀: Concentração do composto que mata 50% da célula macrófago. ^dIS: índice de seletividade, calculado como a razão entre CC₅₀ em monócitos THP1.

Analisando os valores de CI₅₀, para todos os compostos porfirínicos observa-se um aumento na toxicidade para a forma amastigota (Tabela 17) quando comparados aos dados para as formas promastigotas extracelulares (1,1 a 9,6 vezes, Tabela 16). Destaca-se que nos ensaios na forma

promastigotas da *L. braziliensis*, o complexo $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ apresentou maior atividade leishmanicida, com menor valor de CI_{50} . Entretanto, para a forma amastigota esse complexo inédito foi o menos ativo dentre todos os compostos. As porfirinas base livre mostraram-se mais eficazes para a forma amastigota intracelular que as porfirinas de $Sb(V)$, podendo agir por mecanismos diferentes contra a espécie *L. braziliensis*.

Andrade e colaboradores²⁶ avaliaram a atividade da $[Zn^{II}(TE-2-PyP)]^{4+}$ hidrossolúvel em amastigotas da espécie *L. braziliensis*, entretanto o composto não foi ativo em concentrações de 5 ou 10 μM . Abada e colaboradores estudaram a atividade leishmanicida de uma série de porfirinas base livres, mudando os grupos das posições *meso* do macrociclo, contra a forma amastigota da espécie *L. donovani*, entretanto todos os compostos foram inativos a 20 μM , sem toxicidade nesta concentração. Desta forma, pode-se ressaltar que as porfirinas base livre avaliadas nessa tese, foram mais ativas que as porfirinas sintetizadas por Abada e colaboradores.

Gomes²⁷ estudou a atividade dos compostos porfirínicos $H_2T4CMPP$ e $[Sb^VBr_2(T4CMPP)]Br$ contra a espécie *L. amazonensis* na forma amastigota, que também desenvolve a leishmaniose tegumentar. O ligante foi ativo em uma concentração mais elevada do que 100 μM , mas o valor não pôde ser determinado com precisão por causa da limitação da solubilidade da $H_2T4CMPP$. O complexo $[Sb^VBr_2(T4CMPP)]Br$ apresentou valor de CI_{50} de $(53,0 \pm 1,2) \mu M$, sendo menos ativo que os compostos estudados neste trabalho. Os autores sugeriram que a diminuição na toxicidade nos estudos em amastigotas, quando comparados aos promastigotas ($4,4 \pm 1,2 \mu M$), foi o fato do complexo ser parcialmente inativado pelo macrófago, a sua captação pelos parasitos pode ser limitada devido à sua localização intracelular dentro do vacúolo parasitóforo ou os amastigotas podem apresentar sensibilidade inferior ao complexo em comparação aos promastigotas.²⁷

Comparando os valores de CI_{50} dos compostos porfirínicos do presente trabalho com a Miltefosina, fármaco de referência (Tabela 17), os compostos apresentaram valores menores, sendo mais ativos para a forma amastigota da mesma espécie de *Leishmania*. Entretanto, a Anfotericina B ainda possui maior atividade leishmanicida.

De maneira geral, quando avaliados os valores de índice de seletividade (IS) dos compostos porfirínicos, nenhum valor foi maior que o medicamento anfotericina B. Entretanto, para os monócitos THP1, as porfirinas e os respectivos complexos foram menos citotóxicos do que a anfotericina B, sendo um resultado positivo. Quando comparados os valores de IS dos compostos porfirínicos com a Miltefosina, único medicamento utilizado por via oral, todos possuem valores maiores, mostrando serem compostos mais seletivos para as células contendo o parasito.

Como apresentado na sessão 5.1.1.3, estudos sugerem que os fármacos antimoniais pentavalentes atuam como um pró-fármaco no tratamento das leishmanioses e que, ao serem inseridos no organismo dos mamíferos, são reduzidos a $Sb(III)$ por moléculas presentes no meio intracelular.^{190,191,223} Vale ressaltar que, apesar das porfirinas de $Sb(V)$ serem menos ativas que as porfirinas base livre, elas possuem atividade leishmanicida, com IS superior à miltefosina, e podem ser compostos de interesse em estudos mais avançados. Desta forma, buscou-se a compreensão dos mecanismos de ação dessas porfirinas de $Sb(V)$ utilizando moléculas presentes no organismo dos mamíferos que podem, de alguma forma, interagirem com os compostos estudados.

5.2.2 Estudos da redução de Sb(V) em Sb(III) em modelos de condições fisiológicas

Considerando a atividade leishmanicida que os complexos porfirínicos apresentaram nos estudos em promastigotas e amastigotas (sessão 5.2.1), foram realizados alguns experimentos com a GSH e a L-cisteína, com o objetivo de avaliar se essas moléculas são capazes de reduzir o Sb(V) a Sb(III) dos complexos, em um meio que se assemelha às condições fisiológicas. Os ensaios foram realizados em DMSO/tampão PBS (1%, v/v) em pH = 5, 6 e 7,4, em concentração de 2 mM dos agentes redutores.^{190,191,223-225} Os complexos porfirínicos foram adicionados, mantendo uma concentração de 5 μ M no meio em 37 °C.

Os espectros na região de UV-VIS foram medidos em diferentes tempos (0, 24, 48 e 72 horas), para verificar as mudanças espectrais nas bandas de absorção das porfirinas de Sb(V). Nas Figura 55 e 56 estão apresentados os espectros UV-VIS para as reações de oxirredução dos complexos $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (com os agentes redutores GSH e L-cisteína), em pH = 7,4 (os espectros para outros valores de pH estão no Apêndice K).

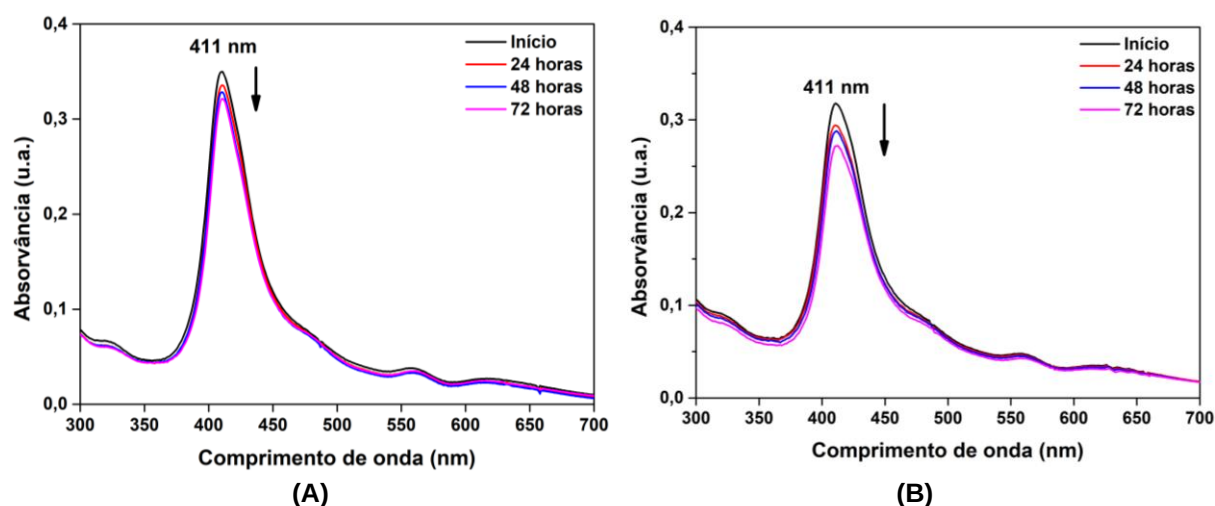


Figura 55 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-VIS para as reações de oxirredução da porfirina $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (5 μ M), em solução tampão PBS em pH 7,4, a 37 °C, com os agentes redutores a) GSH e b) L-cisteína, em concentração de 2 mM.

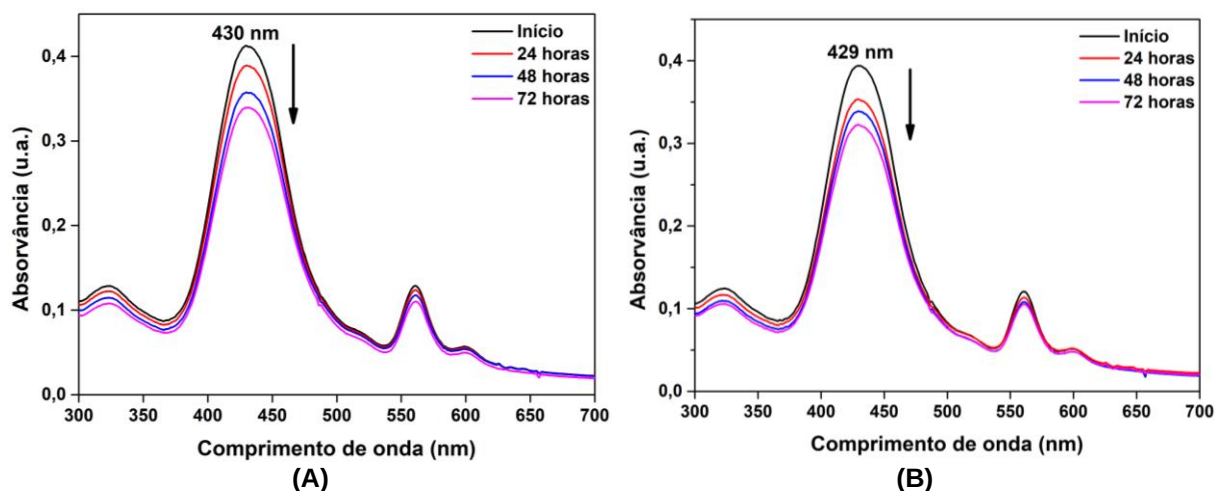


Figura 56 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-VIS para as reações de oxirredução do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (5 μ M), em solução tampão PBS em pH 7,4, a 37 °C, com os agentes redutores a) GSH e b) L-cisteína, em concentração de 2 mM.

Podemos verificar nas Figura 55 e 56 que não ocorreram grandes variações espectrais que indiquem uma redução do Sb(V) para Sb(III) pelos agentes redutores GSH e L-cisteína. Caso ocorresse uma redução do íon Sb(V), teríamos um complexo $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ e o sistema eletrônico mudaria, consequentemente o espectro possuiria outras características. Os complexos $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ apresentam espectros classificados como normais, com as bandas Q (visível), B (Soret) e N (UV próximo) na região entre 700 – 300 nm. Essas bandas são originadas de transições $\pi\text{-}\pi^*$, por exemplo, $a_{1u}(\pi)$, $a_{2u}(\pi) \rightarrow e_g(\pi^*)$, de acordo com o modelo de quatro orbitais de Gouterman.^{77,87} As bandas N podem ou não aparecer nos espectros, a depender da estrutura do macrociclo.

A redução do Sb(V) dos complexos $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ formaria $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T245TMPP})]$ e $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T35DMPP})]$, respectivamente. Essas porfirinas de Sb(III) são classificadas como hiperporfirinas irregulares do tipo *p* que apresentam bandas extras, em adição às bandas Q, B e N, na região entre 300-800 nm. Um padrão espectral exibido por várias hiperporfirinas é conter uma banda na região 440-480 nm (banda Soret) e uma segunda banda extra próxima do UV 350-380 nm. A banda extra característica nos espectros desses complexos é devido a transferência de carga metal-ligante (TCML) do metal para o macrociclo porfirínico dos orbitais $a_{2u}(n_{pz}, \text{metal}) \rightarrow e_g(\pi^*, \text{ligante})$ ^{77,87}. Dependendo da quantidade relativa de TCML ou do caráter Soret, a banda em 350 nm ou em 450 nm pode ser a mais intensa.

Para exemplificar a diferença espectral entre porfirinas de Sb(III) e Sb(V), na Figura 57 estão apresentados os espectros dos complexos $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T4MPP})]$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T4MPP})]\text{Cl}$. Pode-se verificar que para a porfirina de Sb(III), há uma banda extra em 346 nm, ausente para o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T4MPP})]\text{Cl}$. Pelos testes de oxirredução realizados nesse trabalho, poderíamos sugerir que para o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (Figura 56 e Figura 94 no Apêndice K), há uma banda de transferência de carga na mesma região presente no espectro $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T4MPP})]$ (Figura 57, linha sólida). Entretanto, essa hipótese pode ser excluída, pois o espectro para esse complexo, na ausência de GSH ou L-cisteína (Figura 56 e Figura 94 no Apêndice K, tempo 0 h), já apresenta essa banda. Além disso, não ocorre um deslocamento do comprimento de onda da banda Soret, característico quando converte-se Sb(V) a Sb(III).

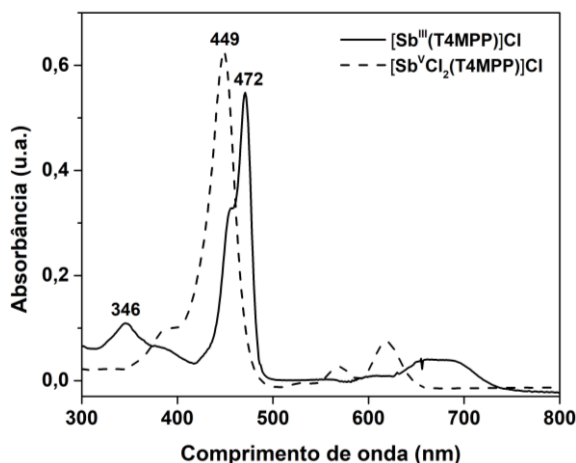


Figura 57 – Espectros eletrônicos de absorção na região do UV-VIS para os complexos $[\text{Sb}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{T4MPP})]$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T4MPP})]\text{Cl}$.

Em nenhuma reação de oxirredução contendo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (Figura 55 e 56 no texto e Figura 93 e 94, Apêndice K) foram observadas evidências das reduções do Sb(V). Frézard e colaboradores¹⁷¹ estudaram a oxidação do Sb(V) presente no medicamento antimoniato de meglumina em pH = 7,2 para mimetizar o meio externo e do citosol, enquanto o pH = 5 imitou as condições do fagolisossoma. A concentração de GSH foi 10 mM e a concentração de Sb(V) foi de 2 mM, mantendo a proporção de 5:1 (GSH:Sb, Equação 6, pág. 108). Os autores observaram que nenhuma quantidade significativa de Sb(III) foi detectada em pH 7,2. Entretanto, cerca de 30% do Sb(V) foi convertido em Sb(III) a 37 °C após uma incubação de 72 horas a pH = 5, que são as condições usadas para promover a transformação de promastigotas em amastigotas. Desta forma, os resultados de Frézard e colaboradores demonstraram que GSH promove a redução de Sb(V) a Sb(III) e que a reação fora favorecida em meio ácido. Com isso, eles propuseram que o complexo de antimônio deve primeiro se dissociar para permitir a redução de Sb(V) e que uma das principais formas solúveis de Sb(V) na faixa de pH de 2 a 8 é o SbO_3^- , corroborando a Equação 6 (pág. 108). Nos estudos com os compostos porfirínicos $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$, nas condições de pH = 5 e 37 °C na presença de GSH (Figura 50), também não foi observada a redução do Sb(V). Pelos espectros de absorção na região UV-VIS (Figura 55-56 e Figura 93-94, Apêndice K), verificou-se que não ocorre uma dissociação do metal do macrociclo e, com isso, podemos sugerir que o mecanismo de ação das porfirinas pode ser diferente dos medicamentos antimoniais pentavalentes, corroborando com o trabalho de Gomes²⁷.

Ferreira e colaboradores¹⁹¹ estudaram a redução do Sb(V) do antimoniato de meglumina (2 mM) pela L-cisteína (Figura 50), em pH = 5 e pH = 7,4 a 37 °C com concentração de 10 mM. Diferentemente dos estudos com GSH, a redução do Sb(V) foi observada em pH = 5 e 7,4, sendo 3,3 vezes maior em pH = 5. Os autores testaram um antimoniato (hexahidroxidoantimoniato(V) de potássio) e verificaram que em pH = 5 a redução do Sb(V) foi cerca de 8 vezes maior do que com antimoniato de meglumina, indicando que a complexação de Sb(V) diminuiu a velocidade de sua redução pelo composto tiol. Quando comparados com os resultados deste trabalho para os complexos de Sb(V), verificamos que em condições semelhantes, não foi observada redução do centro metálico, novamente reforçando um mecanismo de ação diferente dos medicamentos antimoniais.

A partir dos estudos das reações de oxirredução dos tióis GSH e L-cisteína com os complexos de Sb(V), podemos verificar que não ocorreu a redução do centro metálico. Desta forma, pode-se verificar que as variações que ocorreram nos espectros podem ser atribuídas à agregação dos compostos porfirínicos, como será abordado no próximo tópico.

5.2.3 Estudos de Interação entre os compostos porfirínicos e o ssADN

Nesta sessão serão apresentados os resultados dos estudos de interação entre os compostos porfirínicos e o ssADN utilizando as técnicas espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível, dicróismo circular e de fluorescência. Os modos de interação não covalentes desencadeiam mudanças na estereoquímica dessa biomolécula, quebra da fita e/ou impedimento de replicação.²⁰⁵ Desta forma, com esse estudo, buscou-se analisar de que maneira os compostos porfirínicos poderiam

interagir com o ADN, caso chegassem até o núcleo. Esses dados podem fornecer o possível potencial desses compostos como agentes anticancerígenos ou apenas em avaliar a toxicidade que eles podem gerar ao organismo, interferindo nos efeitos colaterais ou adversos de um fármaco.

5.2.3.1 Estudo de agregação, estabilidade e diluição dos compostos porfirínicos

Todos as titulações espectrofotométricas na região do UV-VIS para o estudo de interação entre o ADN e os compostos porfirínicos foram realizados em ambientes predominantemente hidrofílico e os compostos são hidrofóbicos. Desta forma, as mudanças espectrais nas titulações podem ser originadas por efeitos de agregação, estabilidade ou diluição, visto que eram adicionadas quantidades sucessivas de solução de ADN na solução contendo os compostos.

Para os testes de agregação utilizaram-se três condições para identificar a possibilidade de agregação dos compostos porfirínicos: (1) o uso de agitação magnética; (2) sem agitação; e (3) dez agitações consecutivas, utilizando-se uma micropipeta de 1000 μL , e medindo o espectro a cada 5 min para analisar as mudanças espectrais. Esse estudo foi importante para definir qual seria a condição para se realizar o estudo de interação por titulação espectrofotométrica na região do UV-VIS, buscando minimizar qualquer interferência. Os espectros dos testes utilizando a agitação magnética para as porfirinas $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$, estão apresentados na Figura 58.

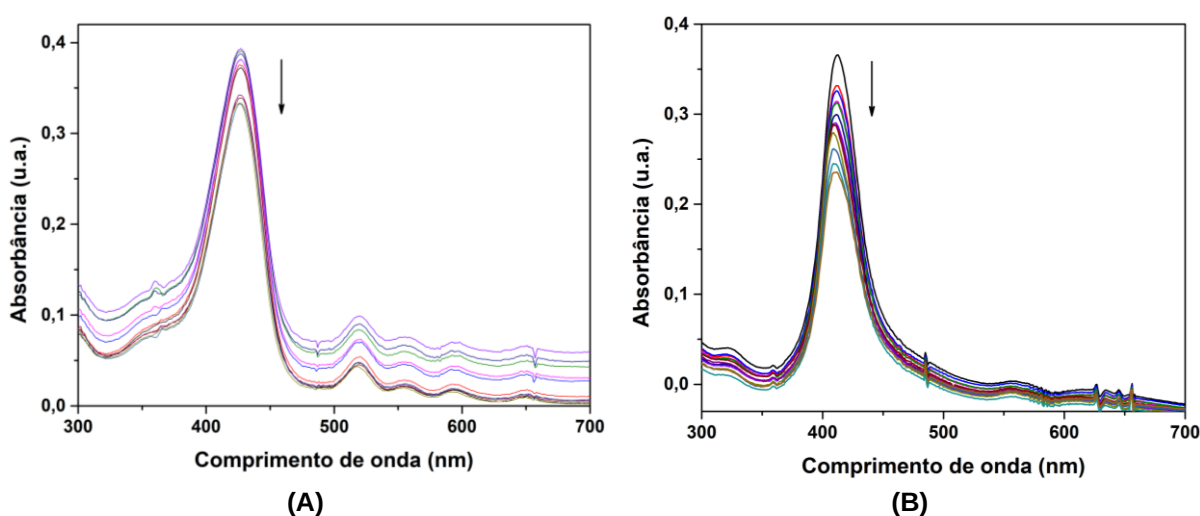


Figura 58 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação magnética: (A) $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37 °C.

O uso da agitação magnética (Figura 58) tornou-se inviável para homogeneização da solução, uma vez que ocorreu uma diminuição elevada da absorbância na região da banda Soret como visto na Tabela 18 (15% para $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ e 36% para $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$). A agregação foi menor para a porfirina $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ quando comparado à $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$. Esse resultado não era esperado, pois acreditava-se que, devido ao maior impedimento estérico gerado pela presença dos ligantes axiais e o centro metálico, ocorresse uma diminuição na aproximação entre as moléculas,

diminuindo a agregação em solução. Para os compostos $H_2T35DMPP$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ (Figura 95, Apêndice L) a porcentagem de agregação foi semelhante (Tabela 18)

Tabela 18 – Variação da absorbância em porcentagem (%)^a obtidos a partir dos testes de agregação, diluição e estabilidade, para os compostos porfirínicos estudados.

Porfirinas	Agitação Magnética (%)	Agitação Mecânica (%)	Sem agitação (%) e estabilidade	Diluição (%)
$H_2T245TMPP$	11	4	1	1
$H_2T35DMPP$	15	5	4	5
$[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$	36	1	1	3
$[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$	14	5	2	3

^a $100 - [(Absorbância_{menor} \times 100) / Absorbância_{maior}]$.

O teste de agregação utilizando as dez agitações consecutivas da solução com micropipeta (1000 μL), foi o que demonstrou maior potencial para ser utilizado nas titulações espectrofotométricas. Os espectros dos compostos $H_2T245TMPP$ e $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (Figura 59) mostram que ocorreu uma porcentagem baixa de agregação (Tabela 18), verificada pela variação na absorbância no comprimento de onda da banda Soret e, também, por ocorrer apenas a variação de 1 nm no comprimento de onda da banda Soret. Desta forma, utilizou-se esse meio de agitação nos testes de interação entre o ADN e os compostos porfirínicos.

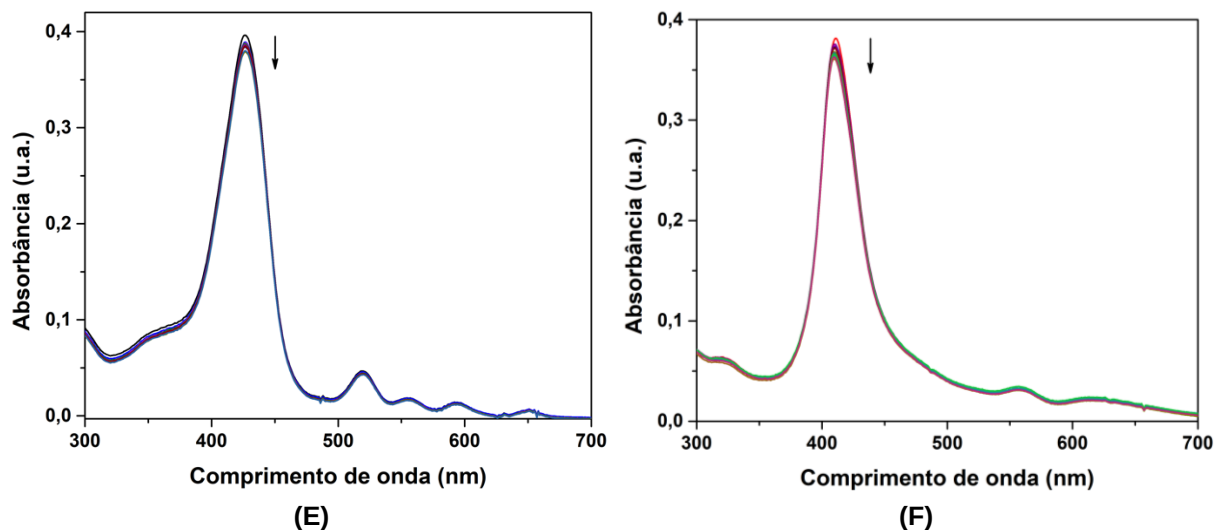


Figura 59 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação mecânica (usando uma micropipeta): (A) $H_2T245TMPP$ e (B) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37 °C.

Os testes de estabilidade e teste de agregação sem agitação são os mesmos, pois não estão em contato com nenhum modo de homogeneização. As soluções com concentração de 5 μM dos compostos porfirínicos, em experimentos independentes, foram mantidos sob repouso durante 5 min, medindo-se o seu espectro de absorção. Repetiu-se esse procedimento até completar o tempo de 60 min. Nos espectros apresentados nas Figura 60 e Figura 97 (Apêndice M), pode-se verificar que os compostos são estáveis no meio estudado (DMSO ou DMF/Tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4),

ocorrendo uma baixa variação nos valores de absorbância da banda Soret (Tabela 18). A falta de agitação diminui a homogeneização da solução, ocasionando erros na leitura e minimizando as interações entre o ADN e os compostos porfirínicos.

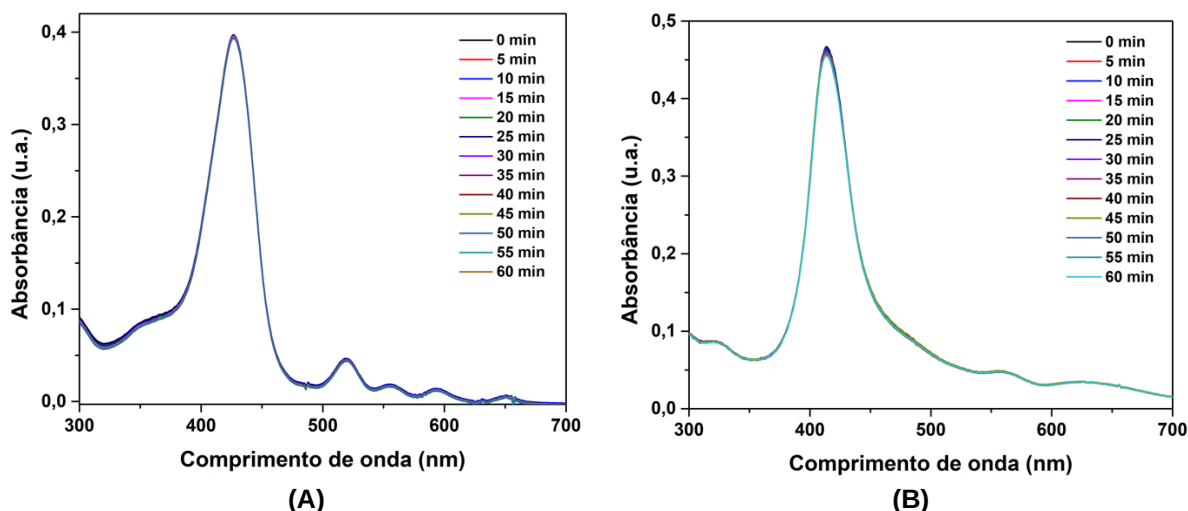


Figura 60 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de estabilidade e de agregação sem agitação: (A) H₂T245TMPP e (B) [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37 °C.

Nos testes de diluição (Apêndice N, Tabela 18), foram adicionados 3 µL de tampão PBS pH= 7,40 nas soluções de cada porfirim, deixado em repouso por 5 min e medido seu espectro. A porfirim H₂T35DMPP apresentou maior variação em porcentagem (5%) que as demais porfirinas. Esse resultado era esperado, pois acredita-se que além do efeito de diluição, há agregação. Devido a estrutura ser simétrica, a aproximação entre as moléculas é maior, consequentemente, maior variação na intensidade de absorção no espectro eletrônico foi observada.

5.2.3.2 Titulação espectrofotométrica na região do UV-VIS

Na literatura há vários relatos de estudos da interação entre compostos porfirínicos e ácidos nucleicos realizados por meio de titulações espectrofotométricas, monitoradas na região do UV-VIS.^{27,226-228} Porém, conhece-se apenas um estudo com porfirinas de Sb(V) e uma biomolécula como o ADN, sendo este desenvolvido previamente no grupo de pesquisa.²⁷

No presente trabalho, a interação dos compostos porfirínicos H₂T245TMPP, [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl e [Sb^VCl₂(T35DMPP)]Cl com ssADN foi avaliada por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS na faixa de 300 - 700 nm, em DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4. A porfirim H₂T35DMPP foi estudada em DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 devido à baixa solubilidade em DMSO. No estudo de interação do ssADN com esses compostos porfirínicos foram adicionados 30 µL da solução de ssADN, em alíquotas de 3 µL, em que a concentração dessa substância variou entre 0 e 1,2 × 10⁻⁴ M.

O efeito de diferentes concentrações de ssADN, nos espectros de absorção, para ambas porfirinas base livre, H₂T245TMPP (Figura 61a) e H₂T35DMPP (Figura 62a), indica um acentuado

hipocromismo na banda Soret característica desses compostos. Ao final do experimento, a porfirina H₂T245TMPP apresentou um hipocromismo de 25% ($\lambda_{\text{máx}} = 427 \text{ nm}$) enquanto para a porfirina H₂T35DMPP o deslocamento foi de 33% ($\lambda_{\text{máx}} = 423 \text{ nm}$). Observa-se nas Figura 61a e 62a que, à medida em que se adicionaram alíquotas de ssADN, houve uma alteração discreta no valor do $\lambda_{\text{máx}}$ de 1 nm para as porfirinas H₂T245TMPP e H₂T35DMPP, estando dentro do erro de medição do equipamento.

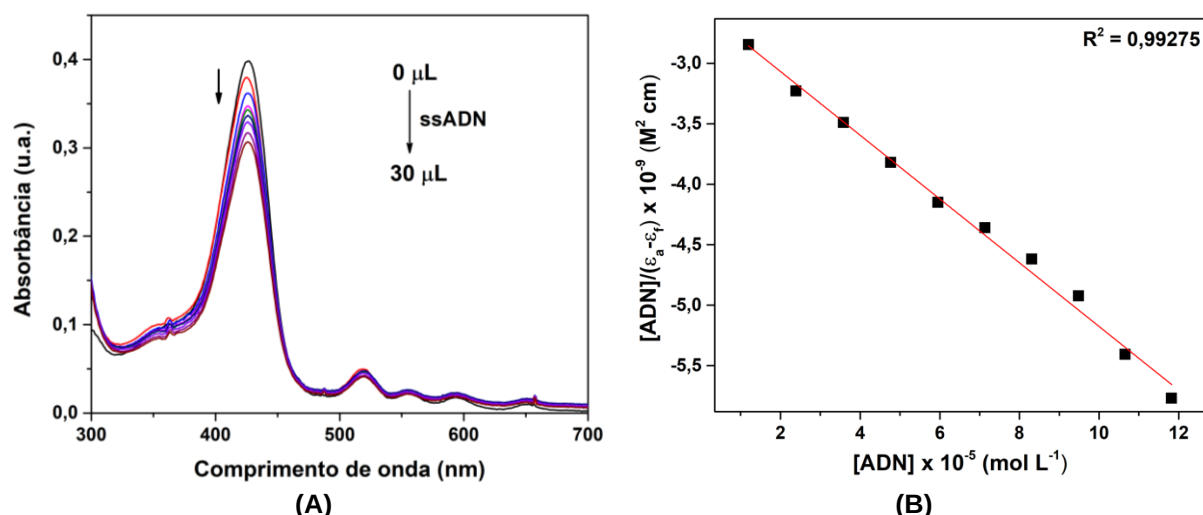


Figura 61 – a) Variação espectral na titulação da porfirina H₂T245TMPP após sucessivas adições de ssADN, a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[\text{ADN}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [\text{ADN}]$. $\lambda_{\text{máx}}$: 427 nm.

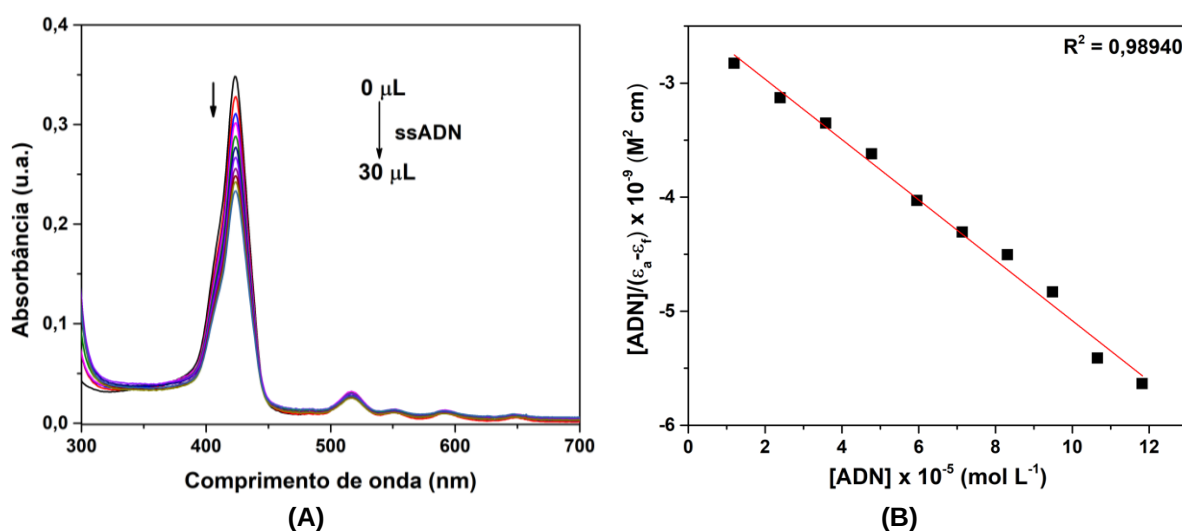


Figura 62 – a) Variação espectral na titulação da porfirina H₂T35DMPP após sucessivas adições de ssADN a cada 5 min. Condições: DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[\text{ADN}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [\text{ADN}]$. $\lambda_{\text{máx}}$: 423 nm.

O efeito de diferentes concentrações de ssADN, nos espectros de absorção, para ambas porfirinas de Sb(V), [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl (Figura 63a) e [Sb^VCl₂(T35DMPP)]Cl (Figura 64a), também indica um hipocromismo na banda Soret de cada um desses compostos, ao final do experimento. Foi verificado um hipocromismo de 24% ($\lambda_{\text{máx}} = 412 \text{ nm}$) e 18% ($\lambda_{\text{máx}} = 426 \text{ nm}$), respectivamente, para esses complexos. Analisando-se as Figura 63a e Figura 64a, verifica-se que o padrão do deslocamento

do comprimento de onda da banda Soret varia de forma distinta para cada complexo. No composto $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$, nota-se um hipsocromismo no valor de $\lambda_{\text{máx}}$ de 3 nm, enquanto no $\lambda_{\text{máx}}$ para $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$, verifica-se um batocromismo de 1 nm (dentro do erro de medida do equipamento).

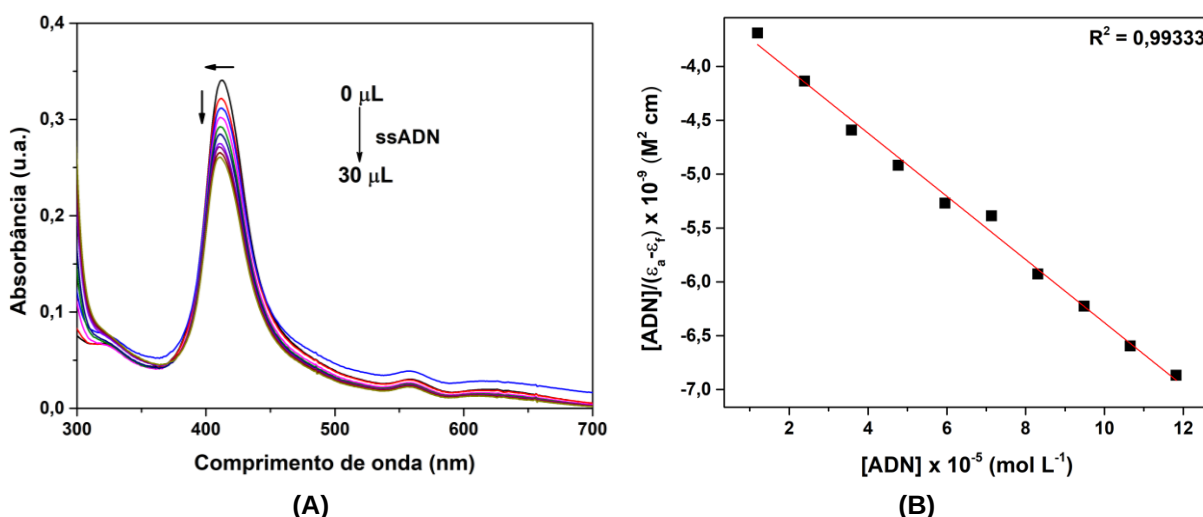


Figura 63 – a) Variação espectral na titulação do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ após sucessivas adições de ssADN, a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[\text{ADN}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [\text{ADN}]$. $\lambda_{\text{máx}}$: 412 nm.

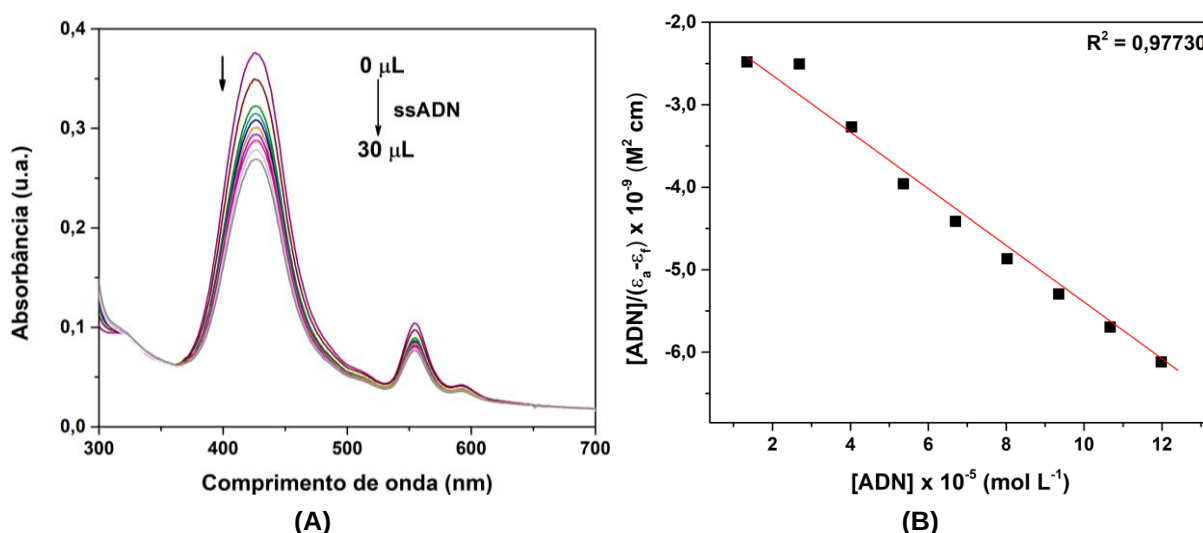


Figura 64 – a) Variação espectral na titulação do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ após sucessivas adições de ssADN a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $[\text{ADN}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) \times [\text{ADN}]$. $\lambda_{\text{máx}}$: 426 nm.

As titulações espectrofotométricas na região do UV-VIS dos compostos porfíricos apresentam modificações espectrais que evidenciam a interação desses compostos, separadamente, com o ssADN. A avaliação do padrão de modificação espectral permite propor, dentre as formas possíveis de interação composto-ssADN, aquela que deve ser a responsável pelas alterações observadas nos experimentos realizados.

A partir da análise dos dados de absorbância obtidos nos respectivos comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máx}}$) dos compostos porfirínicos, foi possível determinar a constante de ligação intrínseca (K_b) entre cada um desses e o ssADN, por meio da equação de Scatchard (Equação 8).^{226,229}

$$\frac{[\text{ADN}]}{(\varepsilon_a - \varepsilon_f)} = \frac{[\text{ADN}]}{(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} \quad \text{Equação 8}$$

em que ε_a , ε_f e ε_b correspondem, respectivamente, ao coeficiente de absorvidade molar em cada adição de ssADN, do composto porfirínico totalmente livre e do composto porfirínico totalmente ligado ao ssADN, respectivamente. Assim, a constante K_b é a razão entre os coeficientes angular e linear do gráfico $[\text{ADN}]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ versus $[\text{ADN}]$.^{226,229}

As curvas obtidas para a avaliação da relação $[\text{ADN}]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ versus $[\text{ADN}]$, considerando-se a equação de Scatchard (Equação 8), foram devidamente apresentadas para os compostos $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ (Figura 61b), $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ (Figura 62b), $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (Figura 63b) e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ (Figura 64b). Por meio de cada equação da reta, obtida por regressão linear das curvas supracitadas, foi possível determinar a constante de ligação K_b com o ssADN para todos os compostos estudados, conforme apresentado na Tabela 19.

Tabela 19 – Equação da reta, obtida por regressão linear segundo a equação de Scatchard, e os valores das constantes de ligação intrínseca (K_b) com o ssADN para os compostos porfirínicos estudados.^a

Compostos	Equação da reta ($y = Ax + B$)		Constante de ligação intrínseca (K_b) ($\times 10^4 \text{ M}^{-1}$)
	A	B	
$\text{H}_2\text{T245TMPP}$	$-2,63 \times 10^{-5}$	$2,54 \times 10^{-9}$	1,04
$\text{H}_2\text{T35DMPP}$	$-2,65 \times 10^{-5}$	$2,43 \times 10^{-9}$	1,09
$[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$	$-4,93 \times 10^{-5}$	$3,44 \times 10^{-9}$	1,43
$[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$	$-3,43 \times 10^{-5}$	$2,96 \times 10^{-9}$	1,16

^a Parâmetros determinados por titulação espectrofotométrica na região do UV-VIS para a interação porfirina-ssADN.

A partir desses experimentos de titulações por UV-VIS entre os compostos porfirínicos e o ADN, é possível propor modos de interação. Pela literatura, dentro dos modos de interação não covalente se enquadram: a intercalação^{201,202}, ligação ao sulco menor,²⁰³ ligação ao sulco maior²⁰³ e interação por vias externas²⁰⁴.

Compostos porfirínicos que se ligam ao ADN por meio de intercalação, geralmente resultam em elevado hipocromismo ($\Delta A \geq 35\%$) e um grande desvio batocrômico ($\Delta\lambda_{\text{máx}} \geq 15 \text{ nm}$)²³⁰ da banda Soret no espectro de absorção²¹⁰. Quimicamente falando, a intercalação pode ocorrer pela inserção de um sistema contendo anéis aromáticos planos em pares de bases da dupla hélice do ADN por meio da sobreposição entre o orbital π^* da molécula intercalada e o orbital π dos pares de bases do ADN. Essa sobreposição pode causar diminuição da energia de transição π - π resultando em batocromismo. Ao mesmo tempo, o orbital π que está nesta sobreposição pode diminuir as probabilidades de transição, pois é parcialmente preenchido por elétrons, resultando concomitantemente em hipocromismo.²³⁰ Uma

grande variação de absorbância é comumente consistente com a afinidade da interação por intercalação.²³¹

As moléculas com carga positiva possuem alta afinidade pelos sulcos menores, que são ricos em sequências Adenina-Timina.²³² Moléculas que interagem com os sulcos menores apresentam em seus espectros de absorção, pela adição de alíquotas de ADN, um deslocamento batocrômico menor que 8 nm e não há variações hipo- ou hipercrômicas na banda Soret.²¹⁰ O modo de interação eletrostática ocorre por meio da interação de porfirinas catiônicas com a estrutura do fosfodiéster, carregado negativamente, presente no ADN.²³² Quanto maior o número de cargas positivas, maior será a força da interação com o ADN e, em alguns casos, pode resultar em maior estabilização do meio para que ocorra a intercalação ou interação no sulco de maneira mais efetiva.²¹⁰ Para o modo de interação por vias externas, como citado na introdução deste capítulo (5.1.2.2), observam-se menores desvios para o vermelho ($\Delta\lambda \leq 8$ nm) e baixo deslocamento hipocrômico e, em alguns casos, pode ocorrer um efeito de hipercromicidade da banda Soret. Segundo Cho e colaboradores (2020)²³³, menores valores de hipocromismo e desvios para o vermelho (batocromismo) indicam que a porfirina liga-se ao lado externo do ADN. Na ligação externa, as porfirinas são empilhadas ao longo da hélice do ADN, interagindo por mais de um modo.

O valor da constante de ligação intrínseca (K_b) para compostos porfirínicos é diferente para cada modo de interação com o ADN de dupla hélice. A intercalação tem sido associada a valores de K_b em torno de 10^6 M⁻¹, para a interação no sulco menor, o valor de K_b está na ordem de 10^6 - 10^7 M⁻¹ e para atração eletrostática não específica, o valor do K_b está na ordem de 10^4 - 10^5 M⁻¹.^{207,209,215} Com base nesses valores, pode-se fazer uma inferência a respeito do modo de interação quando diferentes compostos porfirínicos são colocados em contato com o ADN de dupla hélice.

No estudo realizado neste trabalho, para todos os compostos obtiveram-se variações relativamente grandes nos valores de absorbância (hipocromismo), comparando-se os espectros inicial e final.²³² Entretanto, descarta-se a interação por intercalação por serem valores menores que 35%. O hipocromismo mais pronunciado ocorreu para a porfirina base livre H₂T35DMPP, com valor de 33%, quando comparado aos outros compostos com valores entre 18 e 25%. Além disso, a variação no comprimento de onda da banda Soret (batocromismo/hipocromismo) para todos os compostos porfirínicos ocorreu entre 0 e 3 nm, valores menores que não são característicos para o modo intercalativo de interação com o ssADN. A partir dos dados obtidos, a interação exclusivamente no sulco menor também pode ser descartada, mesmo ocorrendo variação no comprimento de onda da banda Soret menor do que 8 nm (variação esperada), pois o hipocromismo observado pela interação porfirina-ADN não é característica desse tipo de interação.²¹⁰ Além disso, a interação pelo sulco maior não pode ser confirmada por meio dos dados experimentais obtidos. Segundo Cho e colaboradores²³³, ocorrem pequenos desvios para o vermelho (batocromismo) para essa interação; entretanto, pelos valores de desvio de comprimento de onda serem de 1 nm, na faixa de erro do equipamento, não se pode confirmar que este pequeno deslocamento esteja relacionado a interações pelo sulco maior.

Os valores de K_b determinados para todos os compostos porfirínicos (Tabela 19) encontram-se na faixa de 10^4 M⁻¹. Para as porfirinas H₂T245TMPP e H₂T35DMPP, os valores de constante de ligação intrínseca foram de $1,04 \times 10^4$ e $1,09 \times 10^4$ M⁻¹, sendo menores quando comparado aos seus

complexos correspondentes, com valores de K_b de $1,43 \times 10^4$ e $1,16 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. Isto pode estar associado à inserção do íon Sb(V) e seus ligantes axiais no macrociclo porfirínico. Gomes²⁷, em estudos de interação dos complexos $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Br}_2(\text{T4CMPP})]\text{Br}$ (Figura 65a) e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{BrCl}(\text{T4MPP})]\text{Br}$ (Figura 65b) com o ctADN (ADN de timo de bezerro), buscava analisar os mecanismos de ação desses compostos considerando a atividade leishmanicida apresentada por eles. Esses complexos possuem apenas um grupo carbometoxila (Figura 65a) ou metoxila (Figura 65b), na posição para do anel arila presente na posição *meso* do macrociclo. Esses complexos com apenas um grupo substituinte no anel arila das posições *meso* (trabalho de Gomes, 2016), seguem o mesmo padrão de modificação espectral que as observadas neste trabalho; entretanto, as constantes na ordem de 10^5 M^{-1} indicam que o modo de interação com o ADN seja de natureza eletrostática. Os valores das constantes de ligação determinadas para os complexos de Gomes²⁷ foram de $2,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ($[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Br}_2(\text{T4CMPP})]\text{Br}$) e $2,0 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ($[\text{Sb}^{\text{V}}\text{BrCl}(\text{T4MPP})]\text{Br}$), sendo maiores que as descritas no presente trabalho para as porfirinas de Sb(V) com mais grupos metoxila (dois ou três grupos).

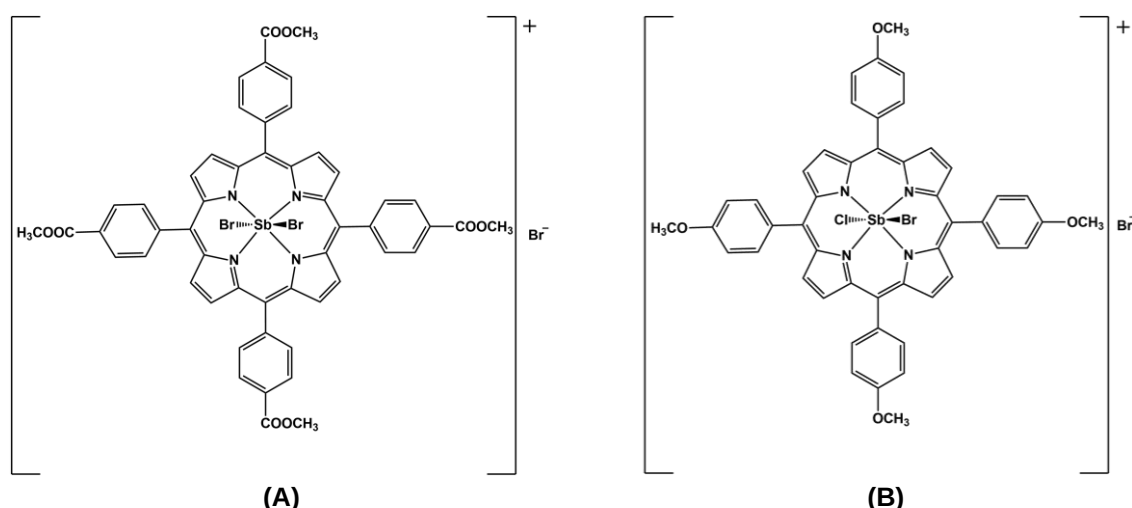


Figura 65 – Estrutura química dos complexos a) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Br}_2(\text{T4CMPP})]\text{Br}$ e b) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{BrCl}(\text{T4MPP})]\text{Br}$.²⁷

Com base nos estudos já descritos sobre as interações de compostos porfirínicos-ADN, pode-se propor que as interações que ocorrem entre os compostos avaliados no presente trabalho e o ADN ocorrem por vias externas. Uma característica nos espectros de absorção obtidos nas titulações com ADN, que indicam estar ocorrendo um modo de interação específico, é a existência que um ponto isobético. Nesse estudo não foi observada a formação de pontos isobéticos. Segundo Guliaev e colaboradores²³⁴, a ausência de pontos isobéticos indica que a molécula de porfirina está se ligando ao ADN em dois ou mais sítios ou modos distintos. Pelo excesso de composto porfirínico adicionado à solução contendo ADN, o local de interação predominante pode saturar, levando a um segundo modo de interação.

O uso das titulações espectrofotométricas para determinar a constante de ligação composto-ADN tem se mostrado muito útil pelo baixo custo e pela rapidez da análise. Para uma vasta gama de compostos, esta análise tem sido muito precisa e suficiente para descrever o tipo de interação composto-ADN, pelas evidências experimentais e pelos valores de constante. Entretanto, para os compostos estudados neste trabalho, considerando o comportamento observado ser diferente da única

porfirina de Sb(V) estudada com ADN,²⁷ optou-se por realizar outras análises (dicroísmo circular e fluorescência) que pudessem corroborar as informações já obtidas.

5.2.3.3 Espectroscopia por dicroísmo circular com ADN

A espectroscopia de dicroísmo circular (DC) também tem sido muito útil para estudar as interações e deformações na estrutura do ADN, avaliando-se a diferença na absorção da luz polarizada (desvios para sentido horário e anti-horário) para esta macromolécula, de forma circular. As interações entre complexos metálicos e o ADN podem afetar a estrutura e as características eletrônicas do espectro de ambas as moléculas, caso o complexo tenha sinal de DC.²³⁵

A medição dos espectros de DC para os compostos porfirínicos foi realizada para detectar a existência de sinais que poderiam interferir nos resultados das titulações. Confirma-se na Figura 66a a ausência de sinais de DC para os compostos, conforme esperado. Além disso, para verificar o efeito de diluição pela adição dos compostos, foi realizada uma série de medidas de DC do ADN, adicionando-se volumes crescentes de DMSO, mesmo solvente presente nas soluções estoques das porfirinas. Os testes de diluição (Figura 66b) mostraram que não ocorreram variações significativas na intensidade dos sinais positivos e negativos do ssADN, descartando efeito de diluição nos resultados apresentados na Figura 66a (interações porfirinas-ssADN) e também a ausência de interação entre o DMSO e o ssADN.

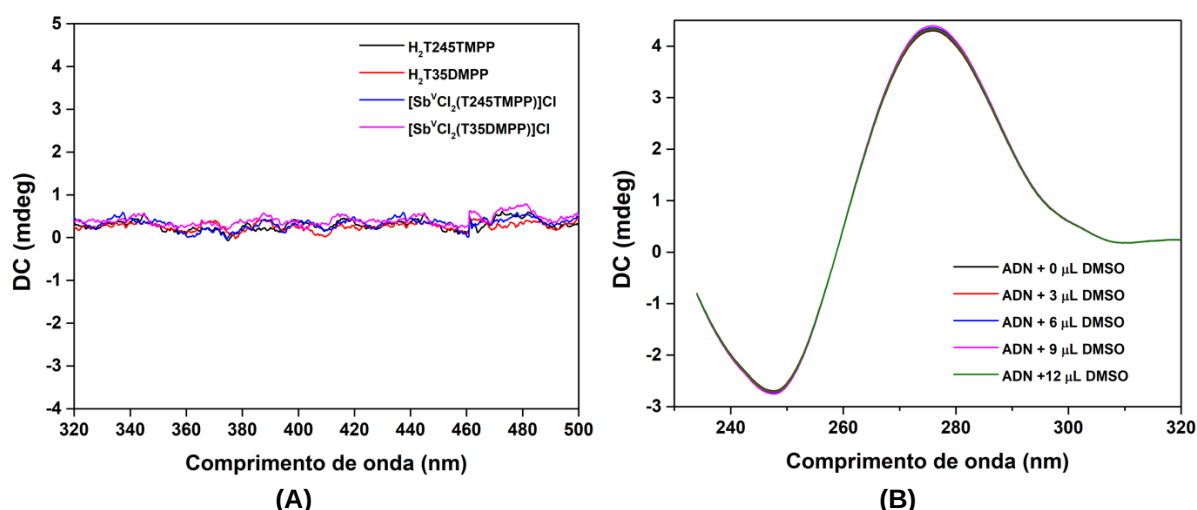


Figura 66 – (A) Espectros de DC dos compostos porfirínicos e (B) espectro do ADN após sucessivas adições de DMSO (teste de diluição). Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C.

Nesse trabalho, essa técnica foi utilizada para verificar as alterações conformacionais do ssADN induzido pela adição dos compostos porfirínicos $H_2T245TMPP$, $H_2T35DMPP$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, separadamente. Foram realizadas titulações com concentrações crescentes dos compostos porfirínicos (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 μM), em experimentos independentes, ao ssADN não ultrapassando a proporção de DMSO/tampão PBS (1%, v/v) em pH = 7,4. A porfirina $H_2T35DMPP$ foi estudada em DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 devido à baixa solubilidade em DMSO.

Conforme observado na Figura 67 (linha preta em todos os espectros), os espectros com ADN livre exibem uma transição negativa na região de comprimento de onda em uma faixa de 240-250 nm e uma transição positiva, entre 260-300 nm, as quais são típicas de um espectro de DC para a molécula do ADN. Estas transições são características da helipticidade que formam os sulcos do ADN na forma B (transição negativa) e do empilhamento das bases nitrogenadas (transição positiva).²³⁶

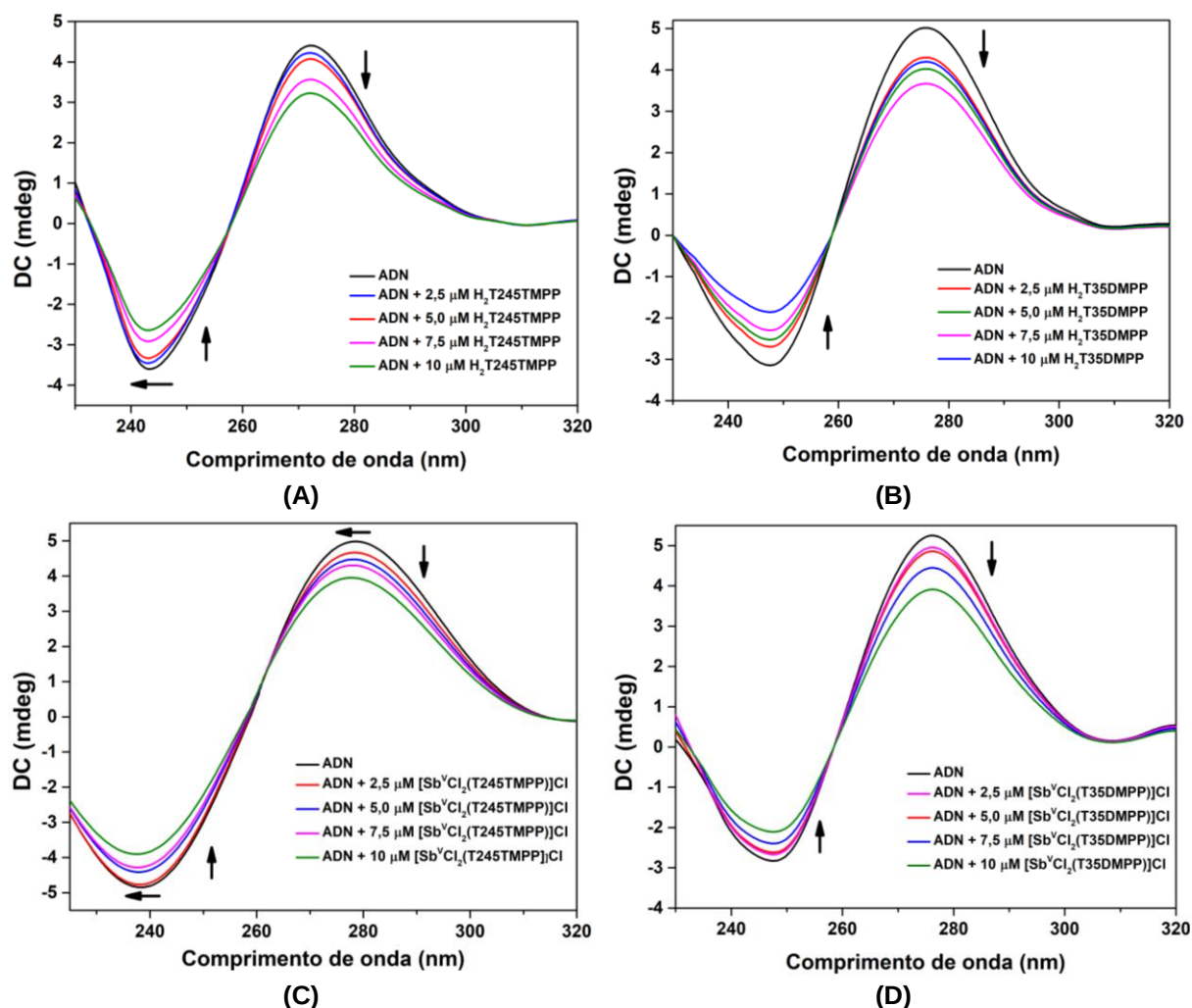


Figura 67 – Variação espectral na titulação do ssADN após adições sucessivas dos compostos: (A) H₂T245TMPP, (B) H₂T35DMPP, (C) [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl e (D) [Sb^VCl₂(T35DMPP)]Cl. Condições: (A, C e D) DMSO/tampão PBS (1%, v/v); (B) DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C.

A adição dos compostos porfirínicos claramente modifica os espectros de DC do ADN, levando a uma diminuição da intensidade das duas bandas, negativa e positiva, indicando interação externa destes compostos com a dupla hélice.^{231,234,237} Pelos estudos já descritos sobre a interação entre porfirinas e ADN utilizando o DC, pode-se identificar os modos de interação pelas características do espectro: (1) quando as porfirinas conseguem intercalar entre as bases nitrogenadas do ADN, mantem-se apenas o sinais negativos no espectro de DC; (2) caso o sinal de DC seja unicamente positivo, a interação existente se dá por ligação nos sulcos; (3) por fim, caso no espectro de DC permaneçam um sinal negativo e um positivo, as porfirinas interajam com o ADN por interação na borda externa.²³⁹⁻

240,258-259 Desta forma, como todos os espectros apresentam um sinal positivo e um negativo nos seus espectro de DC, podemos sugerir que a interação ocorre preferencialmente por via externa.

Nos espectros de $H_2T245TMPP$ e $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (Figura 67a e Figura 67c), ocorreu um deslocamento hipsocrômico na banda com transição negativa, que se origina pelas características da helipticidade do ADN na forma B, sugerindo que essas porfirinas estão interagindo e ocasionando mudanças nessa estrutura. Oliveira e colaboradores²⁴¹, em seus estudos das interações entre as porfirinas $[RuCl(bipy)_2]_4(\mu-H_2T4PyP)(PF_6)_4$ (Figura 67a) e $[RuCl(bipy)_2]_4(\mu-ZnT4PyP)(PF_6)_4$ (Figura 68b) e ADN em condições semelhantes de temperatura e pH, verificaram o mesmo perfil com sinal positivo e negativo nos espectros de DC, associado a variações hipsocrômicas das bandas. Eles sugeriram que a interação porfirina-ADN pode desestabilizar e desenrolar a hélice de ADN, sugerindo uma interação eletrostática de complexos catiônicos periféricos de Ru(II) com o fosfato ao longo da espinha dorsal e/ou com bases carregadas negativamente.²⁴²

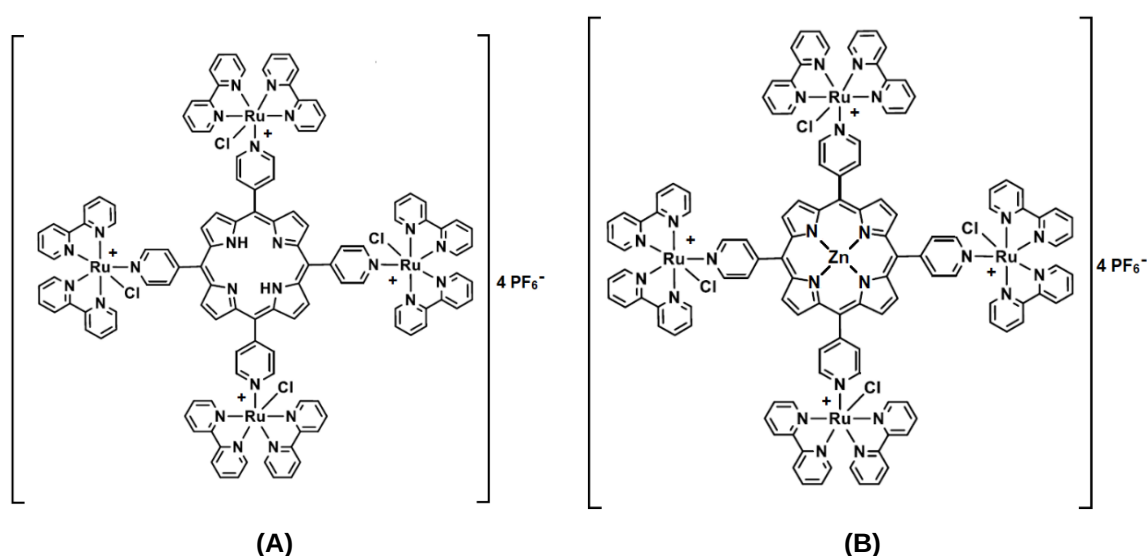


Figura 68 – Estrutura química das porfirinas (A) $[RuCl(bipy)_2]_4(\mu-H_2T4PyP)(PF_6)_4$ e (B) $[RuCl(bipy)_2]_4(\mu-ZnT4PyP)(PF_6)_4$.²⁴¹

No trabalho de Possato e colaboradores²⁷⁴, para uma classe diferente de compostos aromáticos, sendo estes clusters de acetato de rutênio contendo ligantes de azanaftaleno, eles estudaram a interação entre esses compostos com ADN de esperma de peixe por meio de DC. O perfil do espectro de DC foi semelhante ao do observado neste trabalho de tese, com variação na intensidade dos sinais, permanecendo um sinal positivo e negativo. Eles sugerem que o modo de interação é por meio de ligação semi-intercalativa e pelo sulco maior. Esse modo de interação pode estar ocorrendo para os compostos deste trabalho, visto que os espectros de dicróismos sofreram variação com a adição dos compostos na solução contendo ADN.

Desta forma, não se exclui a interação por intercalação entre as bases nitrogenadas, devido a estudos na literatura²⁷⁴. Pelos dados de DC, à manutenção dos sinais positivos e negativos no espectro de absorção,^{204,231,243} confirma-se a ocorrência de interação por vias externas, não determinando se ocorrem por interação eletrostática ou pelos sulcos.

5.2.3.4 Ensaios de competição por espectroscopia de emissão

A avaliação dos mecanismos de supressão de fluorescência dos adutos BE-ssADN e VM-ssADN, na presença dos compostos porfirínicos $H_2T245TMPP$, $H_2T35DMPP$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, separadamente, é de grande importância para permitir se verificar a forma que ocorre a interação das espécies, por mecanismos estático ou dinâmico (Figura 69).

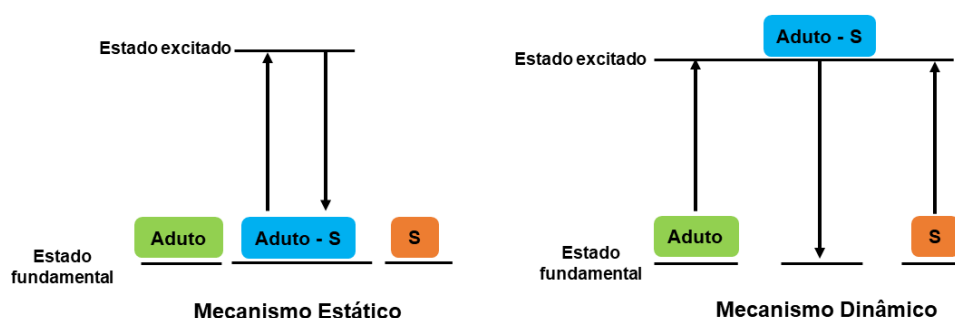


Figura 69 – Representação dos mecanismos estático e dinâmico da interação entre o Aduto (ADN-BE ou ADN-VM) e o supressor (S). Adaptado de Bessa²⁴⁴.

O processo de supressão estática de fluorescência ocorre quando há colisões entre um fluoróforo e um supressor no estado fundamental, neste caso o ADN-BE-Porfirina ou ADN-VM-Porfirina, sendo a porfirina o supressor (S) formando um complexo não fluorescente. A fluorescência restante é proveniente apenas dos fluoróforos não complexados com o S (ADN-BE ou ADN-VM). Para o processo de supressão dinâmica de fluorescência, ocorre a interação entre um fluoróforo e o supressor no estado excitado, que gera um complexo não fluorescente, que retorna ao estado fundamental sem emissão.²⁴⁵

Para esclarecer melhor o modo de interação dos compostos porfirínicos com o ADN, foram realizados experimentos de ligação competitiva usando o BE (Figura 70a) como sonda fluorescente, que é conhecido por ser fortemente intercalante entre as bases nitrogenadas do ADN de fita dupla. Para abranger outros sítios de ligação do ADN, utilizou-se a sonda fluorescente VM (Figura 70b), que interage fortemente entre os sulcos maiores. Iniciando os estudos com BE, os espectros de emissão de fluorescência foram monitorados pela adição gradativa dos compostos porfirínicos, em estudos independentes, a uma solução de concentração fixa de ssADN de 10 μM , previamente tratada com EB (1 μM).

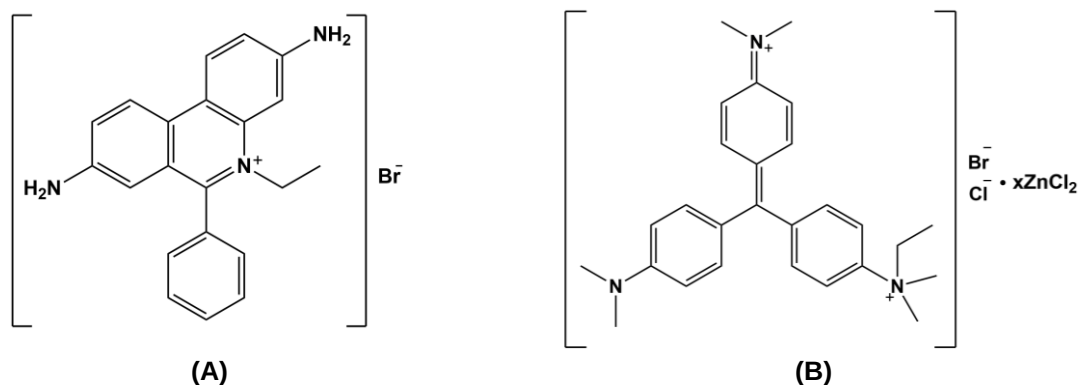


Figura 70 – Estruturas químicas das sondas fluorescentes (A) brometo de etídio e (B) verde de metila.

Nos estudos com o BE e o ssADN, inicialmente foram medidos um espectro de emissão sem a presença dos compostos porfirínicos e vários espectros após cada adição sucessiva desses compostos (Figura 71a-Figura 74a), sendo o comprimento de onda de emissão (λ_{em}) em 613 nm e de excitação (λ_{exc}) em 510 nm. Em todos os estudos ocorreu um aumento da supressão de fluorescência associada com o aumento da concentração dos compostos. Tal efeito, pode indicar que está ocorrendo uma competição entre cada composto porfirínico e o BE pelo sítio de intercalação do ssADN, de modo que a concentração de BE ligado ao ADN diminua²⁴⁶. Isso justificaria a supressão da intensidade de fluorescência.

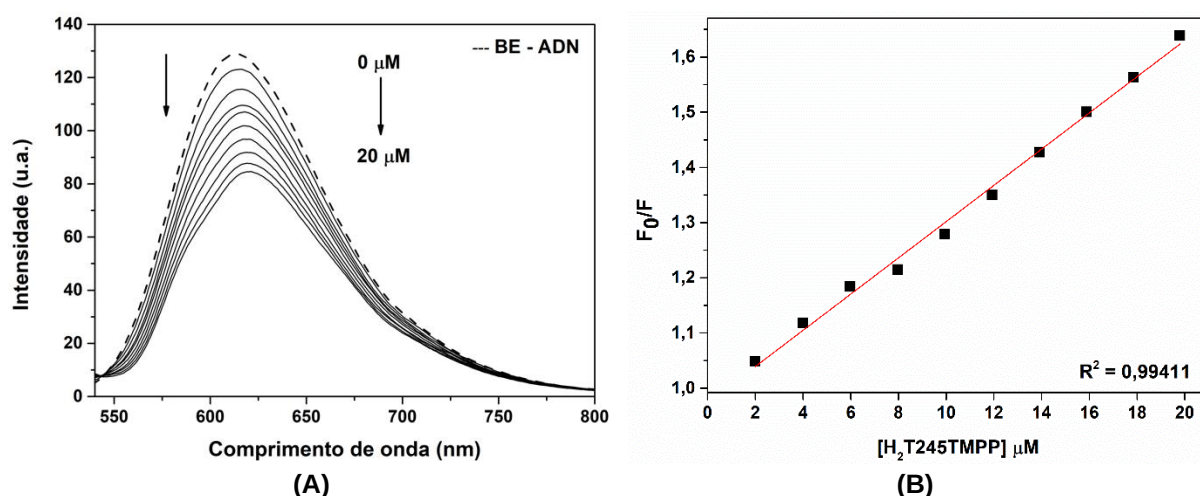


Figura 71 – A) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de H₂T245TMPP a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. **B)** Regressão linear $F_0/F \times [H_2T245TMPP]$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.

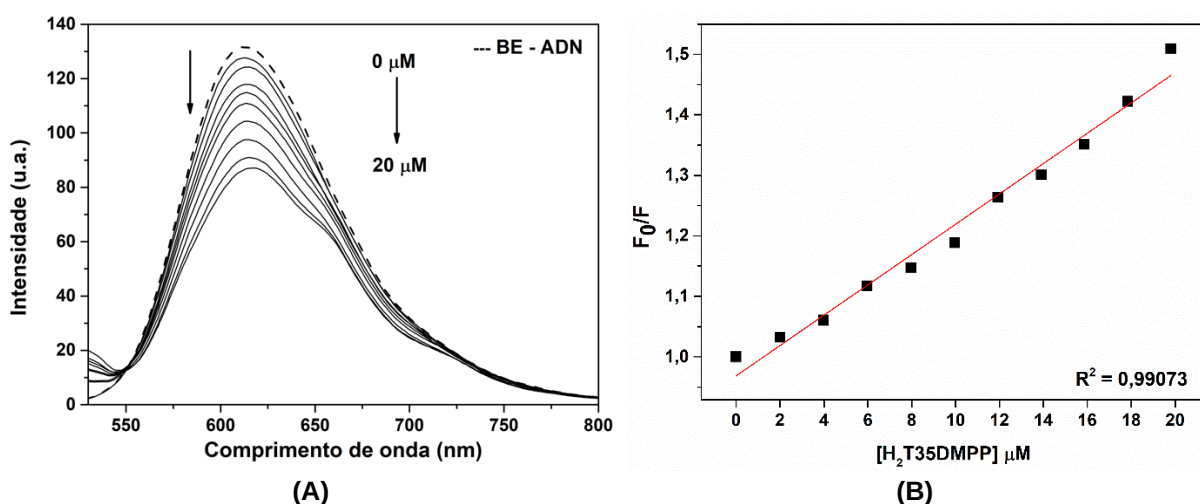


Figura 72 – a) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de H₂T35DMPP a cada 5 min. Condições: DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. **b)** Regressão linear $F_0/F \times [H_2T35DMPP]$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.

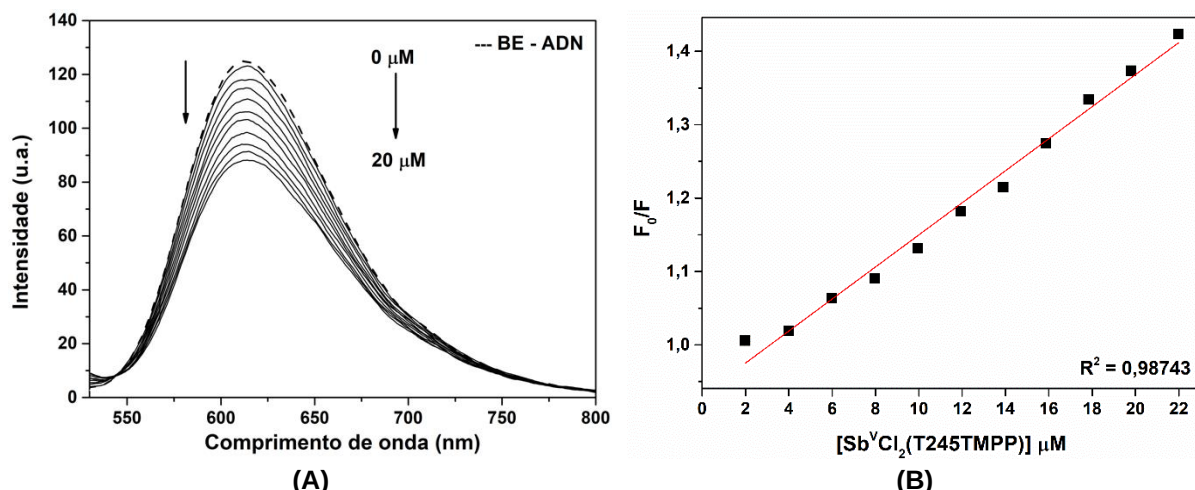


Figura 73 – a) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $F_0/F \times [\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.

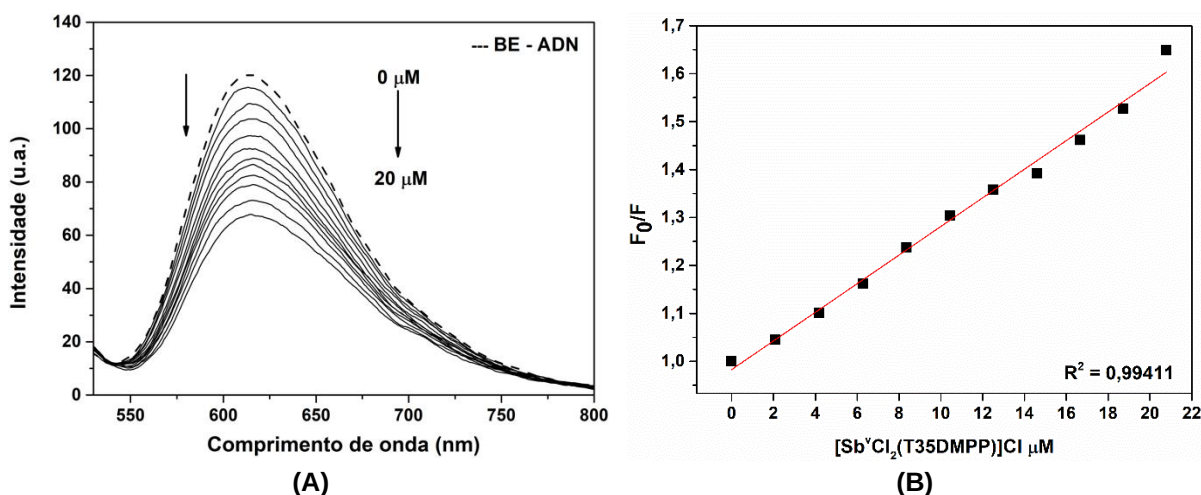


Figura 74 – a) Variação espectral na titulação do BE-ssADN após sucessivas adições de $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ a cada 5 min. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. b) Regressão linear $F_0/F \times [\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. λ_{em} : 613 nm e λ_{ex} : 510 nm.

Visto a supressão de fluorescência dos experimentos de competição, buscando verificar se a supressão de fluorescência ocorreu devido à presença dos compostos porfirínicos e não por interação com DMSO ou apenas diluição, foi realizado um teste adicionando-se DMSO, em quantidades iguais às utilizadas nos testes de competição, em uma solução contendo BE-ssADN. A Figura 99a (Apêndice O) mostra que não ocorreu uma interação com DMSO ou de diluição pela adição do solvente, comprovando que existe alguma interação entre os compostos porfirínicos e o BE-ssADN.

Apenas com a análise visual dos espectros de emissão dos estudos de competição não se pode concluir que está ocorrendo uma intercalação entre os compostos porfirínicos e o ssADN. Segundo Bi e colaboradores²⁴⁷ podem existir três razões que levem à diminuição da fluorescência para o sistema BE-ADN após a adição dos compostos: (1) formação de ligação entre o BE e os compostos porfirínicos, conduzindo à supressão de fluorescência do complexo BE-ADN, diminuindo a concentração de BE intercalado; (2) os compostos porfirínicos competem com o BE para intercalar

entre as bases do ADN, de modo que a concentração de BE ligado ao ADN diminua; e (3) a adição dos compostos conduzem à formação de um novo complexo BE-ADN-porfirina, que não é fluorescente.

Desta forma, verificou-se a segunda razão descrita por Bi e colaboradores²⁴⁷, a fim de compreender quantitativamente o comportamento da magnitude da supressão de fluorescência do complexo BE-ssADN, utilizando equação de Stern-Volmer (Equação 9)²⁴⁵.

$$F_0/F = 1 + k_q\tau_0[Q] = 1 + K_{sv}[Q] \quad \text{Equação 9}$$

em que F_0 e F são as intensidades relativas de fluorescência do aduto BE-ssADN ou VM-ssADN em ausência e em presença dos complexos, respectivamente; k_q é a constante de velocidade bimolecular de supressão; τ_0 é o tempo de vida de fluorescência médio do aduto BE-ssADN ($23,0 \times 10^{-9}$ s)²⁴⁸ ou VM-ssADN ($2,8 \times 10^{-9}$ s)²⁴⁹ em ausência dos compostos porfirínicos; $[Q]$ é a concentração dos compostos; e K_{sv} é a constante de Stern-Volmer, resultado do produto $k_q\tau_0$.²⁴⁵

Os valores de F_0 e F foram corrigidos, considerando-se o Efeito do Filtro Interno (EFI), utilizando-se a Equação 10.²⁴⁵

$$F_{cor} = F_{obs} \times 10^{(A_{exc} + A_{em}/2)} \quad \text{Equação 10}$$

em que F_{cor} e F_{obs} são as intensidades de fluorescência corrigidas e observadas, respectivamente; A_{exc} e A_{em} são as absorvâncias nos comprimentos de onda de excitação (BE = 510 nm; VM = 633 nm) e de emissão (BE = 613 nm; VM = 655 nm), respectivamente. A correção do EFI deve ser realizada, pois a intensidade de fluorescência de um composto é proporcional à concentração apenas para uma gama restrita de densidades óticas. A diferença entre as retas de F_0/F em função da concentração do supressor com valores de fluorescência sem e com correção do EFI é significativamente grande, como pode ser visto na Figura 75.

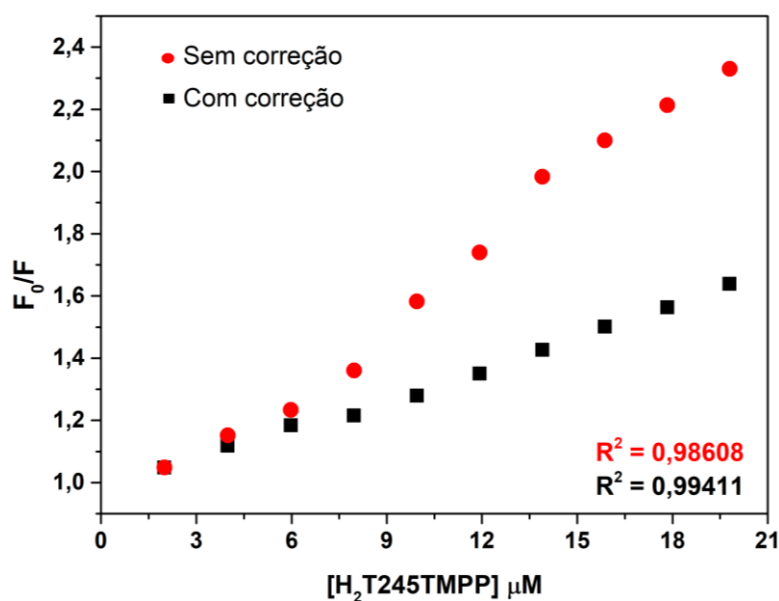


Figura 75 – Gráficos de Stern-Volmer do ensaio de competição do aduto BE-ssADN com adições sucessivas de H₂T245TMPP, sem e com correção do efeito de filtro interno para os valores de F_{obs} .

O gráfico de F_0/F em função da concentração do $H_2T245TMPP$ (Figura 75) mostra que em concentrações menores que $6 \mu M$ não há diferenças significativas entre os valores de F_0/F , com ou sem correção de EFI. Entretanto, para concentrações maiores que $6 \mu M$, a diferença acentua-se, mostrando a importância da correção para obter resultados que demonstrem a interação entre o ssADN e os compostos.

Foram determinados os valores para as constantes de supressão de fluorescência (K_{sv}), por meio da regressão linear do gráfico da intensidade de emissão relativa (F_0/F) *versus* a concentração dos compostos porfirínicos (Q)²⁴⁵ (Figura 71b a 74b). Os valores para a taxa de supressão (ΔI), K_{sv} e a constante cinética de supressão de Stern-Volmer (k_q) para os compostos porfirínicos, em estudos de competição com BM-ssADN, estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 – Valores obtidos de porcentagem de supressão (ΔI), K_{sv} e k_q para os experimentos de competição entre os compostos porfirínicos e o BE.

Composto	ΔI (%)	$K_{sv} (\times 10^4 M^{-1})$	$k_q (\times 10^{12} M^{-1} s^{-1})$
$H_2T245TMPP$	36,01	3,28	1,42
$H_2T35DMPP$	34,20	2,51	1,09
$[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$	39,34	2,18	0,95
$[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$	39,34	2,98	1,30

Para verificar a primeira razão apontada por Bi e colaboradores para a supressão de fluorescência²⁴⁷, foram realizados testes de interação entre o BE e os compostos porfirínicos. Em uma solução contendo BE ($1 \mu M$) foram adicionadas quantidades sucessivas de cada composto porfirínico ($0, 5, 10, 15$ e $20 \mu M$), em experimentos independentes, medindo os espectros de emissão em $617 nm$ (λ_{ex} : $510 nm$). Na Figura 76, podemos verificar que a porcentagem de supressão de fluorescência quando se utilizaram as porfirinas bases livres ($H_2T245TMPP = 6\%$ e $H_2T35DMPP = 7\%$) com o BE são maiores do que aquelas com os complexos ($[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl = 3,5\%$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl = 3\%$). De maneira geral, a supressão de emissão das interações entre BE e os compostos porfirínicos são menores que a supressão observada nos experimentos de competição do BE-ssADN, podendo sugerir que as interações entre BE-porfirinas são muito fracas quando comparado competição dos compostos e o aduto BE-ADN.

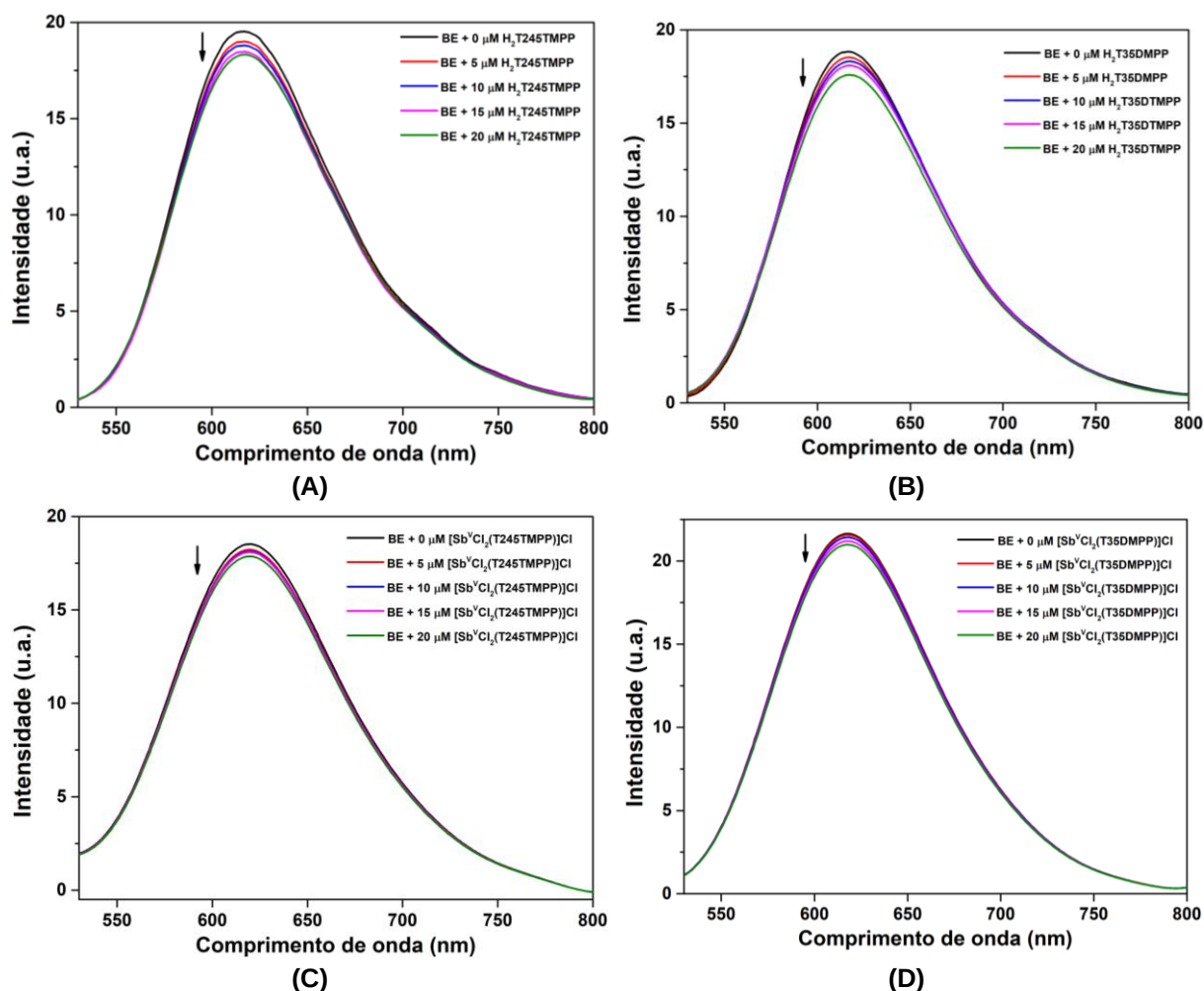


Figura 76 – Variação espectral na titulação do BE após adições sucessivas, a cada 5 min, em experimentos distintos de: (A) $H_2T245TMPP$, (B) $H_2T35DMPP$, (C) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e (D) $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Condições: (A, C, D) DMSO/tampão PBS (1%, v/v); (B) DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. λ_{em} : 617 nm e λ_{ex} : 510 nm.

Desta forma, acredita-se que a terceira razão descrita por Bi e colaboradores²⁴⁷ seria a mais provável, propondo que os compostos porfirínicos podem estar interagindo com o aduto BE-ssADN formando um novo complexo BE-ssADN-porfirina, não apresentando fluorescência; dessa forma, os compostos poderiam estar interagindo por mais de um modo de interação, podendo ser por interação eletrostática com o ADN ou pelos sulcos.^{204,233,243,251}. O K_q é um fator que indica a eficiência da extinção de fluorescência.²⁵⁰ Os valores de K_q determinados para todos os compostos porfirínicos encontram-se na ordem de $10^{11} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Tabela 20), sendo maiores que o valor de $2,0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (constante de extinção de colisão de dispersão a 37 °C, segundo a Teoria de Smoluchowski-Stokes-Einstein)^{243,252}. Isso é um indicativo que os compostos podem interagir com o aduto EB-ADN por meio da associação no estado fundamental, pelo mecanismo estático de supressão de fluorescência.²⁵³ Além disso, esses maiores valores observados para K_q indicam uma interação estática entre as porfirinas e o ADN, como visto, também, nos trabalhos de Foletto e colaboradores²⁵⁰ para a mesma faixa de K_q . Entretanto, estudos em diferentes temperaturas são necessários para analisar a variação dos valores de K_{sv} e K_q , e comprovar o mecanismo que está ocorrendo nessa interação.

Uma molécula intercalante pode deslocar BE da estrutura do ADN para a solução e, portanto, extinguir sua luminescência. A comparação dos valores da constante de intercalação aparente (K_{app}) calculada na presença de cada composto porfirínico com a constante de intercalação do BE ($K_{EB} = 10^7 \text{ M}^{-1}$) permite avaliar as capacidades relativas de intercalação entre as bases nitrogenadas do ADN.^{274,275} A constante de ligação aparente (K_{app}) é determinada de acordo a Equação 11.

$$K_{EB} [EB] = K_{app} [\text{Complexo}] \quad \text{Equação 11}$$

O K_{EB} é $1,0 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$, [EB] equivale a $1 \mu\text{M}$, K_{app} é a constante de ligação aparente e [complexo] é a concentração do complexo que extinguiu 50% da fluorescência do complexo EB-ADN.^{274,275} O valor de K_{app} não pôde ser calculado utilizando as condições experimentais do teste de competição, uma vez que não se determinou a concentração dos compostos que extingue 50% da fluorescência do complexo EB-ADN.

O DMSO pode desnaturar as biomoléculas de ADN e diminuir a temperatura de fusão do ADN, mesmo que adicionado em quantidades pequenas.²⁷³ Desta forma, considerando os estudos realizados para avaliação da atividade leishmanicida, optou-se por realizar adições de solução estoque dos compostos porfirínicos preparados em DMSO em quantidades que não ultrapassassem 1% DMSO/tampão PBS. Dessa forma, não foi possível verificar a concentração do complexo que extinguiu 50% da fluorescência do completo EB-ADN. Entretanto, com base em estudos de outros trabalhos^{250,273}, a quantidade de DMSO pode variar de 0 a 10% no meio, desta forma, experimentos devem ser repetidos para buscar entender de maneira mais aprofundada a forma de interação entre os compostos porfirínicos e o ADN.

Na literatura, existem alguns trabalhos^{250,274,275} em que não foi possível calcular o K_{app} para os estudos de competição com BE na presença de compostos porfirínicos. Assim, eles utilizaram os valores de K_{sv} calculados com base nos gráficos de regressão linear (Figuras 71-74), para discussão dos resultados obtidos. Foletto e colaboradores²⁵⁰ realizaram ensaios de competição semelhantes a este trabalho, analisando o deslocamento do intercalante BE com ADN, por porfirinas base livre neutras. Os espectros de emissão de fluorescência foram monitorados à medida que concentrações crescentes de porfirinas foram adicionadas por titulação a uma concentração fixa de ct-ADN com EB. Eles não obtiveram os valores de K_{app} devido à ausência da supressão de 50% da intensidade de emissão inicial. Entretanto, pelos valores de K_{sv} na faixa de $2,66 \times 10^2$ a $4,92 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ e pelo comportamento de supressão de fluorescência, eles sugerem o modo de intercalação das porfirinas base livre entre as bases nitrogenadas do ADN. Desta forma, com os resultados de K_{sv} obtidos nesse trabalho (Tabela 20), na ordem de 10^4 M^{-1} , sugere-se que pode estar ocorrendo intercalação entre os compostos porfirínicos e o ADN.

Um efeito semelhante de extinção da fluorescência do BE ligado ao ADN tem sido observado por meio da adição de vários compostos de ligações nos sulcos tais como a netropsina, o VM e a distamicina A.²⁵⁴ A interação de compostos nos sulcos do ADN, pode conduzir à extinção da emissão de BE^{243,255,257} ou seja, esse pode ser um dos modos de interação entre os compostos porfirínicos e o ADN para este trabalho. Para verificar se os compostos porfirínicos podem se ligar aos sulcos, foram

realizados alguns experimentos com o VM que é conhecido por interagir por meio dos sulcos maiores²⁵⁶. Os espectros de emissão de fluorescência (Figura 77a a 80a), em estado estacionário, foram monitorados pela adição dos compostos porfíricos, em estudos independentes, com concentrações crescentes adicionadas a uma solução de concentração fixa de ssADN de 10 μM , previamente tratada com VM (1 μM). Escolheu-se o λ_{exc} em 633 nm, devido à observação realizada por Pietro e colaboradores²⁵⁶, em que um pico de emissão em 650 nm apareceu quando o ADN foi adicionado, com um aumento de intensidade de 7,5 vezes maior do que na ausência de ADN.

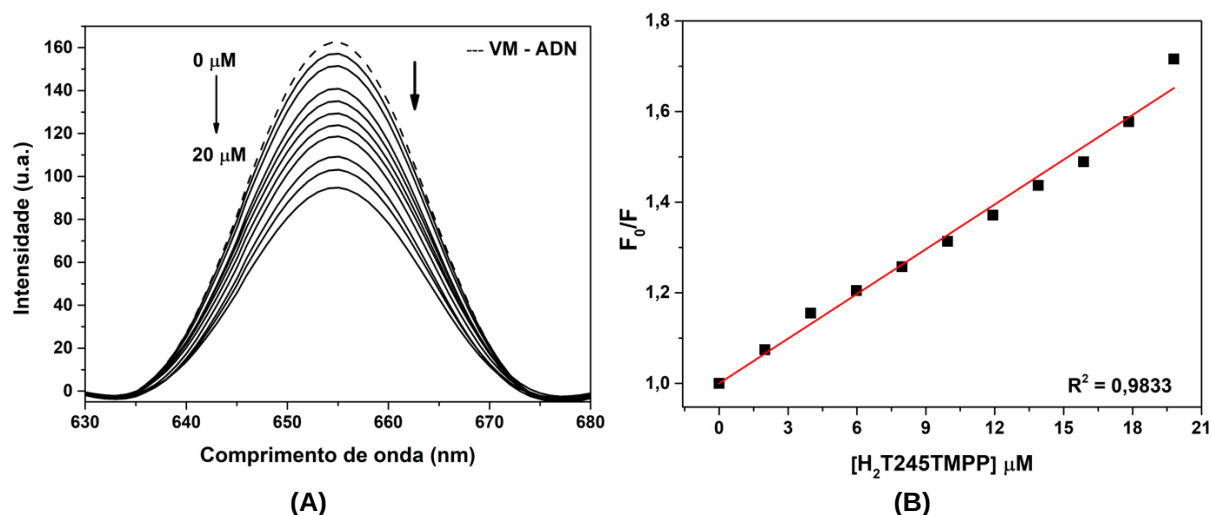


Figura 77 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de H₂T245TMPP. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. **B)** Regressão linear $F_0/F \times [\text{H}_2\text{T245TMPP}]$. λ_{em} : 655 nm e λ_{exc} : 633 nm.

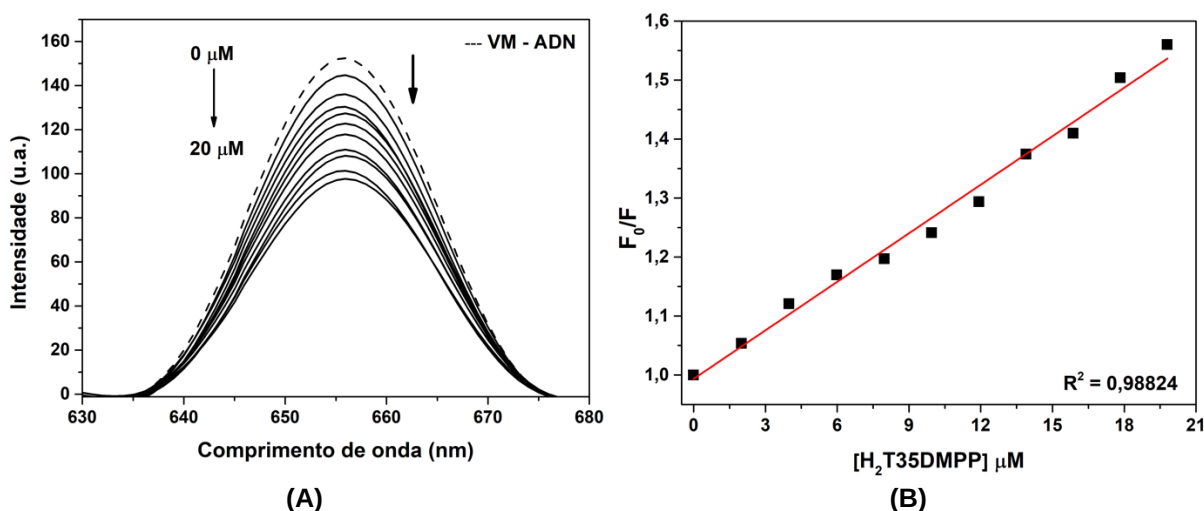


Figura 78 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de H₂T35DMPP. Condições: DMF/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. **B)** Regressão linear $F_0/F \times [\text{H}_2\text{T35DMPP}]$. λ_{em} : 655 nm e λ_{exc} : 633 nm.

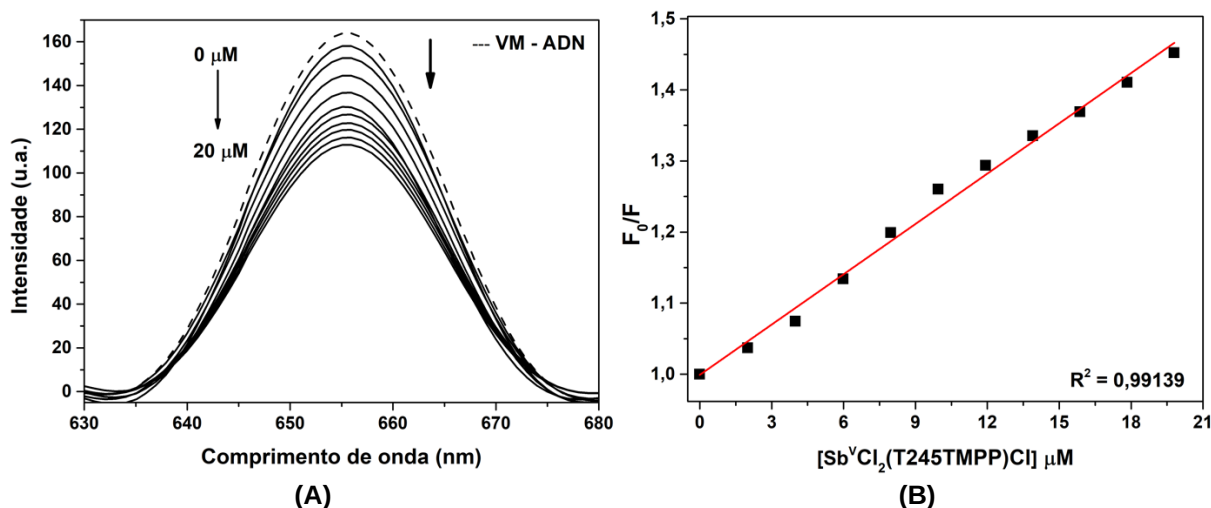


Figura 79 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$. λ_{em} : 655 nm e λ_{ex} : 633 nm.

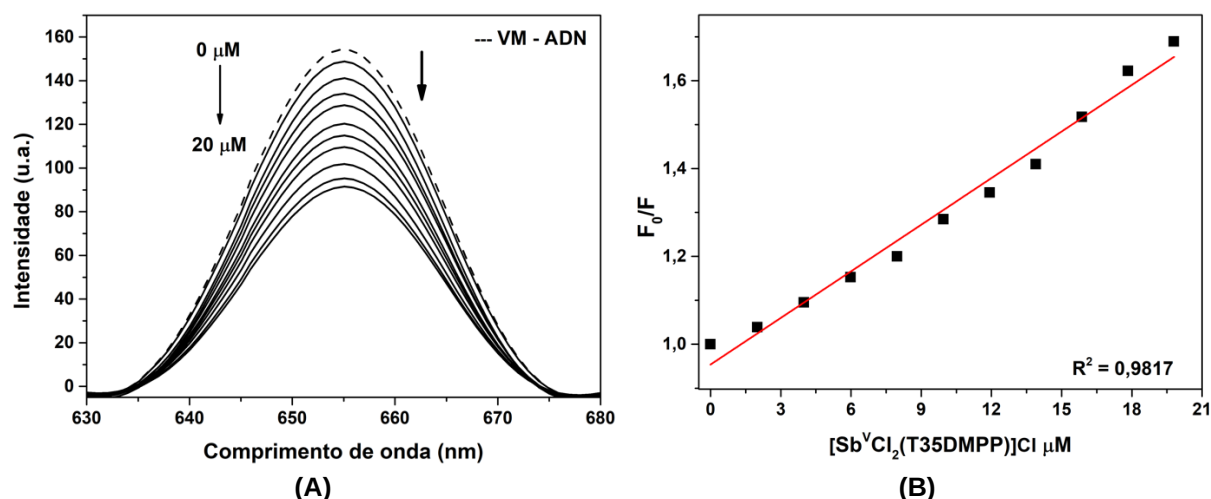


Figura 80 – A) Variação espectral na titulação do VM-ssADN após sucessivas adições, a cada 5 min, de $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. B) Regressão linear $F_0/F \times [\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. λ_{em} : 655 nm e λ_{ex} : 633 nm.

Os valores para a taxa de supressão (ΔI), constante de supressão (K_{sv}) e a constante cinética de supressão de Stern-Volmer (k_q) para os compostos porfirínicos, em estudos de competição com VM-ssADN, estão apresentados na Tabela 21 (esses valores foram calculados após a correção do efeito do filtro interno). Podemos verificar que pela taxa de supressão, o complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ foi o que apresentou menor interação no sulco maior, quando comparados aos outros compostos. Isso pode estar associado ao volume que o centro metálico e os ligantes axiais ocupam, não sendo relacionado aos grupos metoxila na posição orto do anel meso-arila, visto que sua porfirimina base livre $\text{H}_2\text{T245TMPP}$ apresentou elevada taxa de supressão.

Tabela 21 – Valores obtidos de ΔI , K_{sv} e k_q para os experimentos de competição entre os compostos porfirínicos e o VM.

Composto	ΔI (%)	$K_{sv} (\times 10^4 \text{ M}^{-1})$	$k_q (\times 10^{12} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1})$
H ₂ T245TMPP	41,71	3,29	11,75
H ₂ T35DMPP	35,89	2,74	9,79
[Sb ^V Cl ₂ (T245TMPP)]Cl	31,14	2,36	8,43
[Sb ^V Cl ₂ (T35DMPP)]Cl	40,80	3,54	12,64

Novamente os valores de K_q determinados para todos os compostos porfirínicos estão na ordem de 10^{12} - $10^{13} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Tabela 21), sendo maiores que o valor de $2,0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, sendo um indicativo que os compostos podem interagir com o aduto VM-ADN por meio de associação no estado fundamental, provavelmente por mecanismo estático de supressão de fluorescência.²⁵³ Além disso, esses maiores valores observados para k_q indicam uma interação estática entre as porfirinas e o ADN, como visto, também, nos trabalhos de Foletto e colaboradores²⁵⁰. No trabalho de Oliveira e colaboradores²⁴¹, em estudos de competição das porfirinas $[\{\text{RuCl}(\text{bipy})_2\}_4(\mu\text{-H}_2\text{T4PyP})](\text{PF}_6)_4$ e $[\{\text{RuCl}(\text{bipy})_2\}_4(\mu\text{-ZnT4PyP})](\text{PF}_6)_4$ (Figura 68) com o aduto VM-ADN, também verificaram valores de k_q na ordem de $10^{12} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, indicando que o mecanismo é semelhante ao deste trabalho.

Não foi possível comparar os resultados de K_{sv} obtidos nos experimentos de competição com VM, com o valor de K_{sv} da formação do aduto VM-ssADN, devido à ausência deste valor na literatura. Entretanto, os valores de K_{sv} estão na faixa de $2,36 - 3,54 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ e porcentagem de supressão na faixa de 31-42%, o que pode indicar que alguma interação está ocorrendo, mas não se pode garantir que seja o único modo. Ainda no trabalho de Oliveira e colaboradores²⁴¹, para os compostos porfirínicos foram observados valores de K_{sv} na ordem de 10^4 M^{-1} ; entretanto, constatou-se que a interação com os sulcos foi maior que as observadas neste trabalho, devido à supressão de fluorescência ultrapassar 69%. Na busca por trabalhos na literatura que contivessem experimentos de competição com VM-ADN e porfirinas, utilizando a técnica de fluorescência, encontrou-se apenas a tese de Menezes²⁶⁰ e seu artigo²⁴¹, já supracitado. Isto limita a comparação dos resultados com sistemas semelhantes. Entretanto, a falta de trabalhos que utilizem esta abordagem torna-se um incentivo para a utilização dessa sonda fluorescente, VM, com baixo custo e que traz resultados importantes sobre o possível modo de interação nos sulcos maiores do ADN.

A supressão de fluorescência nos experimentos de competição com VM foi observada nos espectros com os compostos porfirínicos, conforme descrito. Buscando verificar se a supressão ocorreu devido à presença do DMSO, pela interação ADN-solvente ou efeito de diluição, foi realizado um teste adicionando-se DMSO em quantidades, iguais aos testes de competição, a uma solução contendo VM-ssADN. A Figura 99b (Apêndice O) permite constatar que não ocorreu uma interação DMSO-ADN ou um efeito de diluição pelo solvente, comprovando que existe efetivamente alguma interação entre os compostos porfirínicos e o VM-ssADN.

Não foi possível realizar um estudo da interação dos compostos porfirínicos diretamente com o VM, como realizado para o BE (Figura 76), pois ao se excitar a solução contendo apenas o VM ($1 \mu\text{M}$) não aparecia uma banda de emissão. Isso já foi observado por Pietro e colaboradores²⁵⁶, quando ao excitar em 633 nm, nenhuma emissão de fluorescência foi detectada para o VM.

De maneira geral, considerando-se os resultados obtidos nos estudos de interação das porfirinas estudadas com o ssADN por UV-VIS, DC e fluorescência, além dos estudos já descritos na literatura^{204,234,241-243} sobre as interações de compostos porfirínicos-ssADN, pode-se propor que as interações entre os compostos avaliados no presente trabalho e o ssADN ocorrem por vias externas e internas, podendo abranger mais de um modo de interação, como aquelas de natureza eletrostática e, também, parcialmente intercalativa ou pelos sulcos, maior ou menor.

Outros estudos podem ser realizados para entender o mecanismo dos compostos porfirínicos. Ao contrário das células de mamíferos, as espécies de parasitas *Leishmania* não podem sintetizar o grupo heme, então elas devem adquiri-la da célula hospedeira. Para isso, esses parasitas possuem um receptor chamado LHR1, que atua na captura do grupo heme.⁴⁵ As porfirinas de antimônio possuem potencial na atividade antileishmania, pois devido à presença de um anel porfirínico em sua estrutura, o receptor LHR1 pode confundir o grupo heme e captar essa droga ao invés de captar o grupo heme de alguma enzima do organismo. Pela alta toxicidade do antimônio, pode ocorrer a inativação desse receptor, levando à morte do parasita. Como os mamíferos não possuem esse receptor LHR1, a seletividade dos compostos porfirínicos poderia ser aumentada.⁴⁵ Desta forma, podem ser realizados ensaios *in vitro/in vivo*, na presença desse receptor, e identificar se ele captura os compostos porfirínicos, levando a morte do parasito.

CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho, nos propomos a obter e caracterizar os compostos porfirínicos $H_2T245TMPP$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ (inédito), $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ (inédito), $[Mn^{III}Cl(TPP)]$ e $[Mn^{III}Cl(T245TMPP)]Cl$.

Embora a síntese da porfirimina base livre $H_2T245TMPP$ esteja relatada na literatura, foi realizado estudo da forma de aquecimento: por irradiação com micro-ondas e aquecimento convencional para fins de comparação. O rendimento dos dois processos foi igual, porém, observou-se uma diminuição do tempo de reação no método empregando a radiação eletromagnética. Com isso, pode-se concluir que este método de aquecimento favorece a obtenção dessa porfirimina base livre e esta iniciativa serve como incentivo para futuramente serem testadas outras variáveis, como volume de solvente e se realizar a síntese de outras porfirinas por micro-ondas.

A síntese das porfirinas de antimônio(V) é um campo de grande dificuldade para os pesquisadores, devido a diversos fatores que podem influenciar na reação como, por exemplo, a umidade e o solvente utilizado. Os complexos $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$, ambos inéditos, foram sintetizados e caracterizados. Neste sentido, é importante destacar a necessidade de se realizar a reação em condições com a menor quantidade de água/umidade possível, em função da hidrólise do antimônio.

Dois temas de pesquisas foram estudados nesse trabalho, catalisadores baseados em metaloporfirinas de manganês(III) como modelo biomimético do CP450 e avaliação da atividade leishmanicida de porfirinas base livre e de $Sb(V)$.

No primeiro tema estudado, a eficiência das metaloporfirinas $[Mn^{III}Cl(TPP)]$ e $[Mn^{III}Cl(T245TMPP)]Cl$, foi avaliada em reações de oxidação do carvacrol utilizando os oxidantes $PhIO$ e $PhI(OAc)_2$, em diclorometano e em dois solventes que causam menor impacto ambiental, carbonato de dimetila e acetato de etila. A oxidação do carvacrol mediada por porfirinas de $Mn(III)$ sofre grande influência do solvente escolhido e do catalisador para direcionar o mecanismo de reação para a formação de timoquinona (solventes de maior constante dielétrica) ou o polímero (solventes com menor constante dielétrica). Destaca-se também a ocorrência de mecanismo radicalar, mesmo em presença do oxidante diacetato que tem sido associado à formação de espécies ativas de alta valência centradas no centro metálico da porfirimina.

Buscando sistemas mais eficientes e com menor geração de resíduos, foram estudados quantos ciclos de reuso podem ser feitos com a quantidade inicial dos catalisadores. Nos solventes carbonato de dimetila e acetato de etila, até três ciclos podem ser realizados com elevada conversão do substrato. Este resultado é um incentivo para continuar estudando reações catalíticas com solventes que sejam menos prejudiciais à saúde e ao ambiente.

Para a área de catálise, este trabalho abre a possibilidade de aplicar diferentes tipos de complexos porfirínicos, contendo outros substituintes na periferia do macrociclo e íons metálicos, para a obtenção de polímeros derivados de compostos de óleos essenciais. A partir deste trabalho, pode-se buscar imobilizar os compostos porfirínicos em matrizes inorgânicas/orgânicas, garantindo sistemas mais estáveis nos quais o catalisador pode ser mais facilmente recuperado do meio de reação e usado em muitos ciclos. Além disso, o desenvolvimento de sistemas mais seletivos para a formação de

produtos poliméricos, associados a altos rendimentos e menores valores de PDI, pode ser o desafio para a utilização de catalisadores porfirínicos nessas reações.

O segundo tema de aplicação foi a avaliação da atividade leishmanicida dos compostos $H_2T245TMPP$, $H_2T35DMPP$, $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Este é o segundo trabalho na literatura, realizando estudos em promastigota e amastigota da espécie *Leishmania braziliensis* com porfirinas de $Sb(V)$. Nos estudos com promastigotas, dentre todos os compostos, o complexo inédito $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ apresentou maior toxicidade. Entretanto, nos sistemas com amastigotas, as porfirinas base livre apresentaram melhor atividade leishmanicida, indicando que o íon $Sb(V)$ não torna os compostos mais ativos. Os resultados dos primeiros testes *in vitro* se mostraram promissores, sendo necessário continuar os estudos em sistemas *in vivo*. Desta forma, o trabalho contribui para que novos compostos porfirínicos sejam aplicados para o tratamento das leishmanioses. Essa doença não tem cura, e atualmente há mais de 20 espécies de *Leishmania*, que vem, a cada ano, desenvolvendo mais resistência aos fármacos utilizados para o tratamento.

Considerando que o mecanismo de ação dos antimoniais ainda não está totalmente compreendido, avaliou-se como os compostos de $Sb(V)$ estudados neste trabalho poderiam atuar em um meio semelhante ao biológico. Constatou-se que, diferentemente do que tem sido proposto para outras classes de antimoniais, as porfirinas de $Sb(V)$ não sofrem redução de Sb^{5+} para Sb^{3+} . Além disso, porfirinas base livre e porfirinas de $Sb(V)$ interagem com ADN por mecanismos externos, o que pode impactar na deformação da estrutura química dessa biomolécula, impedindo a sua replicação. Outros estudos devem ser realizados para verificar em que parte da célula esses compostos se alojam, podendo ser úteis para impedir a replicação do ADN do parasito.

Os ensaios com as formas promastigota e amastigota da espécie *L. braziliensis* mostraram o potencial leishmanicida dos compostos porfirínicos sintetizados, na ausência e na presença do íon $Sb(V)$. Uma perspectiva da continuidade desse trabalho será estudar os mecanismos de ação desses compostos, por exemplo, em um modelo que utilize o transporte de grupo heme pelo parasita e avaliar a interação com outros alvos biológicos.

Finalmente, espera-se que este trabalho represente uma pequena contribuição para a evolução da ciência, no que se refere aos modelos biomiméticos dos CP450 e estudos para o tratamento das doenças de leishmaniose.

CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ WIJESKERA, T. P.; DOLPHIN, D. Synthetic Aspects of Porphyrin and Metaloporphyrin Chemistry. In: SHELDON, R. A. (Ed.). *Metaloporphyrins in Catalytic Oxidations*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1994. p.193-239.
- ² MILGROM, R. *The Colours of Life: An Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*, Oxford University Press, Oxford, 1997.
- ³ SMITH, K. M. "Porphyrins and Metaloporphyrins", Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdão, 1975.
- ⁴ SHELDON, R. A. *Metaloporphyrins in Catalytic Oxidations*, ed. R. A. Sheldon, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1-27, 1994.
- ⁵ ZHANG, X. et al. A historical perspective on porphyrin-based metal–organic frameworks and their applications. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 429, n. 213615, p. 1-22, 2021.
- ⁶ BRODERICK, J. B; COUCOUVANIS, D. Bioinorganic chemistry. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 7, n. 2 p. 157-159, 2003.
- ⁷ KLINGENBERG, M. Pigments of Rat Liver Microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 75, n. 2, p. 376-386, 1958.
- ⁸ MUNRO, A. W. et al. Structure and function of the cytochrome P450 peroxygenase enzymes. *Biochemical Society Transactions*, v. 48, p. 183-196, 2018.
- ⁹ GUENGERICH, F. P.; MUNRO, A. W. Unusual Cytochrome P450 Enzymes and Reactions. *Journal of Biological Chemistry*, v. 288, n. 24, p. 17065-17073, 2013.
- ¹⁰ RCSB Protein Data Base. Structure of Cytochrome P450. Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/1FAH>>. Acesso em: 23 setembro 2022.
- ¹¹ NELSON, D. R. A world of cytochrome P450s. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences*, v. 68, n. 1612, p. 1-4, 2013.
- ¹² WIENKERS, L. C.; HEATH, T. G. Predicting In Vivo Drug Interactions From In Vitro Drug Discovery Data. *Nature Reviews*, v. 4, p. 825-833, 2005.
- ¹³ DENISOV, L. G. et al. Structure and Chemistry of Cytochrome P450. *Chemical Reviews*, v. 105, n. 6, p. 2253-2278, 2005.
- ¹⁴ ISIN, E. M.; GUENGERICH, F. P. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1770, p. 314-329, 2007.
- ¹⁵ KUMAR, C. V.; ASUNCION, E. H. DNA Binding Studies and Site Selective Fluorescence Sensitization of an Anthryl Probe. *Journal of the American Chemical Society*, v. 115, n. 19, p. 8547-8553, 1993.
- ¹⁶ BERNHARDT, R. Cytochromes P450 como biocatalisadores versáteis . *Journal of Biotechnology*, v. 124, n. 1, p. 128-145, 2006.
- ¹⁷ MEUNIER, B. et al. Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome p450 enzymes. *Chemical Reviews*, v. 104, n. 9, 3947-3980, 2004.
- ¹⁸ BARONA-CASTAÑO, K. C. et al. Porphyrins as Catalysts in Scalable Organic Reactions. *Molecules*, v. 21, n. 3, p. 1-27, 2016.
- ¹⁹ DAS, R.; KAPUR, M. Transition-Metal-Catalyzed Site-Selective C-H Halogenation Reactions. *Asian Journal of Organic Chemistry*, v. 7, n. 8, p. 1524-1541, 2018.

- ²⁰ SROUR, H. et al. Enantioselective manganese-porphyrin-catalysed epoxidation and C–H hydroxylation with hydrogen peroxide in water/methanol solutions. *Inorganic Chemistry*, v. 51, n. 10, 5850-5856, 2012.
- ²¹ LI, G. et al. Selective C-H Halogenation with a Highly Fluorinated Manganese Porphyrin. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 57, n. 5, p. 1251-1255, 2018.
- ²² EGAN, E. S. et al. Erythrocytes lacking the Langereis blood group protein ABCB6 are resistant to the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Communications Biology*, v. 1, n. 45, p 1-9, 2018.
- ²³ STRATEN, D. et al. Oncologic Photodynamic Therapy: Basic Principles, Current Clinical Status and Future Directions. *Cancers*, vol. 9, n. 2, p. 1-19, 2017.
- ²⁴ ALISON, R. R. et al. Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 1, n. 1, p. 27-42, 2004.
- ²⁵ GOMES, M. L. et al. Synthesis and characterization of bismuth(III) and antimony(V) porphyrins: high antileishmanial activity against antimony-resistant parasite. *Journal Biological Inorganic Chemistry*, v. 20, n. 5, p. 771-779, 2015.
- ²⁶ ANDRADE, C. G. et al. Photodynamic effect of zinc porphyrin on the promastigote and amastigote forms of *Leishmania braziliensis*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 17, n. 4, p. 482-490, 2018.
- ²⁷ GOMES, M. L. Porfirinas de Bismuto e Antimônio: Obtenção, Avaliação da Atividade Leishmanicida e Investigação dos Possíveis Mecanismos de Ação. 2016. (Doutorado em Ciências- Química) , Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.
- ²⁸ CUI, Z. et al. Antifungal Effect of Antimicrobial Photodynamic Therapy Mediated by aematoporphyrin Monomethyl Ether and Aloe Emodin on *Malassezia furfur*. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, n. 749106, p. 1-14, 2021.
- ²⁹ ALONSO-CASTRO, A. J. et al. Synthesis, antinociceptive and anti-inflammatory effects of porphyrins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 23, n. 10, p. 2529-2537, 2015.
- ³⁰ GHOSH, S. et al. Chemophototherapeutic Ablation of Doxorubicin-Resistant Human Ovarian Tumor Cells. *Photochemistry and Photobiology*, v. 32, 2022.
- ³¹ WU, X.; HU, Y. Photodynamic Therapy for the Treatment of Fungal Infections. *Infection and Drug Resistance*, v. 15, p. 3251-3266, 2022.
- ³² ANASTAS, P. T. et al. Catalysis as a foundational pillar of green chemistry. *Applied Catalysis A: General*, v. 221, n. 1-2, p. 3-13, 2001.
- ³³ SALTZMAN, H.; Sharefkin, J. G. Iodosobenzene. *Organic Syntheses*, v. 43, n. 60, p. 658-660, 1963.
- ³⁴ GONSALVES, A. M. R. et al. Some new aspects related to the synthesis of mesosubstituted porphyrins. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 635-640, 1991.
- ³⁵ PINEIRO, M. Microwave-Assisted Synthesis and Reactivity of Porphyrins, *Current Organic Synthesis*, v. 11, p. 89-109, 2014.
- ³⁶ NASCIMENTO, B. F. O. et al. Microwave-assisted synthesis of porphyrins and metaloporphyrins: a rapid and efficient synthetic method. *Journal of porphyrins and Phthalocyanines*, v. 11, n. 2, p. 77-84, 2007.
- ³⁷ BOROVKOV, V. V. et al. Convenient method for efficient iron and manganese ion insertion into various porphyrins under mild conditions. *Synlett*, n. 1, p. 61-62, 1999.

- ³⁸ LIU I-CHIH; CHEN, JYH-HORUNG. Synthesis and characterization of antimony complexes of meso-tetraphenylporphyrin (tpp) and meso-tetra(4-methoxyphenyl)porphyrin (tmpp), and the x-ray crystal structure of $[\text{Sb}(\text{tmpp})\text{Cl}_2]^+\text{OH}^-$. *Polyhedron*, v. 15, n. 22, p. 3947-3954, 1996.
- ³⁹ TSUKAMOTO, T. et al. Structure resembling effect of clay surface on photochemical properties of meso-phenyl or pyridyl-substituted monocationic antimony(V) porphyrin derivatives. *Royal Society of Chemistry*, v. 5, n. 11, p. 8479-8485, 2015.
- ⁴⁰ KADISH, K. M. et al. Synthesis and Electrochemistry of Tetraphenylporphyrins Containing an Antimony-Carbon σ -Bond. *Inorganic Chemistry*, v. 35, n. 19, p. 5564-5569, 1996.
- ⁴¹ GUIMARÃES, A. S. Porfirinas de manganês hidrofóbicas como catalisadores da oxidação de substratos orgânicos por vias mais sustentáveis. 2019. (Doutorado em Química). Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- ⁴² PINTO, V. H. A. Mn(III)-porfirinas como catalisadores biomiméticos: Estabilidade térmica e imobilização em vermiculita e sílica gel funcionalizada para hidroxilação de alcanos. 2013. (Doutorado em Química). Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- ⁴³ RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
- ⁴⁴ GARDAIS, J. F.; TRANCHANT, J. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Masson; Ed. 4. 1995.
- ⁴⁵ GÜNAY, T. et al. Oxidation of Thymol and Carvacrol to Thymoquinone with KHSO_5 Catalyzed by Iron Phthalocyanine Tetrasulfonate in a Methanol–Water Mixture. *Catalysis Letters*, v. 146, p. 2306-2312, 2016.
- ⁴⁶ COELHO, A. C. et al. A luciferase-expressing *Leishmania braziliensis* line that leads to sustained skin lesions in BALB/c mice and allows monitoring of miltefosine treatment outcome. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 10, n. 5, e0004660, 2016.
- ⁴⁷ KULSHRESTHA, A. et al. Validation of a simple resazurin-based promastigote assay for the routine monitoring of miltefosine susceptibility in clinical isolates of *Leishmania donovani*. *Parasitology Research*, v. 112, n. 2, p. 825-828, 2013.
- ⁴⁸ KRÜGER, R. et al. Symmetrical and Unsymmetrical 4,7-Bis-arylvinyl-benzo-2,1,3-chalcogenodiazoles: Synthesis, Photophysical and Electrochemical Properties and Biomolecular Interaction Studies. *European Journal of Organic Chemistry*, v. 20, n. 3, p. 348-361, 2020.
- ⁴⁹ SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 124, pp. 1-19, 2013.
- ⁵⁰ OLIVEIRA, V. A. et al. Evaluation of DNA-binding and DNA-photocleavage ability of tetra-cationic porphyrins containing peripheral $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}]^+$ complexes: Insights for photodynamic therapy agentes. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, v. 2011, n. 111991, p. 1-13, 2020.
- ⁵¹ DOLPHIN, D. The Porphyrins: Structure and Synthesis Part A, v.1, Academic Press Inc, Nova Iorque, 1978.
- ⁵² ROTHEMUND, P. A New Porphyrin Synthesis. The Synthesis of Porphin. *Journal of the American Chemical Society*, v. 58, n. 4, p. 625-627, 1936.
- ⁵³ ROTHEMUND, P. Formation of porphyrins from pyrrole and aldehydes. *Journal of the American Chemical Society*, v. 57, n. 10, p. 2010-2011, 1935.

- ⁵⁴ ADLER, A. D. et al. Mechanistic Investigations of Porphyrin Syntheses. I. Preliminary Studies on meso-Tetraphenylporphin. *Journal of the American Chemical Society*, v. 86, n. 15, p. 3145-3149, 1964.
- ⁵⁵ ADLER, A. D. et al. A Simplified Synthesis for Meso-Tetraphenylporphine. *Journal of Organic Chemistry*, v. 32, n. 15, p. 476, 1967.
- ⁵⁶ LINDSEY, J. S. et al. Rothmund and Adler-Longo Reactions Revisited: Synthesis of Tetraphenylporphyrins under Equilibrium Conditions. *Journal of Organic Chemistry*, v. 52, p. 827-836, 1987.
- ⁵⁷ HENRIQUES, C. A. et al. Solventless metalation of low melting porphyrins synthesized by the water/microwave method. *RSC Advances*, v. 5, p. 64902-64910, 2015.
- ⁵⁸ TREIBS, A. Metalkomplexe von Porphyrinen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, v. 728, n. 1, p. 115-143, 1969.
- ⁵⁹ SAYER, P.; GOUTERMAN, M.; CONNELL, C. R. Metaloid Porphyrins and Phthalocyanines. *Accounts of Chemical Research*, v. 15, n. 3, p. 73-79, 1982.
- ⁶⁰ BUCHLER, J. W.; LAY, K. L. Arsen-, antimon- und wismutkomplexe des octaäthylporphins. *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, v. 10, n. 4, p. 297-300, 1974.
- ⁶¹ BARBOUR, T. et al. Preparation of Group 15 (Phosphorus, Antimony, and Bismuth) Complexes of meso-Tetra-p-tolylporphyrin (TTP) and X-ray Crystal Structure of [Sb(TTP)(OCH(CH₃)₂)₂]Cl. *Inorganic Chemistry*, v. 31, n. 5, p. 746-754, 1992.
- ⁶² INOUE, H. et al. Photochemical Epoxidation of Cyclohexene Sensitized by Tetraphenylporphyrinato antimony(V) in the Presence of Water Acting both as an Electron and an Oxygen Donor. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, n. 1, p. 105-111, 1994.
- ⁶³ BERTINI, I. et al. Biological Inorganic Chemistry: Structure and Reactivity. University Science Books, p. 739, 2007.
- ⁶⁴ BOUCHER, L. J. Manganese porphyrin complexes, *Coordination Chemistry Reviews*, v. 7, n. 3, p. 289-329, 1972.
- ⁶⁵ THOMAS, D. W.; MARTELL, A. E. Metal chelates of tetraphenylporphine and of some para-substituted derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, v. 81, n. 19, p. 5111-5119, 1959.
- ⁶⁶ ADLER, A. D. et al. On preparation of metaloporphyrins. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, v. 32, n. 7, p. 2443-2445, 1970.
- ⁶⁷ REBOUCAS, J. S. et al. Synthetic and mechanistic aspects of a new method for ruthenium-metalation of porphyrins and Schiff-bases. *Inorganic Chemistry*, v. 47, n. 17, p. 7894-7907, 2008.
- ⁶⁸ Pinto, S. M. A. et al. Synthesis of meso-substituted porphyrins using sustainable chemical processes. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, v. 20, p. 45-60, 2016.
- ⁶⁹ GOUTERMAN, M. Study of the effects of substitution on the absorption spectra of porphin. *The Journal of Chemical Physics*, v. 30, n. 5, p. 1139-1161, 1959.
- ⁷⁰ SUGATA, S.; YAMANOUCHI, S.; MATSUSHIMA, Y. meso-Tetrapyridylporphins and Their Metal Complexes. Syntheses and Physico-Chemical Properties. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 25, n. 5, p. 884-889, 1977.
- ⁷¹ NAKAMOTO, K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. 5th. New York: Wiley, 1997.
- ⁷² PAVIA, D.L. et al. Introdução à Espectroscopia, Cengage Learning – CTP, 1ª edição, 2010.

- ⁷³ SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. Ed. 7. Rio de Janeiro: LTC, 2012.
- ⁷⁴ NAHAR, L.; SARKER, S. D. Isolation and Characterization of 2,4,5-Trimethoxybenzaldehyde and 1-(2,4,5-trimethoxyphenyl)-Ethanone from *Pachypodanthium staudtii*, and their general Toxicity towards Brine Shrimps. *Natural Product Communications*, v. 1, n. 5, p. 377-380, 2006.
- ⁷⁵ FULMER, G. R. et al. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemistry. *Organometallics*, v. 29, p. 2176-2179, 2010.
- ⁷⁶ STULZ, E.; MARK, C. C.; SANDERS, J. K. M. Matrix assisted laser desorption/ionisation (MALDI)-TOF mass spectrometry of supramolecular metaloporphyrin assemblies: a survey. *Dalton Transactions*, v. 5, n. 5, p. 604-613, 2001.
- ⁷⁷ GOUTERMAN, M. Optical Spectra and Electronic Structure of Porphyrins and Related Rings. In: DOLPHIN, D. (Ed.). *The Porphyrins*. New York: Academic Press, v.3, p.1-165, 1978.
- ⁷⁸ HARRIMAN, A.; HOSIE, R. J. Luminescence of porphyrins and metaloporphyrins. Part 4. - Fluorescence of substituted tetraphenylporphyrins, *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*, v.77, n. 9, p. 1695-1702, 1981
- ⁷⁹ LOMOVA, T. N.; BEREZIN, B. D. Porphyrin complexes with p, d, and f metals in high oxidation states: Structures, electronic absorption, and IR spectra. *Russian Journal Coordination Chemistry*, v. 27, n. 2, p. 85-104, 2001.
- ⁸⁰ D'SOUZA, F. et al. Electrochemical and spectroelectrochemical behavior of cobalt(III), cobalt(II), and cobalt(I) complexes of meso-tetraphenylporphyrinate bearing bromides on the β -pyrrole positions. *Inorganic Chemistry*, v. 32, n. 19, p. 4042-4048, 1993.
- ⁸¹ BOUCHER, L. J.; KATZ, J. J. Infrared spectra of metaloporphyrins ($4000-160\text{ cm}^{-1}$). *Journal of the American Chemical Society*. v. 89, n. 6, p. 1340-1945, 1967.
- ⁸² JIANG, J. B. et al. Antimony Complexes for Electrocatalysis: Activity of a Main-Group Element in Proton Reduction. *Angewandte chemie-international edition*, v. 56, n. 31, p. 9111-9115, 2017.
- ⁸³ MONDAL, S. et al. Synthesis and characterization of antimony(V)-oxo corrole complexes, *Inorganica Chimica acta*, v. 501, n. 119300, p. 1-8, 2020.
- ⁸⁴ MASCARENHAS, A. J. S.; OLIVEIRA, E. C.; PASTORE, H. O. Peneiras Moleculares: Selecionando as Moléculas por seu Tamanho. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, maio de 2001.
- ⁸⁵ SANTOS, M. G. R. S. Desidratação de Gás Natural com Alto Teor De CO_2 em Peneira Molecular: Simulação e Aspectos de Comportamento de Fase. 2016. (Mestrado em Ciências), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- ⁸⁶ SHEKARCHI, M.; BEHBAHANI, F. K. Antimony(V) chloride, SbCl_5 as a labile reagent in organic Transformations. *Catalysis Letters*, v. 147, n. 12, p. 2950-2961, 2017.
- ⁸⁷ GOUTERMAN, M. Spectra of Porphyrins. *Journal of Molecular Spectroscopy*, v. 6, n. 1, p. 138-163, 1961.
- ⁸⁸ XIE, D. et al. Selective Photocatalytic Conversion of Benzyl Alcohol to Benzaldehyde by Antimony(V) Porphyrin Metal-Organic Frameworks under Visible-Light Irradiation. *Chemistry Select*, v. 7, n. 1, e202103521, 2022.
- ⁸⁹ DA SILVA, V. S. Porfirinas Simétricas e não-simétricas: Síntese, caracterização, emprego em catálise oxidativa e em terapia fotodinâmica. 2016. (Doutorado em Ciências- Química), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

- ⁹⁰ SRINIVASA, N. et al. Investigation of MALDI-TOF Mass Spectrometry of Diverse Synthetic Metaloporphyrins, Phthalocyanines and Multiporphyrin Arrays. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, v. 3, p. 283-291, 1999.
- ⁹¹ JUAREZ, P. Plant-derived anticancer agents: a promising treatment for bone metastasis. *Bruneky Reports*, v. 3, p. 599, 2014.
- ⁹² NEYMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, v. 70, n. 3, p. 461-477, 2007.
- ⁹³ RADÜNZ, M. et al. Chemical composition and in vitro antioxidant and antihyperglycemic activities of clove, thyme, oregano, and sweet orange essential oils. *LWT- Food Science and Technology*, v. 138, p. 110.632, 2021.
- ⁹⁴ BAYRAKTAR, O.; YERKESIKLI, A. G. Oxidation of oregano essential oil using zeolite-encapsulated Cr(salpn) complex. *Oxidation Communications*, v. 40, n. 4, p. 1275-1281, 2017.
- ⁹⁵ GONCA, E.; KURT, Ç. Cardioprotective effect of Thymoquinone: A constituent of *Nigella sativa* L., against myocardial ischemia/reperfusion injury and ventricular arrhythmias in anaesthetized rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 28, n. 4, p. 1267-1273, 2015.
- ⁹⁶ AMIN, B.; HOSSEINZADEH, H. Black Cumin (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects. *Planta Medica*, v. 82, n. 1-2, p. 8-16, 2016.
- ⁹⁷ MARTINS, R. R. L. et al. Oxidation of aromatic monoterpenes with hydrogen peroxide catalysed by Mn(III) porphyrin complexes. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v. 137, n. 1-3, p. 41-47, 1999.
- ⁹⁸ MARTINS R.R.L. et al. Oxidation of unsaturated monoterpenes with hydrogen peroxide catalysed by manganese (III) porphyrin complexes. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v. 172, n. 1-2, p. 33-42, 2001.
- ⁹⁹ NEVES, C. M. B. et al. Oxidation of Monoterpenes Catalysed by a Water-Soluble Mn(III) PEG-Porphyrin in a Biphasic Medium. *ChemCatChem*, v. 10, n. 13, p. 2804-2809, 2018.
- ¹⁰⁰ SKROBOT, F. C. et al. Monoterpenes oxidation in the presence of Y zeolite-entrapped manganese(III) tetra(4-N-benzylpyridyl)porphyrin. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, v. 201, n. 1-2, p. 211-222, 2003.
- ¹⁰¹ MILOS, M. A comparative study of biomimetic oxidation of oregano essential oil by H₂O₂ or KHSO₅ catalyzed by Fe (III) meso-tetraphenylporphyrin or Fe (III) phthalocyanine. *Applied Catalysis A: General*, v. 216, n. 1-2, p. 157-161, 2001.
- ¹⁰² MANSUY, D.; BATTIONI, P. Metaloporphyrins in Catalytic Oxidations, ed. R. A. Sheldon, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 99-132, 1994.
- ¹⁰³ SEMERCI, T. G. et al. Heterogenization of Porphyrin into PCN-222 as Oxidation Catalysts: Comparison in Terms of Reusability. *Chemistry Select*, v. 5, n. 44, p. 14223-14228, 2020.
- ¹⁰⁴ MEUNIER, B. Metaloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. *Chemical Reviews*, v. 92, n. 6, p. 1411-1456, 1992.
- ¹⁰⁵ NAM, W. New Insights into the Mechanisms of O-O Bond Cleavage of Hydrogen Peroxide and tert-Alkyl Hydroperoxides by Iron(III) Porphyrin Complexes. *Journal of the American Chemical Society*, v. 122, n. 36, p. 8677-8684, 2000.
- ¹⁰⁶ BACIOCCHI, E. et al. Epoxidation and hydroxylation reactions catalyzed by the manganese and iron complexes of 5,10,15,20-tetrakis(2,6-dimethoxyphenyl)porphyrin. *Tetrahedron*, v. 53, n. 12, p. 4497-4502, 1997.

- ¹⁰⁷ JUKIC, M.; MILOS, M. Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.). *Croatica Chemica Acta*, v. 78, n. 1, p. 105-110, 2005.
- ¹⁰⁸ POULOS, T. L. Heme Enzyme Structure and Function. *Chemical Reviews*, v. 114, n. 7, p. 3919-3962, 2014.
- ¹⁰⁹ ISIN, E. M.; GUENGERICH, F. P. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1770, p. 314-329, 2007.
- ¹¹⁰ STANFIELD, J. K.; SHOJI, O. The Power of Deception: Using Decoy Molecules to Manipulate P450BM3 Biotransformations. *Chemistry Letters*, v. 50, n. 12, p. 2025-2031, 2021.
- ¹¹¹ McQUARTERS, A. B. et al. 1958–2014: After 56 Years of Research, Cytochrome P450 Reactivity Is Finally Explained. *Angewandte Chemie- International Edition*, v. 53, p. 4750-4752, 2014.
- ¹¹² GROVES, J. T. et al. Hydroxylation and epoxidation catalyzed by iron-porphine complexes - oxygen-transfer from iodosylbenzene. *Journal of the American Chemical Society*, v. 101, n. 4, p. 1032-1033, 1979.
- ¹¹³ GROVES, J. T.; WATANABE, Y. Oxygen activation by metaloporphyrins related to peroxidase and cytochrome-p-450 - direct observation of the o-o bond-cleavage step. *Journal of the American Chemical Society*, v. 108, n. 24, p. 7834-7836, 1986.
- ¹¹⁴ MILAN, M. et al. Enantioselective aliphatic C–H bond Oxidation catalyzed by bioinspired complexes. *Chemical Communications*, v. 54, p. 9559-9570, 2018.
- ¹¹⁵ SZYMCZAK, J.; KRYJEWSKI, M. Porphyrins and Phthalocyanines on Solid-State Mesoporous Matrices as Catalysts in Oxidation Reactions. *Materials*, v. 15, n. 2532, p. 1-27, 2022.
- ¹¹⁶ MELO, C. N. et al. Manganese complex catalyst for valencene oxidation: The first use of metaloporphyrins for the selective production of nootkatone. *Inorganica Chimica Acta*, v. 515, n. 120031, p. 1-8, 2021.
- ¹¹⁷ TUNDO, P. et al. in *Green Chemical Reactions* (eds. P. Tundo and V. Esposito). Dordrecht: Springer Netherlands, p. 213–232, 2008.
- ¹¹⁸ PYO, S. H. et al. Dimethyl carbonate as a green Chemical. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, v. 5, n. 6, p. 61-66, 2017.
- ¹¹⁹ SALGADO, P. E. T.; MARONA, H. R. N. Informações Gerais e Ecotoxicológicas de Solventes Clorados – Salvador: Centro de Recursos Ambientais – CRA, 2004. ISBN 85-88595-21-4.
- ¹²⁰ TOVMASYAN, A. et al. Anticancer therapeutic potential of Mn porphyrin/ascorbate system. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 89, p. 1231-1247, 2015.
- ¹²¹ BELAL, R.; MOMENTEAU, M.; MEUNIER, B. Influence of the proximal ligand in the dismutation of hydrogen peroxide catalysed by manganese– and iron–porphyrin complexes. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, n. 7, p. 412-414, 1989.
- ¹²² KARIMIPOUR, G. R. et al. Clean and Highly Selective Oxidation of Alcohols by the $\text{PhI}(\text{OAc})_2/\text{Mn}(\text{TPP})\text{CN}/\text{Im}$ Catalytic System. *Journal of Chemical Research*, v. 4, p. 252-256, 2007.
- ¹²³ MI, C. et al. Highly selective oxidation of unsaturated hydrocarbons to carbonyl compounds by two-phase catalysis. *Tetrahedron*. V. 72, p. 6705-6710, 2016.
- ¹²⁴ REZAEIFARD, A. et al. Synthesis, Crystal Structure, and Catalytic Properties of Novel Dioxidomolybdenum(VI) Complexes with Tridentate Schiff Base Ligands in the Biomimetic and Highly Selective Oxygenation of Alkenes and Sulfides. *European Journal of Inorganic Chemistry*, v. 2010, n. 5, p. 799-806, 2010.

- ¹²⁵ CHEN, T.H. et al. Visible light-promoted selective oxidation of sulfides to sulfoxides catalyzed by ruthenium porphyrins with iodobenzene diacetate. *Applied Catalysis A: General*, v. 478, p. 275-282, 2014.
- ¹²⁶ LI, Z. et al. Oxidation of alkanes catalyzed by manganese(III) porphyrin in an ionic liquid at room temperature. *Tetrahedron Letters*, v. 44, n. 51, p. 9229-9232, 2003.
- ¹²⁷ DA SILVA, V. S. New manganese porphyrin as biomimetic catalyst of cyclohexane oxidation: effect of water or imidazole as additives. *Applied Catalysis A: General*, v. 469, p. 124-131, 2014.
- ¹²⁸ IN, J.-H. et al. Iodobenzene diacetate as an efficient terminal oxidant in iron (III) porphyrin complex-catalyzed oxygenation reactions. *Inorganica Chimica Acta*, v. 343, p. 373-376, 2003.
- ¹²⁹ NASCIMENTO, B. F. O. et al. Microwave-assisted synthesis of porphyrins and metaloporphyrins: a rapid and efficient synthetic method. *Journal of porphyrins and Phthalocyanines*, v. 11, p. 77-84, 2007.
- ¹³⁰ GUIMARÃES, A. S. et al. An eco-friendly approach to the cyclohexane oxidation catalyzed by manganese porphyrins: Green and solvent-free systems. *Polyhedron*, v. 163, p. 144-152, 2019.
- ¹³¹ MEININGER, D. J. et al. Synthesis, characterization, and atropisomerism of iron complexes containing the tetrakis(2-chloro-6-fluorophenyl)porphyrinate ligand. *Dalton Transactions*, v. 44, n. 20, p. 9486-9495, 2015.
- ¹³² TOMÉ, A. C. et al. Atropisomerism and conformational aspects of meso-tetraarylporphyrins and related compounds. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, v. 15, n. 1, p. 1-28, 2011.
- ¹³³ ROSE, E. et al. Efficient Preparation of the .alpha.,.alpha.,.beta.,.beta.-Atropoisomer of meso-Tetrakis(o-aminophenyl)porphyrin. *Journal of Organic Chemistry*, v. 60, n. 12, p. 3919-3920, 1995.
- ¹³⁴ HE, R. et al. Manganese-Catalyzed Dehydrogenative [4+2] Annulation of N-H Imines and Alkynes by C-H/N-H Activation. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 53, n. 19, p. 4950-4953, 2014.
- ¹³⁵ ATACK, T. C.; COOK, S. P. Manganese-Catalyzed Borylation of Unactivated Alkyl Chlorides. *Journal of the American Chemical Society*, v. 138, n. 19, p. 6139-6142, 2016.
- ¹³⁶ ANTONACCI, G. et al. Manganese-Catalyzed Cross-Coupling of Aryl Halides and Grignard Reagents by a Radical Mechanism. *European Journal of Organic Chemistry*, v. 2017, n. 32, p. 4758-4764, 2017.
- ¹³⁷ BALAMURUGAN, M. et al. Involvement of high-valent manganese-oxo intermediates in oxidation reactions: realisation in nature, nano and molecular systems. *Nano Convergence*, v. 5, n. 1, p. 1-19, 2018.
- ¹³⁸ BAGLIA, R. A.; ZARAGOZA, J. P.; GOLDBERG, D. P. Biomimetic Reactivity of Oxygen-Derived Manganese and Iron Porphyrinoid Complexes. *Chemical Reviews*, v. 117, n. 21, p. 13320-13352, 2017.
- ¹³⁹ POLTOWICZ, J. et al. Effect of substituents in the manganese μ -oxo porphyrins catalyzed oxidation of cyclooctane with molecular oxygen. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 8, n. 12, p. 1125-1127, 2005.
- ¹⁴⁰ ZHANG L. et al. Unprecedented Reactivities of Highly Reactive Manganese(III)-Iodosylarene Porphyrins in Oxidation Reactions. *Journal of The American Chemical Society*, v. 142, n. 47, p. 19879-19884, 2020.
- ¹⁴¹ WIRTH, T. Hypervalent Iodine Chemistry in Synthesis: Scope and New Directions. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 44, p. 3656-3665, 2005.

- ¹⁴² KOPOSOV, A. Y. et al. Preparation and Structure of Oligomeric Iodosylbenzene Sulfate (PhIO)₃·SO₃: Stable and Water-Soluble Analog of Iodosylbenzene. Short Communication, v. 2007, n. 27, p. 4475-4478, 2007.
- ¹⁴³ SCHUCHARDT, U. et al. Cyclohexane oxidation continues to be a challenge. *Applied Catalysis A: General*, v. 211, n. 1, p. 1-17, 2001.
- ¹⁴⁴ GEORGIEV, G. S. 10-I-3 Iodanes* as photoiniferters with spectral selectivity. *Polymer Bulletin*, v. 43, p. 223-230, 1999.
- ¹⁴⁵ GEORGIEV, G. S. et al. Radical Thermo- and Sonopolymerization of Methyl Methacrylate Initiated by Iodobenzene I,I-diacetate. *Polymer International*, v. 50, n. 3, p. 313-318, 2001.
- ¹⁴⁶ HUANG, L. et al. Paradoxical potentiation of methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic inactivation by sodium azide: Role of ambient oxygen and azide radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 53, n. 11, p. 2062-2071, 2012.
- ¹⁴⁷ LI, M. Y. et al. Quenching of Singlet Molecular Oxygen (¹O₂) by Azide Anion in Solvent Mixtures. *Photochemistry and Photobiology*, v. 74, n. 6, p. 760-764, 2001.
- ¹⁴⁸ SHEN, B.; JENSEN, R. G.; BOHNERT, H. J. Mannitol Protects against Oxidation by Hydroxyl Radicals. *Plant Physiology*, v. 115, n. 2, p. 527-532, 1997.
- ¹⁴⁹ DEIGHTON, N. et al. Identification by epr spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 63, n. 2, p. 221-225, 1993.
- ¹⁵⁰ WANG, X.; STUDER, A. Iodine(III) Reagents in Radical Chemistry. *Accounts of Chemical Research*, v. 50, n. 7, p. 1712-1724, 2017.
- ¹⁵¹ NOGUEIRA, A. L. et al. Polímeros e Reações de Polimerização. Laboratório de Controle de Processos - Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.
- ¹⁵² SHRIVASTAVA, A. Introduction to Plastics Engineering II Polimerization, © 2018 Elsevier Inc. All rights reserved. P. 17-48, 2018.
- ¹⁵³ GALIZIA, M. et al. Solubility and Diffusivity of Low Molecular Weight Compounds in Semi-Crystalline Poly-(2,6-Dimethyl-1,4-Phenylene)Oxide: The Role of the Crystalline Phase. *Journal of Membrane Science*, v. 443, p. 100-106, 2013.
- ¹⁵⁴ HWANG, H. J.; HSU, S. W.; WANG, C. S. Synthesis and physical properties of low-molecular-weight redistributed poly(2,6-dimethyl-1,4-phenylene oxide) for epoxy resin. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 110, n. 3, p. 1880-1890, 2008.
- ¹⁵⁵ VALDERRAMA, A. C. S.; ROJAS DE, G. C. Traceability of Active Compounds of Essential Oils in Antimicrobial Food Packaging Using a Chemometric Method by ATR-FTIR. *American Journal of Analytical Chemistry*, v. 8, n. 11, p. 726-741, 2017.
- ¹⁵⁶ CANALES, D. et al. Fungicides Films of Low-Density Polyethylene (LDPE)/Inclusion Complexes (Carvacrol and Cinnamaldehyde) against Botrytis Cinerea. *Coatings*, v. 9, n. 12, p. 1-18, 2019.
- ¹⁵⁷ BERTUOLA, M. et al. Detection of Carvacrol in Essential Oils by Electrochemical Polymerization. *Heliyon*, v. 6, e03714, p. 1-10, 2020.
- ¹⁵⁸ YEHYE, W. A. et al. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 101, p. 295-312, 2015.
- ¹⁵⁹ DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES initiative. Leishmanioses: DNDi, 2021. Disponível em: <<https://www.dndi.org/doencas/leishmanioses/>>. Acesso em: 17 dezembro 2022.

- ¹⁶⁰ DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. *Revista Saúde Pública*, v. 44, n. 1, p. 200-202, 2010.
- ¹⁶¹ WORLD HEALTH ORGANIZATION. leishmaniasis: WHO, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/>. Acesso em: 25 janeiro 2023.
- ¹⁶² WORLD HEALTH ORGANIZATION. leishmaniasis: WHO, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1>. Acesso em: 20 dezembro 2022.
- ¹⁶³ BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças tropicais negligenciadas, 30 de janeiro – Dia mundial de combate às Doenças tropicais negligenciadas. *Boletim epidemiológico*, p. 1-74, 2021e.
- ¹⁶⁴ WORLD HEALTH ORGANIZATION. leishmaniasis: WHO, 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 26 janeiro 2023.
- ¹⁶⁵ DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES initiative. New Hope For Leishmaniasis: Dndi R&D and Access Programmes In Focus. DNDi: Julho 2022. Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/leishmanioses/>>. Acesso em: 17 dezembro 2022.
- ¹⁶⁶ CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Parasites- Leishmaniasis: CDC, 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/gen_info/faqs.html>. Acesso em: 3 dezembro 2022.
- ¹⁶⁷ KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host–pathogen interface. *Nature Review Microbiology*, v. 9, n. 8, p. 604-615, 2011.
- ¹⁶⁸ MANN, S. et al. A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. *Current Tropical Medicine Reports*, v. 8, n. 2, p. 121-132, 2021.
- ¹⁶⁹ TSAFACK, A. et al. Chemical Determinants of antimalarial activity of reversed siderophores. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.40, n. 9, p. 2160, 1996.
- ¹⁷⁰ BRINDHA, J. et al. An Overview on the Therapeutics of Neglected Infectious Diseases—Leishmaniasis and Chagas Diseases. *Frontiers in Chemistry*, v. 9, n. 622286, p. 1-19, 2021.
- ¹⁷¹ FRÉZARD, F. et al. Chemistry of antimony-based drugs in biological systems and studies of their mechanism of action. *Reviews in Inorganic Chemistry*, v. 33, n. 1, 2013.
- ¹⁷² SASIDHARAN, S.; SAUDAGAR, P. Leishmaniasis: where are we and where are we heading? *Parasitology Research*, v. 120, p. 1541-1554, 2021.
- ¹⁷³ REGUERA, R. M. et al. Current and promising novel drug candidates against visceral leishmaniasis. *Pure and Applied Chemistry*, v. 91, n. 8, p. 1385-1404, 2019.
- ¹⁷⁴ VIANNA, G. Comunicação à Sociedade Brasileira de Dermatologia. *Arquivo Brasileiro de Medicina*, v. 2, p. 426, 1912.
- ¹⁷⁵ ROATT, B. M. et al. Recent advances and new strategies on leishmaniasis treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 104, n. 21, p. 8965-8977, 2020.
- ¹⁷⁶ COTA, G. F. et al. Efficacy of anti-leishmania therapy in visceral leishmaniasis among HIV infected patients: a systematic review with indirect comparison. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 7, n. 5, p. e2195, 2013.
- ¹⁷⁷ ALCÂNTARA, L. M. et al. Challenges in drug discovery targeting TriTryp diseases with an emphasis on leishmaniasis, *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, v. 8, n. 3, p. 430–439, 2018.

- ¹⁷⁸ ROSA, L. B. et al. A “Golden Age” for the discovery of new antileishmanial agents: Current status of leishmanicidal gold complexes and prospective targets beyond the trypanothione system. *ChemMedChem*, v. 16, p. 1-16, 2021.
- ¹⁷⁹ CHAKRAVARTY, J.; SUNDAR, S. Current and emerging medications for the treatment of leishmaniasis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, v. 20, n. 10, p. 1251–1265, 2019.
- ¹⁸⁰ DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES initiative. Relatório de Atividades América Latina 2021. DNDi 2022. Disponível em: < https://www.dndial.org/wp-content/uploads/2022/10/dndi_activity_report_2021_edicao_1_POR_v4.pdf?x40562>. Acesso em: 05 dezembro 2022.
- ¹⁸¹ DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES initiative. Leishmaniosis: Delivering safer, simpler treatments to save lives and reduce social stigma: DNDi, 2022. Disponível em: <https://www.dndial.org/wpcontent/uploads/2022/10/dndi_activity_report_2021_edicao_1_POR_v4.pdf?x40562>. Acesso em: 28 novembro 2022.
- ¹⁸² BALAÑA-FOUCE, R. et al. Walking a tightrope: drug discovery in visceral leishmaniasis. *Drug Discovery Today*, v. 24, n. 5, p. 1209-1216, 2019.
- ¹⁸³ NAGLE, A. et al. Discovery and characterization of clinical candidate LXE408 as a kinetoplastid selective proteasome inhibitor for the treatment of leishmaniasis. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 63 n. 19, p. 10773-10781, 2020.
- ¹⁸⁴ RAKOTOMANGA, M. et al. Miltefosine affects lipid metabolism in *Leishmania donovani* promastigotes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 51, n. 4, p. 1425-1430, 2007.
- ¹⁸⁵ WADHONE, P. et al. Miltefosine Promotes IFN- γ -Dominated Anti-Leishmanial Immune Response. *The Journal of Immunology*, v. 182, n. 11, p. 7146-7154, 2009.
- ¹⁸⁶ MAAROUF, M. et al. Biochemical alterations in paromomycin-treated *Leishmania donovani* promastigotes. *Parasitology Research*, v. 83, p. 198- 202, 1997.
- ¹⁸⁷ YANG, G.; CHOI, G.; NO, J.H. Antileishmanial Mechanism of Diamidines Involves Targeting Kinetoplasts. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, v. 60, n. 11, p. 6828-6836.
- ¹⁸⁸ GOODWIN, L. G.; PAGE, J.E. A Study of the Excretion of Organic Antimonials Using a Polarographic Procedure. *Biochemical Journal*, v. 37, n. 2, p. 198-209, 1943.
- ¹⁸⁹ BURGUERA, J. L. et al. Selective determination of antimony(III) and antimony(V) in serum and urine and of total antimony in skin biopsies of patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Trace Elements in Medicine*, v. 10, n. 2, p. 66-70, 1993.
- ¹⁹⁰ FRÉZARD, F. et al. Glutathione-induced conversion of pentavalent antimony to trivalent antimony in meglumine antimoniate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 45, n. 3, p. 913-916, 2001.
- ¹⁹¹ FRÉZARD, F. et al. Thiol-induced reduction of antimony(V) into antimony(III): A comparative study with trypanothione, cysteinyl-glycine, cysteine and glutathione. *Biometals*, v. 16, p. 441-446, 2003.
- ¹⁹² YAN, S. et al. Reduction of pentavalent antimony by trypanothione and formation of a binary and ternary complex of antimony(III) and trypanothione. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, v. 8, p. 689-697, 2003.
- ¹⁹³ DEMICHELI, C.; FRÉZARD, F. Novas Embalagens para Medicamentos à Base de Antimônio Usados no Tratamento de Leishmaniose e Esquistossomose. Química Nova, Caderno Temáticos de Química Nova na Escola, 2005.
- ¹⁹⁴ SADLER, P.J.; SUN, H.; LI, H. Bismuth (III) complexes of the tripeptide glutathione (γ -L-Glu-L-Cys-Gly). *Chemistry – A European Journal*, v. 2, n. 6, p. 701-708, 1996.

- ¹⁹⁵ DUFFIN, R. N. et al. The thiol-based reduction of Bi(V) and Sb(V) anti-leishmanial complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 221, n. 111470, 2021.
- ¹⁹⁶ YAN, S. et al. Rapid reduction of pentavalent antimony by trypanothione: Potential relevance to antimonial activation. *Chemical Communications*, n. 2, p. 266-267, 2003.
- ¹⁹⁷ SUN, H.; YAN, S. C.; CHENG, W. S. Interaction of antimony tartrate with the tripeptide glutathione Implication for its mode of action. *European Journal of Biochemistry*, v. 267, n. 17, p. 5450-5457, 2000.
- ¹⁹⁸ CRICHTON, Robert R. *Biological Inorganic Chemistry: A new introduction to molecular structure and function*. 2 ed. Louvain-la-Neuve, Bélgica: Copyright, Elsevier, 2012.
- ¹⁹⁹ NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- ²⁰⁰ SCHRANK, I. S.; SILVA, S. C. Replicação do DNA. In: ZAHA, A. *Biologia Molecular básica*. Porto Alegre: Mercado aberto, 2001. Cap. 5, p. 93-115.
- ²⁰¹ LOURENÇO, L.M. et al. Synthesis, characterization and biomolecule-binding properties of novel tetra-platinum (II)-thiopyridylporphyrins. *Dalton Transactions*, v. 44, n. 2, p. 530-538, 2015.
- ²⁰² NGUYEN, T.; BREWER, A.; STULZ, E. Duplex stabilization and energy transfer in zipper porphyrin–DNA. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 48, n. 11, p. 1974-1977, 2009.
- ²⁰³ M. Arba, D.H. Tjahjono. The binding modes of cationic porphyrin-anthraquinone hybrids to DNA duplexes: in silico study. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 33 (2015), pp. 657-665.
- ²⁰⁴ STULZ, E. Nanoarchitectonics with porphyrin functionalized DNA. *Accounts of Chemical Research*, v. 50, n. 4, p. 823-831, 2017.
- ²⁰⁵ LEBEDEVA, N. Sh. et al. Interactions of tetracationic porphyrins with DNA and their effects on DNA cleavage. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 199, p. 235-241, 2018.
- ²⁰⁶ HAQ, I. Thermodynamics of drug–DNA interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 403, n. 1, p. 1-15, 2002.
- ²⁰⁷ STRICKLAND, J. A. et al. Porphyrin and metaloporphyrin binding to DNA polymers: rate and equilibrium binding studies. *Biochemistry*, v. 27, n. 24, p. 8870-8878, 1988.
- ²⁰⁸ FIEL, R. J. et al. Interaction of DNA with a porphyrin ligand: evidence for intercalation. *Nucleic Acids Research*, v. 6, n. 9, p. 3093-3118, 1979.
- ²⁰⁹ LIPSCOMB, L. A. et al. Structure of a DNA-porphyrin complex. *Biochemistry*, v. 35, n. 9, p. 2818-2823, 1996.
- ²¹⁰ PRATVIEL, G. Porphyrins in complex with DNA: Modes of interaction and oxidation reactions. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 308, part. 2, p. 460-477, 2016.
- ²¹¹ INGOLD, K.U. MACFAUL, P.A. Distinguishing biomimetic oxidation from oxidation mediated by freely diffusing radicals, in: B. Meunier (Ed.), *Biomimetic Oxidation Catalyzed by Transition Metals*, Imperial College Press, London, 2000, pp.45–89.
- ²¹² ROMENA, C. et al. Interaction of Cationic Nickel and Manganese Porphyrins with the Minor groove of DNA. *Inorganic Chemistry*, v. 49, n. 18, p. 8558-8567, 2010.
- ²¹³ JENKINS T.C. Optical Absorbance and Fluorescence Techniques for Measuring DNA–Drug Interactions. In: Fox K.R. (eds) *Drug-DNA Interaction Protocols. Methods in Molecular Biology™*, vol 90. Humana Press, Totowa, NJ, 1997.

- ²¹⁴ KELLY, J. M. et al. A comparative study of the interaction of 5,10,15,20-tetrakis (N-methyl pyridinium-4-yl)porphyrin and its zinc complex with DNA using fluorescence spectroscopy and topoisomerisation. *Nucleic Acids Research*, v. 13, n. 1, p. 167-184, 1985.
- ²¹⁵ ROMENA, C. et al. Improvement of porphyrins for G-quadruplex DNA targeting. *Biochimie*, v. 93, p. 1310-1317, 2011.
- ²¹⁶ CARVLIN, M. J.; FIEL, R. J. Intercalative and nonintercalative binding of large cationic porphyrin ligands to calf thymus DNA. *Nucleic Acids Research*, v. 11, n. 17, p. 6121-6139, 1983.
- ²¹⁷ BARRAGÁN, E. et al. The role of cobalt, copper, nickel, and zinc in the DNA replication inhibitory activity of p-aminophenyl triphenylporphyrin. *Applied Organometallic Chemistry*, v. 18, n. 7, p. 311-317, 2004.
- ²¹⁸ CHAVES, J. D. S. et al. Novel gold(I) complexes with 5-phenyl-1,3,4-oxadiazole-2-thione and phosphine as potential anticancer and antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 127, p. 727-739, 2017.
- ²¹⁹ AUWERX, J. The human leukemia cell line, THP-1: amultifaceted model for the study of monocyte-macrophage differentiation. *Experientia*, v. 47, n. 1, p. 22-31, 1991.
- ²²⁰ PREISS, S.; NAMGALADZE, D.; BRUNE, B., 2007. Critical role for classical PKC in activating Akt by phospholipase A2-modified LDL in monocytic cells. *Cardiovascular Research*, v. 73, n. 4, p. 833-840, 2007.
- ²²¹ TOTÉ, K, et al. Evaluation of hydrogen peroxide-based disinfectants in a new resazurin microplate method for rapid efficacy testing of biocides. *Journal of Applied Microbiology*, v. 107, n. 2, p. 606-615, 2009.
- ²²² ESPINOSA, A. V. et al. Anticancer and antileishmanial in vitro activity of gold(I) complexes with 1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione ligands derived from δ -D-gluconolactone. *Chemical Biology & Drug Design*, v. 97, n. 1, p. 41-50, 2021.
- ²²³ OLIVEIRA, F. B. et al. Kinetics of Antimony(V) Reduction by L-Cysteine. Pharmacological Implications and Application to the Determination of Antimony in Pentavalent Antimonial Drugs. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, n. 8, p. 1642-1650, 2006.
- ²²⁴ DENTON, H. et al. Reduction of anti-leishmanial pentavalent antimonial drugs by a parasite-specific thiol-dependent reductase, TDR1. *Biochemical Journal*, v. 381, p. 405-412, 2004.
- ²²⁵ FERREIRA, C. S. et al. Thiol-induced reduction of antimony(V) into antimony(III): A comparative study with trypanothione, cysteinyl-glycine, cysteine and glutathione. *Biometals*, v. 16, p. 441-446, 2003.
- ²²⁶ ANANTHA, N. V.; AZAM, M.; SHEARDY, R. D. Porphyrin Binding to Quadruplexed T4G4. *Biochemistry*, v. 37, n. 9, p. 2709-2714, 1998.
- ²²⁷ CHILAKAMARTHI, U. et al. Novel Amphiphilic G-Quadruplex Binding Synthetic Derivative of TMPyP4 and Its Effect on Cancer Cell Proliferation and Apoptosis Induction. *Biochemistry*, v. 57, n. 46, p. 6514-6527, 2018.
- ²²⁸ SUN, Yan-Mei. et al. DNA interaction and photodynamic antitumor activity of transition metal mono-hydroxyl corrole, *Bioorganic Chemistry*, v. 90, n. 103085, p. 1-10, 2019.
- ²²⁹ PYLE, A. M. et al. Mixed-ligand complexes of ruthenium (II): factors governing binding to DNA. *Journal of the American Chemical Society*, v. 111, p. 3051-3058, 1989.

- ²³⁰ ALEESHAH, R. et al. Spectroscopic, thermodynamic and molecular docking studies on the interaction of two water-soluble asymmetric cationic porphyrins with calf thymus DNA. *Journal of the Iranian Chemical Society*, v. 16, p. 1327-1343, 2019.
- ²³¹ MOHAMADI, M. et al. Spectroscopic and electrochemical studies of the interaction between oleuropein, the major bio-phenol in olives, and salmon sperm DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 148, n. 5, p. 260-265, 2015.
- ²³² ZHANG, Q. et al. DNA interactive and selective anticancer activity studies of copper(II) complexes decorated water-soluble porphyrin. *Applied Organometallic Chemistry*, v. 35, n. 2, p. e6094, 2020.
- ²³³ CHO, et al. Binding properties of various cationic porphyrins to DNA in the molecular crowding condition induced by poly(ethylene glycol). *ACS Omega*, v. 5, n. 18, p. 10459-10465, 2020.
- ²³⁴ GULIAEV, A. B.; LEONTIS, N. B. Cationic 5,10,15,20-Tetrakis(N-methylpyridinium-4-yl)porphyrin Fully Intercalates at 5'-CG-3' Steps of Duplex DNA in Solution. *Biochemistry*, v. 38, p. 15425-15437, 1999.
- ²³⁵ RODGER, A. Circular and linear dichroism of drug-DNA systems. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, v. 613, p.37-54, 2010.
- ²³⁶ SHAHABADI, N.; KASHANIAN, S.; FATAHI, A. Identification of Binding Mode of a Platinum(II) Complex, PtCl₂(DIP), and Calf Thymus DNA. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, v. 2011, p. 1-7, 2011.
- ²³⁷ QIN, T. et al. Binding Interactions of Zinc Cationic Porphyrin with Duplex DNA: From B-DNA to Z-DNA. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 1071, p. 1-12, 2018.
- ²³⁸ PATERNACK, R. Circular Dichroism and the Interactions of Water Soluble Porphyrins with DNA—A Minireview. *Molecular Chirality*, v. 15, n. 4, p. 329-332, 2003.
- ²³⁹ BALAZ, M. et al. Porphyrins as spectroscopic sensors for conformational studies of DNA. *Pure and Applied Chemistry*, v. 79, n. 4, p. 801-809, 2007.
- ²⁴⁰ HUANG, X.; NAKANISHI, K.; BEROVA, N. Porphyrins and metaloporphyrins: versatile circular dichroic reporter groups for structural studies, *Chirality*, v. 12, p. 237-255, 2000.
- ²⁴¹ OLIVEIRA, V. A. et al. Evaluation of DNA-binding and DNA-photocleavage ability of tetra-cationic porphyrins containing peripheral [Ru(bpy)₂Cl]⁺ complexes: Insights for photodynamic therapy agentes. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, v. 211, n. 111991, p. 1-13, 2020.
- ²⁴² GILL, M. R.; THOMAS, J. A. Ruthenium(II) polypyridyl complexes and DNA—from structural probes to cellular imaging and therapeutics. *Chemical Society Reviews*, v. 41, p. 3179-3192, 2012.
- ²⁴³ MATHEW, D.; SUJATHA, S. Interactions of porphyrins with DNA: A review focusing recent advances in chemical modifications on porphyrins as artificial nucleases. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 2019, n. 111434, p. 1-35, 2021.
- ²⁴⁴ BESSA, N. C. Avaliação das Interações Entre a Albumina Sérica Humana (ASH), Complexos Terpiridina de Rutênio(II) Doadores de Óxido Nítrico (NO) e Seus Respetivos Aqua Complexos. Dissertação (Mestre em Química), Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, 2022.
- ²⁴⁵ LAKOWICZ, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3^a ed. Springer Science, 2006.
- ²⁴⁶ LI, X. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Novel DNA intercalators without basic side chains as efficient antitumor agents : Design , synthesis and evaluation of benzo- [c , d] - indol-malononitrile derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 18, n. 9, p. 3279-3284, 2010.

- ²⁴⁷ BI, S.; ZHANG, H.; QIAO, C.; SUN, Y.; LIU, C. Studies of interaction of emodin and DNA in the presence of ethidium bromide by spectroscopic method. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 69, p. 123-129, 2008.
- ²⁴⁸ HELLER, D. P.; GREENSTOCK, C. L. Fluorescence lifetime analysis of DNA intercalated ethidium bromide and quenching by free dye. *Biophysical Chemistry*, v. 50, n. 3, p. 305-312, 1994.
- ²⁴⁹ SAHAR, E.; LATT, S. A> Energy transfer and binding, competition between dyes used to enhance staining differentiation in metáfase chromosomes. *Chromosoma*, v. 79, n. 1, p.1-28, 1980.
- ²⁵⁰ FOLETTO, P. et al. A New Protocol for the Synthesis of New Thioaryl-Porphyrins Derived from 5,10,15,20-Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin: Photophysical Evaluation and DNA-Binding Interactive Studies. *Molecules*, v. 23, n. 10, p. 2588, 2018.
- ²⁵¹ QIAO, C. et al. Study of interactions of anthraquinones with DNA using ethidium bromide as a fluorescence probe. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 70, n. 1, p. 136-143, 2008.
- ²⁵² MONTALTI, M. et al. Handbook of photochemistry. CRC press, 2006.
- ²⁵³ CHAVES, O. A. et al. Biological interactions of fluorinated chalcones: stimulation of tyrosinase activity and binding to bovine sérum albumin. *Journal of Fluorine Chemistry*, v. 199, p. 30-38, 2017.
- ²⁵⁴ ALI, A.; BHATTACHARYA, S. DNA Binders in Clinical Trials and Chemotherapy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 22, n. 16, p. 4506–4521, 2014.
- ²⁵⁵ PALCHAUDHURI, R.; HERGENROTHER, P. DNA as a target for anticancer compounds: methods to determine the mode of binding and the mechanism of action. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 18, n. 6, p. 497-503, 2007.
- ²⁵⁶ PIETRO, D. et al. A fast, low cost, and highly efficient fluorescent DNA labeling method using ethyl green. *Histochemistry and Cell Biology*, v. 142, p. 335-345, 2014.
- ²⁵⁷ OH, Y. S. et al. Retained binding mode of various DNA-binding molecules under molecular crowding condition. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v. 36, n. 12, p. 3035-3046, 2018.
- ²⁵⁸ LUBITZ, I. et al. Interaction of Monomolecular G4-DNA Nanowires with TMPyP: Evidence for Intercalation. *Biochemistry*, v. 46, n. 45, p. 12925-12929, 2007.
- ²⁵⁹ OKADA, H. et al. Intercalation of water-soluble bis-Porphyrins into Poly(dA)-Poly(dT) double Helix. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 9, n. 12, p. 3301-3307, 2001.
- ²⁵⁹ JIN, S. Synthesis, G-quadruplexes DNA binding, and photocytotoxicity of novel cationic expanded porphyrins. *Bioorganic Chemistry*, v. 60, p. 110-117, 2015.
- ²⁶⁰ MENEZES, L. B. Investigação das propriedades fotofísicas de porfirinas meso substituídas com complexos de Ru^{II} e estudo da interação com biomoléculas. 2018. (Mestrado em Química). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- ²⁶¹ ABADA, Z. et al. Synthesis and antiprotozoal activity of original porphyrin precursors and derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 67, p. 158-165, 2013.
- ²⁶² Bristow, Carrie-Anne, et al. Potential of cationic porphyrins for photodynamic treatment of cutaneous Leishmaniasis. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 3, p. 162-167, 2006.
- ²⁶³ CABELLO-DONAYRE, M. et al. New Insights on Heme Uptake in Leishmania spp. *International Journal of Molecular Sciences*. V. 23, p. 1-18, 2022.

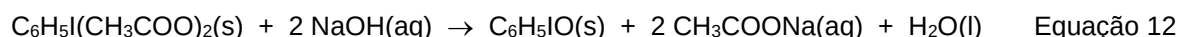
- ²⁶⁴ ESPITIA-ALMEIDA, F. et al. In Vitro Anti-Leishmanial Effect of Metallic Meso-Substituted Porphyrin Derivatives Against *Leishmania braziliensis* and *Leishmania panamensis* Promastigotes Properties. *Molecules*, v. 25, p. 1-11, 2020.
- ²⁶⁵ ESPITIA-ALMEIDA, F. et al. Photodynamic effect of 5,10,15,20-tetrakis(4-carboxyphenyl) porphyrin and (Zn²⁺ and Sn⁴⁺) derivatives against *Leishmania spp* in the promastigote stage: experimental and DFT study. *Chemical Papers*, v. 75, p. 4817-4829, 2021.
- ²⁶⁶ ESPITIA-ALMEIDA, F. et al. Photophysical characterization and in vitro anti-leishmanial effect of 5,10,15,20-tetrakis(4-fluorophenyl) porphyrin and the metal (Zn(II), Sn(IV), Mn(III) and V(IV)) derivatives. *Biometals*, v. 35, p. 159-171, 2022.
- ²⁶⁷ LIMA, N. M. A. et al. Photodynamic effect of paladium porphyrin derived from cashew nut shell liquid against promastigote forms of *Leishmania braziliensis*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 33, n. 102083, p. 1-6, 2021.
- ²⁶⁸ MANATHANATH, M. et al. Photodynamic evaluation of triazine appended porphyrins as anti-leishmanial and anti-tumor agents. *Polyhedron*, v. 2017, n. 115711, p. 1-10, 2022.
- ²⁶⁹ SOUZA, T. H. S. et al. Efficient photodynamic inactivation of *Leishmania* parasites mediated by lipophilic water-soluble Zn(II) porphyrin ZnTnHex-2-PyP⁴⁺. *BBA – General Subjects*, v. 1865, n. 129897, 2021.
- ²⁷⁰ SHARMA, R. et al. Photodynamic inactivation of *Leishmania braziliensis* doubly sensitized with uroporphyrin and diamino-phthalocyanine activates effector functions of macrophages in vitro. *Scientific Reports*, v. 10, n. 17065, p. 1-13, 2020.
- ²⁷¹ ALMEIDA-AMARAL, E. E. et al. *Leishmania amazonensis*: Heme stimulates (Na⁺ + K⁺)ATPase activity via phosphatidylinositol-specific phospholipase C/protein kinase C-like (PI-PLC/PKC) signaling pathways. *Experimental Parasitology*, v. 124, p. 436-441, 2010.
- ²⁷² ANDRADE, C. G. Efeito da terapia fotodinâmica associada a zincoporfirinas sobre *Leishmania braziliensis*. 2018. (Doutorado em Biologia Aplicada à Saúde), Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- ²⁷³ XU, Min. et al. The incipient denaturation mechanism of DNA. *RSC Advances*, v. 12, n. 36, p. 23356-23365, 2022.
- ²⁷⁴ POSSATO, B. et al. Anticancer activity and DNA interaction of ruthenium acetate clusters bearing azanaphthalene ancillary ligands. *Polyhedron*, v. 176, n. 114261, p. 1-8, 2020.
- ²⁷⁵ DA SILVA, C. F. N. et al. Anticancer and antitrypanosomal activities of trinuclear ruthenium compounds with orthometalated phenazine ligands. *Dalton Transactions*, v. 49, p. 16440-16452, 2020.

APÊNDICES

Apêndice A – Preparação do iodosilbenzeno

A.1 Obtenção do Iodosilbenzeno

Na preparação do iodosilbenzeno (PhIO), utilizou-se o procedimento descrito por Sharefkin e Saltzman (1963)⁶³ por hidrólise básica do iodobenzeno diacetato, PhI(OAc)₂, conforme representado na Equação 12.



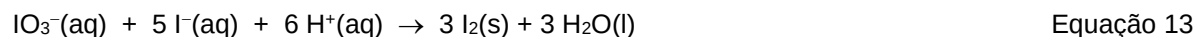
O PhI(OAc)₂ (2,000 g; 6,085 mmol) foi colocado em um béquer de 250 mL, no qual adicionaram-se lentamente 10,0 mL de solução de NaOH 3 mol L⁻¹ sob agitação manual vigorosa. Finalizou-se a agitação quando se formou uma massa pastosa, que foi triturada com bastão de vidro por aproximadamente 15 minutos. Em seguida, deixou-se o sistema em repouso por 45 minutos para que a reação se completasse. Terminada a reação, foram adicionados 200 mL de água destilada sob agitação. O PhIO foi filtrado em funil de Büchner (papel de filtro com poros de 8 µm, Quanta), lavado com 200 mL de água destilada e secado por sucção à vácuo. O sólido seco foi triturado com 75 mL de clorofórmio, novamente filtrado e secado por sucção a vácuo. O PhIO foi triturado em um gral e guardado sob refrigeração. A pureza do composto PhIO sintetizado foi determinada por iodometria. Rendimento PhIO: 240,70 mg (18%)

A.2 Determinação da pureza do PhIO

A.2.1 Preparação da solução de KIO₃ 0,0017 mol L⁻¹: O KIO₃ foi seco em estufa a 120° C durante 1 hora. Foi medido 0,03744 g de KIO₃ em balança analítica. Esta massa foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL. O volume do balão foi completado com água destilada previamente fervida e a solução foi homogeneizada.

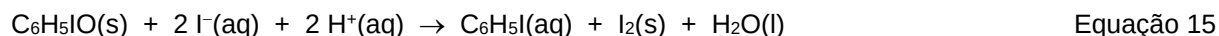
A.2.2 Preparação da solução de Na₂S₂O₃ 0,0161 mol L⁻¹: foi medido 0,9993 g de Na₂S₂O₃·5H₂O em balança analítica. Esta massa foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL. O volume do balão foi completado com água destilada previamente fervida e a solução homogeneizada. Esta solução é um padrão secundário e, antes de ser usada na titulação do PhIO, foi titulada com solução de KIO₃ (padrão primário).

A.2.3 Titulação da solução de Na₂S₂O₃: mediu-se com uma pipeta volumétrica uma alíquota de 5,00 mL de solução de KIO₃, transferindo-a para um erlenmeyer de 125 mL de boca esmerilhada e com tampa. Foram adicionados 0,2003 g de KI e 0,60 mL de solução de H₂SO₄ (2,0 mol L⁻¹). A amostra foi titulada com solução de Na₂S₂O₃ presente na bureta, usando 10 gotas de solução de amido a 2% (m/v) como indicador. A titulação foi realizada em triplicata e as reações que ocorreram estão representadas nas Equações 13 e 14.

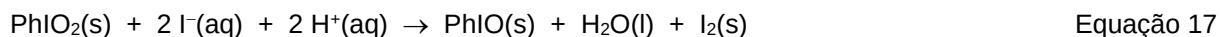


A concentração determinada para a solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ foi de $0,0103 \text{ mol L}^{-1}$.

A.2.4 Titulação da solução de PhIO: uma amostra de 1 mg de PhIO foi medida em balança analítica e transferida para um erlenmeyer de 25 mL com tampa. Adicionaram-se ao erlenmeyer 0,026 g de NaHCO_3 , 0,052 g de KI, 0,052 g de tetraborato de sódio, 1,25 mL de água destilada e 0,25 mL de solução de H_2SO_4 ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$). Esta mistura foi agitada em agitador magnético por 20 minutos em banho de gelo e sob a proteção da luz, obtendo-se uma solução de coloração marrom avermelhada. Em seguida, realizou-se a titulação usando a solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na bureta e, 5 gotas de solução de amido a 2% (m/v) foram usadas como indicador. A titulação foi realizada em triplicata. As reações envolvidas no processo estão representadas nas Equações 15 e 16.



O tetraborato de sódio foi usado para evitar que a impureza iodoxilbenzeno (PhIO_2), geralmente presente no PhIO, também fosse determinada. Este composto eleva o pH do meio ($\text{pH} = 10$) e impede reações entre os íons iodeto e o iodoxilbenzeno, a qual também leva à formação de iodo (Equação 17).



Pureza determinada para o PhIO: 90%

Apêndice B – Caracterização por espectroscopia de absorção na região do UV-VIS e espectrometria de massas por MALDI-TOF

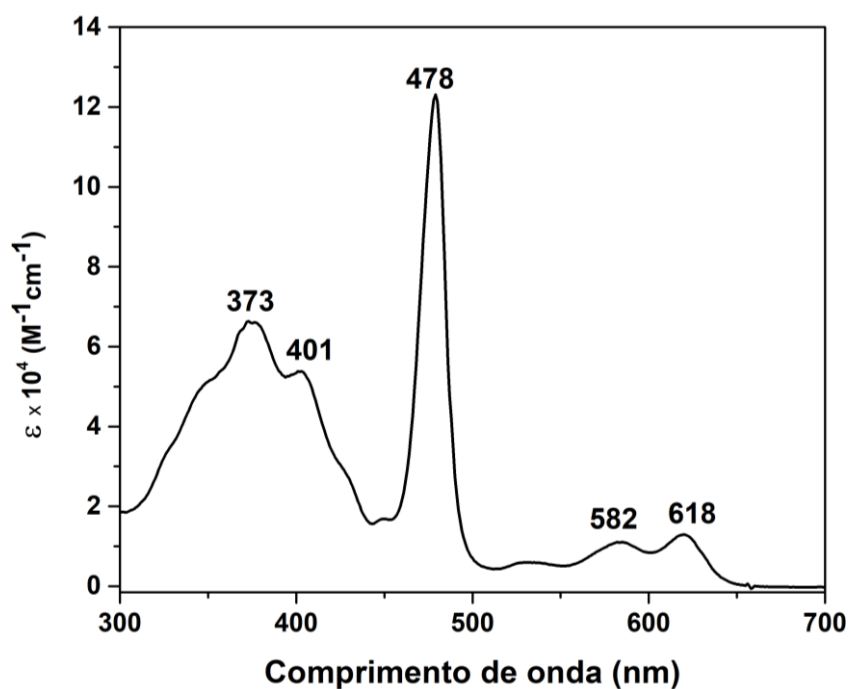


Figura 81 – Espectro eletrônico de absorção na região do UV-VIS para a porfirina $[Mn^{III}(Cl)(TPP)]$, em CH_2Cl_2 .

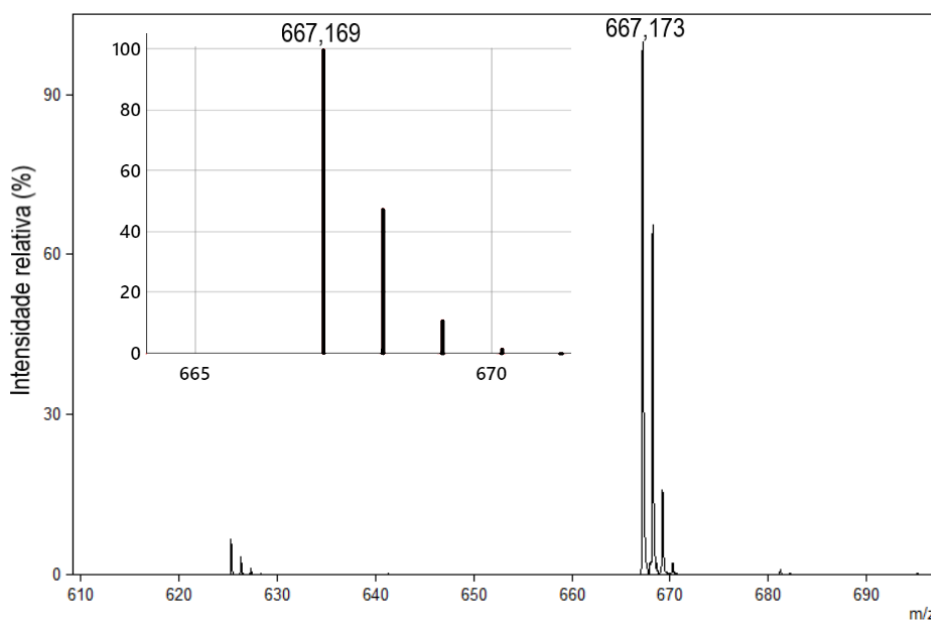


Figura 82 – Espectros de massas da porfirina $[Mn^{III}(Cl)(TPP)]$ obtido experimentalmente (MALDI-TOF MS, matriz de ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico, preparada em ácido trifluoroacético e acetonitrila em modo positivo) e simulado pelo software *ChemCalc* (espectro menor, inserido no canto superior esquerdo).

Apêndice C – Cálculos dos fatores de resposta do substrato, padrão interno e produtos

Para a obtenção dos fatores de respostas teóricos do substrato e dos produtos detectados, levou-se em consideração a contribuição de cada átomo na resposta do detector de ionização de chama (Tabela 22), como descrito por Tranchant e Gardais^{Ref.}

Tabela 22 – Contribuição relativa dos átomos de diferentes grupos ao sinal do FID.

Átomo	Característica	Contribuição
C	Alifático	1,00
C	Aromático	1,00
C	Olefínico	0,95
C	Carbonila	0,00
O	Álcool primário	- 0,60
Cl	Ligado a carbono olefínico	0,05

Devido à ausência do valor da contribuição do átomo de bromo no padrão interno, utilizou-se o valor referente ao cloro, devido as características de halogênio. Assim, com base nos dados da Tabela 22, os fatores de respostas teóricos foram calculados (Tabela 23).

Tabela 23 – Fatores de resposta para o padrão interno, substrato e produtos.

Composto	Fator de resposta
Carvacrol	1,6270
Bromobenzeno (Padrão interno)	1,0000
Timoquinona	1,2326
Iodobenzeno	1,2992

Apêndice D – Programação do cromatógrafo e do método para as análises das reações de oxidação do carvacrol

Nas reações de oxidação do carvacrol, o bromobenzeno foi utilizado como padrão interno. Utilizando uma seringa Hamilton® de 5,0 µL, alíquotas de 0,5 µL da solução de reação foram injetadas no cromatógrafo, nas condições de operação do aparelho e do método apresentadas nas Tabelas 24 a 26.

Tabela 24 – Programação do cromatógrafo para as reações de oxidação do carvacrol.

Programação	Valor
Temperatura do Injetor (°C)	240
Temperatura do detector (°C)	250
Fluxo de ar (mL min ⁻¹)	300
Fluxo de hidrogênio (mL min ⁻¹)	33

Tabela 25 – Programação do método para as análises das reações de oxidação do carvacrol.

Programação	Valor
Temperatura inicial (°C)	50
Tempo inicial (min)	8
Taxa de temperatura por tempo (°C min ⁻¹)	10
Temperatura final (°C)	200

Tabela 26 – Tempos de retenção para o padrão interno, substrato e produtos nas reações de oxidação do carvacrol.

Composto	Tempo de retenção (min)
Bromobenzeno	8,650
Iodobenzeno	11,920
Carvacrol	16,260
Timoquinona	17,110

Apêndice E – Cálculos de conversão, seletividade e rendimento

Os valores de conversão (Equação 18), seletividade (Equação 19) e rendimento (Equação 20) foram obtidos a partir das áreas cromatográficas corrigidas com o fator de resposta (Apêndice B) do substrato e dos produtos em relação a área do padrão interno bromobenzeno. A área do bromobenzeno e a área inicial do substrato foram obtidos em uma amostra branco, contendo quantidades de 2×10^{-5} mol desses dois compostos em volume final de 400 μL , mesmas condições das reações de oxidação do substrato. A área final do substrato corresponde à quantidade dessa espécie que não foi convertida em produtos ao fim das reações.

$$\text{Conversão} = \left(\frac{\text{Área inicial do substrato} - \text{Área final do substrato}}{(\text{Área inicial do substrato})} \right) \times 100 \quad \text{Equação 18}$$

$$\text{Seletividade} = \left(\frac{\text{Área do produto}}{\text{Área inicial do substrato} - \text{Área final do substrato}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 19}$$

$$\text{Rendimento} = \left(\frac{\text{Conversão do substrato} \times \text{seletividade do produto}}{100} \right) \quad \text{Equação 20}$$

Apêndice F – Expansão do espectro de RMN ^1H da porfirina $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$

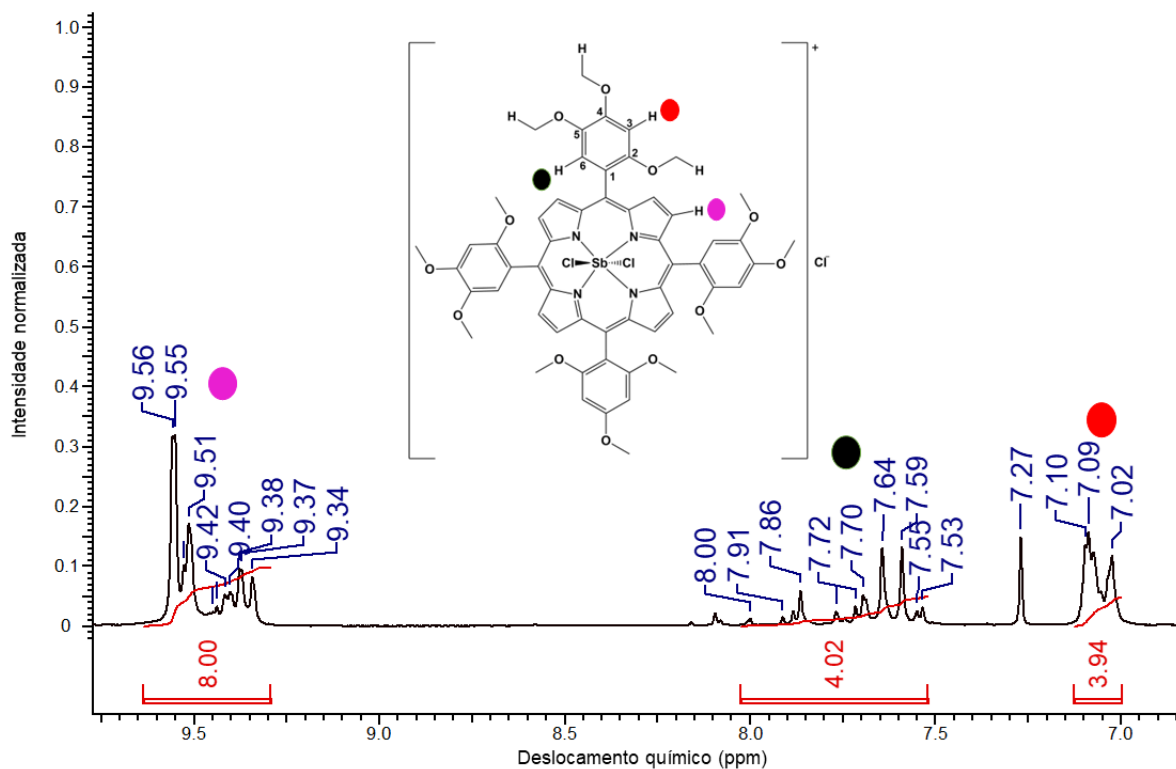


Figura 83 – Expansão da região entre $\delta = 10,0 - 6,6$ ppm, do espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25°C .

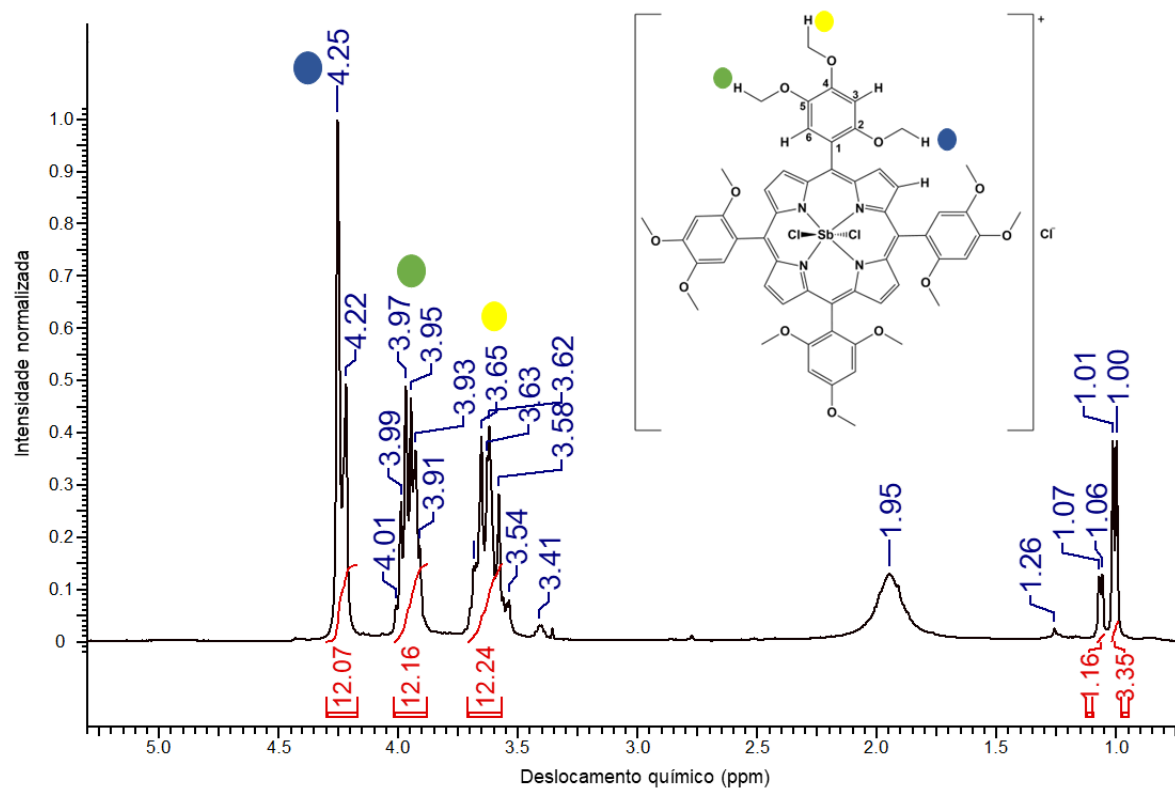


Figura 84 – Expansão da região entre $\delta = 5,5 - 0,5$ ppm, do espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25°C .

Apêndice G – Simulação obtida por meio do software *ChemCalc* (disponível em <http://www.chemcalc.org/>) da porfirina [Sb^VCl₂(T245TMPP)]Cl

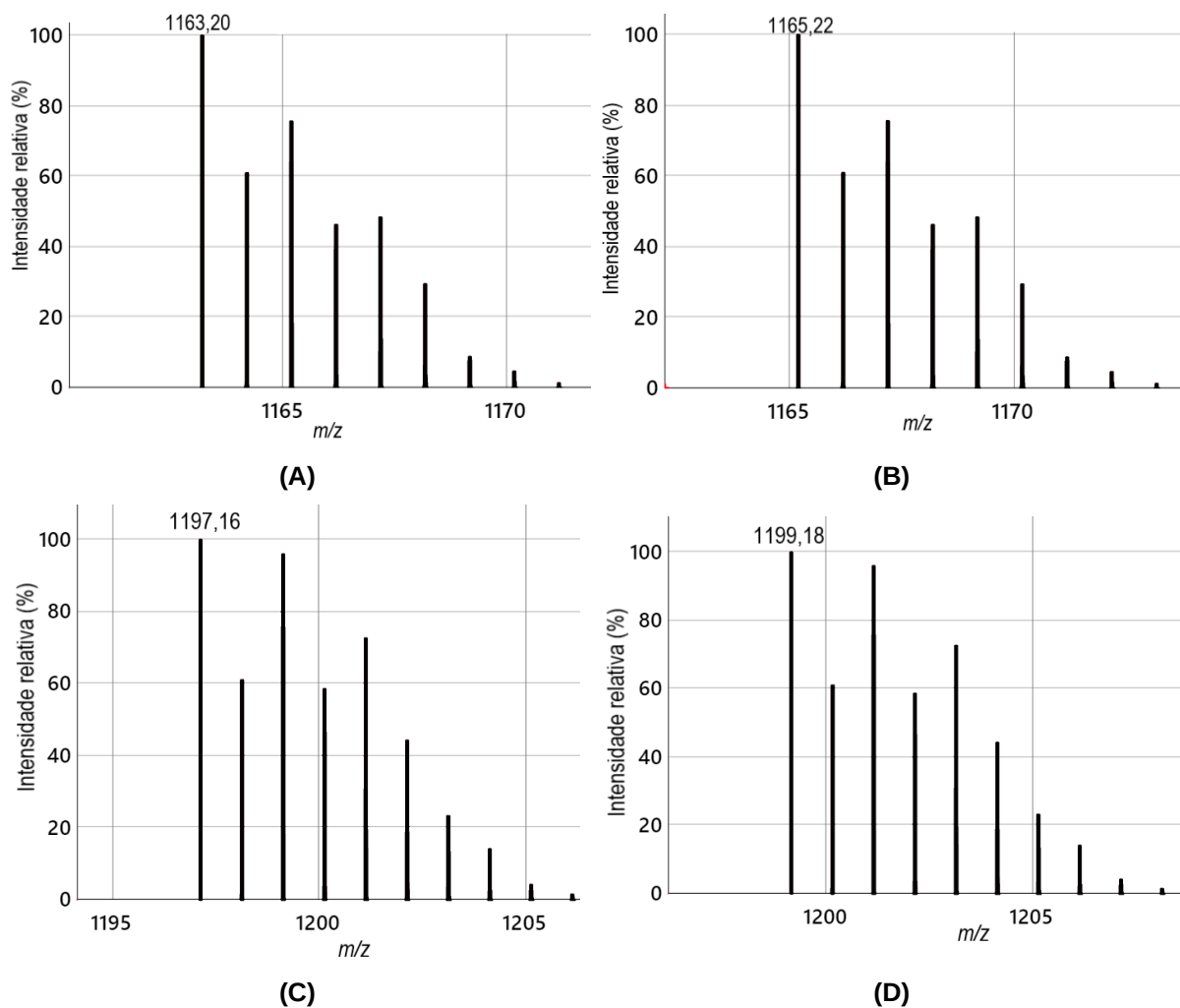


Figura 85 – Espectro simulado pelo software ChemCalc para as espécies (A) [Sb^VCl₂(T245TMPP)]⁺, (B) [Sb^VCl₂(T245TMPP) + 2H]⁺, (C) [Sb^VCl₃(T35DMPP) - H]⁺ e (D) [Sb^VCl₃(T245TMPP) + H]⁺.

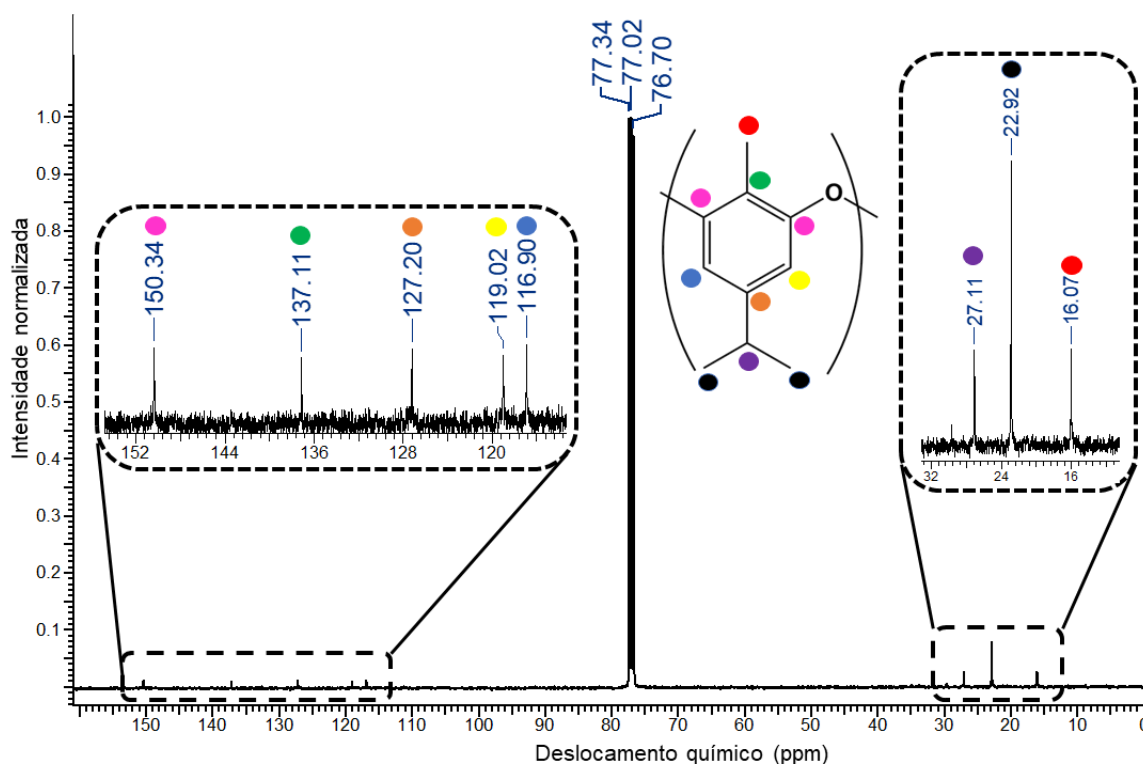
Apêndice H – Espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135 para o polímero em CDCl_3 .

Figura 86 – Espectro de RMN de ^{13}C do polímero formado nas reações de oxidação do carvacrol na presença das metaloporfirinas **Cat1** e **Cat2** na presença de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

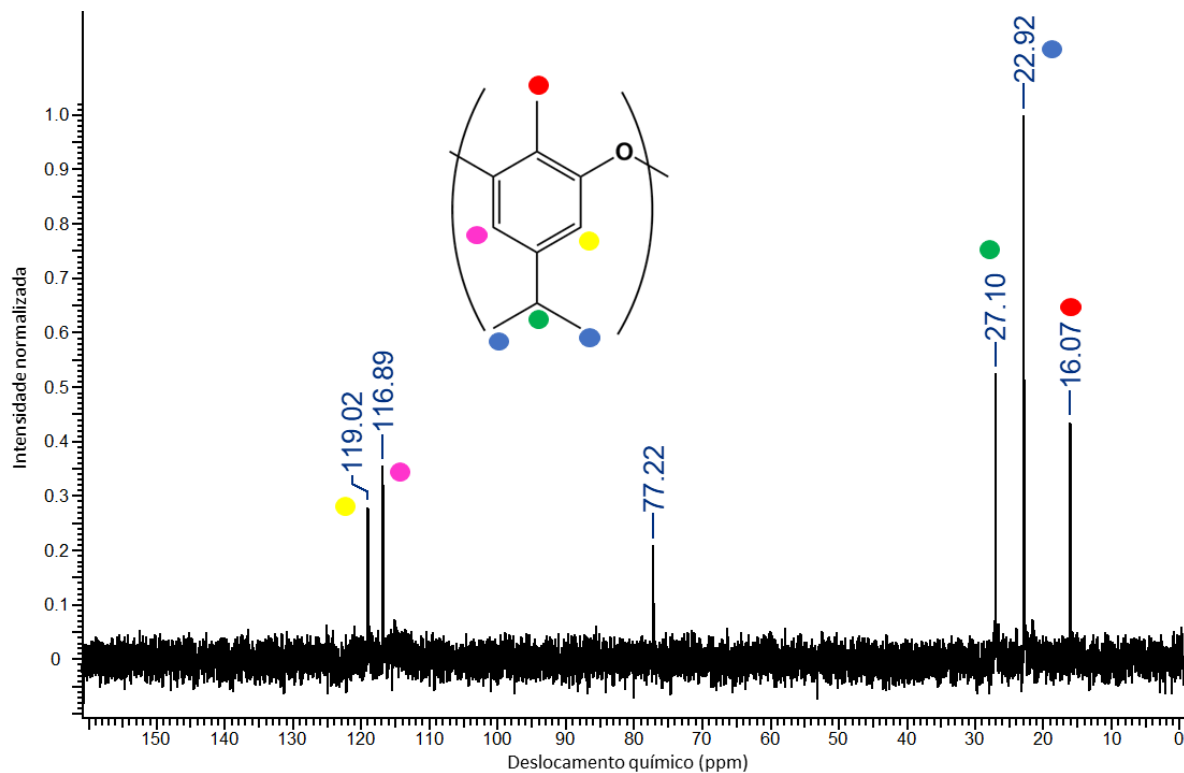


Figura 87 – Espectro de RMN de DEPT 135 do polímero formado nas reações de oxidação do carvacrol na presença das metaloporfirinas **Cat1** e **Cat2** e do oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

Apêndice I – Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 para o carvacrol em CDCl_3 .

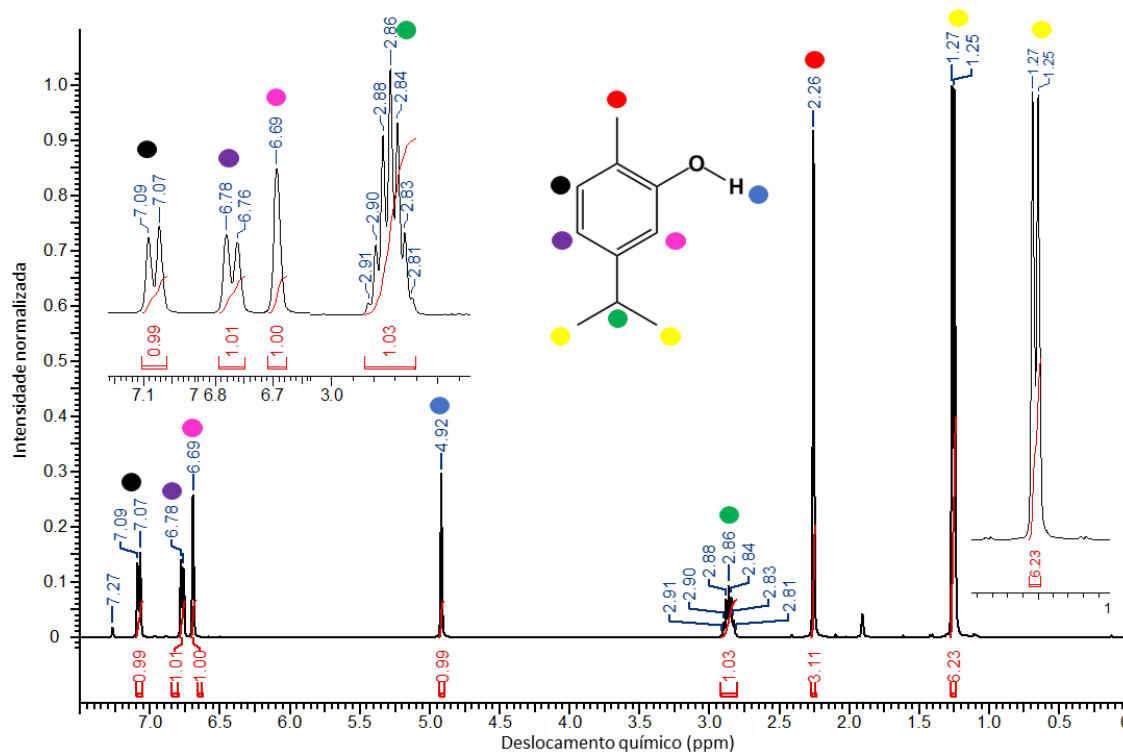


Figura 88 – Espectro de RMN de ^1H do carvacrol, substrato nas reações de oxidação, em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

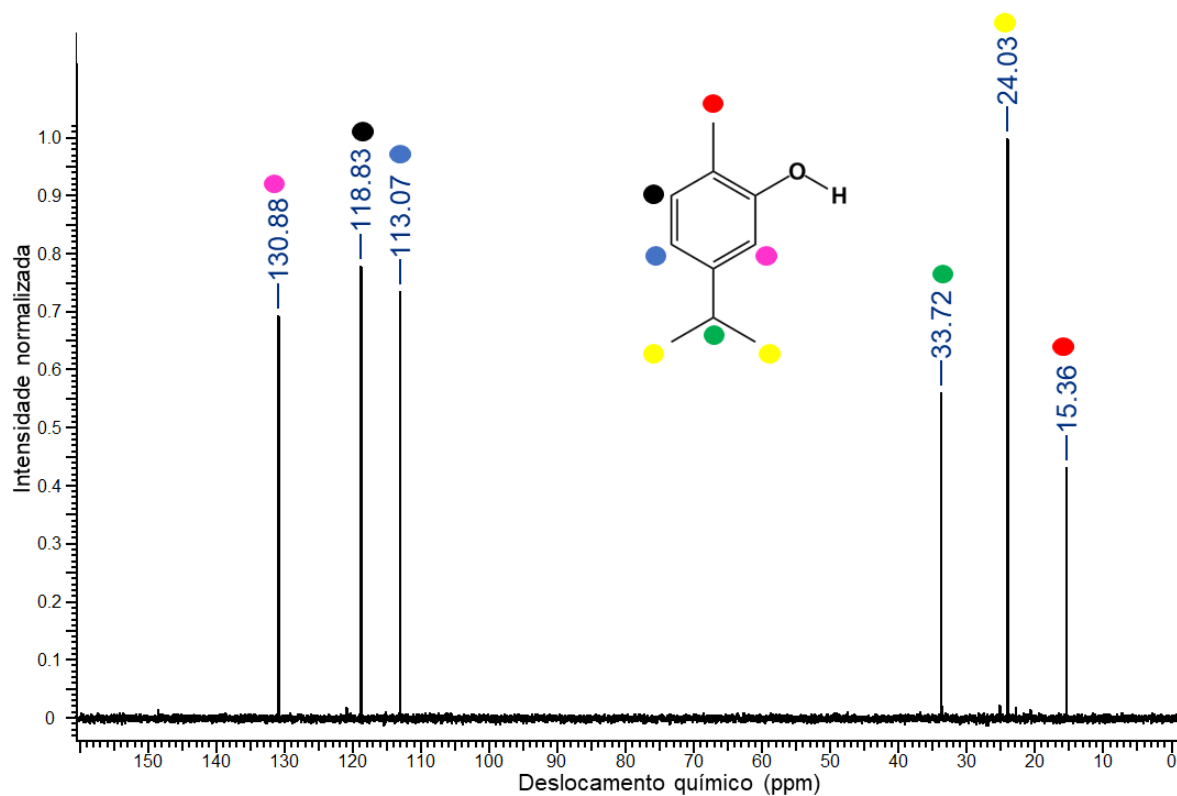


Figura 89 – Espectro de RMN de ^{13}C do carvacrol, substrato nas reações de oxidação, em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

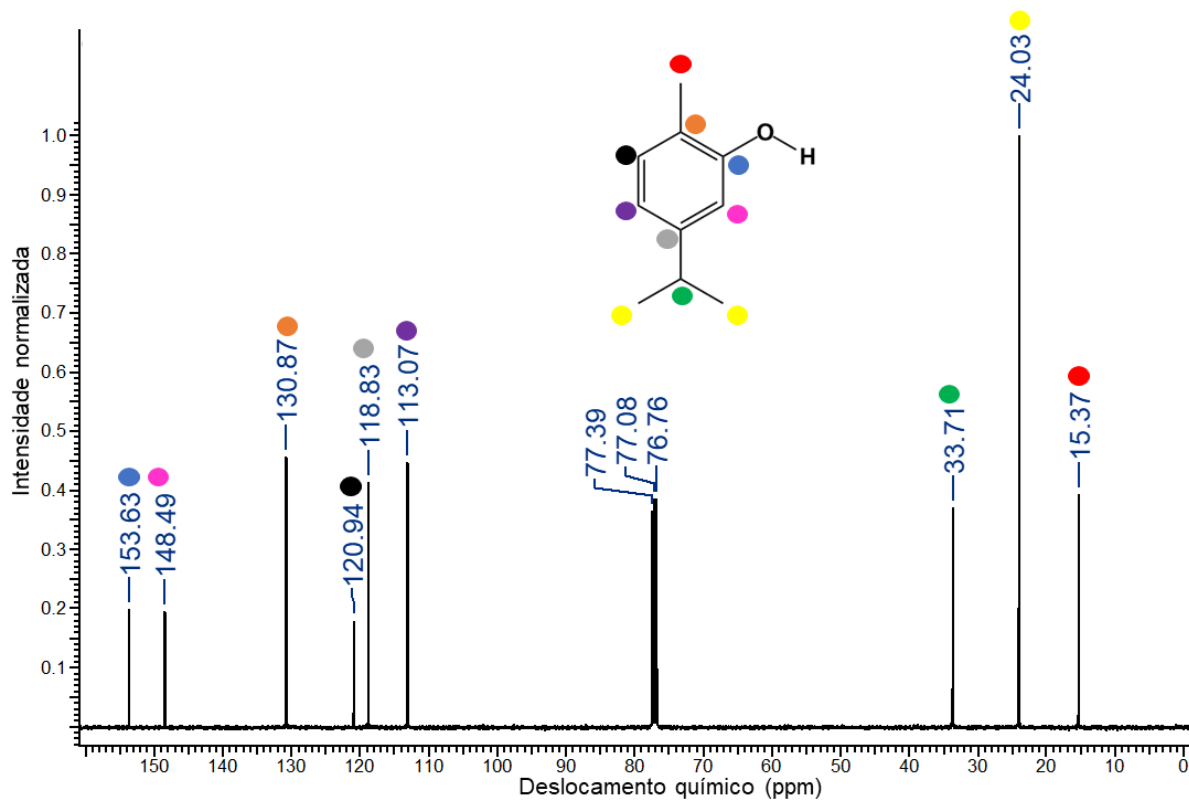


Figura 90 – Espectro de RMN de DEPT 135 do carvacrol, substrato nas reações de oxidação, em CDCl_3 (400 MHz) a 25 °C.

Apêndice J – Estrutura química da porfirina $[Zn^{II}(TE-2-PyP)]^{4+}$ e o gráfico da relação entre os valores de CI_{50} em função do Tempo

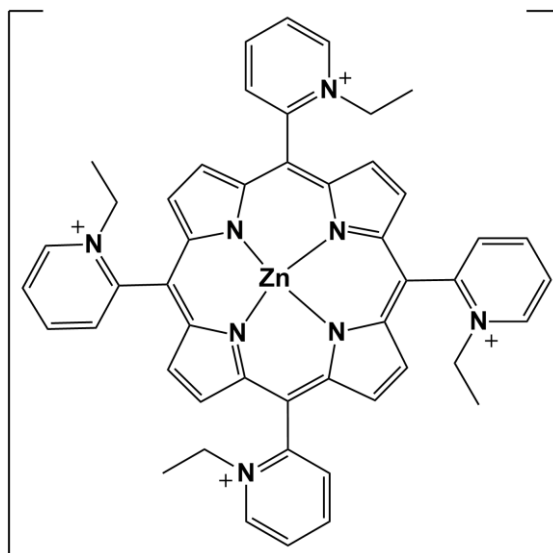


Figura 91 – Estrutura química da $[Zn^{II}(TE-2-PyP)]^{4+}$.²⁶

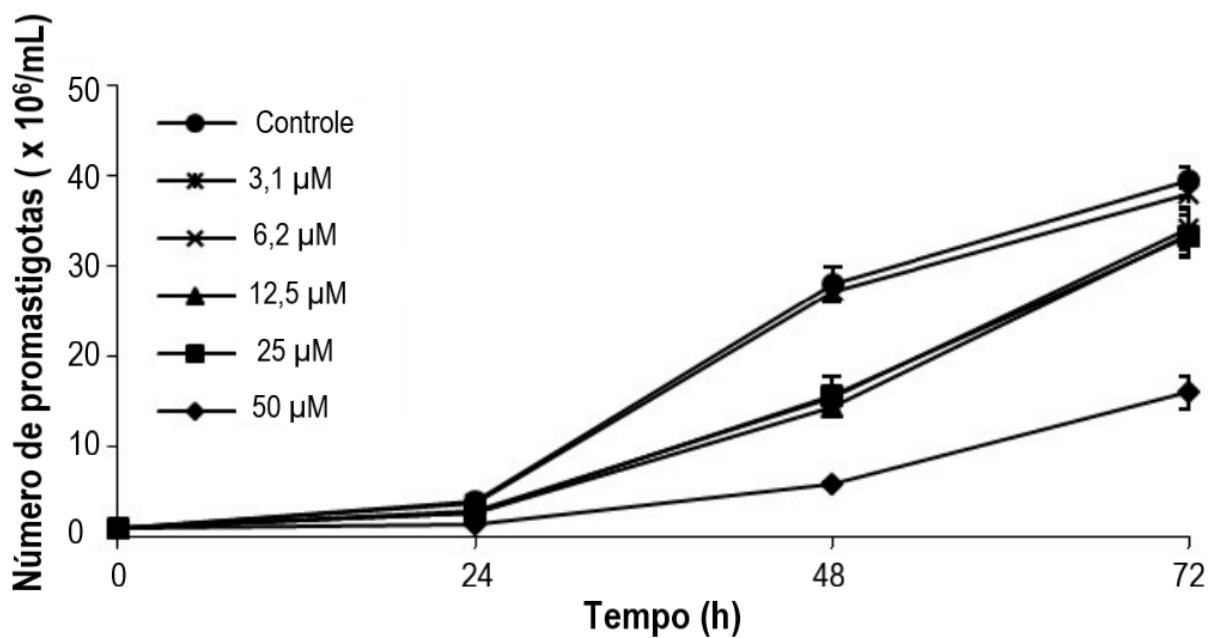


Figura 92 – Multiplicação de formas promastigotas de *L. braziliensis* incubadas com $[Zn^{II}(TE-2-PyP)]^{4+}$ na ausência de luz. Adaptado de Andrade e colaboradores.²⁶

Apêndice K – Espectros de absorção na região do UV-VIS para $\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})\text{Cl}$ e $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$ em modelos de condições fisiológicas

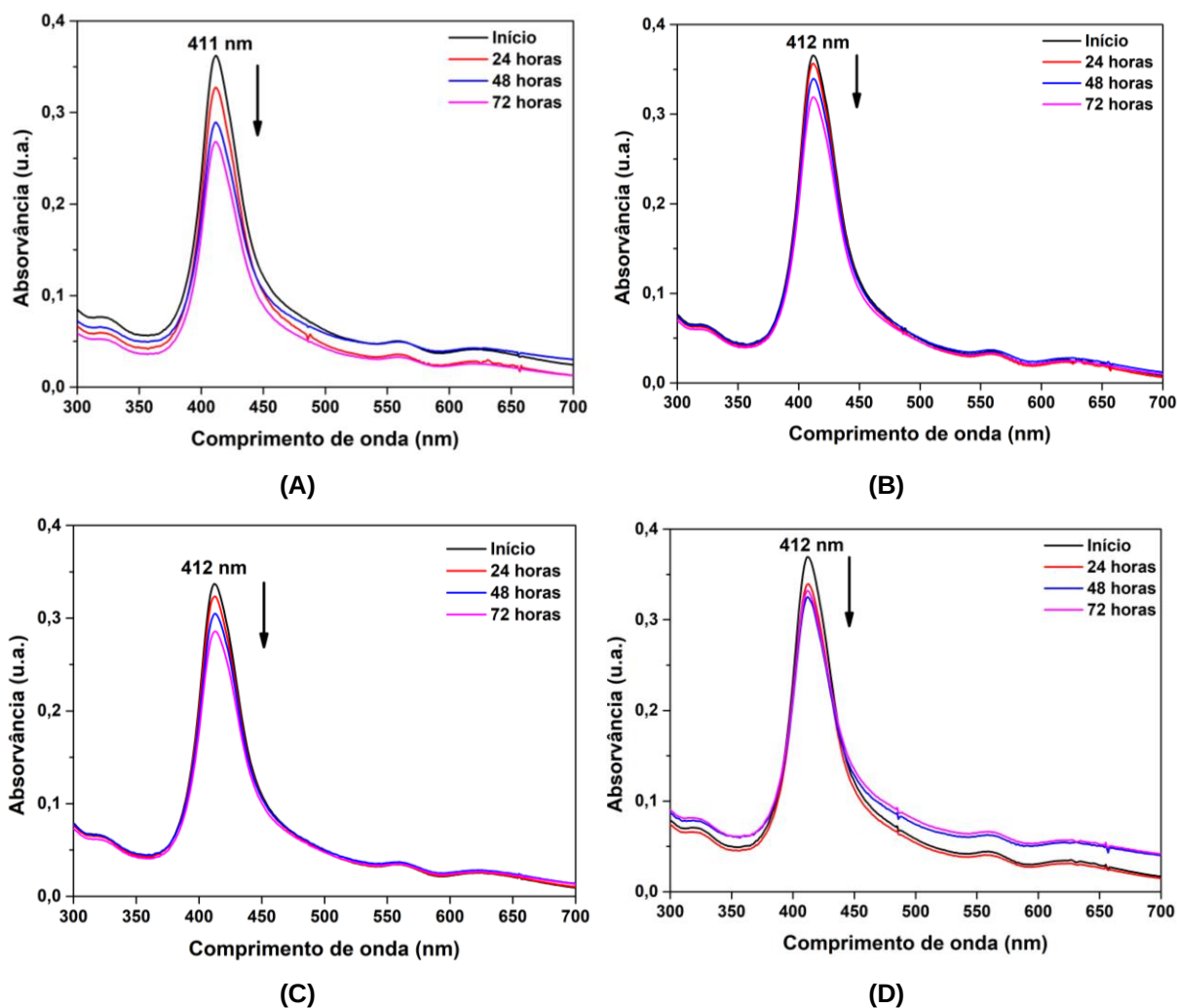


Figura 93 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para as reações da $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T245TMPP})]\text{Cl}$ (5 μM) em DMSO/tampão PBS (1%, v/v) em temperatura de 37 °C com: a) GSH em pH 5; b) L-cisteína em pH 5; c) GSH em pH 6; e d) L-cisteína em pH 6. A concentração da GSH e L-cisteína no meio reacional foi de 2 mM.

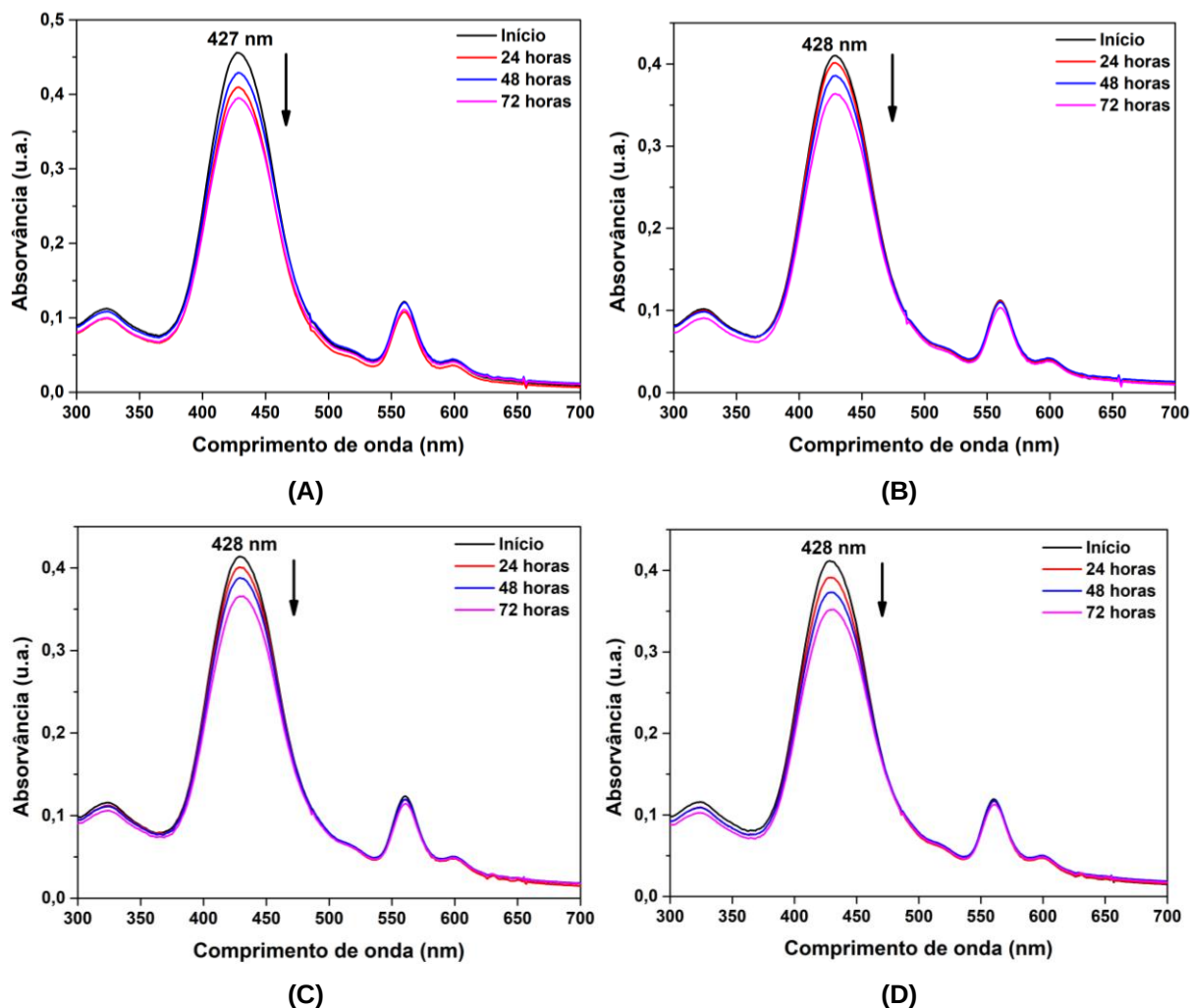


Figura 94 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para as reações da $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$ (5 μM) em DMSO/tampão PBS (1%, v/v) em temperatura de 37 °C com: a) GSH em pH 5; b) L-cisteína em pH 5; c) GSH em pH 6; d) L-cisteína em pH 6; e) GSH em pH 7,4; e f) L-cisteína em pH 7,4. A concentração da GSH e L-cisteína no meio reacional foram de 2 mM.

Apêndice L – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos testes de agregação com agitação magnética e mecânica

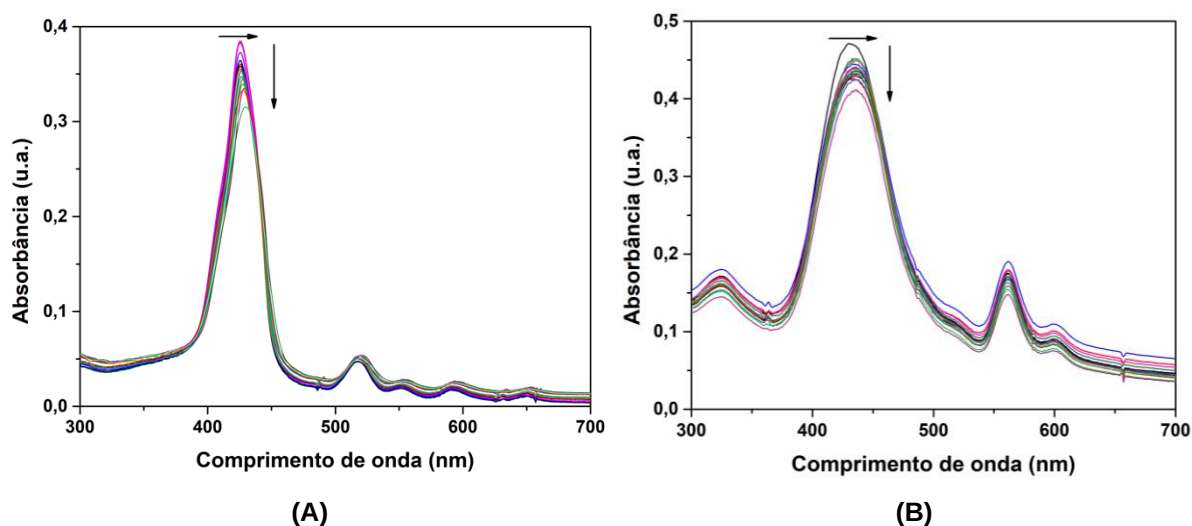


Figura 95 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação magnética de: (A) $H_2T35DMPP$ e (B) $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Condições: (A) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.

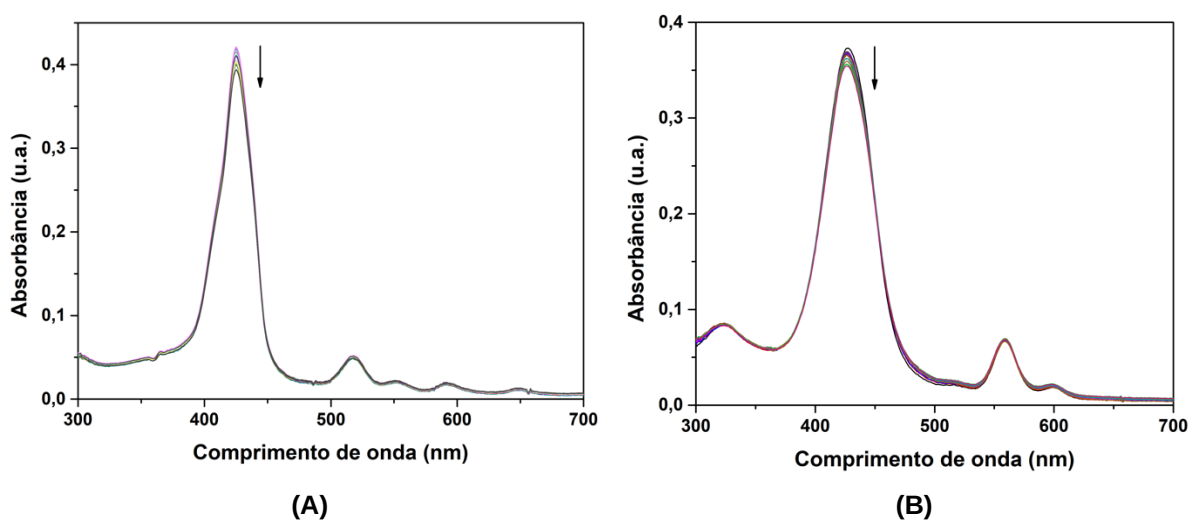


Figura 96 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de agregação com agitação mecânica (uso de micropipeta de 1000 μL) de: (A) $H_2T35DMPP$ e (B) $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Condições: (A) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.

Apêndice M – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos testes de estabilidade e de agregação sem agitação

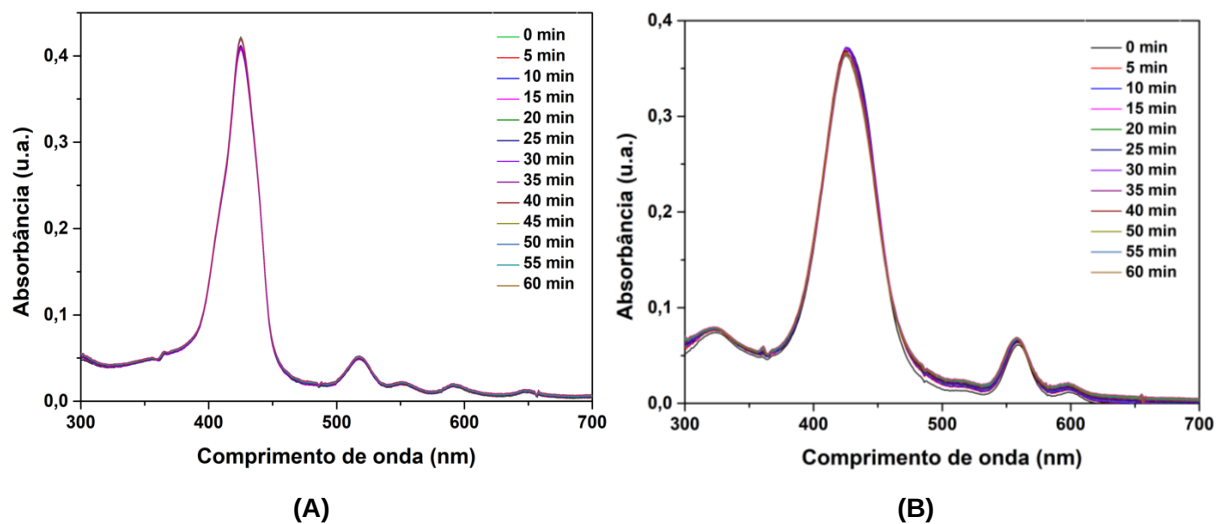


Figura 97 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de estabilidade e de agregação sem agitação: (A) $\text{H}_2\text{T35DMPP}$ e (B) $[\text{Sb}^{\text{V}}\text{Cl}_2(\text{T35DMPP})]\text{Cl}$. Condições: (A) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.

Apêndice N – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos testes de diluição

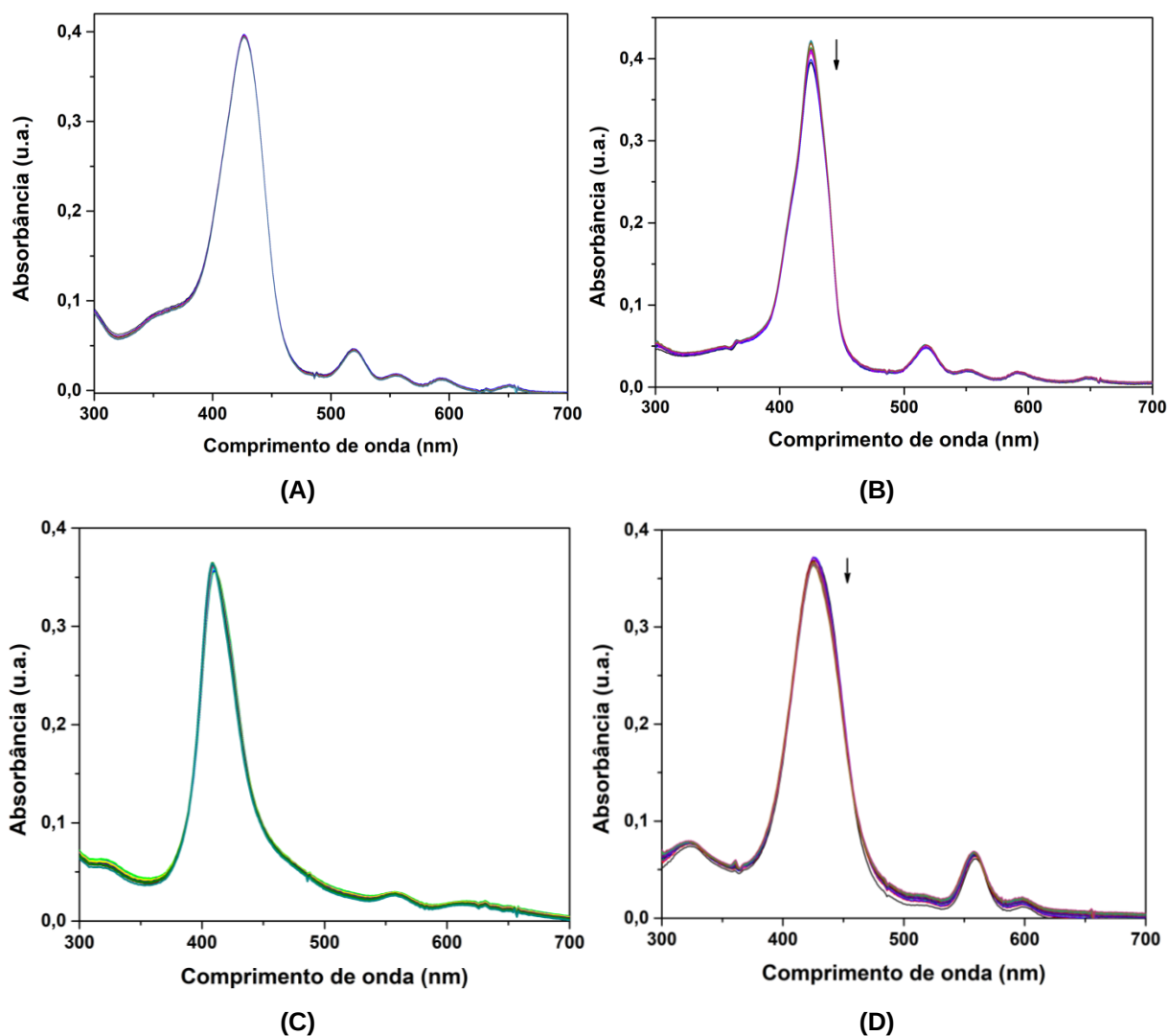


Figura 98 – Espectros de absorção na região do UV-VIS para o teste de diluição: (A) $H_2T245TMPP$, (B) $H_2T35DMPP$, (C) $[Sb^VCl_2(T245TMPP)]Cl$ e (D) $[Sb^VCl_2(T35DMPP)]Cl$. Condições: (A, C, D) DMSO/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4 e (B) DMF/tampão PBS (1%, v/v) pH = 7,4, 37°C.

Apêndice O – Espectros de fluorescência dos estudos de diluição com DMSO

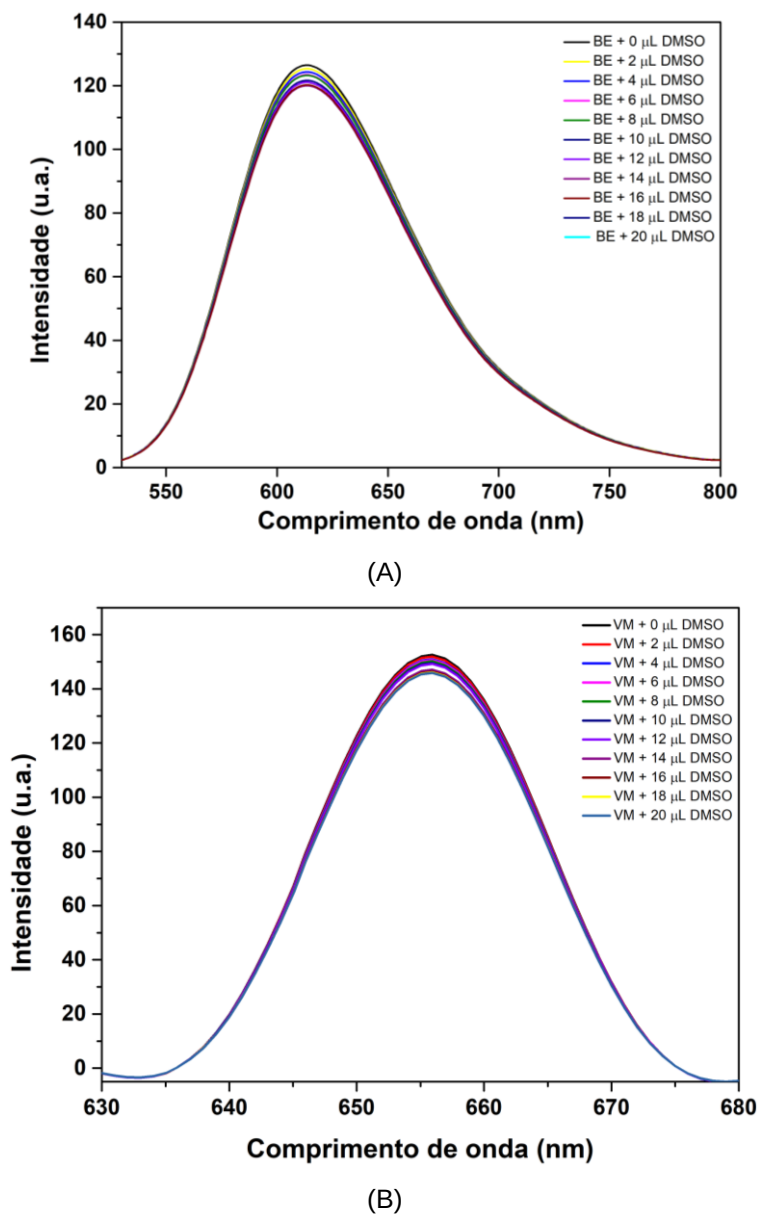


Figura 99 – Variação espectral na titulação do (A) BE e (B) VM após adições sucessivas de DMSO, em experimentos distintos. Condições: DMSO/tampão PBS (1%, v/v); pH = 7,4; 37 °C. BE: λ_{em} = 617 nm e λ_{ex} = 510 nm; VM: λ_{em} = 655 nm e λ_{ex} = 633 nm.

Apêndice P – Publicações durante o doutorado

P1. Artigo publicado referente ao trabalho desenvolvido na tese

TESSARO, PATRÍCIA SALVADOR; MEIRELES, ALEXANDRE MOREIRA; GUIMARÃES, ADRIANO SILVA; SCHMITBERGER, BERNARDO; LAGE, ANA LUÍSA ALMEIDA; PATRÍCIO, PATRÍCIA SANTIAGO DE OLIVEIRA; MARTINS, DAYSE CARVALHO DA SILVA; DEFREITAS-SILVA, GILSON. The polymerization of carvacrol catalyzed by Mn-porphyrins: obtaining the desired product guided by the choice of solvent, oxidant, and Catalyst. *New Journal of Chemistry*, v. 46, p. 21136-21147, 2022.

Issue 44, 2022

[Previous Article](#)

[Next Article](#)



From the journal:
New Journal of Chemistry

The polymerization of carvacrol catalyzed by Mn-porphyrins: obtaining the desired product guided by the choice of solvent, oxidant, and catalyst†



[Patrícia Salvador Tessaro,^a](#) [Alexandre Moreira Meireles,^a](#) ^a [Adriano Silva Guimarães,^a](#) [Bernardo Schmitberger,^a](#) [Ana Luísa Almeida Lage,^a](#) [Patrícia Santiago de Oliveira Patrício,^b](#) [Dayse Carvalho da Silva Martins](#) ^a and [Gilson DeFreitas-Silva](#) ^{*a}

P2. Artigo publicado referente a trabalho paralelo a tese (trabalho do mestrado)

TESSARO, PATRÍCIA SALVADOR; TOMAZ, MICHELE DO NASCIMENTO; FARIAS, GILIANDRO; DE PAULA, CARLA; ROCHA, MARINA C.; MALAVAZI, IRAN; CUNHA, ANDERSON; PIMENTA, BEATRIZ F.; TEREZI, HERNAN F.; MENDES, SAMUEL R.; GARIANI, ROGÉRIO R.; XAVIER, FERNANDO R. Enhancing the biological properties of zinc complexes with bis(indolyl) methane groups: Synthesis, characterization, DNA interaction, and biocide activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 236, n. 111973, p. 1-18, 2022.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Inorganic Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jinorgbio



Enhancing the biological properties of zinc complexes with bis(indolyl) methane groups: Synthesis, characterization, DNA interaction, and biocide activity

Patrícia S. Tessaro^{a,b}, Michele do Nascimento Tomaz^{a,c}, Giliandro Farias^d, Carla P. de Paula^e, Marina C. Rocha^{e,f}, Iran Malavazi^e, Anderson Cunha^e, Beatriz F. Pimenta^g, Hernan F. Terenzi^g, Samuel R. Mendes^a, Rogério A. Gariani^a, Fernando R. Xavier^{a,*}

P3. Participação em eventos científicos

XX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry & IX Brazilian Meeting on Rare Earths (TR 2022), 2022, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.

34° Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (Tema: Sustentabilidade, o desafio da nova geração). Belo Horizonte, 2022.

V WQI – workshop de Química Inorgânica na Universidade Federal do Amazonas, em 09 de novembro de 2022 (Virtual).

III Simpósio de Proteínas Bioativas na Universidade Federal de Pernambuco, em 18-20 de agosto de 2021 (Virtual).

Seminários On-line REDEQ – Relações entre BNCC, o Novo Ensino Médio e Propostas Curriculares Regionais, realizado em 16 de março de 2021 (Virtual).

P4. Resumos publicados em eventos científicos

TESSARO, PATRÍCIA SALVADOR; MEIRELES, ALEXANDRE MOREIRA; GUIMARÃES, ADRIANO SILVA; SCHMITBERGER, BERNARDO; LAGE, ANA LUÍSA ALMEIDA; PATRÍCIO, PATRÍCIA SANTIAGO DE OLIVEIRA; MARTINS, DAYSE CARVALHO DA SILVA; DEFREITAS-SILVA, GILSON. Carvacrol Oxidation by iodoarenes catalyzed by Mn-porphyrins: influence of solvents, oxidantes and catalysts. In: XX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry & IX Brazilian Meeting on Rare Earths (TR 2022), 2022, Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul.

TESSARO, PATRÍCIA SALVADOR; De OLIVEIRA, ANA CAROLINA BORGES; FRÉZARD, FRÉDÉRIC; MARTINS, DAYSE CARVALHO DA SILVA; DEFREITAS-SILVA, GILSON. Síntese e

caracterização de uma nova porfirina de antimônio(V) para avaliação da atividade leishmanicida. 34º Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (Tema: Sustentabilidade, o desafio da nova geração). Belo Horizonte, 2022.

P4. Atividades extras durante o doutorado

- Membro da Equipe Organizadora do “34º Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais” realizado no CAD 1 – Centro de atividades didáticas 1 – UFMG, em Belo Horizonte - MG, entre os dias 09 e 11 de dezembro de 2022, com carga horária total de 60 (sessenta) horas.
- Participação no projeto de extensão “Química Faz Bem”, no período de 01 de julho de 2021 a 31 de dezembro de 2021.