

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Patrícia Foletto

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO FOTOFÍSICO E INTERAÇÃO  
MOLECULAR DE NOVAS CALCOGENOPORFIRINAS DERIVADAS DA  
5,10,15,20–TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA**

**Santa Maria, RS**

**2019**

Patrícia Foletto

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO FOTOFÍSICO E INTERAÇÃO  
MOLECULAR DE NOVAS CALCOGENOPORFIRINAS DERIVADAS DA  
5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA**

Tese apresentada ao curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Química**.

Orientador: Dr. Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues

**Santa Maria, RS**

**2019**

FOLETTTO, PATRÍCIA  
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO FOTOFÍSICO E  
INTERAÇÃO MOLECULAR DE NOVAS CALCOGENOPORFIRINAS  
DERIVADAS DA  
5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA / PATRÍCIA  
FOLETTTO.- 2019.  
145 p.; 30 cm

Orientador: OSCAR ENDRIGO DORNELES RODRIGUES  
Coorientador: LUCIANO DORNELLES  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Química, RS, 2019

1. DNA 2. Propriedades fotofísicas 3. Selenoporfirinas  
I. DORNELES RODRIGUES, OSCAR ENDRIGO II. DORNELLES,  
LUCIANO III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

**Patrícia Foletto**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO FOTOFÍSICO E INTERAÇÃO  
MOLECULAR DE NOVAS CALCOGENOPORFIRINAS DERIVADAS DA  
5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA**

Tese apresentada ao curso de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Química**.

**Aprovado em 18 de fevereiro de 2019:**

---

**Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Bernardo Almeida Iglesias, Dr.**  
(UFSM)

---

**Ionara Irion Dalcol, Dr.**  
(UFSM)

---

**Cristiane Yuriiko Kawasoko Shiguemoto, Dr.**  
(UFMS)

---

**Maria do Amparo Ferreira Faustino, Dr.**  
(UA)

*Dedico esta tese ao meu pai, Leomar Foletto (in memoriam), que infelizmente não pode estar presente neste momento tão feliz da minha vida, mas que deixou exemplos de superação, força e humildade através da sua história de vida e que ao longo desta caminhada eu sempre tomei como exemplo e levarei para minha vida toda. Obrigada por todo amor e carinho que pude desfrutar durante 24 anos na tua presença!*

*À minha mãe, Lenir Foletto, mulher de garra e exemplo de capacidade de se reinventar. Dedico-te!*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, por ter me dado o dom da vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.*

*À minha família, que sempre apoiou minhas decisões, mesmo naquelas em que menos compreendiam, e fez inúmeros sacrifícios para que eu pudesse hoje estar aqui.*

*Às minhas irmãs Taline e Tarcila, cada uma ao seu modo, pelas palavras de apoio, sempre me fazendo acreditar que chegaria ao final desta etapa.*

*Aos meus babys Vincenzo e Antônia, sobrinhos tão amados pela tia Paty, obrigada pelos carinhos e momentos de descontração, seja através de uma ligação ou vídeo, fazendo eu até esquecer das minhas ansiedades e angústias.*

*Ao meu namorado Guilherme, sempre paciente e generoso, obrigada por toda compreensão, carinho, amor e por me ajudar a pensar e muitas vezes a encontrar soluções quando elas pareciam não existir.*

*À Fabiula (Fabiuletti), que além de IC se tornou uma grande amiga, sempre de alto astral, disposta a me auxiliar em tudo que eu precisasse. Obrigada pelas placas preparativas, elaboradas com toda delicadeza, e também pelas palavras de apoio quando tudo parecia não dar certo. Levarei comigo a tua amizade para sempre. Não tenho palavras suficientes para agradecer. Obrigada por tudo!!*

*Ao professor Oscar, minha referência acadêmica e para quem não há agradecimentos que cheguem. Sou grata pelos inúmeros conhecimentos compartilhados sempre com muita paciência, por contribuir imensamente do início ao fim desse trabalho e pelo convívio nesses dez anos. Obrigada, Obrigada!!*

*Ao professor Luciano, pelos conhecimentos transmitidos, palavras de incentivo, brincadeiras e amizade. Pela enorme contribuição no meu trabalho, através de correções e sugestões no exame de qualificação.*

*À Cristiane Kawasoko, minha orientadora na bancada quando iniciei os trabalhos na iniciação científica. Pela amizade, conhecimentos, confiança, paciência, dedicação e companheirismo, minha sincera gratidão! E agora também, por ter aceito fazer parte da minha banca de defesa e assim contribuir para o enobrecimento deste trabalho. Que felicidade!!*

*À professora Amparo, pela amizade, paciência e disponibilidade de ensinar e explicar sempre que for preciso. Sou grata por seu apoio na execução deste trabalho, tanto presencialmente - durante suas vindas ao Brasil -, como através da troca de e-*

*mails sempre que surgisse alguma dúvida. Agradeço também pela participação nos processos de qualificação e defesa.*

*Ao professor Bernardo, por ter aceitado participar das bancas de qualificação e defesa desta tese; pelas excelentes contribuições no desenvolvimento do trabalho; pela realização e interpretação dos experimentos de fotofísica.*

*Aos antigos e atuais colegas de LabSelen Nanobio, pelo convívio amigável durante o período em que fomos colegas.*

*À Carolina Hahn da Silveira, pela realização dos experimentos de fotofísica e pela disponibilidade em me explicar alguma coisa sempre que eu tivesse dúvida.*

*Ao Pablo Nogara, pela realização dos experimentos de docking molecular.*

*Ao professor Diogo Seibert Lüdtke, pelas excelentes contribuições feitas no exame de qualificação.*

*À professora Ionara Dalcol, por ter aceitado participar da banca de defesa desta tese.*

*Aos amigos dos Laboratórios do Prof. Gilson e do Prof. Cláudio, pela amizade e companheirismo.*

*Aos professores e funcionários do Departamento de Química da UFSM.*

*Ao serviço de RMN do NAPO, em especial ao Fabrício Bublitz, pela disponibilidade de sempre e pela oportunidade em atuar como operadora do aparelho, sendo possível realizar os experimentos de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$ , essenciais para o desenvolvimento desta tese.*

*Às agências financiadoras CNPq, CAPES e FAPERGS pelas bolsas e auxílios concedidos.*



## RESUMO

### SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO FOTOFÍSICO E INTERAÇÃO MOLECULAR DE NOVAS CALCÓGENOPORFIRINAS DERIVADAS DA 5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA

AUTOR: Patrícia Foletto

ORIENTADOR: Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues

O presente trabalho teve como objetivo principal a síntese de novas calcógenoporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina, caracterização, estudo das propriedades fotofísicas e análise de interações biomoleculares dos derivados calcógenoporfirinas preparados. Em conexão com os objetivos, desenvolveu-se uma rota sintética que permitiu a síntese de diversos compostos derivados da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina. Inicialmente foram obtidas seleno (Mono, di ou tri substituídas) e hidrogenoporfirinas (Mono, di, tri ou tetra substituídas) derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando *p*-metil-difenil-disseleneto como fonte de ânion de arilselênio. Desta forma, a síntese das seleno e hidrogenoporfirinas envolveu a reação de substituição nucleofílica aromática entre a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina e um nucleófilo derivado de *p*-metil-difenil-disseleneto. A formação dos produtos dependeu apenas de controle rígido do tempo reacional e uma série de 4 moléculas inéditas seleno e hidrogenoporfirinas foi obtida em bons rendimentos (na faixa entre 57-99%). Ainda, foram obtidas novas tetra tioporfirinas simétricas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando diferentes fontes de ânion de arilenoxofre. A síntese das tioporfirinas simétricas também envolveu a reação de substituição nucleofílica aromática entre a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina e nucleófilos derivados de dissulfetos de diarila. Os produtos foram formados em 15 minutos de reação e obtidos com rendimentos na faixa entre 82-93%. Também, foi possível obter a tetra hidrogenoporfirina derivada da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando *p*-metil-difenil-ditelureto. O produto foi formado em 10 minutos de reação e obtido com rendimento de 80%. Nesta metodologia, destaca-se a formação dos produtos em ótimos rendimentos, em curto tempo de reação, sem a utilização de base no meio reacional, com emprego de reagentes de fácil manuseio e inodoros, diferentemente do que se encontra na literatura, por exemplo, para a síntese de tioporfirinas (TUXEN et al., 2011) (GOMES et al., 2011). Além disso, o protocolo sintético demonstrou-se abrangente para vários dicalcogenetos, possibilitando a obtenção de compostos com as mais diversas complexidades. A formação dos produtos foi racionalizada baseando-se na capacidade nucleofílica do átomo de calcogênio (Te>Se>S) e na diferença de labilidade na ligação carbono-calcogênio (C-S>C-Se>C-Te). Além disso, os compostos foram caracterizados por ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e <sup>19</sup>F, espectrometria de massas de alta resolução (HRMS-ESI(+)), espectroscopia eletrônica nas regiões do ultravioleta-visível (UV-vis) e espectroscopia de emissão fluorescente. Somando-se a isso, foram desenvolvidos estudos de rendimentos quânticos de fluorescência e geração de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ). Desta forma, todas as porfirinas estudadas apresentaram valores inferiores ao padrão (TPP) de geração de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ) e rendimentos quânticos de fluorescência, e entre eles, os rendimentos quânticos de geração de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ) encontrados para a maioria dos compostos tioporfirinas foram menores quando comparados com as selenoaril-porfirinas. Ainda, os compostos seleno e hidrogenoporfirinas foram testados quanto à fotoestabilidade e apresentaram resultados satisfatórios, sendo uma característica apreciável segundo os princípios da terapia fotodinâmica. Além disso, as interações das porfirinas com o CT-DNA foram avaliadas tanto experimentalmente, quanto através de *docking* molecular, demonstrando que elas interagem preferencialmente no sulco menor do DNA. Também, as interações das seleno e hidrogenoporfirinas com HSA foram estudadas. Nestes testes foram observadas variações na intensidade na faixa de emissão o que é um indicio de interação entre a proteína e os respectivos compostos.

Palavras-chave: DNA. Propriedades fotofísicas. Selenoporfirinas.

## ABSTRACT

### SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, PHOTOPHYSICAL STUDY AND MOLECULAR INTERACTION OF NEW CHALCOGENPORPHYRINS DERIVED FROM 5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROPHENYL)PORPHYRIN

AUTHOR: Patrícia Foletto

ADVISOR: Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues

The present work had as main objective the synthesis of new chalcogenporphyrins derived from 5,10,15,20-Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin, characterization, study of photophysical properties and analysis of biomolecular interactions of prepared chalcogenporphyrins derivatives. In connection with the objectives, a synthetic route was developed which allowed the synthesis of various compounds derived from 5,10,15,20-Tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin. Initially, were obtained (mono-, di-, or tri-substituted) selenium and (Mono, di, tri or tetra-substituted) hydrogen-porphyrins derived from 5,10,15,20-tetrakis (pentafluorophenyl)porphyrin employing *p*-methyl-diphenyl diselenide as the source of arylchalcogen anion. Thus, the synthesis of selenium and hydrogenporphyrins involved the aromatic nucleophilic substitution reaction between 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin and a nucleophile derived from *p*-methyl diphenyl diselenide. The formation of the products depended only on rigid control of the reaction time and a series of 4 unpublished selenium and hydrogenporphyrins molecules was obtained in good yields (in the range of 57-99%). In addition, were prepared news symmetrical thioporphyrins derived from 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin employing different sources of arylsulfur anion. Synthesis of the symmetrical thioporphyrins also involved the aromatic nucleophilic substitution reaction between 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin and nucleophiles derived from diaryl disulfides. The products were formed in 15 minutes of reaction and obtained with yields ranging from 82-93%. Also, hydrogenporphyrin derived from 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin was obtained employing *p*-methyl-diphenyl ditelluride. The product was formed in 10 minutes of reaction and obtained in 80% yield. In this methodology, the formation of the products in excellent yields, in short reaction time, without the use of base in the reactional medium, with the use of reagents of easy handling and odorless, unlike in the literature, for example, for the synthesis of thioporphyrins (TUXEN et al., 2011) (GOMES et al., 2011), was highlighted. In addition, the synthetic protocol proved to be comprehensive for several dichalcogenides, making it possible to obtain compounds with the most diverse complexity. The formation of the products was rationalized based on the nucleophilic capacity of the chalcogen atom (Te > Se > S) and on the lability difference in the carbon-chalcogen bond (C-S > C-Se > C-Te). The compounds were characterized by <sup>1</sup>H and <sup>19</sup>F nuclear magnetic resonance, high resolution mass spectrometry (HRMS-ESI(+)), electron spectroscopy in ultraviolet- visible region (UV-vis) and fluorescence emission spectroscopy. In addition, studies of fluorescence quantum yields and singlet oxygen generation were developed. Thus, all the porphyrins studied presented lower values than the standard (TPP) of singlet oxygen generation and quantum yields of fluorescence, and among them, the quantum yields of singlet oxygen generation found for most of the thioporphyrins compounds were lower when compared to the selenoaryl-porphyrins. In addition, the selenium and hydrogenporphyrins compounds were tested for photostability and presented satisfactory results, being an appreciable characteristic according to the principles of photodynamic therapy. The interactions of porphyrins with CT-DNA were evaluated both experimentally and through molecular docking, demonstrating that they interact preferentially in the minor groove of the DNA. Also, the interactions of selenium and hydrogenporphyrins with HSA were studied. In these tests variations in intensity in the emission range were observed which is an indication of interaction between the protein and the respective compounds.

Keywords: DNA. Photophysical properties. Selenoporphyrins.

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Representação estrutural de macrociclos tetrapirrólicos naturais                                     | 25 |
| Figura 2. Representação estrutural do núcleo porfirínico.....  | 27 |
| Figura 3. Representação estrutural da TPPF <sub>20</sub> .....   | 28 |
| Figura 4. Representação da nomenclatura de Fischer .....   | 28 |
| Figura 5. Representação da nomenclatura pela IUPAC .....   | 29 |
| Figura 6. Representação estrutural do Ebselen.....   | 32 |
| Figura 7. Representação estrutural de disselenetos.....  | 32 |
| Figura 8. Representação estrutural de moléculas ativas biologicamente contendo selênio .....                   | 33 |
| Figura 9. Representação estrutural de moléculas ativas biologicamente e/ou medicamentos contendo enxofre ..... | 34 |
| Figura 10. Representação estrutural de moléculas biologicamente ativas contendo telúrio.....                   | 35 |
| Figura 11. Representação estrutural de compostos selênio e telúrio-porfirinas.....                             | 39 |
| Figura 12. Exemplo de um espectro de absorção de uma porfirina na região do visível .....                      | 50 |
| Figura 13. Representação estrutural das selênio e hidrogenoporfirinas sintetizadas.....                        | 53 |
| Figura 14. Selenoporfirinas e hidrogenoporfirinas obtidas.....   | 58 |
| Figura 15. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>3a</b> em CHCl <sub>3</sub> a 600MHz.....             | 63 |
| Figura 16. Espectro de RMN <sup>1</sup> H em CHCl <sub>3</sub> a 600MHz dos compostos obtidos.....             | 64 |
| Figura 17. Espectro de RMN <sup>19</sup> F da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina.....              | 65 |
| Figura 18. Representação das posições <i>orto</i> -F e <i>meta</i> -F.....                                     | 66 |
| Figura 19. Representação dos acoplamentos no RMN de <sup>19</sup> F.....                                       | 66 |
| Figura 20. Representação dos acoplamentos no RMN de <sup>19</sup> F.....                                       | 67 |
| Figura 21. Espectro de RMN <sup>19</sup> F do composto <b>3a</b> em CHCl <sub>3</sub> a 565 MHz....            | 67 |
| Figura 22. RMN <sup>19</sup> F em CHCl <sub>3</sub> a 565 MHz dos compostos obtidos.....                       | 69 |
| Figura 23. Espectro de RMN <sup>77</sup> Se do composto <b>3a</b> em CHCl <sub>3</sub> a 114 MHz.              | 70 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 24- Espectrometria de massas do composto <b>3a</b> .....  | 70 |
| Figura 25. Estrutura geral das tioaril-porfirinas sintetizadas <b>5</b> .....  | 71 |
| Figura 26. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>5b</b> em CHCl <sub>3</sub> a 600 MHz ....  | 81 |
| Figura 27. Espectro de RMN <sup>19</sup> F do composto <b>5b</b> em CHCl <sub>3</sub> a 565 MHz. ..  | 82 |
| Figura 28. Espectrometria de massas do composto <b>5b</b> .....  | 83 |
| Figura 29. Espectros de absorção UV-vis dos compostos <b>3a-d</b> em soluções de DCM ([ ] = 1,0 × 10 <sup>-6</sup> M). .....   | 85 |
| Figura 30. Espectros de emissão de fluorescência em estado estacionário de derivados de porfirina (excitação em cada banda de Soret) em soluções de DCM saturadas com argônio. ....  | 86 |
| Figura 31. Foto-oxidação do DPBF pela irradiação com LEDs de luz vermelha (λ = 635 nm) em DMF, na presença das porfirinas <b>3a-3d</b> . Os gráficos em destaque mostram o perfil cinético de primeira ordem. ....   | 88 |
| Figura 32. Φ <sub>Δ</sub> versus grau de substituição por seleno-aril.....   | 89 |
| Figura 33. Espectros de absorção da titulação CT-DNA UV–vis dos derivados <b>3a-d</b> numa solução tampão DMSO (1%) / Tris-HCl (pH 7,4). A concentração de CT-DNA variou de 0 a 100 μM. O gráfico destacado mostra o gráfico de [DNA] / (ε <sub>a</sub> - ε <sub>f</sub> ) versus [DNA]. .....                                 | 90 |
| Figura 34. Espectros de extinção de intensidade de fluorescência de emissão de HSA na ausência e presença dos compostos <b>3a/3d</b> , <b>3b/3d</b> , <b>3c/3d</b> ([HSA] = 1,0 × 10 <sup>-5</sup> M e [ <b>3</b> ] = 0 - 100 μM). ....  | 92 |
| Figura 35. Visão geral das interações entre o DNA e os compostos <b>3a-d</b> (A). Vista superior do modo de ligação de <b>3a-d</b> com DNA (B). Ambos os compostos interagem na região do sulco menor do DNA. Anéis em vermelho, azul, rosa e verde (no DNA), indicando desoxideno. ....                                       | 94 |
| Figura 36. Interações entre o DNA e os compostos <b>3a-d</b> (A-D) obtidos pelo docking molecular. Ambos os compostos interagem na região do sulco menor do DNA. As linhas pontilhadas verdes indicam ligações H; linhas em laranja representam as interações anion-π;.....  | 95 |
| Figura 37. Visão geral do modo de ligação dos compostos <b>3a-d</b> na proteína HSA. Os domínios HSA I A (1-112); I B (113-195); II A (196-303); II B (304-383); III A (384-500) e III B (501-583), foram baseados em relatos de Wang et al., (WANG et al., 2016) e Ramezani e Rafei-Tabar (RAMEZANI; RAFII-TABAR, 2015). .... | 96 |

Figura 38. Interações entre os compostos **3a-d** (A-D) com a HSA obtida do docking molecular. As linhas pontilhadas verdes indicam ligações H; linhas em laranja representam as interações eletrostáticas anion- $\pi$  e cation- $\pi$ ; Linhas de pontos cor-de-rosa mostram as interações hidrofóbicas  $\pi$ - $\pi$  e alquil- $\pi$ . ..... 97

Figura 39. Espectros de absorção UV-vis de tio-porfirinas **5a-d** em DCM.. 98

Figura 40. Espectro de emissão dos derivados porfirínicos (excitação  $\lambda_{exc}$ = 418 nm) em solução de  $\text{CHCl}_3$  saturada de argônio ..... 99

Figura 41. Perfil cinético na presença de tioaril-porfirina **5a-d**..... 100

Figura 42. Espectros de absorção da titulação CT-DNA UV-vis dos derivados **5a-d** numa solução tampão DMSO (1%) / Tris-HCl (pH 7,4)..... 102

Figura 43. Espectros de fluorescência de emissão de ligação de BE a CT-DNA na presença de porfirinas **5a-5d** em uma mistura de DMSO (2%)-Tris-HCl (pH 7,4) a  $\lambda_{exc}$  = 510 nm. A seta indica as mudanças nas intensidades de fluorescência em amostras de concentrações crescentes. O gráfico em destaque mostra o gráfico de  $F_0 / F$  versus [porfirina]. ..... 104

Figura 44. Visão geral das interações entre o DNA e os compostos **5a-d**. Ambos os compostos interagem na região do sulco menor do DNA. As linhas pontilhadas representam as respectivas interações: verde indica ligações de H; laranja representa as interações ânion-  $\pi$ ; azul claro indica ligações carbono-hidrogênio. Anéis em vermelho, azul, rosa e verde (no DNA) indicam (dG), (dT), (dC) e (dG), respectivamente. As distâncias das interações estão em Å ..... 105



## LISTA DE TABELAS

|  |     |
|--|-----|
| Tabela 1. Otimização das condições reacionais .....  | 57  |
| Tabela 2. Otimização das condições reacionais para a síntese dos compostos tioaril-porfirina <b>5a-d</b> .....   | 73  |
| Tabela 3. Síntese dos compostos tioaril-porfirina <b>5a-d</b> . ....   | 75  |
| Tabela 4. Dados fotofísicos de porfirinas <b>3a-d</b> . ....   | 87  |
| Tabela 5. Fotoestabilidade dos derivados de porfirina <b>3a-d</b> (banda Soret de cada porfirina) a 2,0 µM, após irradiação com sistema LED de feixe de luz branca (400-800 nm) a uma taxa de fluência de 50 mW cm <sup>-2</sup> durante diferentes períodos de tempo (0 para 30 min)..... | 87  |
| Tabela 6. Parâmetros de ligação do DNA por análise de absorção das porfirinas <b>3a-d</b> . ....   | 90  |
| Tabela 7. Dados de ligação HSA por análise de emissão de fluorescência de derivados <b>3a-d</b> . ....   | 93  |
| Tabela 8. Dados de Absorção e emissão de derivados de porfirina <b>5a-d</b> . ....   | 99  |
| Tabela 9. Rendimento quântico de oxigênio singleto de tioaril-porfirinas <b>5a-d</b> .....   | 101 |
| Tabela 10. Dados de ligação ao DNA de derivados de tioaril porfirina <b>5a-d</b> ..  | 103 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^1\text{O}_2$ = Oxigênio singleto

$^1\text{PS}$ = Estado fundamental

$^1\text{PS}^*$ = Estado singleto

$^3\text{O}_2$ = Oxigênio tripleto

$^3\text{PS}^*$ = Estado tripleto

Abs= Absorbância

BE= Brometo de etídio

$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ = eterato de trifluoreto de boro

CCD= Cromatografia em Camada Delgada

ct-DNA= Calf-thymus DNA

d= duplete

dd= duplo duplete

DDQ= 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

DO= Densidade óptica

DPBF= 1,3-difenilisobenzofurano

ESI= Ionização por Eletro-Spray

HRMS= Espectrometria de massas de alta resolução

HSA= Albumina do Soro Humano

Hz= Hertz

$J$ = Constante de acoplamento (Hz)

m= multiplete

PDT= Terapia fotodinâmica

ppm= partes por milhão

RMN= Ressonância Magnética Nuclear

s= simpleto

t.a.= Temperatura ambiente

TPP= *meso*-tetrafenilporfirina

TPPF<sub>20</sub>= 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina

$\delta$ = Deslocamento Químico em ppm

$\Phi_{\Delta}$ = Rendimento quântico de produção de oxigênio singleto

$\Phi_{fl}$ = Rendimentos quânticos de fluorescência

$\Phi_{\Delta std}$ = Rendimento quântico de produção de  $^1\text{O}_2$  produzido pela referência

$\epsilon$ =Coeficiente de absorvidade molar ( $\text{mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ )

$\lambda_{em}$ = Comprimento de onda de emissão

$\lambda_{exc}$ = Comprimento de onda de excitação



## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b> .....   | <b>21</b> |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....  | <b>25</b> |
| 2.1 Porfirinas naturais e sintéticas.....  | 25        |
| 2.2 Estrutura das porfirinas.....  | 26        |
| 2.3 Nomenclatura das porfirinas .....  | 28        |
| 2.4 Síntese da 5,10,15,20–tetrakis(pentafluorofenil)porfirina.....   | 29        |
| 2.5 Reatividade da 5,10,15,20–tetrakis(pentafluorofenil)porfirina.....   | 30        |
| 2.6 Aplicações biológicas de compostos organocalcogênios .....   | 31        |
| 2.6 Inserção de calcogênio em substratos orgânicos via espécies nucleofílicas.....   | 35        |
| 2.7 Síntese de Calcogenoporfirinas .....   | 38        |
| 2.7.1 Síntese de tio-porfirinas simétricas derivadas da 5,10,15,20–tetrakis(pentafluorofenil)porfirina.....  | 39        |
| 2.8 Propriedades fotofísicas de porfirinas .....   | 49        |
| 2.8.1 Espectroscopia eletrônica de absorção.....   | 49        |
| 2.8.2 Espectroscopia de emissão fluorescente.....  | 50        |
| <b>APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS</b> .....   | <b>53</b> |
| <b>3. PREPARAÇÃO DE NOVAS SELENOPORFIRINAS E HIDROGENOPORFIRINAS DERIVADAS DA 5,10,15,20–TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA</b> .....   | <b>53</b> |
| 3.1 Mecanismo proposto para a formação dos produtos <b>3a-d</b> .....  | 58        |
| 3.2 Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massas do composto <b>3a</b> .....   | 62        |
| <b>4. PREPARAÇÃO DE NOVAS TIOARIL-PORFIRINAS DERIVADAS DA 5,10,15,20–TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA E ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ÁTOMOS DE CALCOGÊNIO NA FORMAÇÃO DE PRODUTOS</b> ..... | <b>71</b> |

|  |            |
|--|------------|
| 4.1 Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massas do composto <b>5b</b> .....         | 80         |
| <b>5. PROPRIEDADES DOS COMPOSTOS 3a-d E 5a-d</b> .....   | <b>84</b>  |
| 5.1 Análise da absorção no UV-visível dos compostos <b>3a-d</b> .....                            | 84         |
| 5.2 Análise espectral de emissão dos compostos <b>3a-d</b> .....                                 | 85         |
| 5.3 Fotoestabilidade dos compostos <b>3a-d</b> .....   | 87         |
| 5.4 Geração de Oxigênio Singlete ( $^1O_2$ ) dos compostos <b>3a-d</b> .....                     | 87         |
| 5.5 Ensaio de ligação CT-DNA por análise de absorção de porfirinas <b>3a-d</b> .....             | 89         |
| 5.6 Ensaio de ligação da albumina sérica humana (HSA) com porfirinas <b>3a-d</b> .....           | 91         |
| 5.6.1 <i>docking</i> molecular de DNA com porfirinas ( <b>3a-d</b> ).....                        | 93         |
| 5.7 <i>docking</i> molecular de HSA com porfirinas ( <b>3a-d</b> ).....                          | 95         |
| 5.8 Análise da absorção no UV-visível dos compostos <b>5a-d</b> .....                            | 97         |
| 5.9 Análise espectral de emissão dos compostos <b>5a-d</b> .....                                 | 98         |
| 5.10 Geração de Oxigênio Singlete ( $^1O_2$ ) dos compostos <b>5a-d</b> .....                    | 99         |
| 5.11 Ensaio de ligação ao DNA por análises de absorção e emissão dos compostos <b>5a-d</b> ..... | 102        |
| 5.12 <i>docking</i> molecular de DNA com porfirinas ( <b>5a-d</b> ).....                         | 105        |
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS</b> .....   | <b>105</b> |
| <b>6. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....   | <b>109</b> |
| <b>6.1 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | <b>109</b> |
| 6.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....                                       | 109        |
| 6.1.2 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-visível (UV-vis).....                  | 109        |
| 6.1.3 Espectroscopia de emissão.....   | 109        |
| 6.1.4 Fotoestabilidade.....  | 110        |
| 6.1.5 Geração de oxigênio singlete (Ensaio DPBF).....  | 110        |
| 6.1.6 Ensaio de interação com biomoléculas.....  | 110        |

|            |  |            |
|------------|--|------------|
| 6.1.6.1    | Ensaio de absorção e emissão com CT-DNA.....   | 110        |
| 6.1.6.2    | Ensaio de emissão com HSA.....   | 112        |
| 6.1.6.3    | Simulações de docking molecular.....   | 113        |
| 6.1.7      | Espectrometria de Massas.....  | 113        |
| 6.1.8      | Solventes e Reagentes.....   | 114        |
| <b>6.2</b> | <b>PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....</b>  | <b>114</b> |
| 6.2.1      | Procedimento para preparação da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (1..... | 114        |
| 6.2.2      | Procedimento para obtenção das selenoaryl-porfirinas 3a-d.....                         | 115        |
| 6.2.3      | Procedimento para obtenção das tioaryl-porfirinas 5a-d.....                            | 118        |
|            | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>   | <b>121</b> |
|            | <b>ESPECTROS SELECIONADOS.....</b>   | <b>131</b> |
|            | Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....                                   | 131        |
|            | Espectrometria de massas de alta resolução.....  | 142        |



## 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Compostos organocalcogênicos têm emergido como uma importante classe de moléculas desde a descoberta que demonstra o selênio como um elemento essencial na dieta humana (SCHWARZ, 1951). Além disso, os compostos organocalcogênicos atuam na constituição de precursores importantes para formação de tio e seleno-proteínas (BOOSALIS, 2008), operam como cofatores de enzimas do sistema antioxidante (ZHONG; HOLMGREN, 2000) (ALBERTO; NASCIMENTO; BRAGA, 2010), são responsáveis pelo controle hormonal e protegem contra as espécies reativas de oxigênio (NOGUEIRA; ZENI; ROCHA, 2004) (STADTMAN, 1991). Da mesma forma, atividades biológicas e medicinais, tais como as antitumorais (TABARELLI et al., 2017) e antimicrobianas (VARGAS et al., 2012) utilizando compostos organocalcogênicos podem ser observadas.

Adicionalmente, uma outra classe de compostos que apresenta uma diversidade de aplicações são os derivados porfirínicos. Eles têm recebido grande destaque nos últimos anos, sendo os derivados da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina amplamente estudados (COSTA et al., 2011). Tal importância se deve ao relevante papel desses compostos na possibilidade de atuarem como reagentes versáteis na catálise (CASTRO et al., 2017), na eletrônica (SENGE et al., 2007) e como células solares ou sensores (GULDI, 2002).

Apesar das inúmeras aplicações de porfirinas, seus usos em dispositivos biomédicos podem ser destacados como um dos seus recursos mais proeminentes. Deste modo, porfirinas apresentam inúmeras aplicações, tais como fotossensibilizadores para problemas na área da oftalmologia (KULKARNI; KUPPERMANN, 2005)(MITTRA; SINGERMAN, 2002), na fotoinativação de vírus e bactérias (COSTA et al., 2008)(OLIVEIRA et al., 2009)(TOMÉ et al., 2004) e, sobretudo, em oncologia, utilizando técnicas como a terapia fotodinâmica (PDT) (LOVELL et al., 2010)(PEREIRA et al., 2009)(PEREIRA et al., 2012).

O comportamento mais notável observado em porfirinas para atingir essas aplicações é a atuação como fotossensibilizador e conseqüentemente a capacidade para gerar espécies de oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) (DEROSA; CRUTCHLEY, 2002). Este processo envolve inicialmente absorção de energia pela porfirina e formação de um estado excitado tripleto. Em seguida, ocorre a

transferência de energia da porfirina excitada a oxigênio molecular fornecendo as espécies  $^1\text{O}_2$ . Neste estado, o oxigênio torna-se extremamente citotóxico promovendo a destruição celular (COSTA et al., 2016)(CHITGUPI; LOVELL; RAJENDIRAN, 2018)(DEROSA; CRUTCHLEY, 2002)(SHI et al., 2017).

Assim, tendo em vista a necessidade de desenvolvimento de novos agentes terapêuticos e materiais e baseando-se no interesse que os compostos organocalcogênios e compostos porfirínicos apresentam, são justificáveis os esforços para desenvolvimento de novos compostos e novos métodos de síntese.

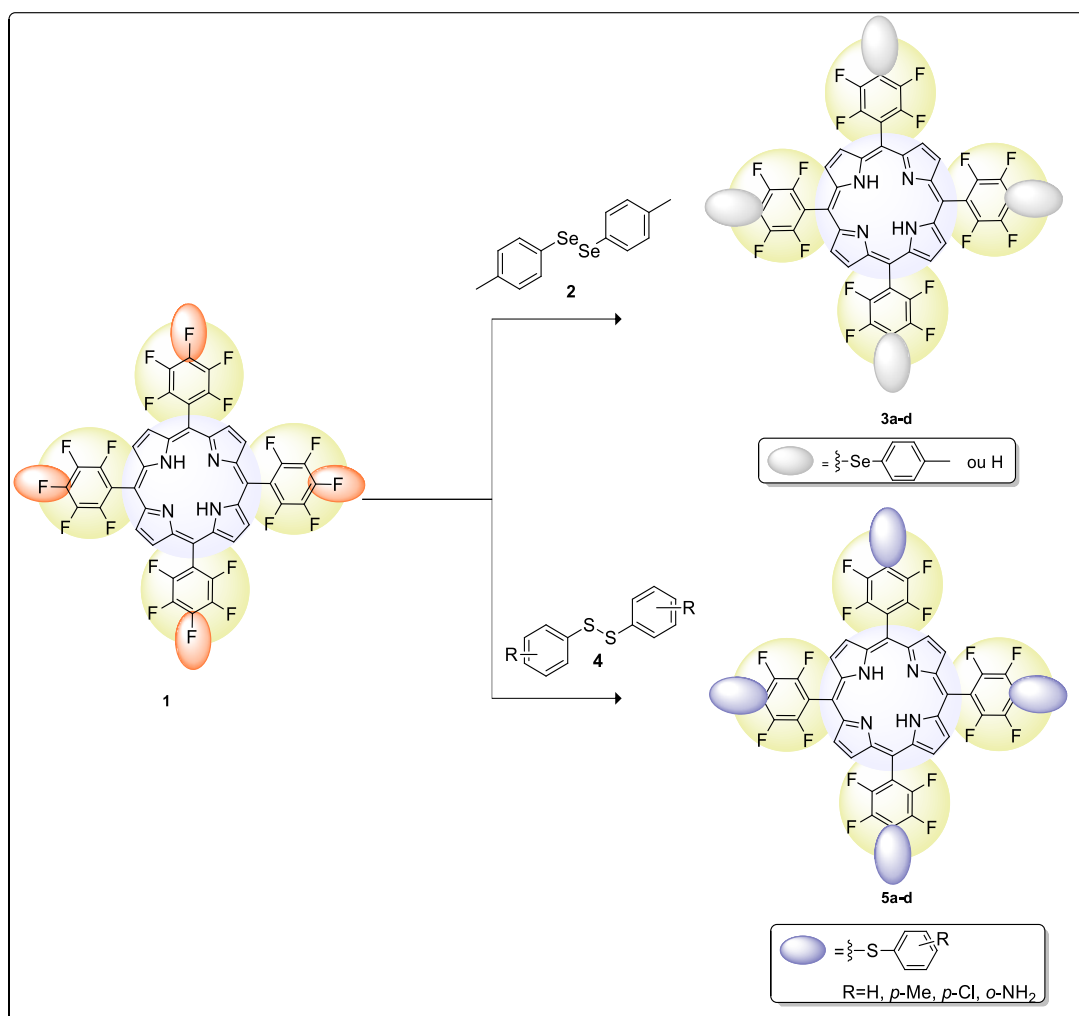
Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo geral:

- Síntese de novas calcogenoporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina, caracterização, estudo das propriedades fotofísicas e análise de interações biomoleculares dos derivados calcogenoporfirinas preparados;

E como objetivos específicos:

- Desenvolvimento de uma rota sintética apropriada para a preparação de novas calcogenoporfirinas, dentre elas, selênio e hidrogenoporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando *p*-metil-difenildisseleneto como fonte de ânion de arilcalcogênio (Esquema 1, estruturas **3a-d**);
- Desenvolvimento de uma rota sintética apropriada para a preparação de novas tioporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando diferentes fontes de ânion de arilcalcogênio (Esquema 1, estruturas **5a-d**);

Esquema 1. Representação da rota sintética para a preparação das selenoporfirinas e hidrogenoporfirinas **3** e tio-porfirinas **5**.



Fonte: autora

- Caracterização de todos os compostos sintetizados utilizando técnicas como: ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e <sup>19</sup>F, espectrometria de massas de alta resolução (HRMS-ESI(+)), espectroscopia eletrônica nas regiões do ultravioleta-visível (UV-vis) e espectroscopia de emissão fluorescente;
- Avaliação das propriedades fotofísicas por absorção e emissão fluorescente, rendimentos quânticos de fluorescência, fotoestabilidade e geração de oxigênio singleto dos compostos selenoporfirinas e tioporfirinas simétricas;
- Análise da interação dos compostos selenoporfirinas com *ct*-DNA e HSA e tioporfirinas simétricas com *ct*-DNA por técnicas espectrofotométricas, bem como através de modelagem molecular.

Em conexão com nossos objetivos, planejou-se, então, o desenvolvimento de uma nova metodologia que utiliza a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina como plataforma versátil para a obtenção de novos e diversos materiais porfirínicos, bem como diferentes fontes de ânions de calcogênio.

Por essa estratégia, selenoporfirinas ou hidrogenoporfirina **3** seriam preparadas em uma etapa reacional, a partir da TPPF<sub>20</sub> **1** com *p*-metil-difenil-disseleneto **2**. Além disso, por esse caminho seria possível a realização de uma etapa “*one pot*”, como por exemplo, através de substituição do grupamento organoselênio por hidrogrogênio e a obtenção de compostos mistos (Mono, Di e Tri seleno-substituídas). Da mesma forma, tioporfirinas simétricas **5** poderiam ser preparadas também em uma etapa reacional, a partir da TPPF<sub>20</sub> **1** com diferentes fontes de ânions de enxofre **4**. No caso da síntese de tioporfirinas, esta nova metodologia, permitiria a síntese desses compostos sem a necessidade de utilização de base no meio reacional, além de empregar reagentes de fácil manuseio e inodoros, diferentemente do que se encontra na literatura (TUXEN et al., 2011) (GOMES et al., 2011).



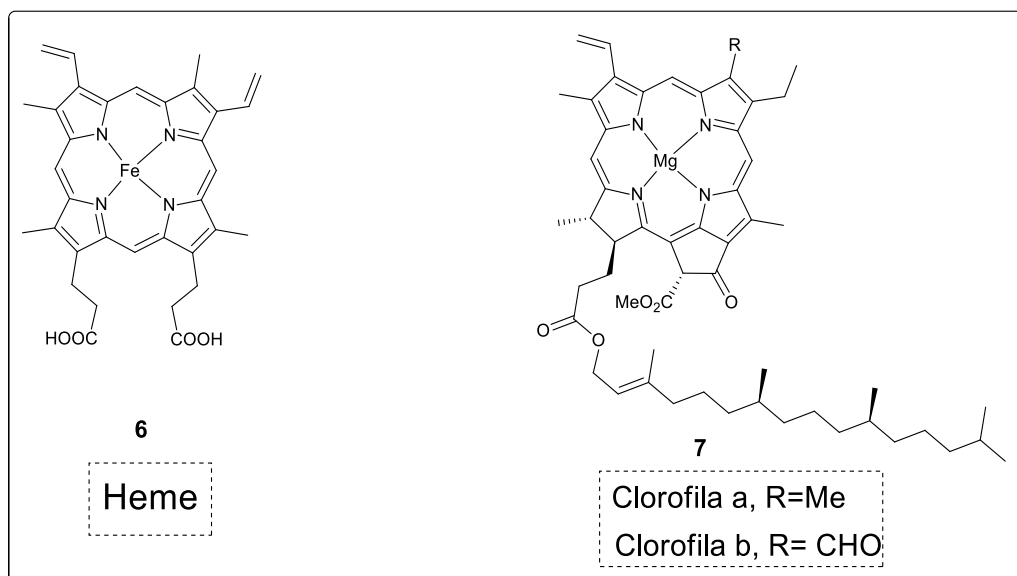
## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção será apresentada uma revisão da literatura abordando os temas referentes ao desenvolvimento deste trabalho. Primeiramente, a revisão abordará sobre porfirinas e organocalcogênicos. Em seguida serão apresentadas metodologias para a síntese de calcogenoporfirinas, visando protocolos que utilizaram a porfirina 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina como material de partida. Após, serão abordados assuntos relacionados às propriedades fotofísicas e espectroscopia de absorção e emissão.

### 2.1 Porfirinas naturais e sintéticas

As porfirinas são estruturas encontradas na natureza e apresentam papéis importantes nos organismos vivos e em processos biológicos, podendo-se afirmar que não há vida na terra sem porfirinas (HIROTO; MIYAKE; SHINOKUBO, 2017). Destacam-se, entre os representantes naturais mais importantes, o grupo heme **6** e as clorofilas **7** (Figura 1).

Figura 1. Representação estrutural de macrociclos tetrapirrólicos naturais



Fonte: autora

As proteínas heme são encontradas naturalmente nas mioglobinas (atuando no armazenamento e como facilitadora no transporte de oxigênio nos músculos)

(NELSON; COX, 2011), nas hemoglobinas (atua no transporte do oxigênio, dos pulmões até aos tecidos e parte do dióxido de carbono no sentido inverso, podendo-se ligar reversivelmente ao átomo de oxigênio) (NELSON; COX, 2011), nos citocromos (transferência eletrônica e atividade catalítica (citocromo P-450), nas catalases (catalisam o desproporcionamento de metabólitos de oxigênio tóxico, peróxido de hidrogênio em água e oxigênio) e nas peroxidases (usam peróxido de hidrogênio para oxidação de substratos orgânicos).

Por outro lado, a clorofila encontrada na natureza atua na fotossíntese, exercendo a função de captura de fótons de luz na região próxima a 400 nm (ultravioleta) e na região de 650-700 nm (do espectro visível) (MILGROM, 1997).

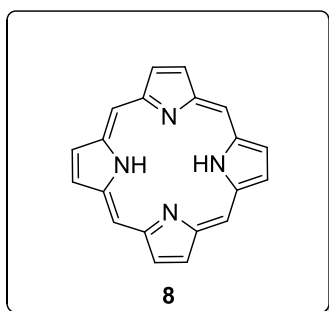
Tendo em vista a importância desses compostos naturais em processos biológicos, ao longo dos anos, muitos estudos foram realizados a fim de tornar compostos sintetizados em laboratórios úteis para a natureza e para a sociedade. Desta forma, inúmeros compostos derivados de porfirina foram desenvolvidos e apresentaram aplicabilidade nas mais diversas áreas do conhecimento. Dentre elas, evidencia-se o uso destes compostos na conversão de energia (GULDI, 2002), dispositivos eletrônicos (SENGE et al., 2007), na catálise (CASTRO et al., 2017) ou ainda na medicina, como na terapia contra o câncer (DEROSA; CRUTCHLEY, 2002).

## 2.2 Estrutura das porfirinas

A estrutura da porfirina foi proposta em 1912 por Kuster ao sugerir a estrutura da clorofila como macrocíclica com quatro anéis derivados do pirrol unidos por pontes metínicas, no entanto somente no ano de 1929 foi sintetizada a primeira porfirina (protoporfirina IX e seu complexo de Fe (III)-Heme) em laboratório por Hans Fisher e seu grupo de Munique (GOMES; NEVES; CAVALEIRO, 2018). A correlação entre a estrutura e síntese das clorofilas e do grupo heme, rendeu o prêmio de Nobel em Química no ano de 1930, a este cientista alemão Hans Fisher (FISCHER, 1930).

As porfirinas são uma classe de moléculas orgânicas cujo núcleo básico é constituído por quatro anéis do tipo pirrólicos (macrociclo tetrapirrólico), unidos entre si por pontes metileno (=CH-) **8** (MILGROM, 1997).

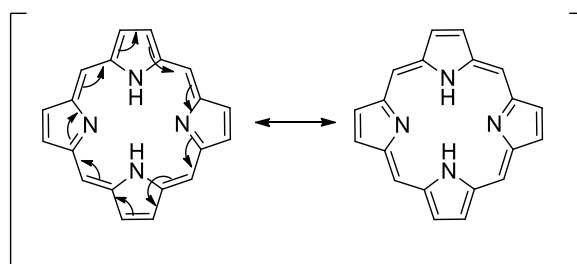
Figura 2. Representação estrutural do núcleo porfirínico



Fonte: autora

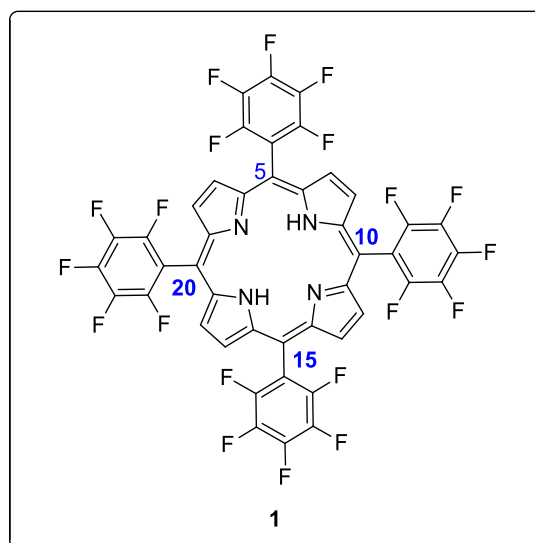
Devido a isso, o macrociclo porfirínico apresenta 22 elétrons  $\pi$ , mas somente 18 elétrons possuem capacidade de deslocalização eletrônica e estão envolvidos na aromaticidade. Isto vai de acordo com a regra de aromaticidade de Hückel ( $4n+2=$  número de elétrons, onde  $n=4$ ) e atribui grande estabilidade ao anel através das estruturas de ressonância (Esquema 2).

Esquema 2. Representação estrutural da deslocalização eletrônica do macrociclo porfirínico



Fonte: autora

A TPPF<sub>20</sub>, porfirina que foi utilizada para o desenvolvimento desse trabalho, caracteriza-se por ser uma porfirina constituída pelo núcleo básico de quatro anéis pirrólicos *meso*-substituída (substituída nas posições 5, 10, 15, 20) com 4 grupos fenil, substituídos por cinco átomos de flúor (Figura 3).

Figura 3. Representação estrutural da TPPF<sub>20</sub>

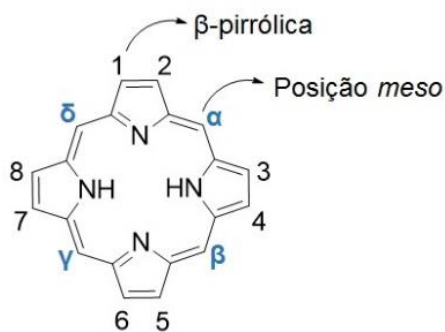
Fonte: autora

### 2.3 Nomenclatura das porfirinas

Existem dois sistemas de nomenclatura para o macrociclo porfirínico, sendo o primeiro proposto por Fischer e bem conhecido por ser o mais trivial e o segundo proposto pela IUPAC.

Na nomenclatura de Fischer, figura 4, as posições externas são numeradas de 1 a 8 e também denominadas por  $\beta$ -pirrólicas. Já as posições entre os pirróis (=CH-) são conhecidas por posições *meso* e também podem ser identificadas pelas letras gregas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  (Figura 4).

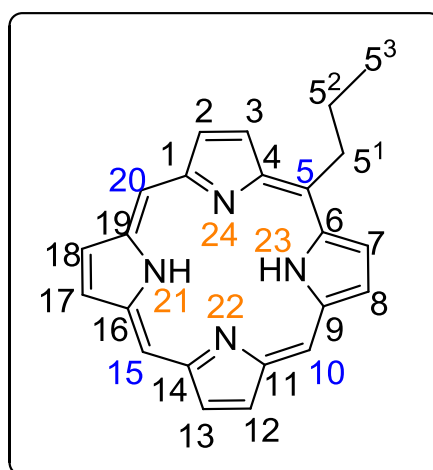
Figura 4. Representação da nomenclatura de Fischer



Fonte: autora

Na proposta da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), todos os átomos de hidrogênio e carbono são numerados, onde os átomos de carbono externos são designados com índices, de acordo com a Figura 5 (POWELL, 1993).

Figura 5. Representação da nomenclatura pela IUPAC



Fonte: autora

#### 2.4 Síntese da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina

A síntese da porfirina 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina se dá através da reação de condensação entre um pirrol e um aldeído, assim como as demais porfirinas *meso*-substituídas. Sobre essa reação, existem relatos na literatura datados desde 1935, no entanto, foi em 1967 que essa reação teve um grande avanço. Nesse ano, Adler demonstrou o aumento de rendimento na condução da reação em meio ácido e sistema aberto. O procedimento de Adler consiste em reagir o benzaldeído com pirrol na proporção de 1:1, em refluxo de ácido propiônico, a 141 °C, por 30 minutos em sistema aberto. O autor destacou nessa metodologia que tempos de reação mais longos no ácido propiônico não aumentam apreciavelmente o rendimento, mas na verdade diminuem a pureza dos produtos. Neste caso, o rendimento aumentou de 3-5% para 20% e o produto foi obtido por cristalização, tornando a purificação mais simples (ADLER et al., 1967; KIM; LEONARD; LONGO, 1972).

A partir de então, diversas adaptações foram sugeridas para este método e dentre eles destaca-se as modificações propostas por Lindsey (LINDSEY et

al., 1987). Nesta metodologia a síntese é realizada em duas etapas e num processo *one pot*. Na primeira ocorre a formação de um porfirinogênio através da condensação entre o pirrol e o aldeído em diclorometano seco na presença de um catalisador ácido, a temperatura ambiente sob atmosfera inerte e protegido da luz e na segunda fase a adição de um agente oxidante (DDQ), oxida o porfirinogênio formado levando a formação da porfirina com rendimento de 11%.

Embora uma gama de metodologias vêm sendo descritas ao longo do anos para a síntese de porfirinas *meso*-substituídas ((GONSALVES; VAREJÃO; PEREIRA, 1991) (DE PAULA et al., 2008)(SUN et al., 2013)), o método de Adler-Longo e Lindsey tornaram-se os métodos mais conhecidos e utilizados para a síntese da porfirina 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina. Portanto, neste trabalho, o método utilizado no preparo da TPPF<sub>20</sub> utilizada como material de partida foi o de Lindsey por ser experimentalmente mais simples e por proporcionar a obtenção da porfirina em bons rendimentos. O procedimento experimental completo para preparação da TPPF<sub>20</sub> encontra-se no capítulo 6, onde estão descritos os procedimentos experimentais de todos os compostos preparados dessa tese.

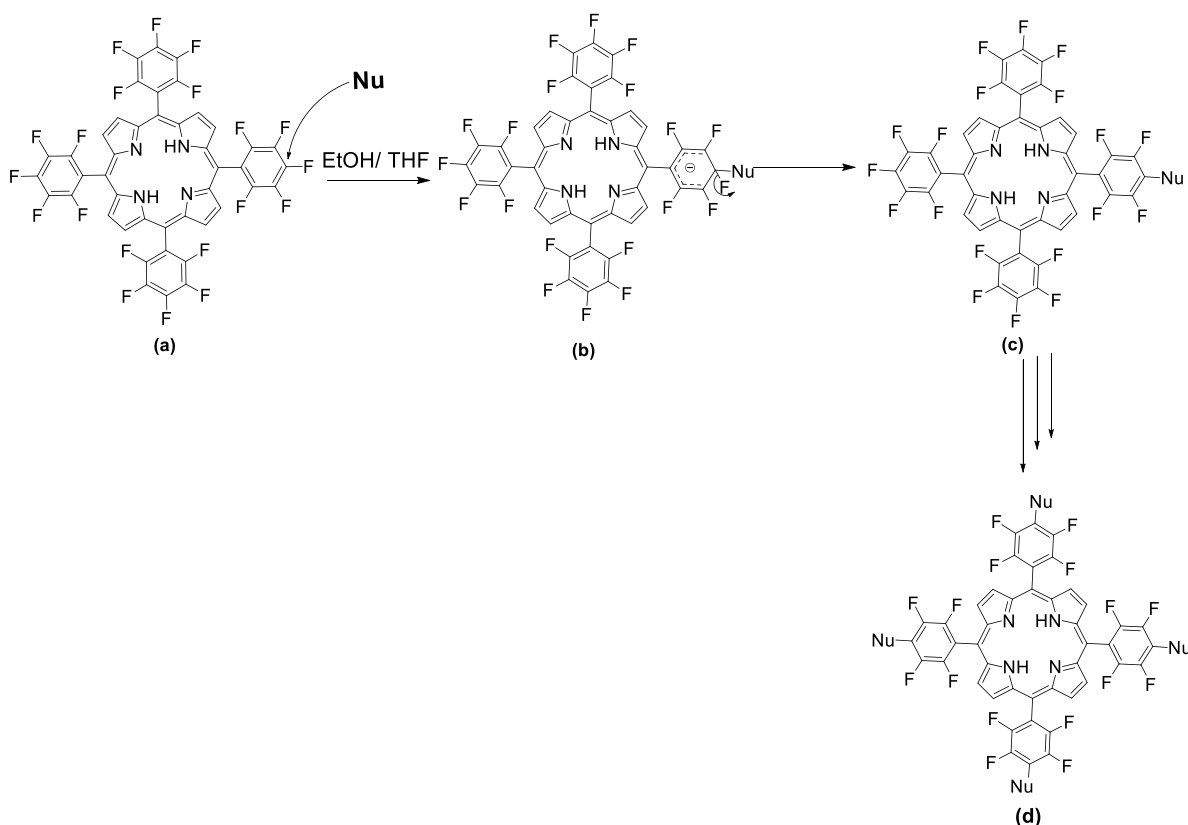
## 2.5 Reatividade da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina.

A TPPF<sub>20</sub> é um composto que se apresenta como um modelo versátil para síntese de novos derivados de porfirina. Tal porfirina ou seus complexos metálicos reagem com nucleófilos e permitem a obtenção de novos compostos através de acesso simples e geral. Além disso, a reação de substituição nucleofílica aromática que ocorre na porfirina com substituição dos átomos *para*-F é altamente seletiva e frequentemente ocorre com alto rendimento.

O mecanismo de substituição nucleofílica aromática, neste caso, se dá através de adição-eliminação. Desta forma, o flúor ligado ao carbono arila permite, através da sua polarizabilidade, o ataque pelo nucleófilo ao carbono ligado ao halogênio **(a)**, formando um carbânion **(b)**. Este intermediário é estabilizado pelos substituintes F na posição *orto* por ressonância e na etapa a seguir, um íon fluoreto é eliminado levando ao produto de substituição **(c)** à medida que a aromaticidade do anel é recuperada. Sequencialmente, ocorre o

mesmo processo nas outras 3 posições *para* do anel C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>, levando a formação do produto **(d)** tetra substituído (Esquema 3). Embora, as estruturas de ressonância do estado de transição desse tipo de reação indicam que o nucleófilo pode atacar na posição *orto* ou *para* do anel pentafluorofenila a substituição, nos casos da TPPF<sub>20</sub>, ocorre exclusivamente na posição *para*, devido a fatores estéricos (KADISH; HAN; FRANZEN, 1990).

Esquema 3. Substituição nucleofílica aromática pelo mecanismo de adição-eliminação



Fonte: autora

## 2.6 Aplicações biológicas de compostos organocalcogênicos

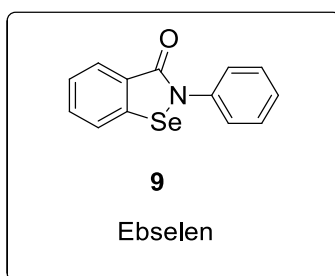
Na área da síntese orgânica, moléculas contendo enxofre, selênio e telúrio estão ganhando maior atenção da comunidade devido a inúmeras aplicações exibidas por essa classe, destacando-se, principalmente na área biológica.

Com relação a esta área, os compostos de selênio apresentam um grande número de aplicações e entre os exemplos conhecidos na literatura de compostos orgânicos de selênio que apresentam atividades biológicas pode-se

destacar o *Ebselen* (MULLER et al., 1984)(PARNHAM; KINDT, 1984)(WENDEL et al., 1984) e os disselenetos arílicos (SEVRIN et al., 1976).

O *Ebselen* **9** tem sido usado como antioxidante e possui atividade neuroprotetora em cultura de neurônios, inibe o dano oxidativo ao DNA, reduz o dano oxidativo em cérebro causado pela isquemia, além de possuir atividade antiinflamatória e antinociceptiva (Figura 6) (MEOTTI; NOGUEIRA, 2003).

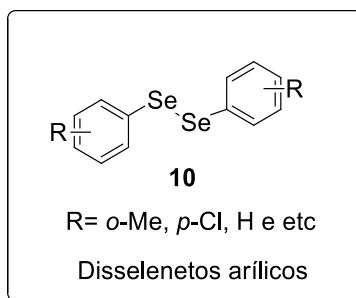
Figura 6. Representação estrutural do Ebselen



Fonte: autora

Da mesma forma, os disselenetos **10** são compostos que também possuem propriedades interessantes. Estudos demonstram que eles possuem atividade antiinflamatória e antinociceptiva para ratos e camundongos em doses não tóxicas (Figura 7) (NOGUEIRA; ZENI; ROCHA, 2004).

Figura 7. Representação estrutural de disselenetos

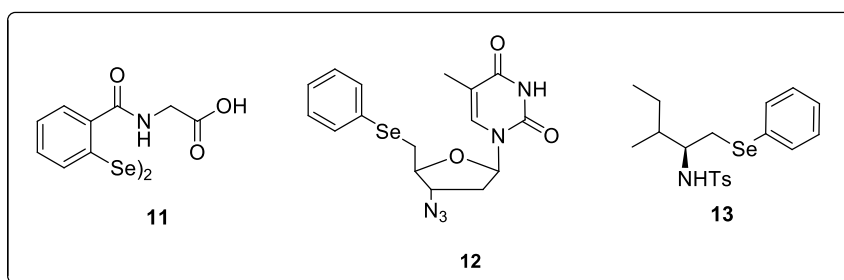


Fonte: autora

Além disso, os compostos de selênio apresentam aplicações tais como, controle hormonal, anti-HIV (composto **11**, figura 8) (SANCINETO et al., 2015), atividades antitumorais (composto **12**, figura 8) (DE SOUZA et al., 2015) e antimicrobianas (composto **13**, figura 8)(VARGAS et al., 2012) .



Figura 8. Representação estrutural de moléculas ativas biologicamente contendo selênio

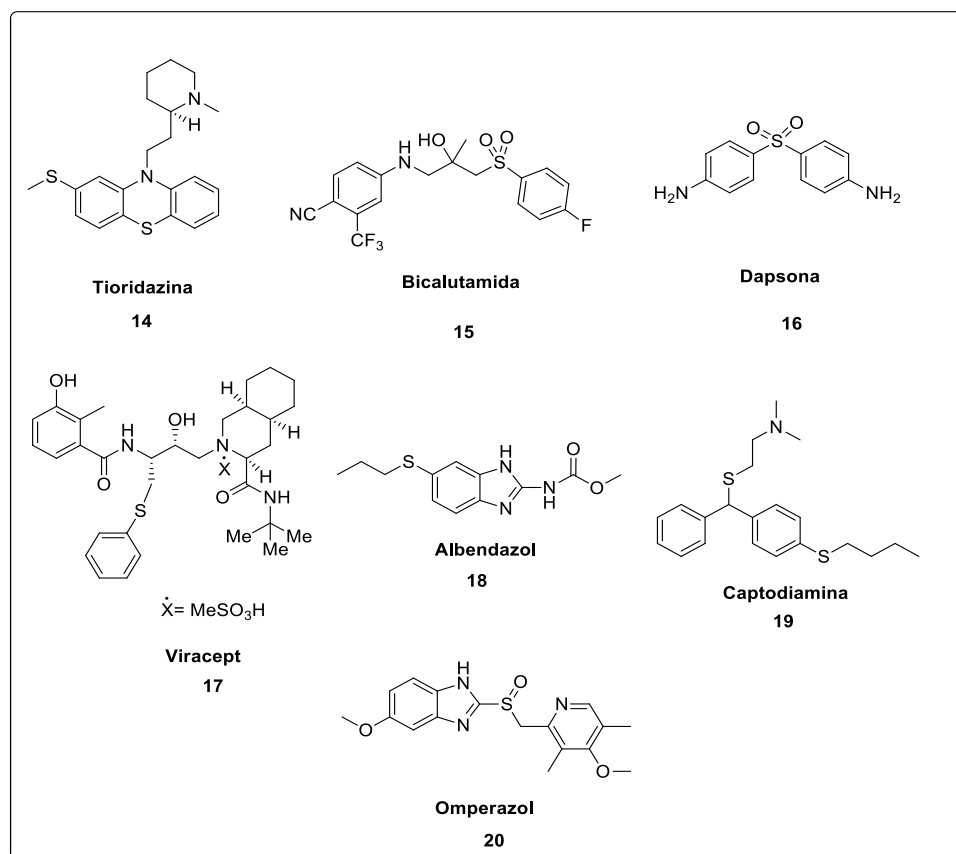


Fonte: autora

Em relação aos compostos de enxofre, pode-se afirmar que eles apresentam atividade biológica semelhante ao selênio. Desta forma, podem interagir ou neutralizar espécies reativas de oxigênio e atuarem na sinalização e na detecção de doenças (JONES, 2010).

Além disso, eles são muito eficazes no tratamento de várias doenças e já são utilizados como medicamentos para câncer de ovário **14** (Figura 9, Tioridazina) (RHO; KIM; KANG, 2011), câncer de próstata **15** (Figura 9, Bicalutamida) (IVERSEN et al., 2000), lepra **16** (Figura 9, Dapsona) (LIU; LIANG; MANOLIKAKES, 2016) e HIV **17** (KALDOR et al., 1997). Ainda, compostos de enxofre são utilizados como medicamentos para o tratamento de verminoses **18** (Figura 9, Albendazol) (CRUZ et al., 1995), atuam como anti-histamínicos **19** (Figura 9, captodiamina) (MERCIER-GUYON; CHABANNES; SAVIUC, 2004) e são usados para problemas estomacais **20** (Figura 9, Omeprazol) (THIERMANN et al., 1999) (Figura 9).

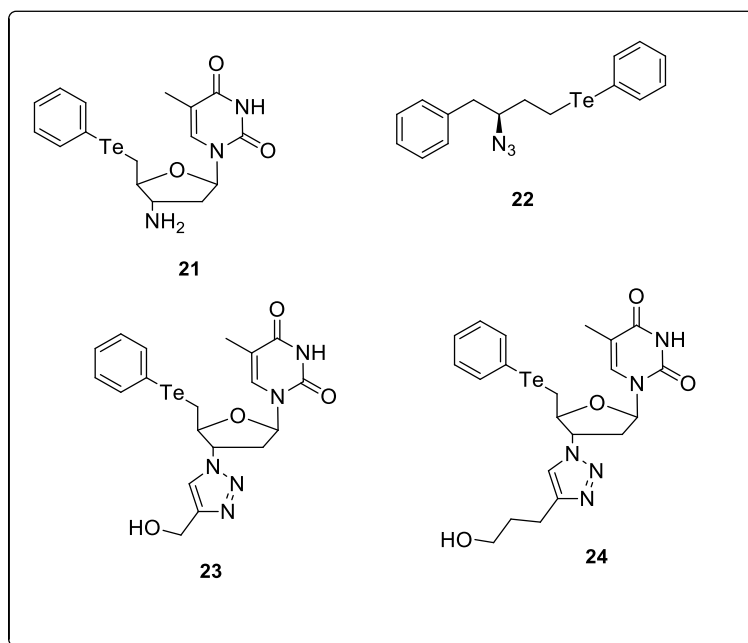
Figura 9. Representação estrutural de moléculas ativas biologicamente e/ou medicamentos contendo enxofre



Fonte: Adaptado de (KAZEMI et al., 2018)

Compostos de telúrio, assim como compostos de selênio e enxofre, apresentam atividades em sistemas biológicos, embora com menor número de publicações. Tais compostos já foram descritos como citotóxicos para células de carcinoma 5637 (composto **21**, Figura 10) (DA ROSA et al., 2016), A549 (composto **22**, Figura 10) (TABARELLI et al., 2017) e 5637 (compostos **23** e **24**, Figura 10) (MUNCHEN et al., 2018), além de atuarem como agentes antioxidantes.

Figura 10. Representação estrutural de moléculas biologicamente ativas contendo telúrio.



Fonte: autora

## 2.6 Inserção de calcogênio em substratos orgânicos via espécies nucleofílicas

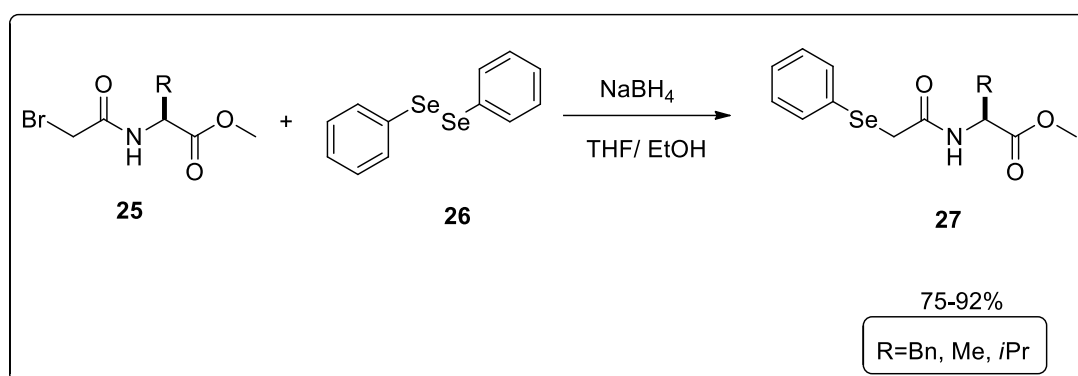
O desenvolvimento de metodologias para inserção de átomos de calcogênio, principalmente enxofre, selênio e telúrio, em moléculas orgânicas é desafiador. No entanto, alguns relatos encontrados na literatura destacam a introdução de grupos organoselênio, organoenxofre e organotelúrio em outro substrato orgânico via espécies nucleofílicas.

Neste sentido, um dos métodos empregados para a obtenção dessas espécies é a utilização de borohidretos alcalinos, tais como borohidreto de sódio para clivagem de disselenetos, dissulfetos ou diteluretos de diarila. Este tipo de metodologia ganha especial atenção, pois apresenta vantagens como baixa toxicidade, facilidade de manuseio do agente redutor, economia no consumo de energia, visto que, na maioria dos casos, não é necessário utilizar aquecimento para geração das espécies, além de apresentar versatilidade, destacando-se dentro da Química orgânica, uma vez que se mostra bastante atraente para síntese de estruturas mais complexas.

Como exemplo, destaca-se a proposta de Alberto (2009), na qual foi apresentada a geração de espécies nucleofílicas a partir da reação de

disseleneto de difenila **26** com borohidreto de sódio em uma mistura de solventes de etanol e THF em temperatura ambiente. A inserção da porção organocalcogênio ocorreu através do ataque nucleofílico destas espécies geradas à bromoamidas **25**. Nessa reação foi observada a formação de selenetos **27** em bons rendimentos (Esquema 4) (ALBERTO et al., 2009).

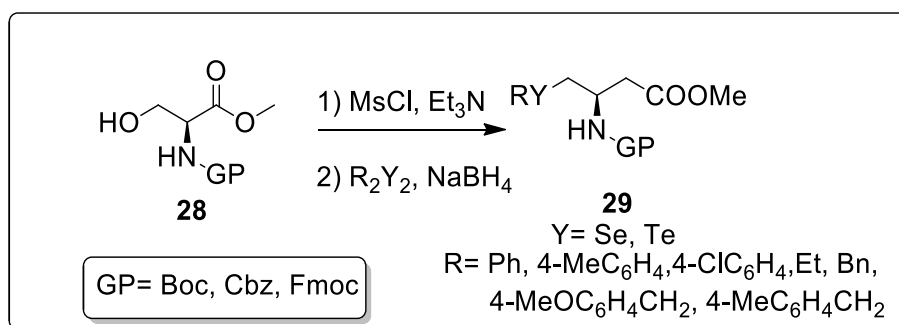
Esquema 4. Representação esquemática para obtenção de selenetos através de espécies nucleofílicas de selênio



Fonte: adaptado de Alberto, 2009.

Baseando-se nisso, em 2010, Braga e colaboradores descreveram uma metodologia para a obtenção de calcogenoésteres **29** derivados do aminoácido *L*-Serina. Os compostos **29** foram obtidos através de nucleófilos de selênio e telúrio oriundos da clivagem de dicalcogenetos de diarila com borohidreto de sódio em temperatura ambiente (Esquema 5) (BRAGA et al., 2010).

Esquema 5. Representação esquemática para obtenção de compostos organocalcogênicos

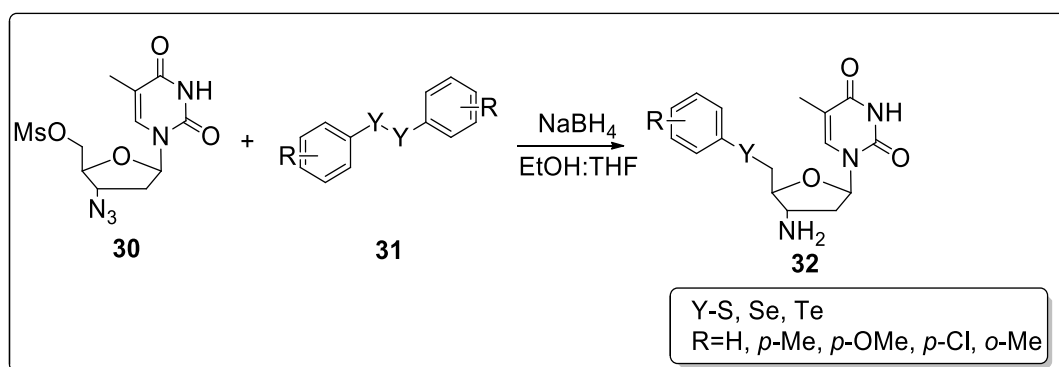


Fonte: Braga, 2010

Neste método, um éster *O*-mesilado **28** da *L*-Serina é gerado “*in situ*” e substituído diretamente com vários ânions calcogenolatos, obtendo-se derivados selenocisteína, um derivado telurocisteína, selenolantionina e selenocistina em bons rendimentos.

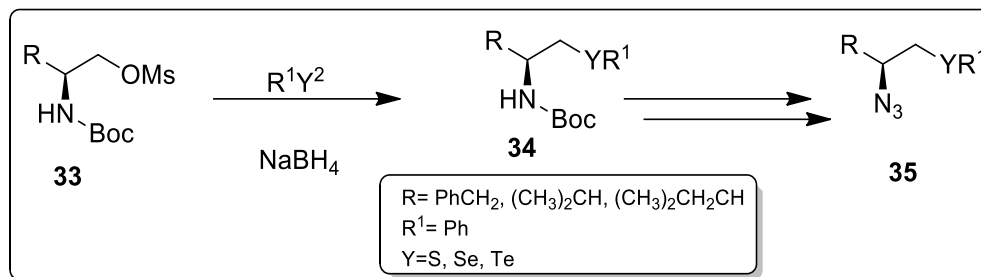
Mais recentemente, Da Rosa (2016) aliou em seu trabalho a utilização de organocalcogênios com borohidreto de sódio, de modo que os autores desenvolveram uma metodologia interessante para a síntese de derivados 5'-arilcalcogeno-3-aminotimidina **32**. Neste trabalho o NaBH<sub>4</sub> atua como agente redutor da espécie dicalcogeneto **31** e a adição de um excesso de redutor, leva redução da porção azida em um processo *one-pot* em bons rendimentos (Esquema 6) (DA ROSA et al., 2016).

Esquema 6. Representação esquemática para obtenção de compostos organocalcogênio



Fonte: Adaptado de Da Rosa, 2016

Em 2017, Tabarelli e colaboradores sintetizaram e avaliaram o potencial oxidante e atividade antitumoral de calcogenoazidas **35**, frente a células tumorais A549. Os autores utilizaram um meio redutor de NaBH<sub>4</sub>: EtOH em temperatura ambiente para gerar as espécies reativas provenientes dos dicalcogenetos de diargonila, e por meio de reações substituição nucleofílica, adicionaram os calcogenetos a plataforma amino **33**. Posteriormente, os compostos **34** sofreram desproteção do grupo N-Boc com ácido trifluoroacético e foram reagidos com TfN<sub>3</sub> levando a formação da azida **35**. A metodologia utilizando NaBH<sub>4</sub> em uma mistura de THF e etanol, proporcionou a obtenção de vários compostos organocalcogênios **35**, em rendimentos bons na faixa de 73%-89%. (Esquema 7) (TABARELLI et al., 2017).

Esquema 7. Representação esquemática para obtenção dos compostos **35**

Fonte: adaptado de Tabarelli, 2017

Portanto, devido as vantagens apresentadas pela metodologia utilizando borohidreto de sódio para geração de espécies nucleofílicas, o presente trabalho adotou este método para a geração dos ânions nucleofílicos arilcalcogênio. O procedimento experimental completo para geração dessas espécies encontra-se no capítulo 6, onde estão descritos os procedimentos experimentais referentes a essa tese.

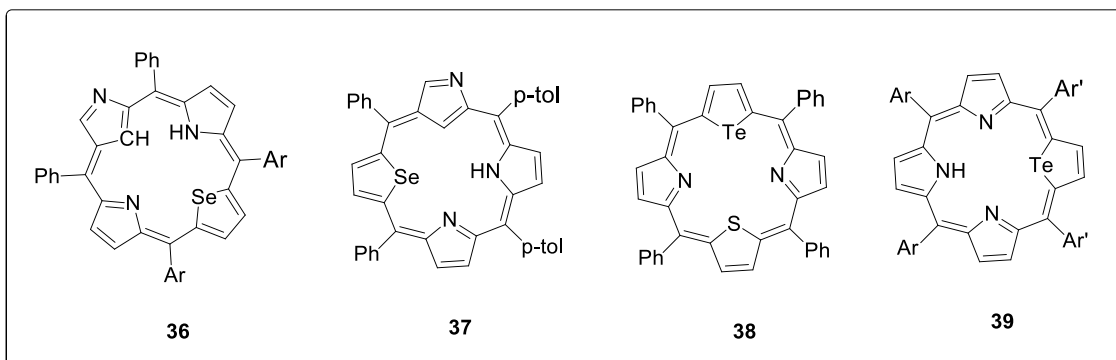
## 2.7 Síntese de Calcogenoporfirinas

A síntese de compostos derivados da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina contendo átomos de calcogênio, em particular, o átomo de enxofre, vêm se destacando devido a possibilidade de síntese de compostos versáteis, através de acesso simples, prático, seletivo e com alto rendimento (COSTA et al., 2011).

A seguir serão apresentadas algumas metodologias que vem sendo descritas dentro da área de síntese orgânica para a preparação de calcogenoporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina. No entanto, a síntese de selênio e teluro-porfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina não serão descritas, visto que não existem relatos de estudos na literatura abordando a obtenção desses compostos. Destaca-se que os estudos encontrados na literatura até o presente momento sobre síntese de selênio e teluro-porfirinas tratam apenas da obtenção, por exemplo, de selênio-porfirinas N-confusas (N-invertidas) **36** e **37** (PACHOLSKA et al., 2000)(PUSHPAN et al., 2001) ou teluro-porfirinas **38** e **39** derivadas de

outros compostos e não derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (ULMAN et al., 1978) (LATOS-GRAZYNSKI et al., 1995), conforme figura 11.

Figura 11. Representação estrutural de compostos selênio e teluro-porfirinas.

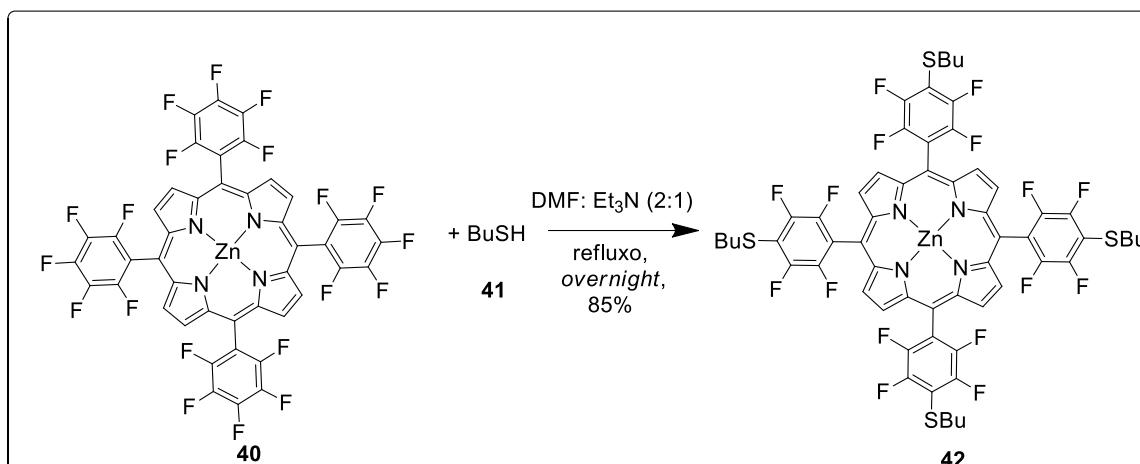


Fonte: autora

### 2.7.1 Síntese de tio-porfirinas simétricas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina

Dos estudos relatados até o presente momento, a obtenção das tio-porfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina, na maior parte dos casos, ocorre via substituição nucleofílica aromática a partir da utilização de tióis, com a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina livre ou complexada com metais.

Neste sentido, em 1991, Battioni e colaboradores descreveram a síntese de uma tio-porfirina tetra substituída **42** com rendimento de 85%. Nesta metodologia, foi utilizada a TPPF<sub>20</sub> complexada com zinco (Zn-TPPF<sub>20</sub>) **40**, oito equivalentes de butanotiol **41** e uma mistura de DMF e trietilamina (2:1). A reação foi mantida em agitação *overnight* sob temperatura de refluxo do solvente (Esquema 8) (BATTIONI et al., 1991) .

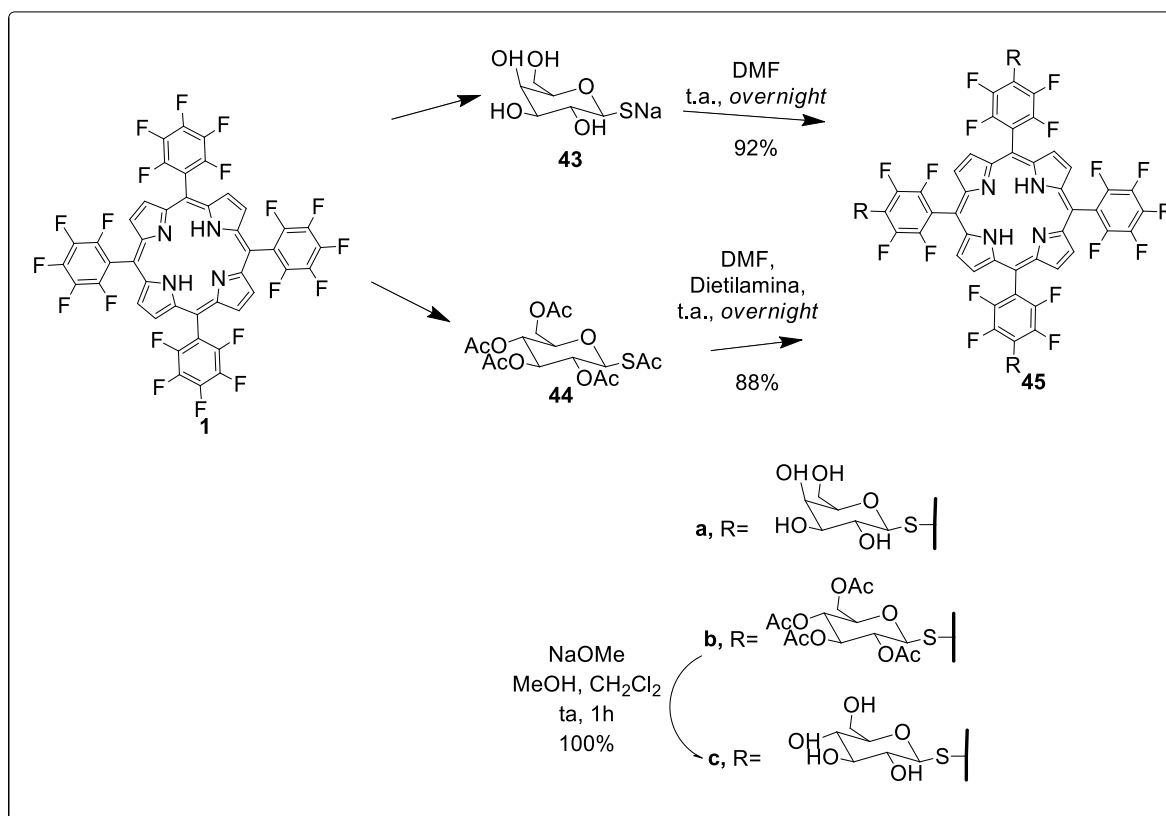
Esquema 8. Representação esquemática para síntese de uma tio-porfirina tetra-substituída **42**.

Fonte: (Battioni, 1991)

Em 2010, Hirohara e colaboradores realizaram a conjugação de enxofre e porfirinas, através da síntese de tiosacarídeos-porfirinas **45** para estudos de PDT. Os compostos 5,10,15,20-tetrakis[4-(1-tiogalactose)-2,3,5,6-tetrafluorfenil] porfirina (**a**) e 5,10,15,20-tetrakis[4-(1-tioglicose)-2,3,5,6-tetrafluorfenil]porfirina (**c**) foram obtidos com bons rendimentos em uma ou duas etapas reacionais a temperatura ambiente (HIROHARA et al., 2010). Um estudo sobre a ligação seletiva destas duas moléculas conjugadas (tiosacarídeo-S-porfirina) com vários tipos de células cancerígenas foi examinado, seguido por uma investigação das propriedades fotodinâmicas e verificou-se que o cancro da mama humano (MDA-MB-231) é inibido preferencialmente com o derivado contendo glicose ao derivado da galactose (Esquema 9) (PASETTO et al., 2001).



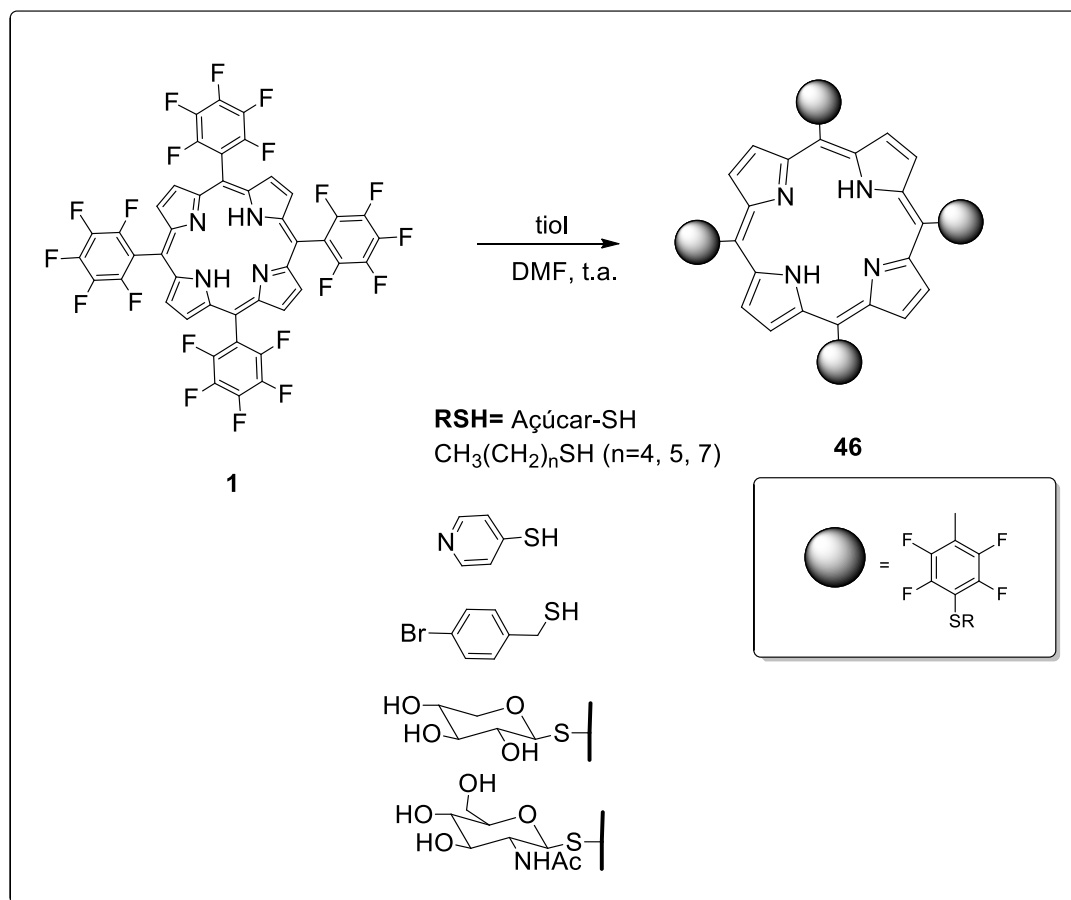
Esquema 9. Representação esquemática para síntese de moléculas conjugadas sacarídeos-porfirinas



Fonte: (Hirohara, 2004)

Adicionalmente, os estudos envolvendo as potencialidades biológicas desta classe de compostos vêm recebendo a atenção da comunidade científica. Neste contexto, Samaroo e colaboradores, em 2007, utilizaram a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina **1** como uma plataforma central para obter uma diversidade de compostos derivados de enxofre **46**. A porfirina reagiu com uma gama de tióis, à temperatura ambiente e os derivados glicosilados desta porfirina mostraram ser agentes fotodinâmicos eficazes na indução de necrose ou apoptose em várias linhas de células de câncer (Esquema 10) (SAMAROO et al., 2007).

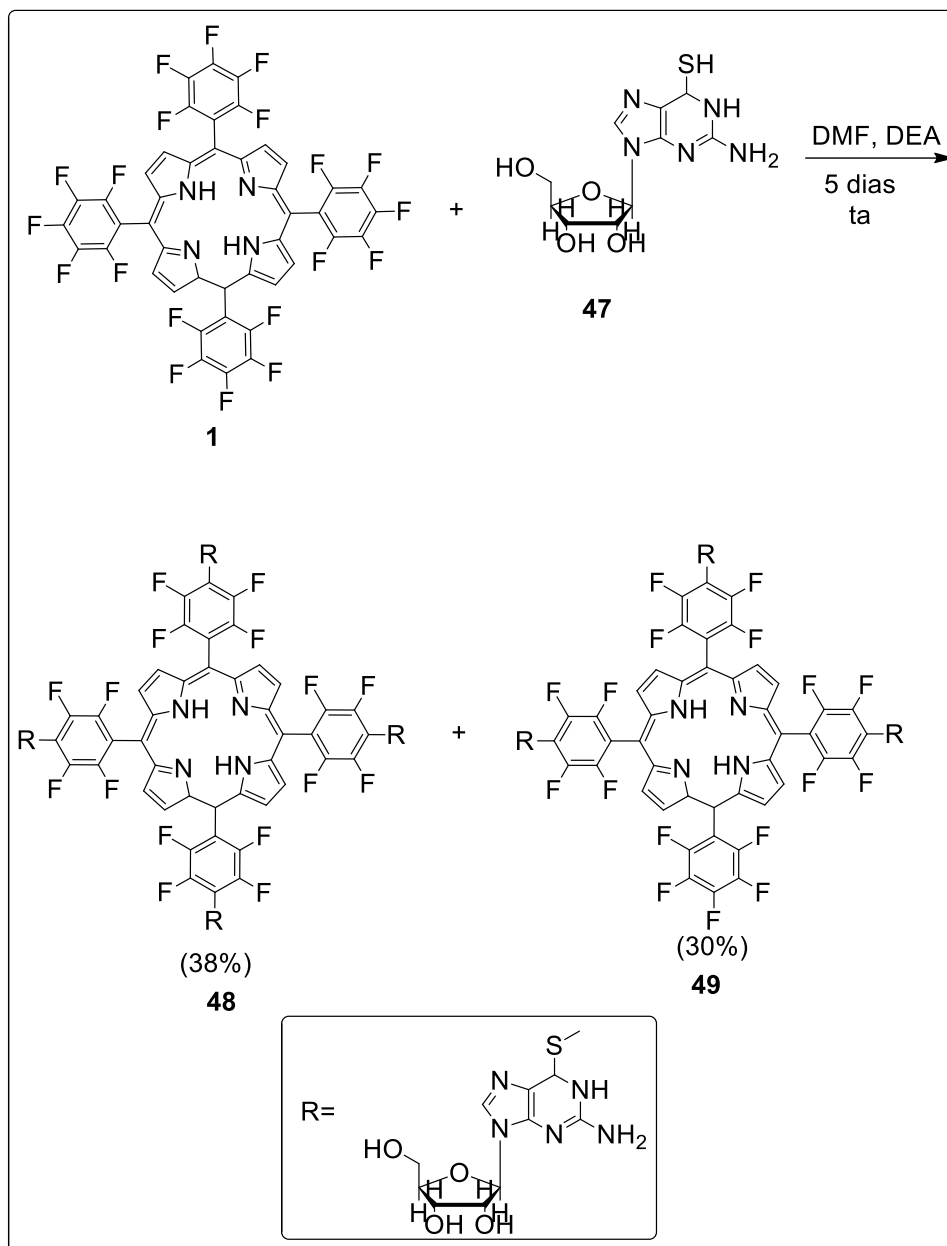
Esquema 10. Representação esquemática para síntese de moléculas derivadas de tióis.



Fonte: (Samaroo, 2007)

Ainda nesse trabalho, Samaroo descreveu a síntese do composto derivado do ribosídeo 6-mercaptopurina **47** com a TPPF<sub>20</sub>, para isso foi utilizada a proporção reacional de 16 equivalentes de ribosídeo **47** em relação a TPPF<sub>20</sub> **1** (4 equivalentes para cada *para*-F) e a reação foi mantida sob agitação por 5 dias. Nesta metodologia, como produto principal obtêm-se o composto tetra-substituído **48** e como produto secundário o composto tri-substituído **49** (Esquema 11) (SAMAROO et al., 2007).

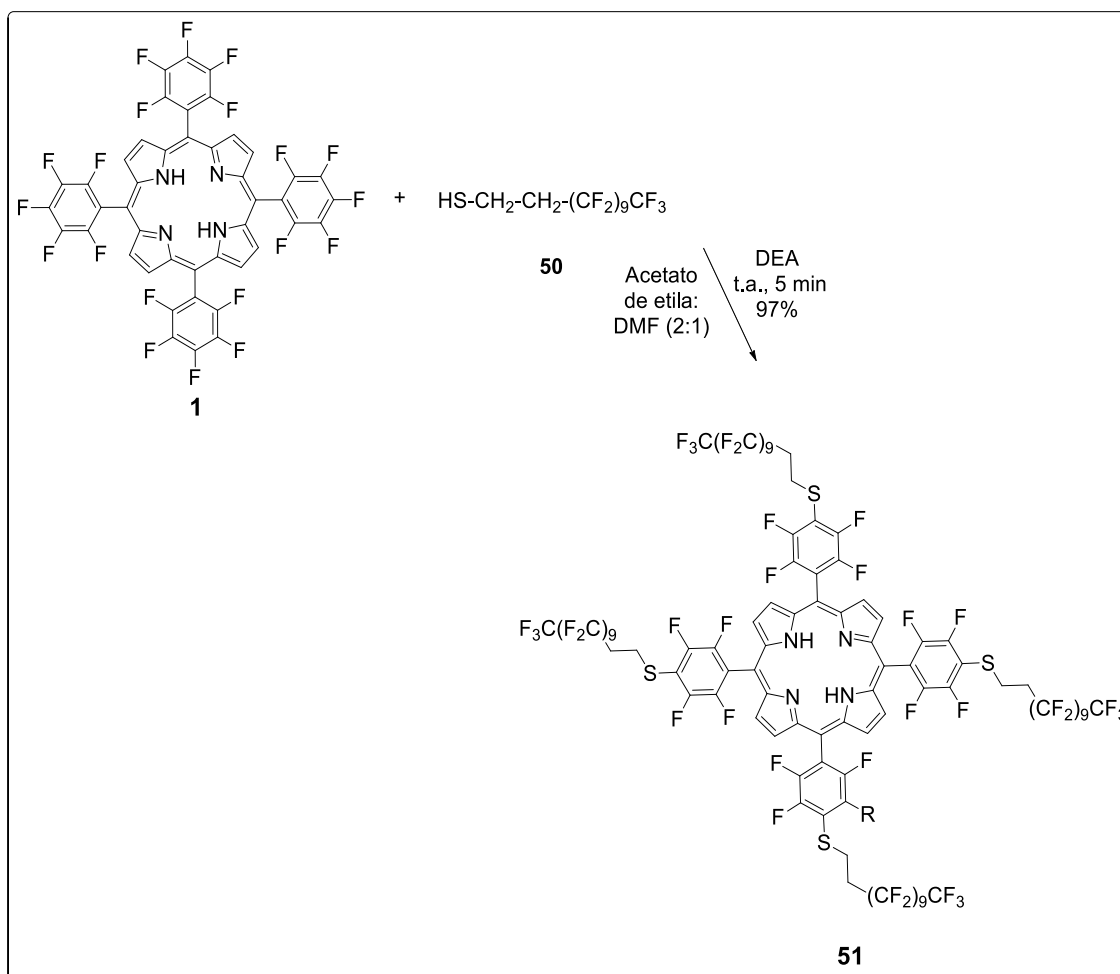
Esquema 11. Representação esquemática para síntese de tioporfirinas derivadas de ribosídeo 6-mercaptopurina



Fonte: (Samaroo, 2007)

Em 2008, Varotto descreveu a síntese de uma nova porfirina altamente fluorada **51** que forma filmes finos autoorganizados com fulereno (C<sub>60</sub>) via co-deposição. Nesta metodologia, a porfirina **51** é formada através da reação da TPPF<sub>20</sub> **1** com 9,5 equivalentes de 1H,1H,2H,2H-perfluorododecano-1-tiol **50** com alto rendimento (Esquema 12) (VAROTTO et al., 2008).

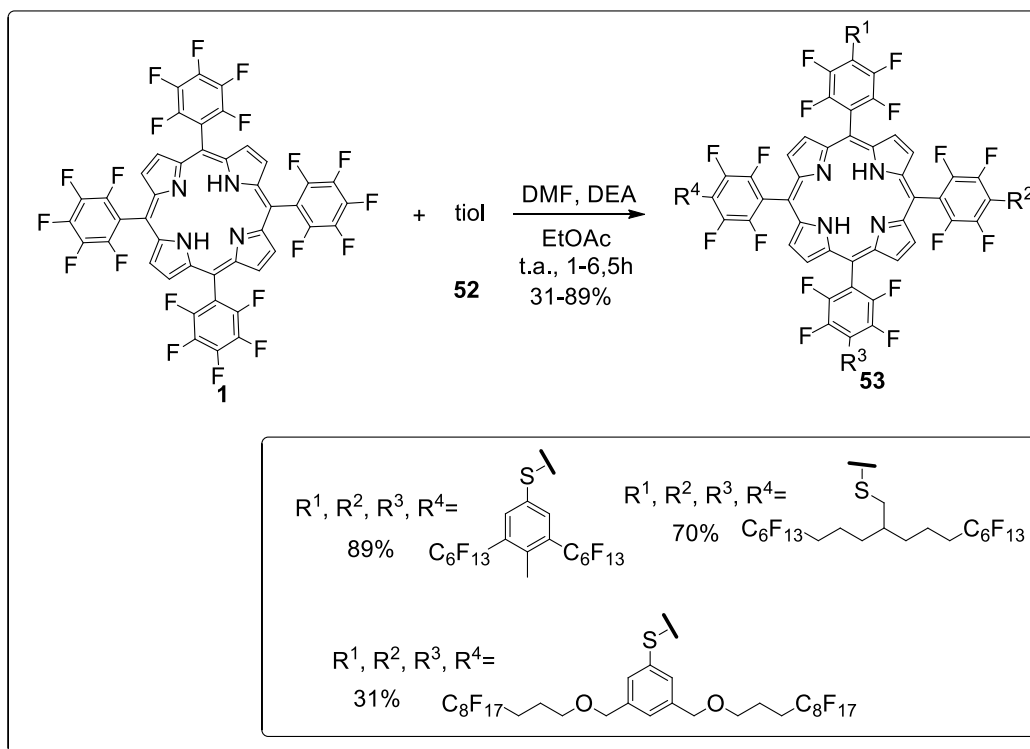
Esquema 12. Representação esquemática para síntese de porfirina derivada de tiol



Fonte: (Varotto, 2008)

Em 2011, Tüxen descreveu a síntese de tetra-porfirinas derivadas de tióis com cadeias de até 16 átomos de flúor **53**. Nesta metodologia, para a síntese dos compostos, foi utilizado o respectivo tiol em excesso **52** (6 equivalentes) e a TPPF<sub>20</sub> **1** em tempos reacionais de 1 hora até 6,5 horas, com rendimentos entre 31%-89%, de acordo com o tiol utilizado (Esquema 13) (TÜXEN et al., 2011).

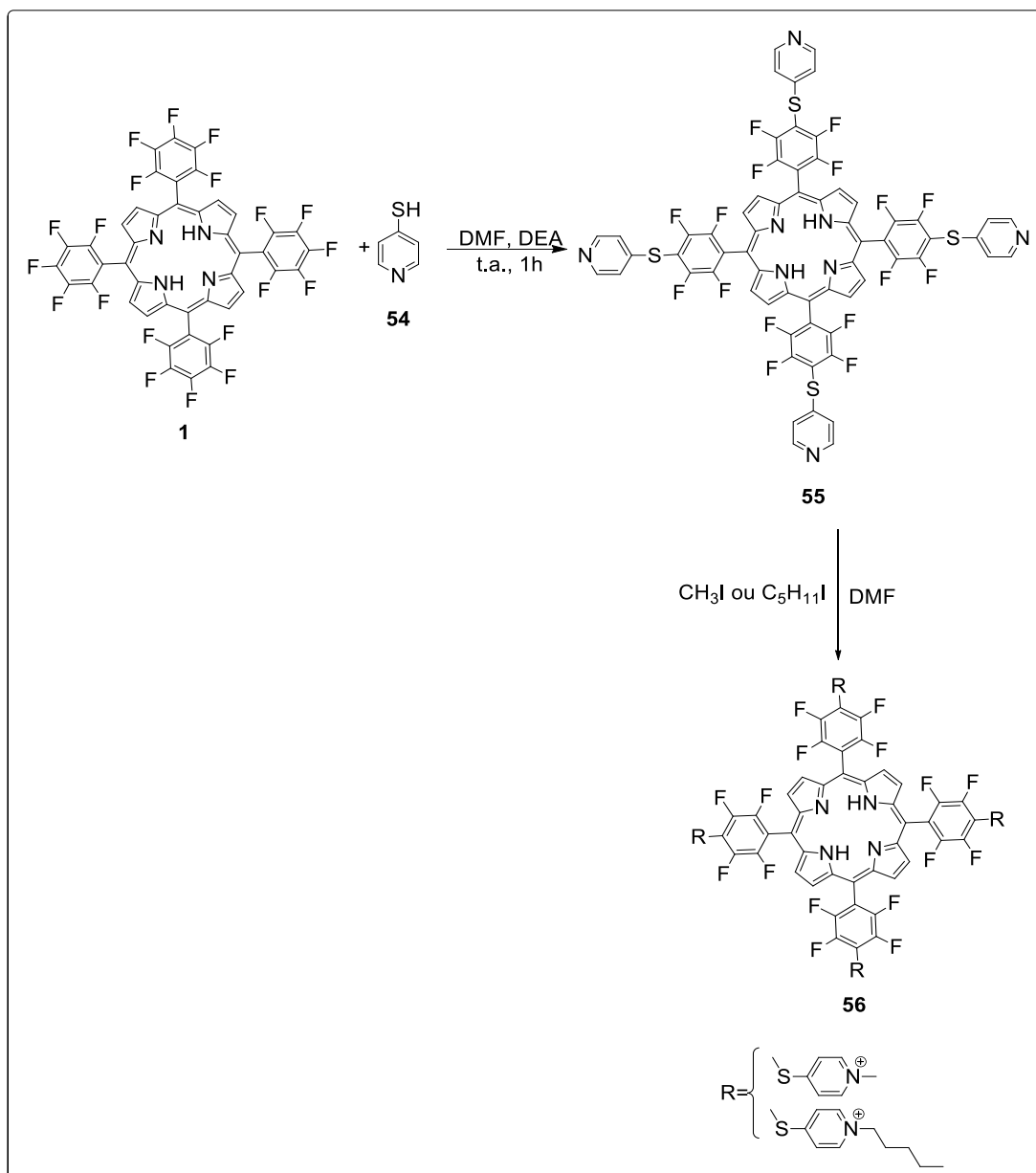
Esquema 13. Representação esquemática da síntese de tetra-porfirinas altamente fluoradas



Fonte: (Tuxen, 2011)

Gomes e colaboradores relataram também em 2011, a síntese de tetra tio-porfirinas catiônicas e estudaram sua atividade antifúngica (GOMES et al., 2011). Neste estudo, a TPPF<sub>20</sub> foi substituída com 4-mercaptopiridina (4,1 equivalentes) **54** usando dietilamina como base à temperatura ambiente para produzir a porfirina tetra-substituída **55**. Adicionalmente, iodo metano e o 1-iodopentano reagiram com os produtos obtidos anteriormente **55** para obter derivados porfirínicos tetra-catiônicos **56**. Os compostos foram testados na linhagem *Penicillium chrysogenum* e a porfirina catiônica tetrametilpiridil apresentou melhor inativação fotodinâmica (Esquema 14).

Esquema 14. Representação esquemática da síntese de porfirinas tetra-catiônicas.

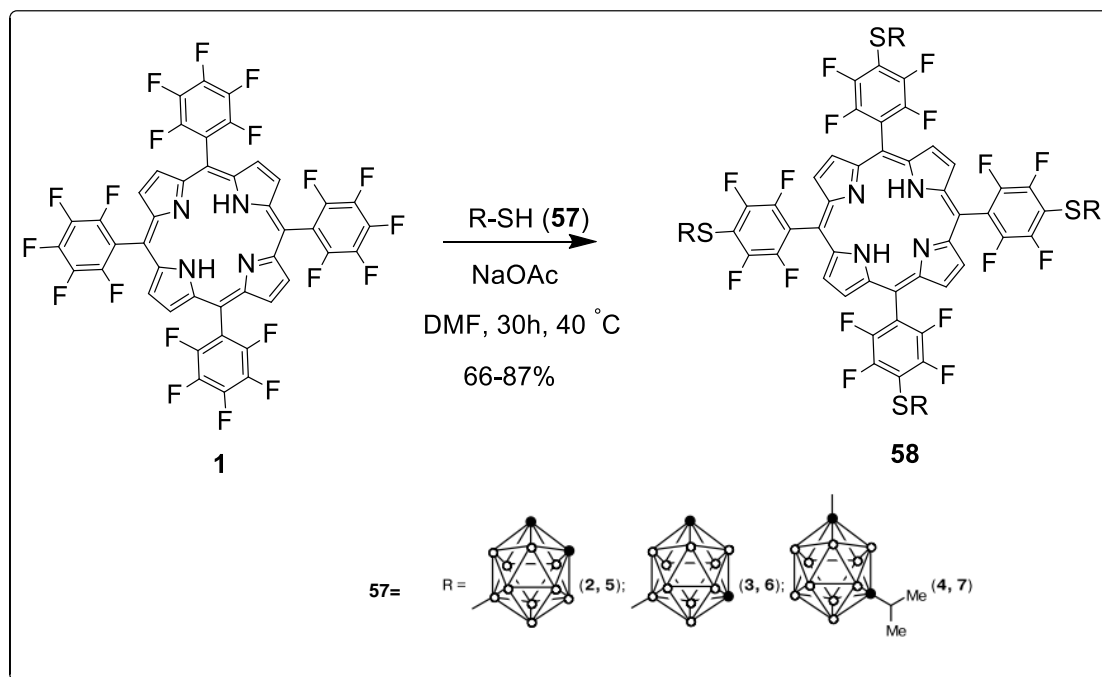


Fonte: (Gomes, 2011)

Em 2014, tetra-tiocarboranilporfirinas **58** para terapia de captura de nêutrons pelo boro (BNCT) e terapia fotodinâmica (PDT) foram sintetizadas pela reação da TPPF<sub>20</sub> com derivados *closo*-mercaptoboranas (9-mercapto-*o*-carborana, 9-mercapto-*m*-carborana, 7-isopropil-1-mercapto-*m*-carborana) **57** como fonte nucleofílicas. Nesta metodologia, a TPPF<sub>20</sub> reagiu com oito equivalentes de mercaptoborana **57** em DMF à temperatura de 40°C em um tempo de 30h. A formação dos produtos ocorreu com bons rendimentos (66-87%). A avaliação

preliminar da atividade biológica revelou que as tiocarboranilporfirinas **58** são agentes promissores para BNCT e PDT (Esquema 15) (OL'SHEVSKAYA et al., 2014).

Esquema 15. Representação esquemática da síntese de porfirinas derivadas de mercaptoboranas



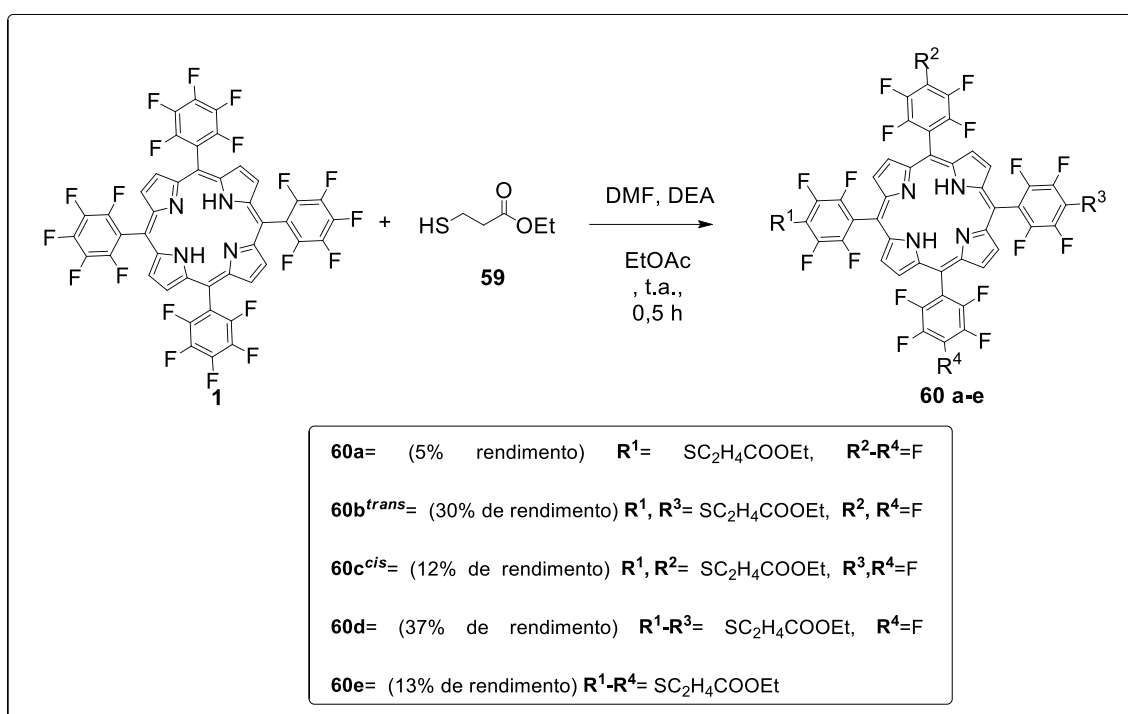
Fonte: (Ol'Shevskaya, 2014)

Em 2015, Hewage descreveu a síntese de compostos porfirínicos funcionalizados com ácido alquil-carboxílico devido a propensão que esses compostos apresentam para a aplicação em células solares, purificação de ar ou sistemas quimiossensores. A reação ocorreu em temperatura ambiente com a TPPF<sub>20</sub> e 6 equivalentes de mercaptopropionato de etila **59** em 30 minutos.

Nesta metodologia, pode-se observar a formação de todas as substituições ao mesmo tempo, no entanto, após purificação da mistura reacional por cromatografia em coluna seguida de cromatografia por placa preparativa, permite-se a separação dos produtos e identificação. O produto **60a** representa mono-substituição, **60b** e **60c** representam duas substituições de F por tiol e formação de um isômero *trans* e *cis*, respectivamente. Já o composto **60d** representa três substituições de F por tiol e **60e** a tetra-substituição pelo nucleófilo de tiol (Esquema 16).

Neste trabalho, observa-se o favorecimento (direcionamento) para a síntese de um produto majoritário através do controle estequiométrico. Neste sentido, para direcionar a formação do produto tetrassubstituído, indica-se a utilização de excesso estequiométrico (Esquema 16) (HEWAGE et al., 2015).

Esquema 16. Representação esquemática para síntese de tioporfirinas com várias substituições

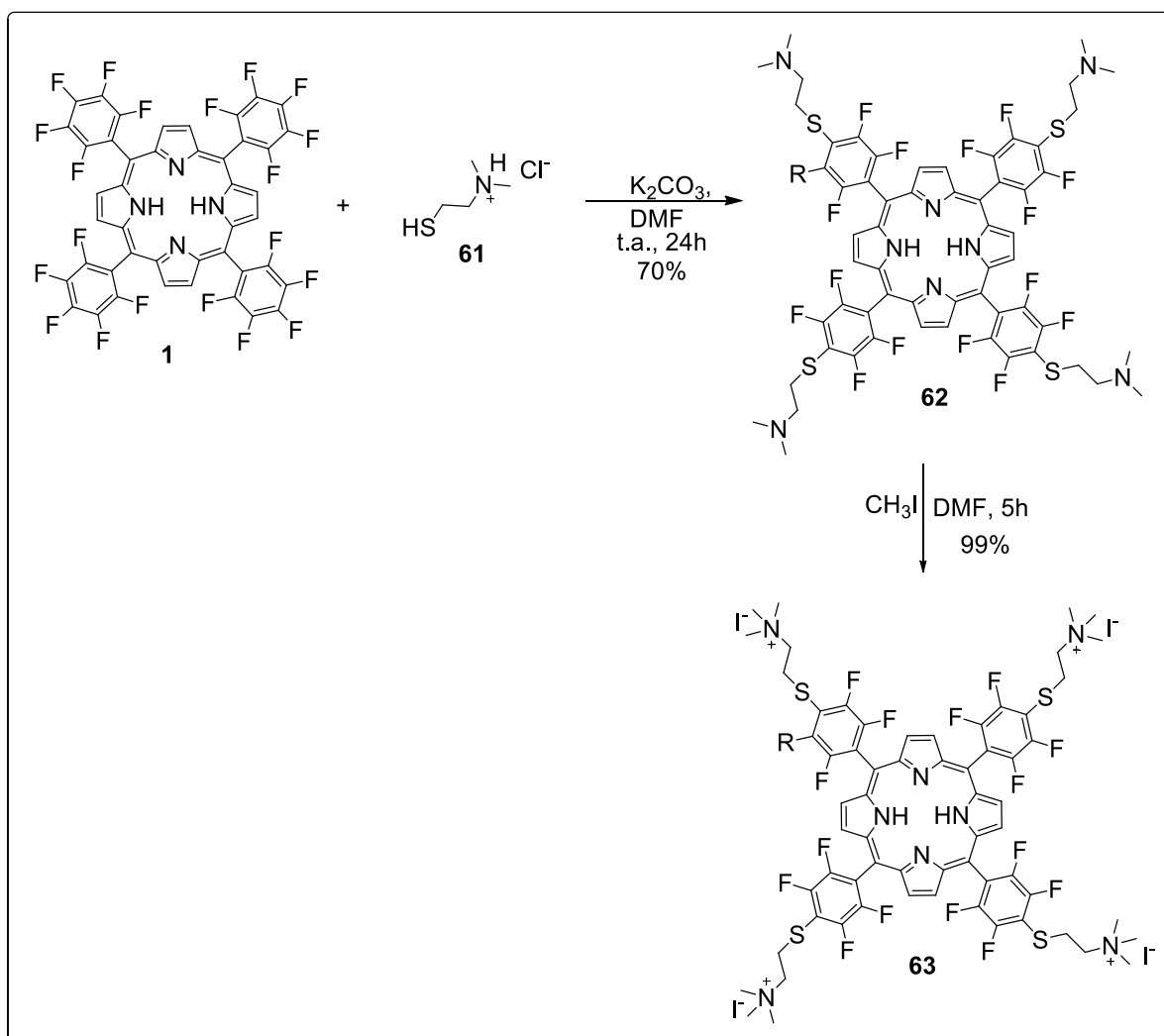


Fonte: (Hewage, 2015)

Mais recentemente, em 2016, Ferroni e colaboradores descreveram a síntese de tioporfirinas catiônicas para estudo de atividade antimicrobiana. Nesta metodologia, a síntese da porfirina **63** partiu da reação da TPPF<sub>20</sub> **1** com hidrocloreto de 2-dimetilamino etanotiol (21 equivalentes) **61**. Adicionalmente, iodo metano em DMF reagiu com os produtos obtidos anteriormente **62** para obter derivados porfirínicos tetra-catiônicos **63** (Esquema 17) (FERRONI et al., 2016).



Esquema 17. Representação esquemática da síntese de tioporfirinas



Fonte: (Ferroni, 2016)

## 2.8 Propriedades fotofísicas de porfirinas

### 2.8.1 Espectroscopia eletrônica de absorção

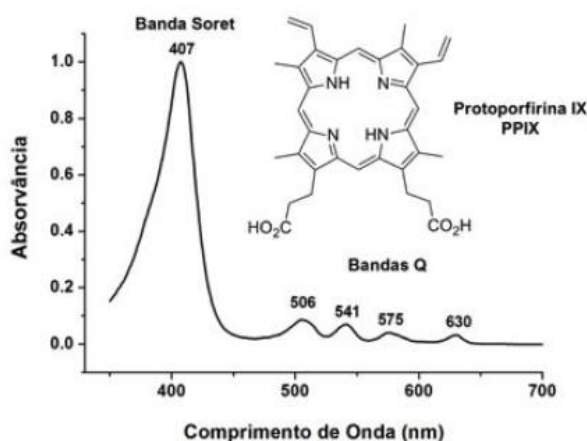
As análises de Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-vis de porfirinas são muito utilizadas para caracterização dos compostos e, também, podem ser utilizadas para estudos de interação com biomoléculas.

Os espectros eletrônicos de absorção de porfirinas *meso*-substituídas, geralmente, apresentam 5 bandas (transições) características (Figura 12). A mais intensa é denominada Banda de Soret e apresenta máximo de absorção na região de 400 nm. Esta banda também é conhecida como banda B, e

apresenta absorvidades molares ( $\epsilon$ ) na ordem de  $10^5 \text{ Mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ . As demais bandas, são denominadas bandas Q, apresentam máximos de absorção na região entre 500 e 650 nm e absorvidades molares ( $\epsilon$ ), aproximadamente, dez vezes menores que a banda de Soret (DE OLIVEIRA et al., 2015).

No caso de estudos de interação com biomoléculas, a Espectroscopia eletrônica na região do UV-vis, fornece informações sobre as interações, por exemplo, de porfirinas com DNA, pois essas interações causam uma mudança na banda de transição em uma região do visível.

Figura 12. Exemplo de um espectro de absorção de uma porfirina na região do visível



Fonte: (DE OLIVEIRA et al., 2015)

## 2.8.2 Espectroscopia de emissão fluorescente

A Espectroscopia de emissão de porfirinas é uma técnica útil como forma para caracterizar um composto e utilizar esses dados para quantificar uma possível atuação como fotossensibilizador ou entender interações com biomoléculas. A caracterização dos processos que ocorrem nessas técnicas se dá pela razão entre os fótons emitidos em cada etapa pelos fótons absorvidos durante a excitação, através de cálculos de constantes, rendimentos de fluorescência e rendimentos quânticos, sendo que a relação desses parâmetros, determina as propriedades de uma molécula.

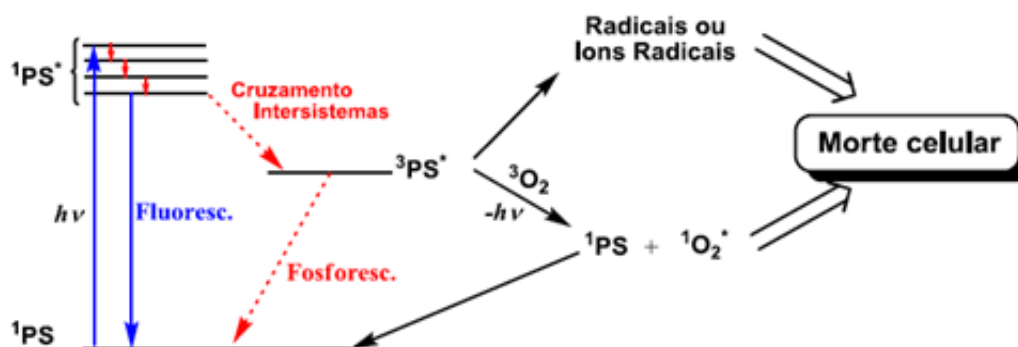
Desta forma, os princípios dessa técnica baseiam-se na absorção de luz em forma de fóton e formação de um estado excitado. Como esse estado formado é mais energético que o estado fundamental, a molécula precisa então, retornar ao seu estado fundamental. Este retorno acontece na forma de liberação de energia através de dois processos: processos não radiativos (liberação de calor) ou processos radiativos (emissão de luz). Através do diagrama de Jablonski, os processos de desativação dos estados excitados de átomos e moléculas até o estado fundamental, podem ser explicados (Esquema 18) (DE OLIVEIRA et al., 2015; DEMAS, 1983).

Se a molécula excitada em seu estado singleto ( $^1PS^*$ ) retornar diretamente ao estado fundamental, pode haver emissão de energia através da liberação de fóton, o que caracteriza a fluorescência. No entanto, nesta etapa pode ocorrer também um processo de inversão de spins denominado cruzamento intersistemas indo para o estado excitado tripleto (VALEUR, 2001).

Nesta etapa dois processos podem ocorrer:

- O retorno destas moléculas do estado excitado tripleto ao estado fundamental de energia envolvendo perda por fosforescência;
- Transferências de energia para outras moléculas como o oxigênio molecular formando espécies reativas de oxigênio ( $^1O_2$ ) e espécies radicalares, tais como  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^{\cdot}$  que são poderosos agentes oxidantes, capazes de causar danos, por exemplo, em células e levar a morte celular.

Esquema 18. Diagrama de Jablonski. Os processos não-radiativos foram omitidos para melhor visualização.



Fonte: Adaptado de De oliveira, 2015.

Nesse contexto, as propriedades fotofísicas das porfirinas têm sido amplamente estudadas a fim de melhor entender os processos que ocorrem a partir da absorção de fóton até o final dos processos radiativos. De acordo com os resultados apresentados por cada composto, pode-se aplicá-los nas áreas que se apresentarem como mais promissoras.

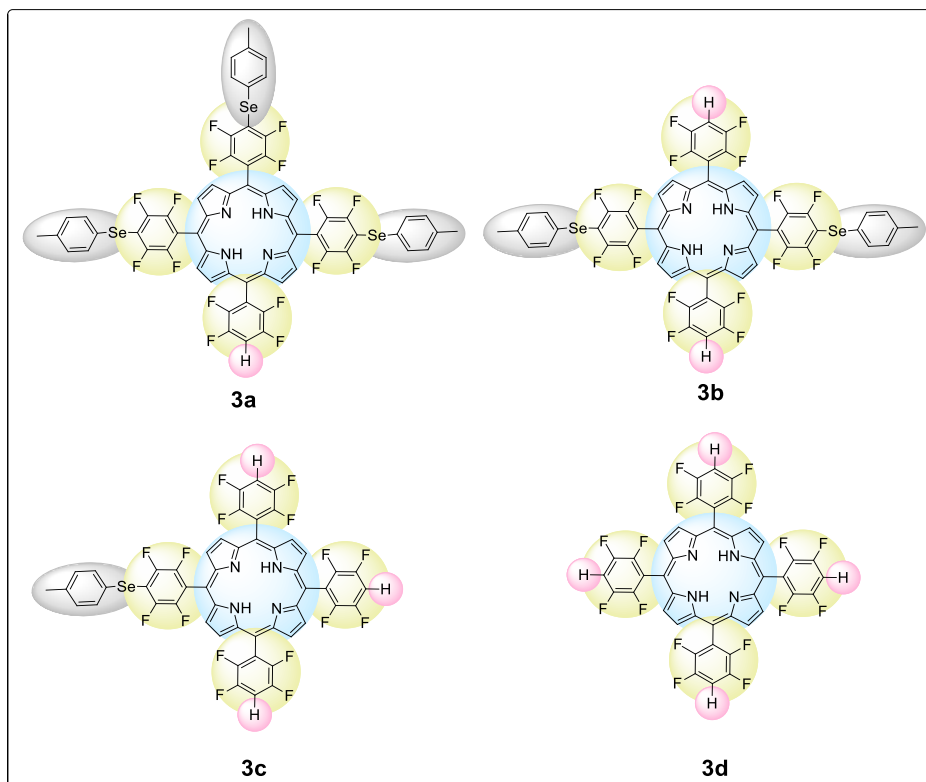
## APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 3. PREPARAÇÃO DE NOVAS SELENOPORFIRINAS E HIDROGENOPORFIRINAS DERIVADAS DA 5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA.

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos durante a realização da primeira parte deste trabalho. O objetivo para este capítulo foi: desenvolvimento de uma rota sintética apropriada para a preparação de novas calcogenoporfirinas, dentre elas, selênio e hidrogenoporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando *p*-metil-difenildisselênio como fonte de ânion de arilcalcogênio

Desta forma, as novas selenoporfirinas e hidrogeno-porfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina que foram sintetizadas, estão representadas pela Figura 13.

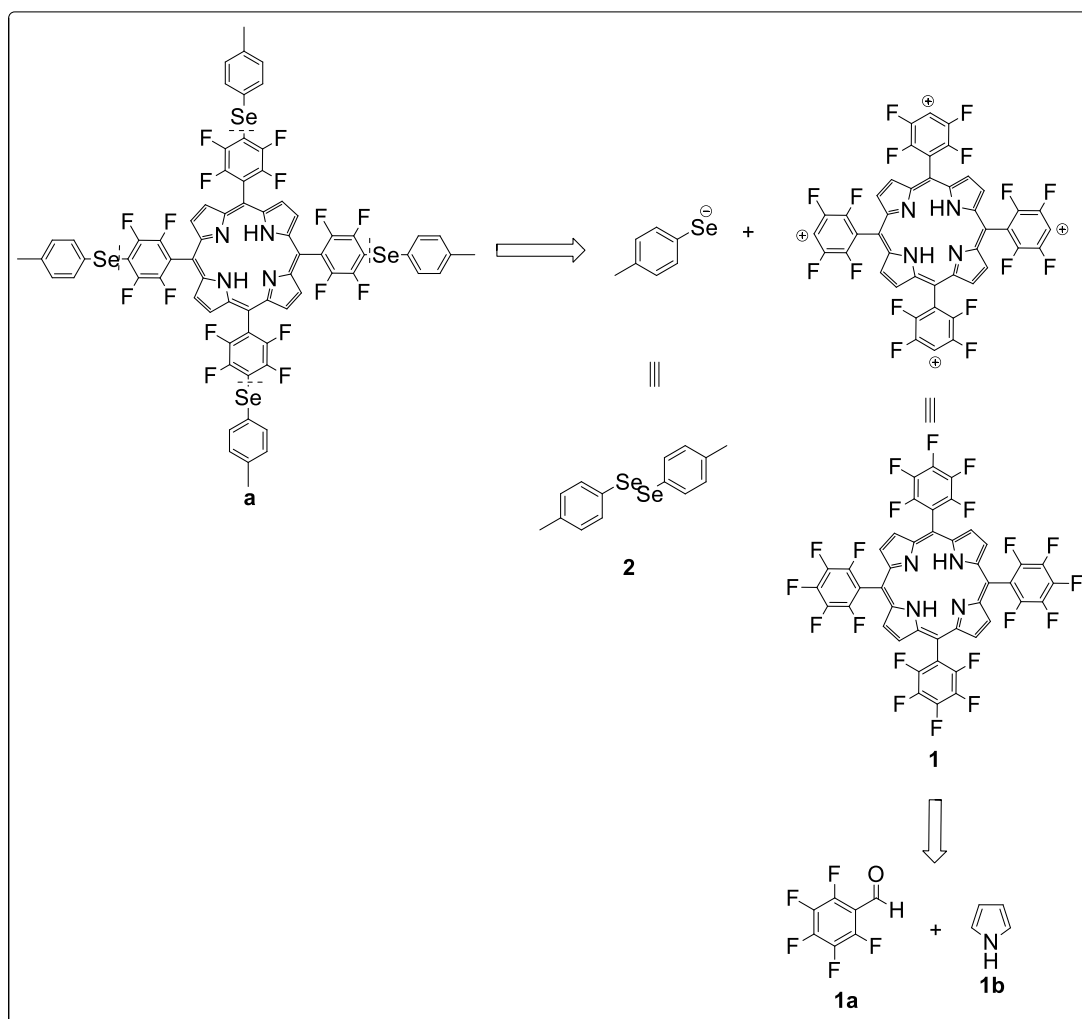
Figura 13. Representação estrutural das selênio e hidrogenoporfirinas sintetizadas.



Fonte: autora

Através da análise retrossintética (Esquema 19) da porfirina **a**, pode-se inferir que o respectivo composto baseado na sua fragmentação, teria como equivalentes sintéticos os respectivos selenolatos que poderiam ser preparados a partir de *p*-metil-difenil-disseleneto **2** em meio redutor e a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina, (TPPF<sub>20</sub>) **1**. Por sua vez, a porfirina (TPPF<sub>20</sub>) **1**, através de um processo *one-pot*, poderia ser proveniente diretamente da condensação de benzaldeído **1a** e o pirrol **1b**.

Esquema 19. Análise retrossintética



Fonte: autora

Assim, baseando-se na análise retrossintética da porfirina **a**, a primeira etapa desta rota sintética envolveu a condensação do aldeído **1a** com o pirrol **1b** numa solução de diclorometano seco na presença do catalisador ácido  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  a temperatura ambiente sob atmosfera de argônio e protegido da luz.

Numa segunda etapa, o porfirinogênio formado foi oxidado por adição do agente oxidante 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) originando a correspondente porfirina 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (TPPF<sub>20</sub>) **1** livre dos derivados reduzidos (LINDSEY et al., 1987). De posse desse composto, foi realizada a reação de substituição nucleofílica aromática, utilizando-se a 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (TPPF<sub>20</sub>) **1**, *p*-metil-difenil-disseleneto **2** como representante dos dicalcogenetos e borohidreto de sódio em uma mistura de etanol e THF como solventes a 50 °C sob atmosfera inerte de argônio.

Visando chegar a condição ótima de reação, inicialmente, foi estudada a modificação do tempo reacional empregando-se uma quantidade fixa de 10 μmol (10 mg) da TPPF<sub>20</sub>, 80 μmol (27mg) de *p*-metil-difenil-disseleneto com 180 μmol de borohidreto de sódio (6,8 mg, 2,25 eq. em relação ao *p*-metil-difenil-disseleneto) sob atmosfera inerte de argônio, a 50°C, em uma mistura de etanol (3 mL) e THF (7 mL) como solventes. Os tempos variaram de 3 minutos a 12 horas, levando a formação dos compostos **3a-d** (Tabela 1).

No tempo reacional de 3 minutos, observou-se a formação majoritária do produto **3a**, correspondente a substituição de 3 átomos de flúor na posição *para* do anel aromático da porfirina pela espécie de organoselênio e uma posição *para* do anel aromático da porfirina substituída por um átomo de hidrogênio. Cabe ressaltar que foi observada a formação dos produtos, porém diversos subprodutos também foram formados com valores de retenção muito próximos entre si, não sendo possível isolá-los através de placa cromatográfica preparativa e analisá-los (Tabela 1, reação 1).

Com base no resultado anteriormente obtido, elevou-se o tempo reacional para 10 minutos e observou-se ainda a formação do composto **3a** na faixa de 57% de rendimento. Além desse composto, também foi observada pela primeira vez a formação do composto **3b**, correspondente a substituição de 2 átomos de flúor na posição *para* do anel aromático da porfirina pela espécie de organoselênio e duas posições *para* do anel aromático da porfirina substituídas por átomos de hidrogênio, com 7% de rendimento, (Tabela 1, reação 2).

Quando o tempo reacional foi ampliado para vinte e cinco minutos (Tabela 1, reação 3), foi possível ainda observar a formação dos compostos **3a** e **3b**. Através da faixa dos rendimentos obtidos, verificou-se que com o transcorrer do

tempo, a proporção de formação do composto **3b** (Di-Se, Di-H) foi maior (58%) em relação ao produto **3a** (Tri-Se, Mono-H) (14%).

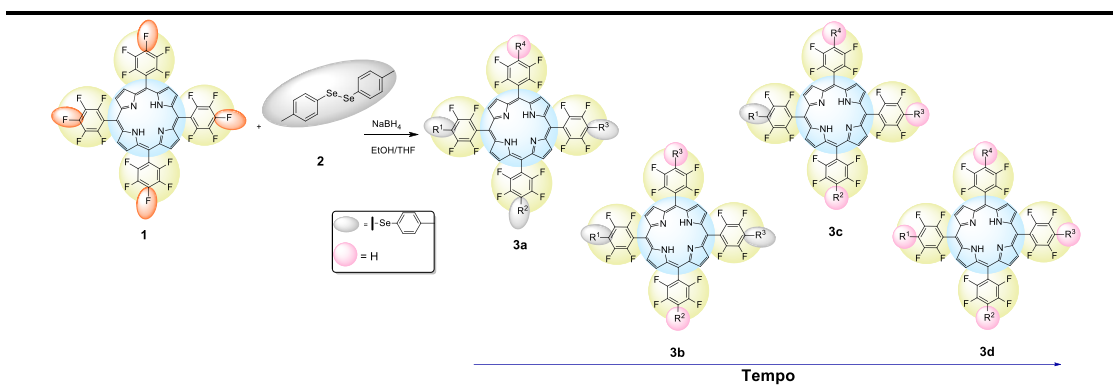
No momento em que o tempo reacional foi alterado para trinta minutos, (Tabela 1, reação 4), observou-se a formação do produto **3b** com 17% de rendimento e um novo composto **3c** (Mono-Se, Tri-H) com 40% de rendimento. Durante o tempo de uma hora foi observada a formação somente do produto **3c** (Tabela 1, reação 5) e em duas horas (Tabela 1, reação 6), a formação do produto **3c** e um novo composto **3d** (Tetra-H).

Posteriormente, com o tempo de doze horas de reação (Tabela 1, reação 7), pode ser observada somente a formação do produto tetra substituído pelo átomo de hidrogênio nas posições *para* do anel aromático da porfirina, com excelente rendimento **3d** (>99%).

Após a determinação do padrão de substituição obtida em relação ao tempo reacional, a quantidade de borohidreto de sódio foi estudada. Assim, quando foi empregada uma quantidade menor deste reagente (80  $\mu\text{mol}$ , 1 eq. em relação ao *p*-metil-difenil-disseleneto ) durante dez minutos de reação, não foi observada a formação de nenhum produto (Tabela 1, reação 8). Este fato poderia estar relacionado com a clivagem do *p*-metil-difenil-disseleneto, onde a quantidade utilizada de agente redutor não foi suficiente para gerar a espécie reativa. Ainda, o emprego de 800  $\mu\text{mol}$  (3 mg, 10 eq. em relação ao *p*-metil-difenil-disseleneto) de borohidreto de sódio durante uma hora de reação levou a formação do composto **3d** (Tetra-H) com 60% de rendimento (Tabela 1, reação 9).



Tabela 1. Otimização das condições reacionais



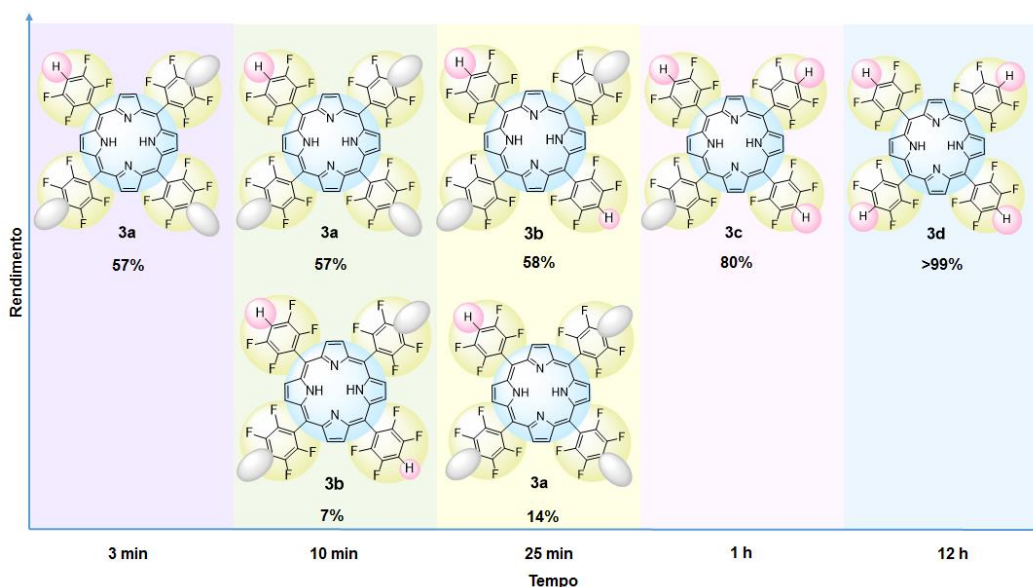
| Reação | NaBH <sub>4</sub><br>(μmol) | Tempo  | Composto | Produto  | Rendimento<br>(%) <sup>a</sup> |
|--------|-----------------------------|--------|----------|--|--------------------------------|
| 1      | 180                         | 3 min  | 3a       | R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> , R <sup>3</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>4</sup> =H | 57                             |
| 2      | 180                         | 10 min | 3b       | R <sup>1</sup> , R <sup>3</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>2</sup> ,R <sup>4</sup> =H  | 7                              |
|        |                             |        | 3a       | R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> , R <sup>3</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>4</sup> =H | 57                             |
| 3      | 180                         | 25 min | 3b       | R <sup>1</sup> , R <sup>3</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>2</sup> ,R <sup>4</sup> =H  | 58                             |
|        |                             |        | 3a       | R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> , R <sup>3</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>4</sup> =H | 14                             |
| 4      | 180                         | 30 min | 3b       | R <sup>1</sup> , R <sup>3</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>2</sup> ,R <sup>4</sup> =H  | 17                             |
|        |                             |        | 3c       | R <sup>1</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>2</sup> ,R <sup>3</sup> ,R <sup>4</sup> =H   | 40                             |
| 5      | 180                         | 1 h    | 3c       | R <sup>1</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>2</sup> ,R <sup>3</sup> ,R <sup>4</sup> =H   | 80                             |
| 6      | 180                         | 2h     | 3c       | R <sup>1</sup> = <i>p</i> -Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -Se<br>R <sup>2</sup> ,R <sup>3</sup> ,R <sup>4</sup> =H   | 50                             |
|        |                             |        | 3d       | R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> ,R <sup>3</sup> ,R <sup>4</sup> =H   | 13                             |
| 7      | 180                         | 12h    | 3d       | R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> ,R <sup>3</sup> ,R <sup>4</sup> =H   | >99                            |
| 8      | 80                          | 10 min | -        | -  | -                              |
| 9      | 800                         | 1h     | 3d       | R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> ,R <sup>3</sup> ,R <sup>4</sup> =H   | 60                             |

<sup>a</sup> Rendimentos calculados após purificação através de placa cromatográfica e consistem na média de três reações.

Salienta-se, que apenas os compostos que apresentavam sinais mais intensos nas placas preparativas e com fatores de retenção possíveis de serem purificados foram isolados.

Com este estudo, observou-se que através do controle rígido do tempo reacional, uma nova classe de selenoporfirinas e hidrogenoporfirinas pode ser preparada, sempre com a formação majoritária de um dos compostos em relação ao outro através do ajuste do tempo reacional, conforme figura 14.

Figura 14. Selenoporfirinas e hidrogenoporfirinas obtidas



Fonte: autora

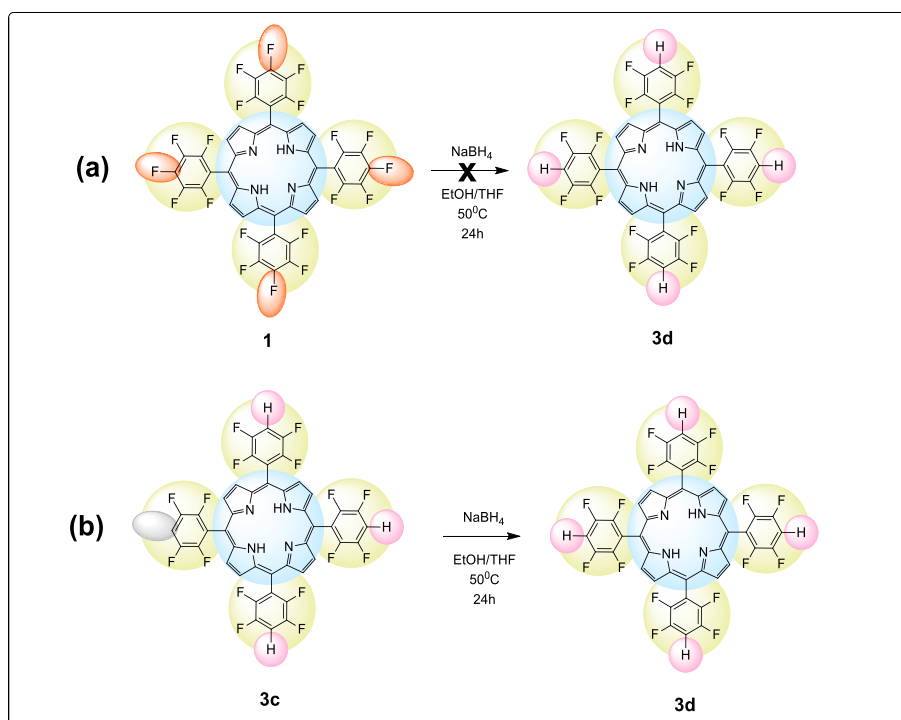
### 3.1 Mecanismo proposto para a formação dos produtos 3a-d

Uma proposta mecanística para a obtenção dos produtos sintetizados neste trabalho, pode ser observada no Esquema 21.

A fim de justificar os resultados obtidos e elucidar um possível mecanismo para esta reação, foi realizado um teste (a) sem a presença de disseleneto de *p*-toluila. Para esta reação foi utilizado 10  $\mu\text{mol}$  (10 mg) da TPPF<sub>20</sub>, 180  $\mu\text{mol}$  (6,8 mg) de borohidreto de sódio em uma mistura de etanol e THF como solventes e a mistura reacional foi mantida sob agitação por 24 horas a 50°C sob atmosfera inerte de argônio. Após acompanhamento da reação por CCD, observou-se que a TPPF<sub>20</sub> de partida não havia sido consumida, demonstrando a necessidade do disseleneto no meio reacional.

Outro teste (b) realizado para elucidar o mecanismo baseou-se numa reação utilizando o composto **3c** com a presença de borohidreto de sódio. Para esta reação foi utilizado 10  $\mu\text{mol}$  (10 mg) do composto **3c**, 180  $\mu\text{mol}$  (6,8 mg) de borohidreto de sódio em uma mistura de etanol e THF como solventes e a mistura reacional foi mantida sob agitação por 24 horas a 50°C sob atmosfera inerte de argônio. Após acompanhamento da reação por CCD, e conseqüente purificação e análise, observou-se que o composto **3c** de partida havia sido consumido e foi observada a formação do composto **3d** demonstrando a substituição da espécie organoselênio pelo hidreto proveniente do borohidreto de sódio (Esquema 20).

Esquema 20. Testes realizados para elucidar o mecanismo reacional.



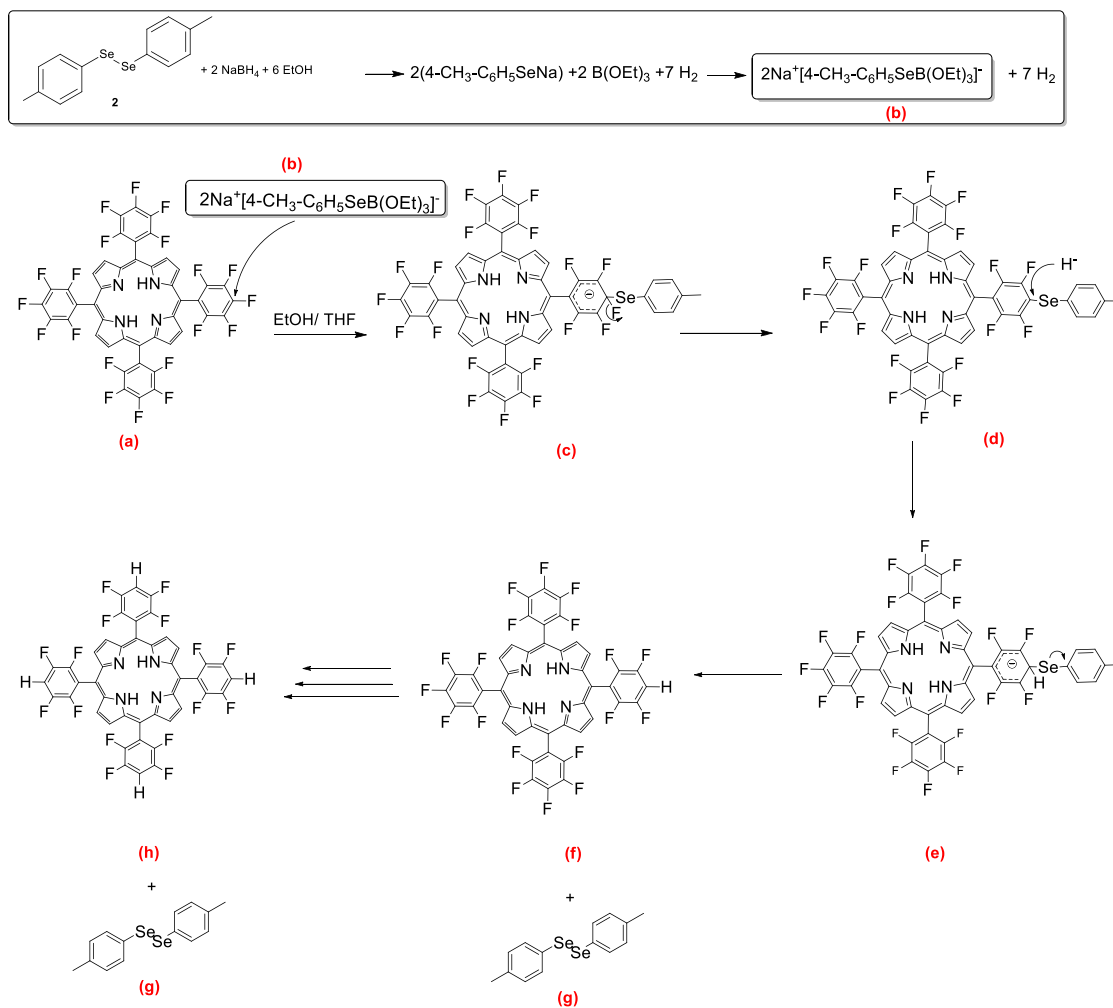
Fonte: autora

Baseado nesses experimentos propõe-se o mecanismo de reação de substituição nucleofílica aromática para a formação dos produtos. Esta reação é favorecida devido ao fator eletrônico apresentado pelos átomos de flúor ligados aos anéis aromáticos, visto que, esses átomos tornam o carbono susceptível ao ataque nucleofílico.

Na primeira etapa, a espécie ativa é originada no meio reacional através da clivagem do *p*-metil-difenil-disseleneto com borohidreto de sódio em etanol,

gerando o complexo 4-metil-selenofenil (trietoxi) borato de sódio. Neste sentido, o carbono *para* do anel C<sub>6</sub>F<sub>5</sub> (**a**), sensível a presença de nucleófilos, sofre um ataque nucleofílico pelo complexo organoselenolato gerado (**b**), envolvendo a formação de um carbânion com elétrons deslocalizados (**c**) e a eliminação de um íon fluoreto, levando a formação do produto selênio substituído à medida que a aromaticidade do anel é restituída (**d**). Devido à alta nucleofilicidade das espécies de selenolatos, esta reação se processa de maneira bastante rápida e apesar destas substituições nos 4 átomos de flúor ocorrerem, a porfirina tetra-substituída com selênio não foi possível de ser isolada.

Numa segunda etapa, um hidreto proveniente do borohidreto de sódio ataca o carbono contendo o grupamento *p*-metil-selenofenil, levando a formação de um carbânion com elétrons deslocalizados (**e**) seguido de uma eliminação da espécie organoselênio, gerando *p*-metil-difenil-disseleneto (**g**) e levando a formação do produto (**f**) à medida que a aromaticidade do anel é restituída. Sequencialmente, essas duas etapas se processam nas outras três posições *para* do anel C<sub>6</sub>F<sub>5</sub> muito rapidamente levando a formação do produto (**h**) (Esquema 21).

Esquema 21. Mecanismo proposto para a formação dos produtos desejados **3a-d**

Fonte: autora

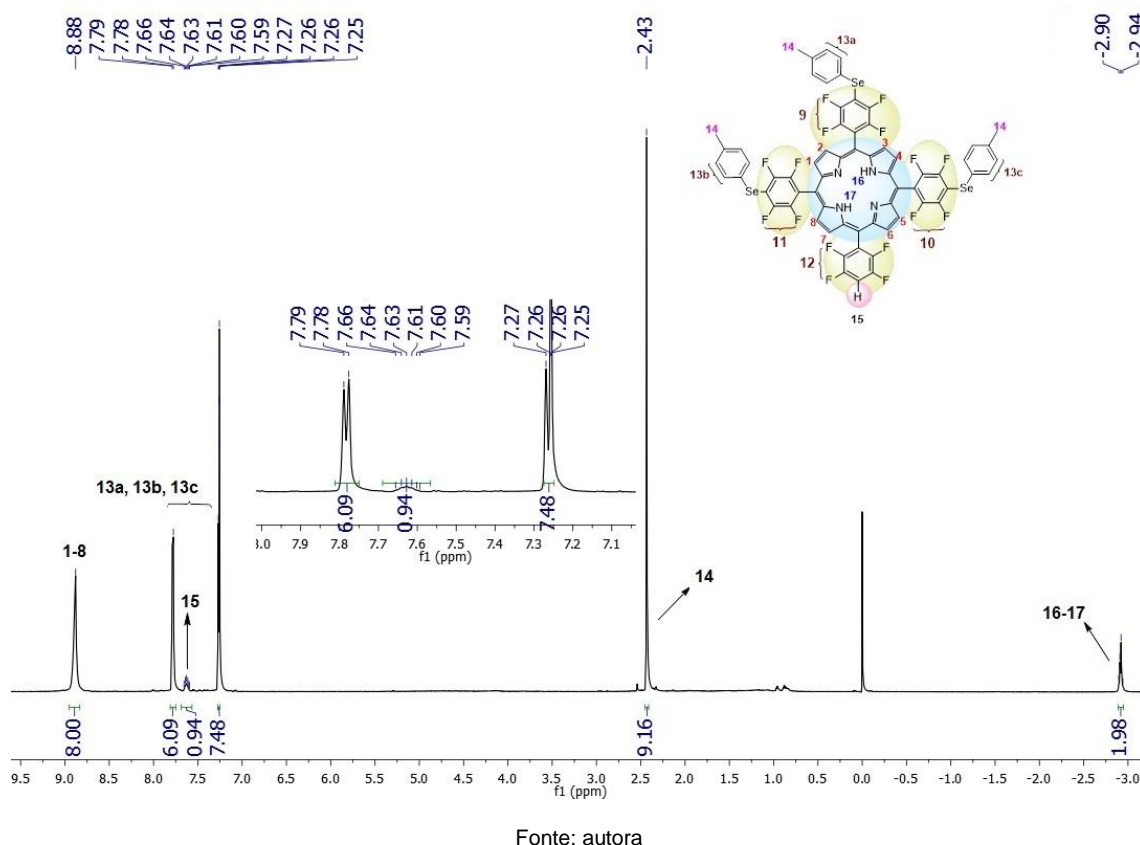
A entrada do átomo de hidrogênio nas porfirinas sintetizadas pode ser comprovada como sendo somente possível após a entrada do grupamento organoselênio, visto que, na reação em que foi usada somente a TPPF<sub>20</sub> e NaBH<sub>4</sub>, a adição de hidreto a porfirina levando a formação da porfirina contendo hidrogênio não foi observada (Esquema 20, “a”). Por outro lado, no momento em que foi realizada a reação de NaBH<sub>4</sub> com a selenoporfirina a entrada do átomo de hidrogênio pode ser confirmada, demonstrando assim a necessidade deste grupamento para a formação da respectiva porfirina (Esquema 20, “b”). Este resultado pode ser explicado devido a melhor habilidade de grupo abandonador do grupamento organoselênio comparado com flúor.

### 3.2 Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massas do composto **3a**

A título de exemplo será discutida a atribuição dos sinais do espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ), flúor (RMN  $^{19}\text{F}$ ) e selênio (RMN  $^{77}\text{Se}$ ) do composto **3a**.

A figura 15 mostra o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **3a** em clorofórmio deutrado a 600 MHz, onde pode-se observar em 8,88 ppm um simpleto gerado através da ressonância de 8 hidrogênios  $\beta$  pirrólicos (**1-8**). Em 7,78 ppm há um duplete com integral relativa para 6 hidrogênios, apresentando constante de acoplamento 6 Hz referente à ressonância dos hidrogênios equivalentes *orto*, mais desblindados, nos anéis aromáticos **13a**, **13b**, **13c**. O sinal em 7,66-7,59 ppm, apresenta-se como um multiplete, com integral relativa para um hidrogênio e refere-se à ressonância do hidrogênio **15** ligado ao anel aromático **12**. Em 7,26 ppm há um duplete, apresentando constante de acoplamento 6 Hz referente à ressonância dos outros seis hidrogênios equivalentes nos anéis aromáticos **13a**, **13b**, **13c** e um referente ao hidrogênio do clorofórmio que foi utilizado como solvente para realização dos experimentos de RMN. O sinal em 2,43 ppm, apresenta-se como um simpleto, com integral relativa para nove hidrogênios e refere-se à ressonância dos hidrogênios das metilas **14**, ligadas aos anéis aromáticos **13a**, **13b** e **13c**. O sinal em -2,90- -2,94 ppm, apresenta-se como um multiplete, com integral relativa para dois hidrogênios referente à ressonância dos hidrogênios internos **16** e **17** ligados aos nitrogênios pirrólicos.

Figura 15. Espectro de RMN 1H do composto **3a** em CHCl<sub>3</sub> a 600MHz



É interessante observar o comportamento dos sinais na análise dos produtos obtidos através da mudança de intensidade no espectro de RMN <sup>1</sup>H, conforme demonstrado na figura 16.

Pode-se observar na região de  $\delta = 8,94-8,88$  ppm os sinais com integrais referentes aos hidrogênios ligados a posição  $\beta$  pirrólica. Esses sinais deveriam apresentar-se como multipletos em todos os casos devido à assimetria das moléculas de acordo com as substituições, exceto os sinais dos espectros dos compostos **3b** e **3d** que deveriam apresentar-se como simpletos, visto que essas moléculas são moléculas simétricas.

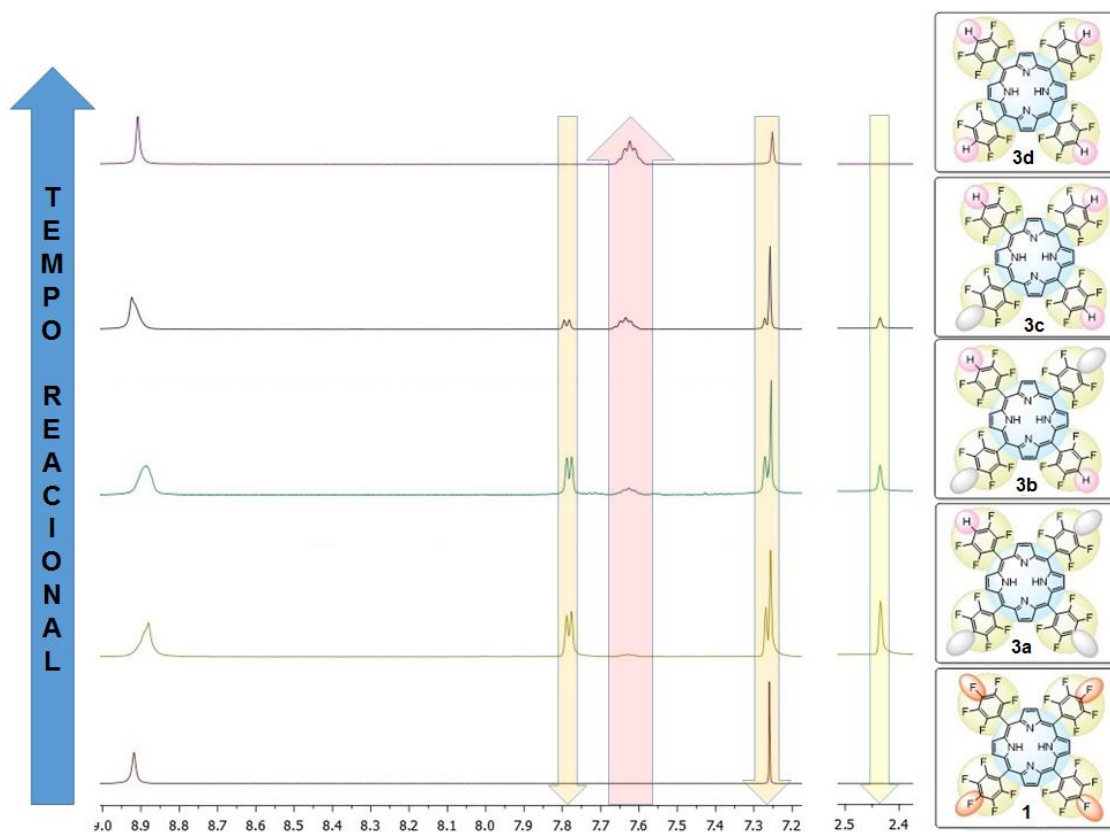
Os sinais na região de  $\delta = 7,79-7,78$  ppm e  $\delta = 7,27-7,26$  ppm onde há dois dupletos referentes à ressonância de hidrogênios provenientes da espécie 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Se que substituiu os átomos de flúor, se mantiveram no espectro alterando somente a integral. Os valores das integrais inicialmente aumentaram indicando a substituição dos átomos de flúor pelo grupamento arilcalcogênio de

acordo com o tempo reacional e posteriormente diminuíram devido à substituição deste pelos átomos de H.

O sinal na região  $\delta = 7,66-7,59$  ppm, apresenta-se como multipeto e refere-se à ressonância dos hidrogênios que substituíram os grupamentos arilselênio. De acordo com o aumento do tempo reacional e conseqüentemente aumento da substituição, os sinais nessas regiões também aumentam, confirmando ao final, a formação do composto **3d** com quatro átomos de H na posição *para*.

O sinal em  $\delta = 2,43$  ppm, apresenta-se como simpleto e refere-se à ressonância dos hidrogênios das metilas provenientes da espécie  $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$ . De acordo com as substituições dos átomos de flúor por esta espécie, as integrais relativas aumentam proporcionalmente. Entretanto, nos casos em que os átomos de H substituem  $4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$ , as integrais apresentam-se inversamente proporcionais as substituições e observa-se, de acordo com o tempo reacional, o completo desaparecimento do sinal nessa região (Figura 16- composto **3d**).

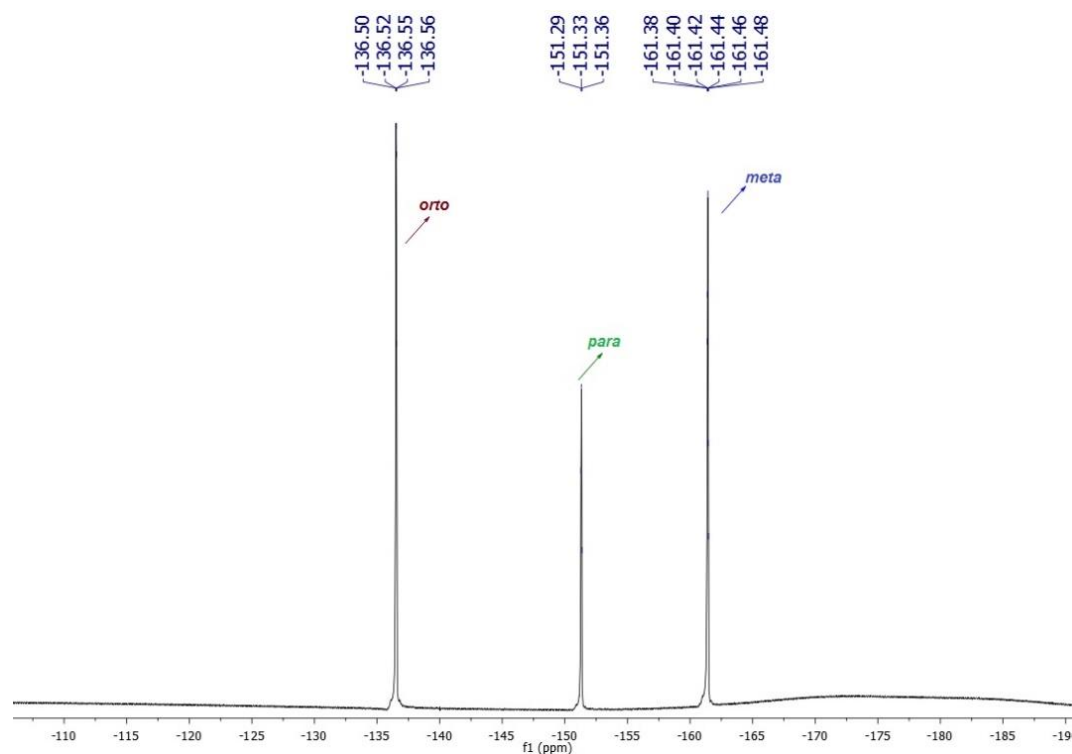
Figura 16. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CHCl}_3$  a 600MHz dos compostos obtidos.





No espectro de RMN  $^{19}\text{F}$ , pode-se verificar a presença de três sinais diferentes para o flúor, *o*-F, *p*-F e *m*-F referente a porfirina de partida (TPPF<sub>20</sub>) (Figura 17). Após a ligação dos diferentes nucleófilos nas 4 posições *para*, o sinal correspondente ao flúor desta posição irá desaparecer, demonstrando a ligação entre a porfirina e os substituintes.

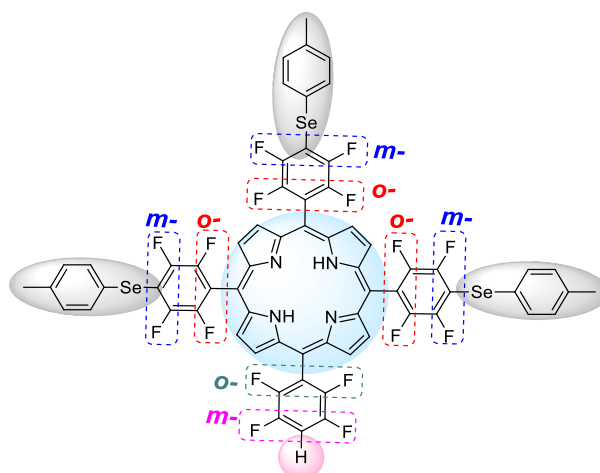
Figura 17. Espectro de RMN  $^{19}\text{F}$  da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina.



Fonte: autora

O espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  da porfirina **3a** como era esperado, apresenta um conjunto de quatro sinais, sendo dois sinais correspondentes aos átomos de flúor da posição *orto* (um correspondendo aos anéis substituídos por 4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$  e outro correspondendo ao anel substituído por H) e outros dois que correspondem aos átomos de flúor da posição *meta* (um correspondendo a posição *meta* dos anéis substituídos por 4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$  e outro correspondendo a posição *meta* do anel substituído por H), conforme representado na figura 18.

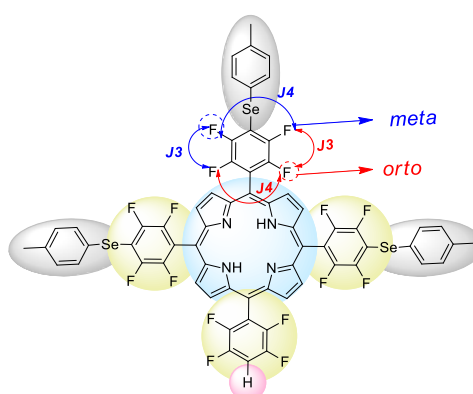
Figura 18. Representação das posições *orto*-F e *meta*-F.



Fonte: autora

Os átomos de flúor da posição *orto* dos anéis aromáticos substituídos por 4-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Se aparecem no espectro a um  $\delta = -127,87$  ppm como um duplo duplete (dd) devido ao acoplamento com o átomo de flúor da posição *orto* do outro lado do anel e com o átomo de flúor na posição *meta*. Ainda os átomos de flúor da posição *meta* 9b, 10b, 11b aparecem no espectro a um  $\delta = -136,28$  ppm também como um duplo duplete (dd) devido ao acoplamento com o átomo de flúor da posição *meta* do outro lado anel e com o átomo de flúor na posição *orto*, conforme figuras 19 e 21.

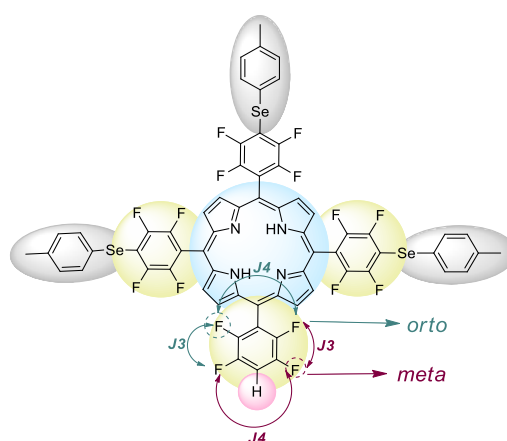
Figura 19. Representação dos acoplamentos no RMN de <sup>19</sup>F



Fonte: autora

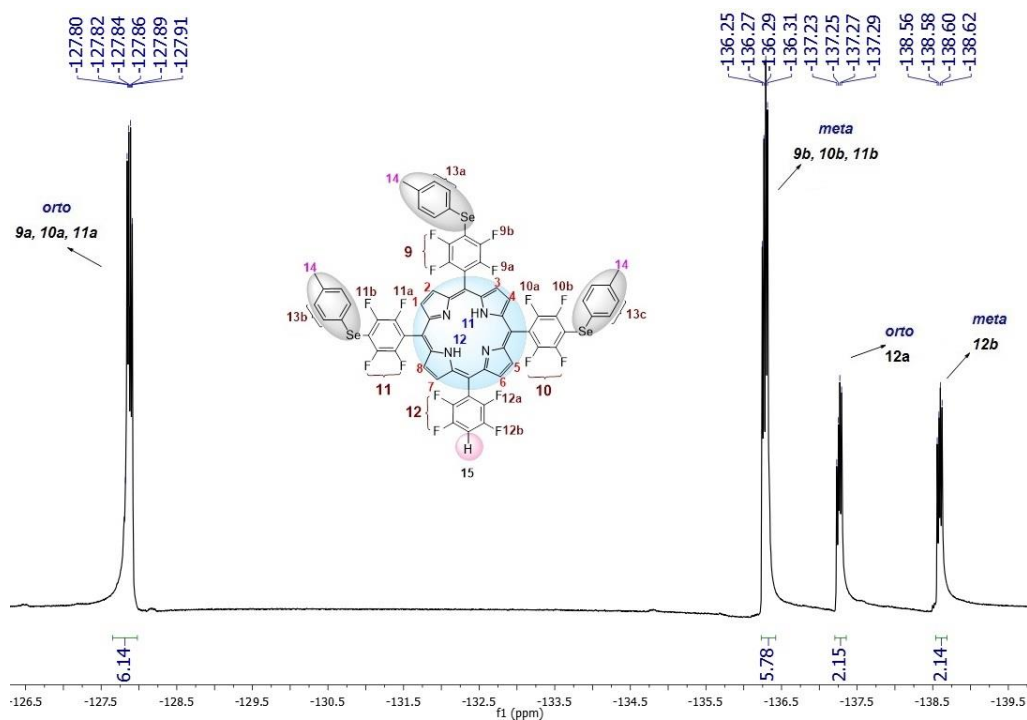
No entanto, os átomos de flúor da posição *orto*, 12a, do anel aromático substituído por H aparecem no espectro a um  $\delta = -137,26$  ppm como um duplo duplete (dd) devido aos acoplamentos de F-F. Ainda os átomos de flúor da posição *meta*, 12b, do anel aromático, aparecem no espectro a um  $\delta = -138,59$  ppm também como um duplo duplete (dd), devido aos acoplamentos de F-F conforme representado nas figuras 20 e 21.

Figura 20. Representação dos acoplamentos no RMN de  $^{19}\text{F}$ .



Fonte: autora

Figura 21. Espectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto **3a** em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz.



Fonte: autora

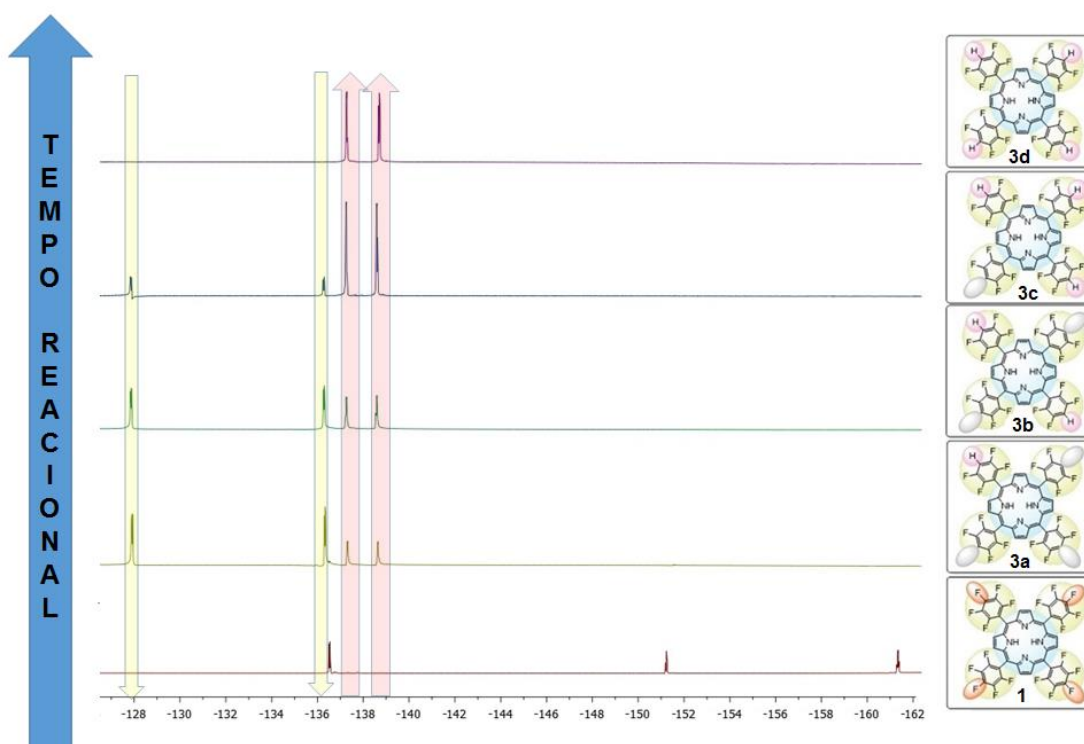
A formação dos produtos também pode ser observada facilmente através da mudança de intensidade e deslocamento dos sinais no espectro de RMN  $^{19}\text{F}$ , conforme demonstrado na figura 22.

A medida que  $4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$  substituiu os átomos de F de acordo com o tempo reacional, os sinais *orto* ( $\delta = -127,87$  ppm) e *meta* ( $\delta = -136,28$  ppm) referentes a essa substituição aumentaram de intensidade.

No entanto, com o transcorrer do tempo reacional e a substituição da espécie de  $4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$  por H observou-se o inverso dessa proporção. Por exemplo, quando três átomos de H substituíram a espécie  $4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$ , os sinais correspondentes aos átomos de flúor da posição *orto* e *meta* dos anéis substituídos por H ( $\delta = -137,26$  ppm e  $\delta = -138,59$  ppm, respectivamente) aumentaram de intensidade e o inverso foi observado para os outros dois sinais que correspondem aos átomos de flúor da posição *orto* e *meta*, correspondentes aos anéis substituídos por  $4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$  ( $\delta = -127,87$  ppm e  $\delta = -136,28$  ppm, respectivamente).

Neste sentido, pode ser observado que de acordo com o aumento de substituições pelos átomos de H, a intensidade dos sinais correspondentes a essa substituição na região de  $\delta = -137,26$  ppm e  $\delta = -138,59$  ppm também aumentam e na região os sinais correspondentes aos anéis substituídos por  $4\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{Se}$  a um  $\delta = -127,87$  ppm e  $\delta = -136,28$  ppm diminuem, confirmando a obtenção dos produtos **3a-d**, figura 22.

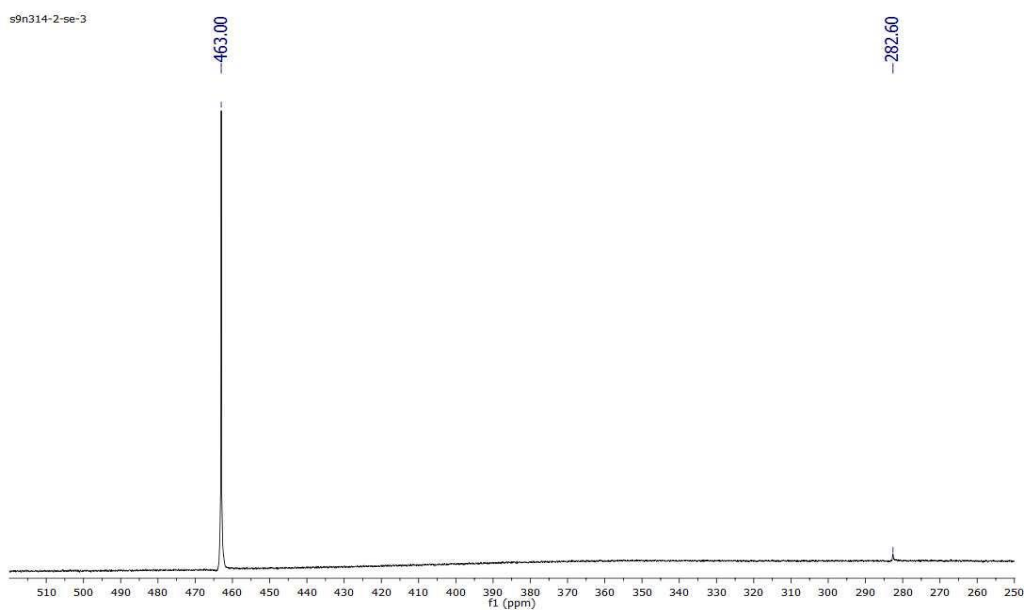
Figura 22. RMN  $^{19}\text{F}$  em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz dos compostos obtidos.



Fonte: autora

Para corroborar com os dados obtidos foi realizada análise de Ressonância Magnética Nuclear de  $^{77}\text{Se}$  do composto **3a**. Para este experimento utilizou-se como padrão o disseleneto de difenila que apresenta um deslocamento em 463,00 ppm (MENEZES et al., 2003). Por sua vez, o átomo de Se do composto **3a** apresentou um deslocamento químico em 282,60 ppm (Figura 23).

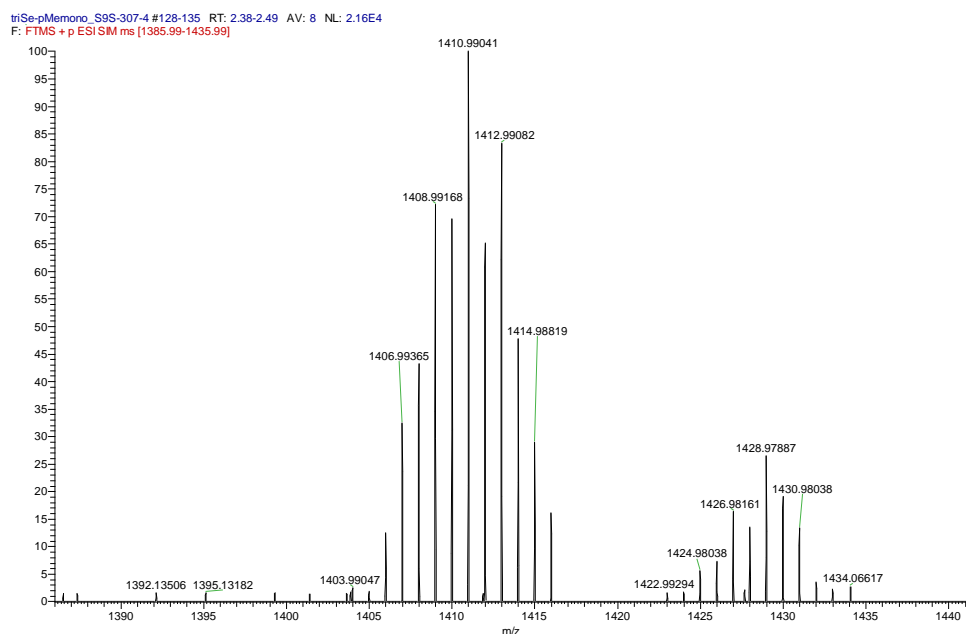
Figura 23. Espectro de RMN  $^{77}\text{Se}$  do composto **3a** em  $\text{CHCl}_3$  a 114 MHz.



Fonte: autora

A confirmação do composto **3a** pode ser feita através da análise de espectrometria de massas de ionização por eletro pulverização (HRMS) (Figura 24). A massa foi calculada para  $\text{C}_{65}\text{H}_{32}\text{F}_{16}\text{N}_4\text{Se}_3$  [M + H], o valor calculado foi de 1412,9940 e o encontrado foi de 1412,9908 confirmando a estrutura proposta pela análise de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  e  $^{77}\text{Se}$ .

Figura 24- Espectrometria de massas do composto **3a**.

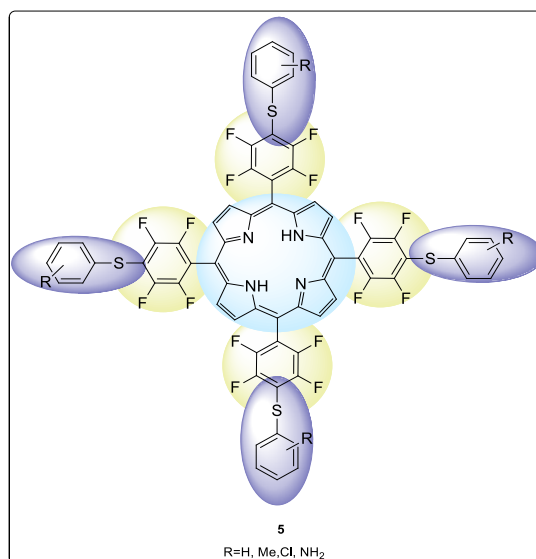


Fonte: autora

#### 4. PREPARAÇÃO DE NOVAS TIOARIL-PORFIRINAS DERIVADAS DA 5,10,15,20-TETRAKIS(PENTAFLUOROFENIL)PORFIRINA E ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ÁTOMOS DE CALCOGÊNIO NA FORMAÇÃO DE PRODUTOS

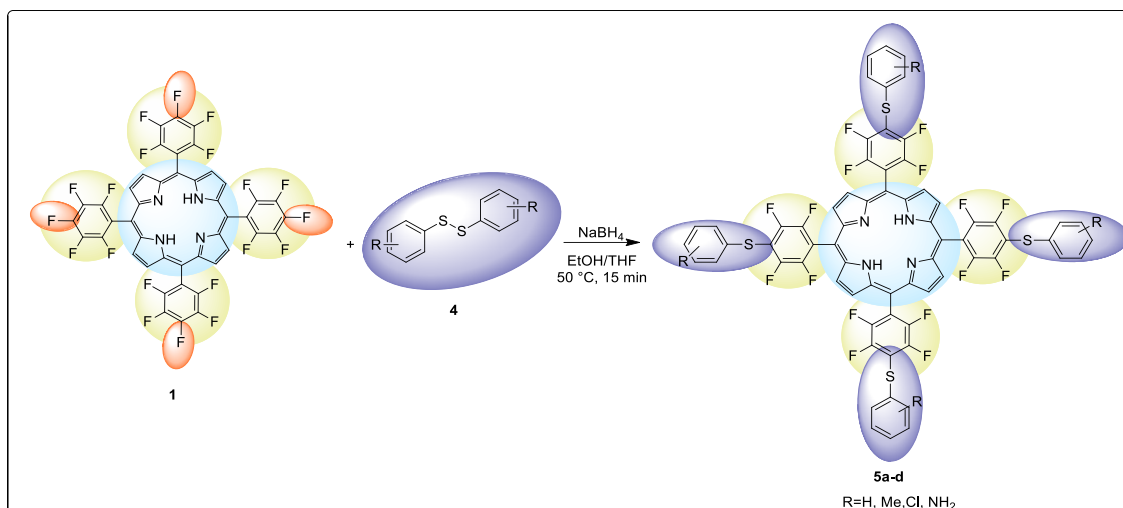
Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos durante a realização da segunda parte deste trabalho. O objetivo para este capítulo foi: desenvolvimento de uma metodologia para a preparação de novas tioporfirinas simétricas **5** (Figura 25) derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina empregando diferentes fontes de ânion de arilcalcogênio.

Figura 25. Estrutura geral das tioaril-porfirinas sintetizadas **5**



Fonte: autora

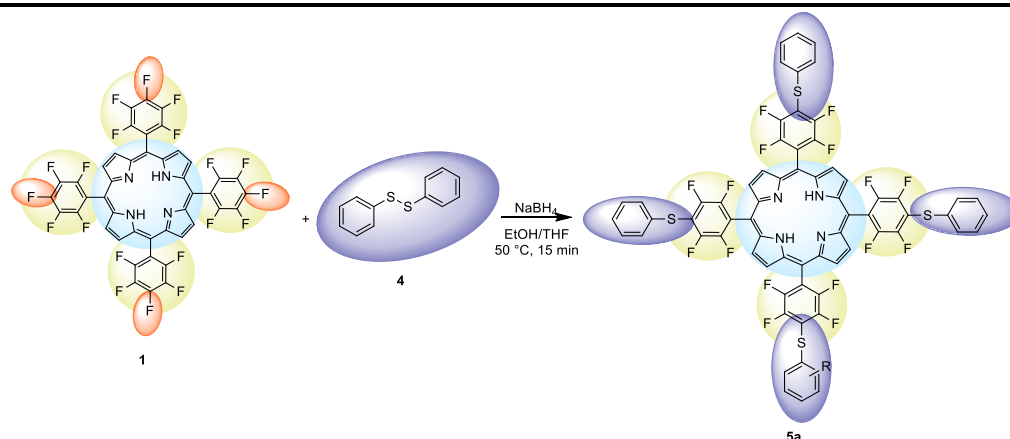
Baseando-se nos resultados da reação de substituição para a síntese de selenoporfirinas e hidrogenoporfirinas, utilizou-se TPPF<sub>20</sub> **1**, dissulfetos de diarila **4** e como agente redutor o borohidreto de sódio para a síntese de tioaril-porfirinas **5a-d** (Esquema 22).

Esquema 22. Síntese de compostos tioaril-porfirinas **5a-d**

Fonte: autora

Assim, foram utilizados como padrão para preparar os compostos **5** e para otimizar as condições reacionais, 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina, dissulfeto de difenila e borohidreto de sódio. Inicialmente TPPF<sub>20</sub> (10 μmol; 10 mg), dissulfeto de difenila (80 μmol; 17,4 mg), THF (7 mL), EtOH (3 mL) e NaBH<sub>4</sub> (180 μmol; 6,8 mg) foram adicionados em um tubo de schlenk. O sistema foi agitado a 50 °C e a reação foi monitorada por cromatografia em camada fina (TLC) durante 15 min. Nesse caso, a respectiva tioaril-porfirina **5a** foi obtida com rendimento de 84% (Tabela 2, reação 1).



Tabela 2. Otimização das condições reacionais para a síntese dos compostos tioaril-porfirina **5a-d**

| Reação | C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> S) <sub>2</sub><br>(μmol) | Tempo<br>(min) | Rendimento<br>(%) |
|--------|---|----------------|-------------------|
| 1      | 80  | 15             | 84                |
| 2      | 40  | 15             | 70                |
| 3      | 80  | 60             | 77                |
| 4      | 80  | 5              | 53                |

Tendo em vista o estudo para a obtenção da condição reacional mais eficiente na síntese dos produtos de substituição desejados, uma variação na quantidade de dissulfeto de difenila e tempo reacional foi realizada (Reações 2-4).

Inicialmente, a variação de dissulfeto foi avaliada, mantendo os tempos de reação. Quando foi reduzida a quantidade de dissulfeto de difenila a 40 μmol (8,7 mg), obteve-se o respectivo composto **5a** em 70% de rendimento (Reação 2).

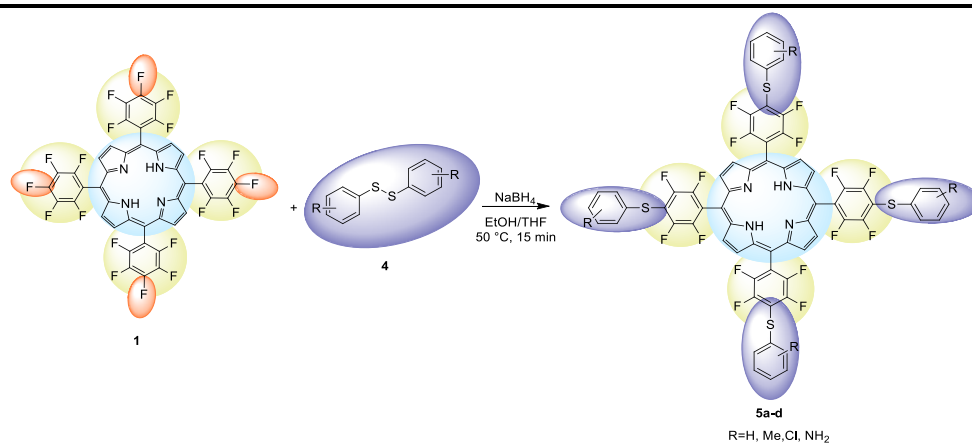
Posteriormente, a avaliação do tempo reacional foi estudada. Neste caso, quando a reação foi realizada em uma hora, proporcionou a tioaril-porfirina **5a** com rendimento de 77% (Reação 3). Além disso, diminuindo o tempo de reação para cinco minutos permitiu a preparação do composto **5a** com 53% de rendimento (Reação 4).

Dessa forma, foi fixada como melhor condição a reação realizada utilizando 80 μmol de dissulfeto de difenila, a uma temperatura de 50 °C por um período de 15 minutos, empregando THF e etanol como solventes desta reação (Reação 1).

Após determinada a melhor condição para a síntese dos compostos de interesse, partiu-se para uma análise mais detalhada da versatilidade da

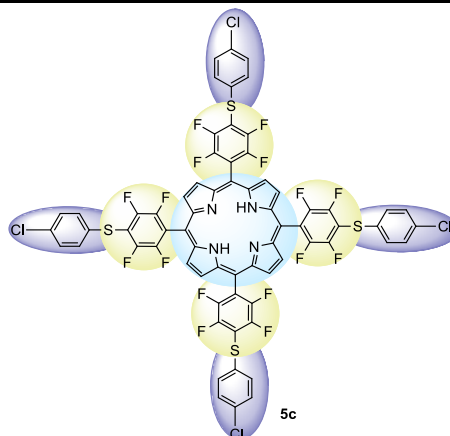
metodologia utilizando diferentes dissulfetos de diarila, contendo grupos ativantes ou desativantes ligados ao anel aromático (Tabela 3).

Os compostos foram obtidos em rendimentos muito bons a excelentes para todos os dissulfetos utilizados (Tabela 3). Apesar disso, os grupos ativantes ligados ao anel aromático na porção dissulfeto proporcionaram melhores rendimentos em comparação aos desativantes. Por exemplo, os grupos ativantes metil e amina nos compostos **5b** e **5d** (Tabela 3, reações 2 e 4) proporcionaram tioaril-porfirinas com 92 e 93% de rendimento, respectivamente. A presença de um grupo cloro ligado ao anel aromático diminuiu o rendimento para 82% (Reação 3). Este comportamento pode ser explicado pela maior nucleofilicidade dos tiolatos com grupamentos ativantes, seguida dos grupamentos neutros e menor nucleofilicidade de grupos desativantes ligados ao anel aromático na porção dissulfeto.

Tabela 3. Síntese dos compostos tioaril-porfirina **5a-d**.

| Reação | Produto                               | Rendimento<br>(%) <sup>a</sup> |
|--------|---------------------------------------|--------------------------------|
| 1      | <p style="text-align: center;">5a</p> | 84                             |
| 2      | <p style="text-align: center;">5b</p> | 92                             |

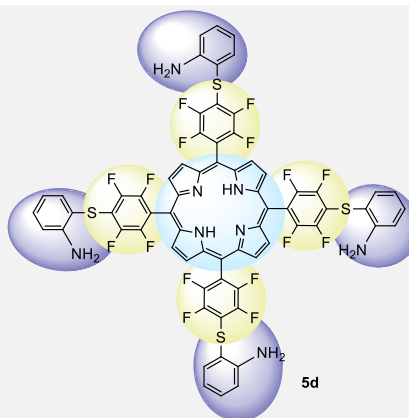
3



82

5c

4



93

5d

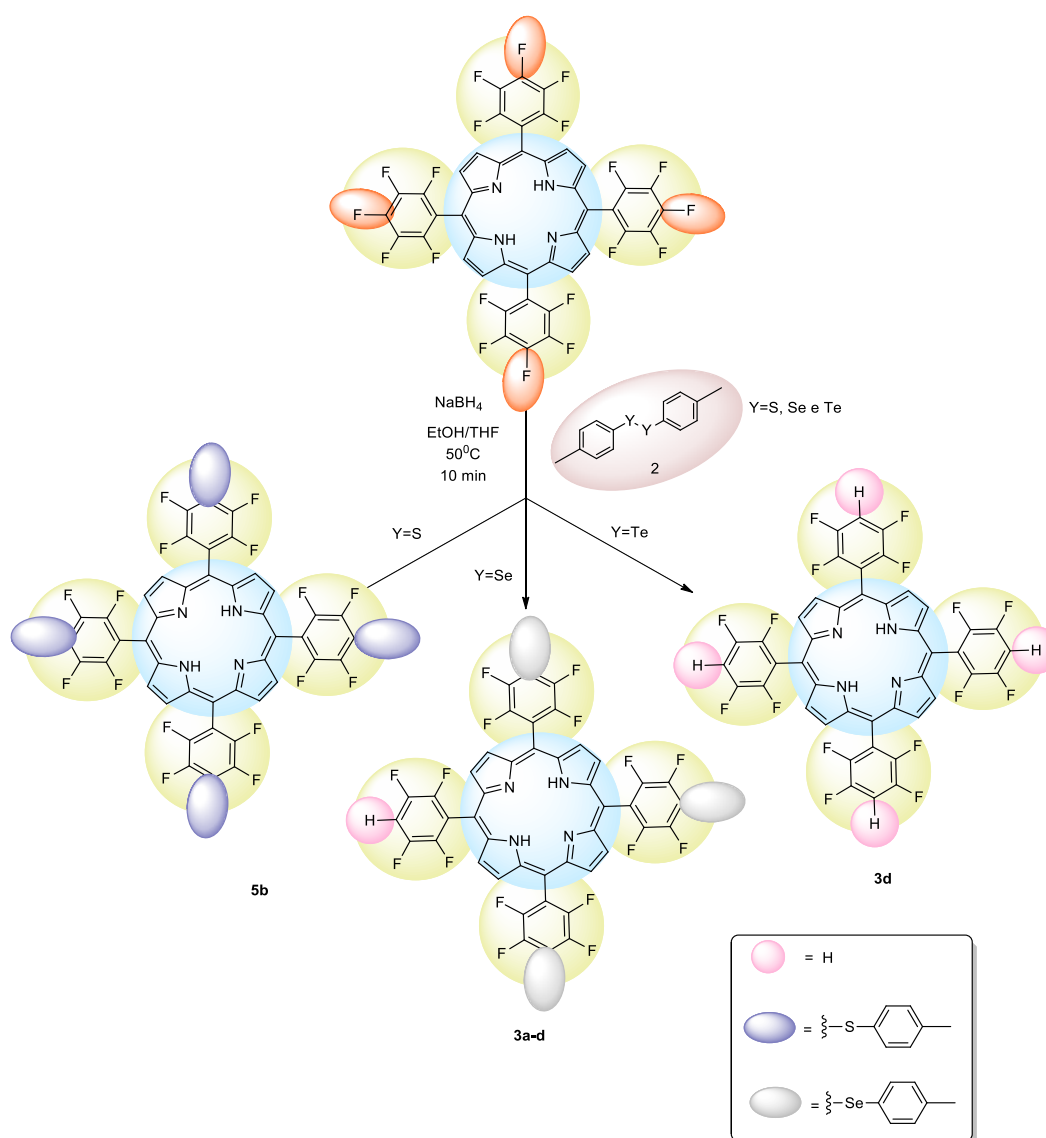
a Rendimentos calculados após purificação através de placa cromatográfica e consistem na média de três reações.

Com este estudo, observou-se que a metodologia apresenta algumas vantagens frente aos trabalhos já descritos na literatura (TUXEN et al., 2011) (GOMES et al., 2011) para a síntese de tioporfirinas derivadas da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina. Como exemplo, destaca-se a formação dos produtos em ótimos rendimentos, em curto tempo de reação (15 minutos), sem a utilização de base no meio reacional, com emprego de reagentes de fácil manuseio e inodoros. Além disso, o protocolo sintético demonstrou-se abrangente para outros dissulfetos, possibilitando a obtenção de compostos com as mais diversas complexidades.

Com base nos resultados obtidos dos derivados de *p*-metil-difenil-dissulfeto e disseleneto, decidiu-se ampliar o escopo desta reação a derivados de telúrio para verificar a influência dos átomos de calcogênio na formação do produto. Desse modo, *p*-metil-difenil-dicalcogenetos foram empregados em 10 minutos de reação. Como esperado, utilizando *p*-metil-difenil-dissulfeto, a respectiva tetra-tioaril-porfirina foi obtida como um produto único, embora com rendimento de 75%. Neste caso, nenhum átomo de hidrogênio foi detectado no produto, ao

contrário do que foi observado quando se utilizou *p*-metil-difenil-disseleneto em 10 minutos de reação. Como descrito anteriormente, utilizando *p*-metil-difenil-disseleneto foi obtido o produto Tri Se-Mono H (correspondente a substituição de 3 átomos de flúor na posição *para* do anel aromático da porfirina pela espécie de organoselênio e uma posição *para* do anel aromático da porfirina substituída por um átomo de hidrogênio), Tabela 1, reação 2. No entanto, surpreendentemente, quando foi empregado o *p*-metil-difenil-ditellureto, obteve-se apenas o produto **3d**, com quatro hidrogênios na posição *para* do anel aromático da porfirina, como representado no esquema 23.

Esquema 23. Obtenção de calcogenoarilporfirinas e hidrogenoporfirinas via diferentes calcogenetos em 10 minutos de reação.



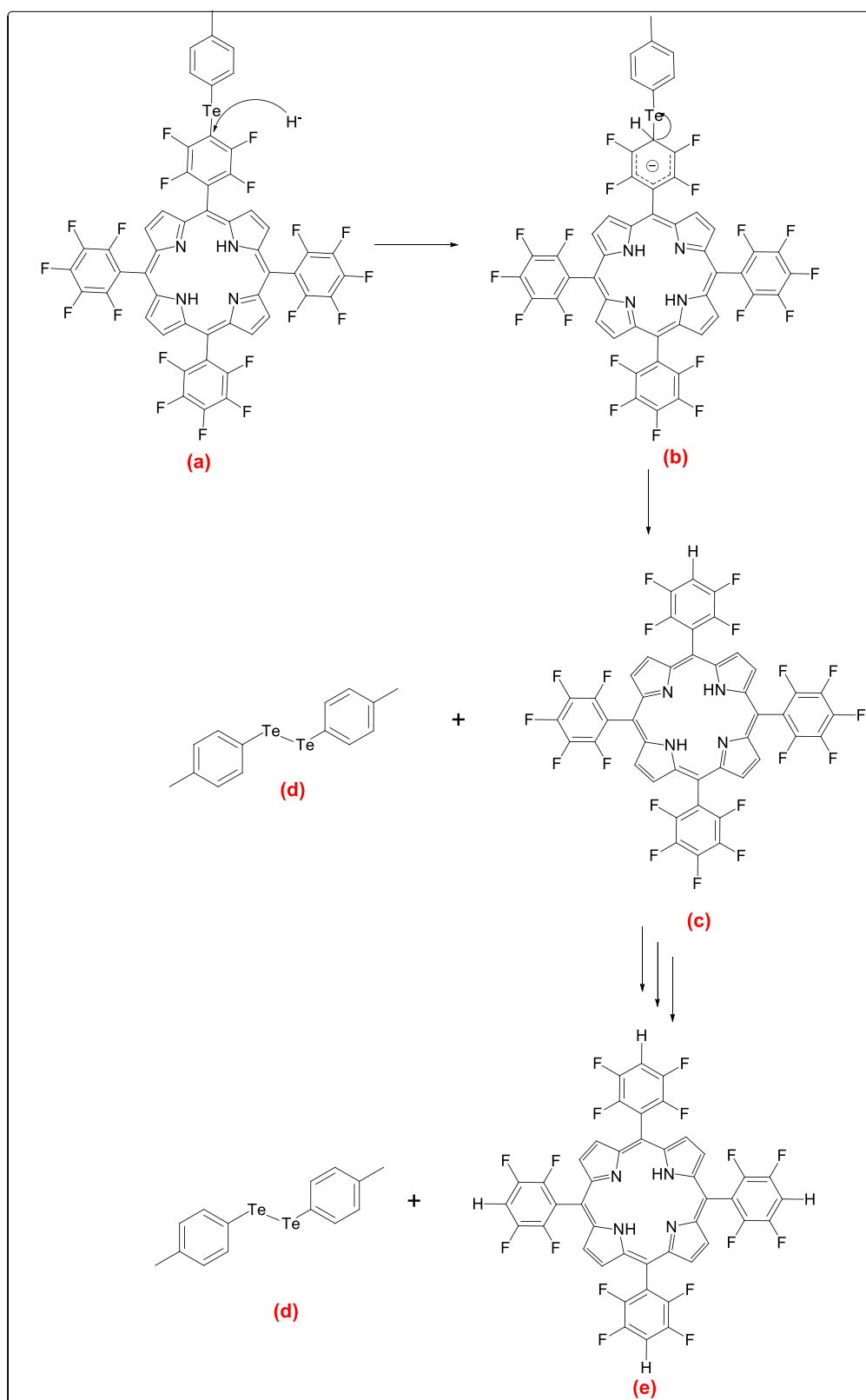
Neste sentido, uma possível racionalização para explicar este comportamento pode ser proposta com base na capacidade nucleofílica do átomo de calcogênio e na diferença de labilidade na ligação carbono-calcogênio (para a inserção e liberação da porção organocalcogênio na porfirina respectivamente). O enxofre tem uma maior energia de ligação com carbono, seguido pelo selênio e o telúrio mostra uma energia de ligação mais fraca com carbono. Por outro lado, a habilidade nucleofílica do calcogênio segue a ordem  $\text{Te} > \text{Se} > \text{S}$ .

Como observado, quando telúrio foi usado como calcogênio somente a porfirina tetra-hidrogênio foi observada em 10 minutos de tempo de reação. Neste caso, devido à maior nucleofilicidade do telurolato, este produz uma rápida substituição nucleofílica aromática, dando os derivados de telúrio em um curto tempo de reação. Ao mesmo tempo, a labilidade da ligação carbono telúrio permitiu a adição imediata de hidreto eliminando o telúrio da porfirina.

No caso do selênio, a troca de seleno-aril por hidreto é mais difícil do que o teluro-aril devido à menor labilidade da ligação do carbono com selênio em relação ao telúrio. Neste caso, o aumento do tempo reacional também aumenta a troca de seleno-aril por hidreto.

No caso do enxofre, como ele tem uma ligação energética mais estável com o carbono, pode-se resumir que o  $\text{NaBH}_4$  não é nucleofílico o suficiente para substituir o enxofre-aril do anel aromático da porfirina, sendo assim a tetra-tioporfirina **5b** obtida como único produto. Uma proposta mecanística semelhante ao esquema 21 para a troca de telúrio por hidreto é mostrada no Esquema 24.

Esquema 24. Proposta de mecanismo para a substituição de organotelúrio por hidreto



Fonte: autora

Nesta proposta, um hidreto proveniente do borohidreto de sódio ataca o carbono que contém o grupo 4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-Te-, levando à formação de um carbânion com elétrons deslocalizados (**b**). Posteriormente, uma eliminação da espécie de 4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-Te- permite a produção de *p*-metil-difenil-ditelureto (**d**) e conduz à formação do produto (**c**). Sequencialmente, ocorrem os mesmos processos nas outras 3 posições *para* do anel C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>, levando a formação do produto (**e**) tetra substituído. Para selenoporfirinas esta substituição é controlada pelo tempo de reação e para o telúrio a troca é provavelmente realizada assim que o telúrio é adicionado na porfirina. No entanto, para tio-porfirinas, esta substituição por hidreto não ocorre, parando no composto tetra-substituído por espécies tiolato.

Esta capacidade na modulação de substituição por TPPF<sub>20</sub> pode tornar-se um caminho interessante para a substituição seletiva na preparação de diferentes porfirinas.

#### 4.1 Ressonância Magnética Nuclear e Espectrometria de Massas do composto 5b

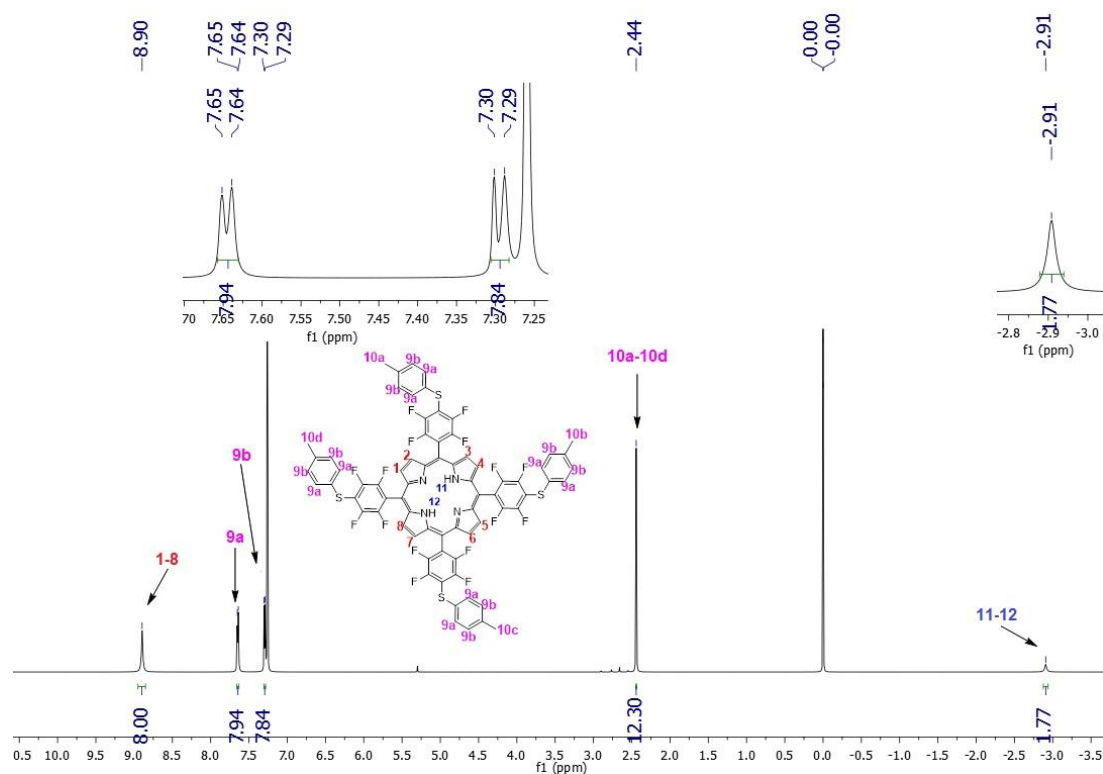
A título de exemplo será discutida a atribuição dos sinais do espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H) e flúor (RMN<sup>19</sup>F) do composto **5b**.

A figura 26 mostra o espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **5b** em clorofórmio deuterado a 600 MHz, onde pode-se observar em 8,90 ppm um simpleto com integral relativa para 8 hidrogênios, referente aos hidrogênios **1-8** ligados na posição β pirrólica. Em 7,65 ppm há um duplete com integral relativa para 8 hidrogênios, apresentando constante de acoplamento 6 Hz referente aos hidrogênios equivalentes *orto*, mais desblindados, nos quatro anéis aromáticos (posição **13a**). O sinal em 7,30 ppm, apresenta-se como um duplete, com integral relativa para 8 hidrogênios, apresentando constante de acoplamento 6 Hz referente aos hidrogênios equivalentes *meta*, nos quatro anéis aromáticos (posição **13b**). O sinal em 2,44 ppm, apresenta-se como um simpleto, com integral relativa para doze hidrogênios e refere-se aos hidrogênios das metilas



**10a-10d**, ligadas a porção calcogenoaril. O sinal em -2,9 ppm, apresenta-se como um simpleto, com integral relativa para dois hidrogênios referente aos hidrogênios internos (NH) do anel porfirínico **11** e **12** que são fortemente blindados pela corrente do anel.

Figura 26. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **5b** em  $\text{CHCl}_3$  a 600 MHz

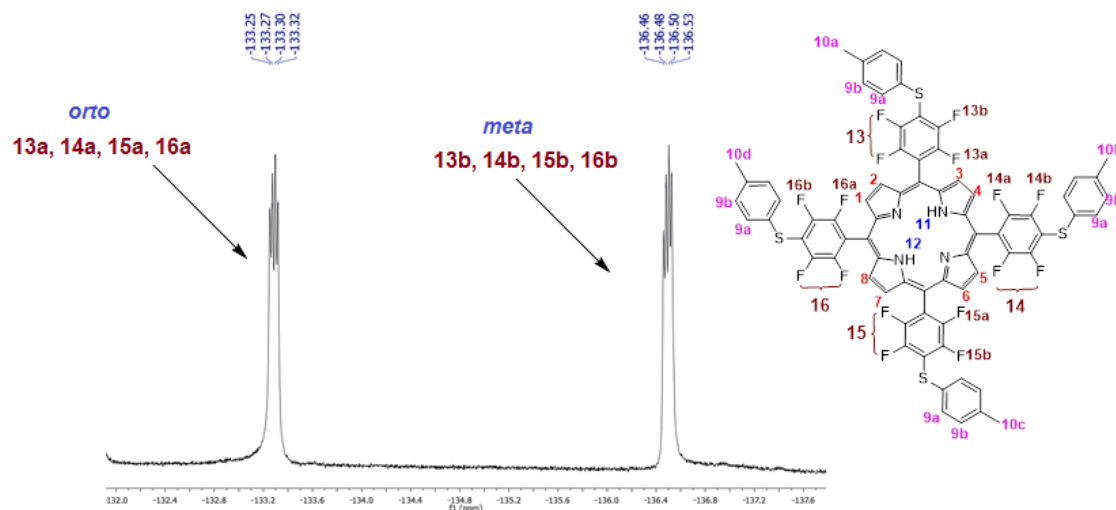


Fonte: autora

O espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  da porfirina **5b** como era esperado, apresenta um conjunto de dois sinais, sendo um sinal correspondente aos átomos de flúor da posição *orto*, correspondendo aos anéis substituídos por 4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{S}$  e outro que corresponde aos átomos de flúor da posição *meta* correspondente a posição *meta* dos anéis também substituídos por 4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{S}$ . Neste exemplo, os átomos de flúor da posição *orto* dos anéis aromáticos substituídos por 4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{S}$  aparecem no espectro a um  $\delta = -133,28$  ppm como um duplo duplete (dd) devido ao acoplamento com o átomo de flúor da posição *orto* do outro lado do anel e com o átomo de flúor na posição *meta* apresentando constante de acoplamento  $J^4=28,2$  Hz e outra constante de acoplamento  $J^3=11,3$  Hz. Ainda os átomos de flúor da posição *meta* 13b, 14b, 15b e 16b aparecem no espectro

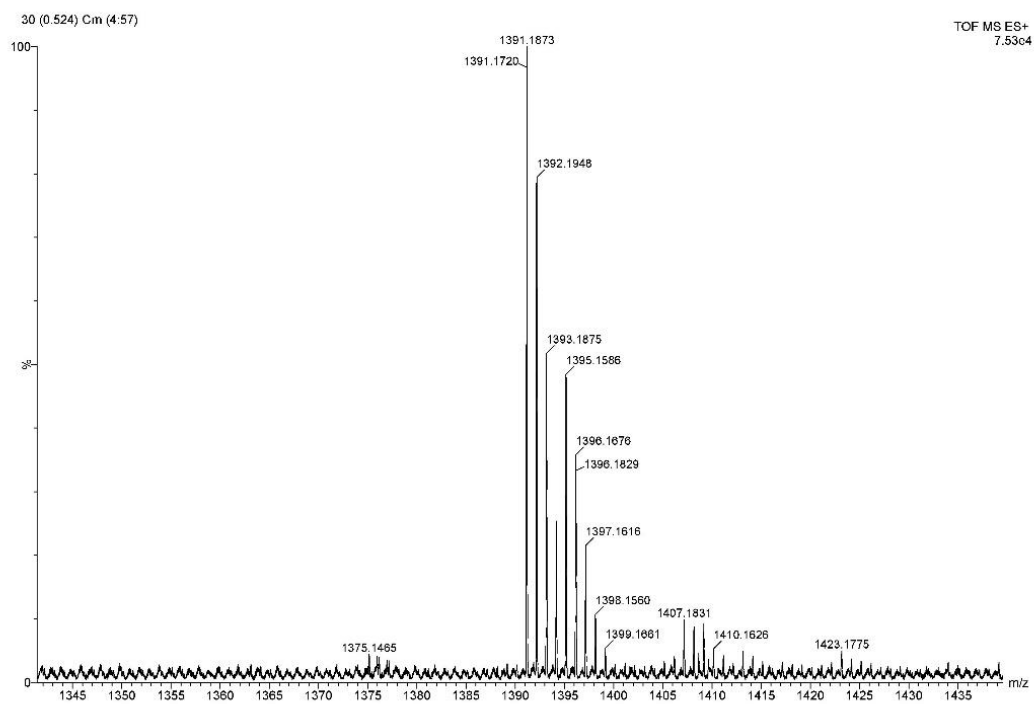
a um  $\delta = -136,49$  ppm também como um duplo duplete (dd) devido ao acoplamento com o átomo de flúor da posição *meta* do outro lado anel e com o átomo de flúor na posição *orto*, apresentando também, constante de acoplamento  $J^4=28,2$  Hz e outra constante de acoplamento  $J^3= 11,3$  Hz, conforme demonstrado na figura 27.

Figura 27. Espectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto **5b** em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz.



Fonte: autora

A confirmação do composto **5b** pode ser feita através da análise de espectrometria de massas de ionização por eletrospray no modo positivo ( $\text{ESI}^+$ ) (Figura 28). A massa foi calculada para  $\text{C}_{72}\text{H}_{38}\text{F}_{16}\text{N}_4\text{S}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ , o valor calculado foi de 1391,1802 e o encontrado foi de 1391,1873 confirmando a estrutura proposta pela análise de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$ .

Figura 28. Espectrometria de massas do composto **5b**

Fonte: autora

## 5. PROPRIEDADES DOS COMPOSTOS 3a-d E 5a-d

Em conformidade com a síntese e tendo em vista interessantes propriedades fotofísicas de compostos porfirínicos, foram realizados testes a fim de investigar as propriedades e avaliar se a presença de diferentes átomos de calcogênio influenciaram de maneira significativa as características fotofísicas dos compostos sintetizados.

Os experimentos foram realizados em parceria com o grupo do Professor Dr. Bernardo Almeida Iglesias e a aluna de doutorado Carolina Hahn da Silveira, vinculados ao Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Santa Maria– UFSM.

Deste modo, foram realizados os experimentos de:

- Análise da absorção no UV-visível
- Análise de emissão
- Fotoestabilidade dos Compostos
- Geração de Oxigênio Singleto
- Ensaio de ligação CT-DNA
- Ensaio de ligação da albumina sérica humana (HSA) com porfirinas

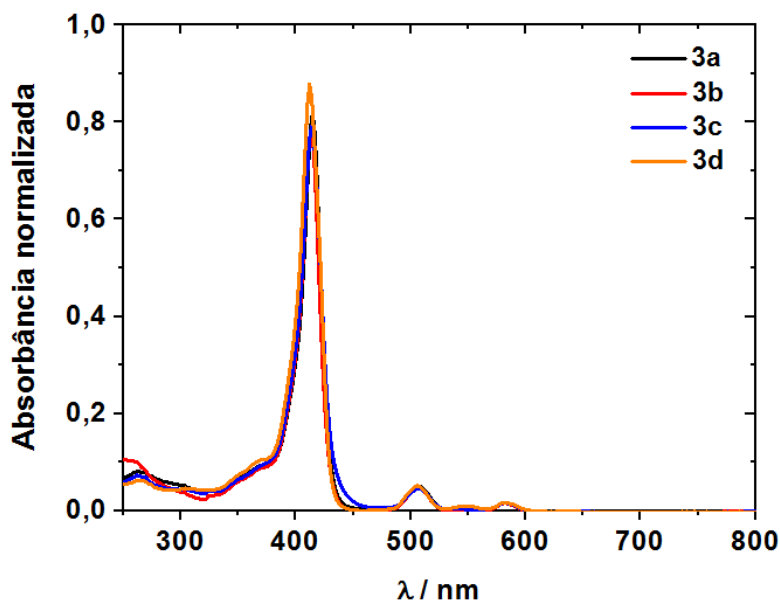
Ainda, para corroborar com os resultados e verificar os modos de ligação dos compostos com o DNA, foram realizados experimentos de *Docking* molecular em parceria com o grupo do Professor Dr. João Batista Teixeira da Rocha e o aluno de doutorado Pablo Froner Nogara, vinculados ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria– UFSM.

### 5.1 Análise da absorção no UV-visível dos compostos 3a-d

Os espectros de absorção no UV-Vis dos compostos **3a-d** foram avaliados em dois pontos relacionados a caracterização dos produtos. O primeiro deles foi quanto à presença da banda de Soret, visto que as porfirinas apresentam um perfil característico quanto ao espectro de absorção na região do UV-vis. Essa banda denominada de Soret faz parte de um conjunto de quatro bandas de absorção e é caracterizada por ser uma banda de maior intensidade na região

de 400 nm. Neste sentido, conforme os espectros eletrônicos de UV-vis dos derivados **3a-d** em solução de DCM apresentados na Figura 29, pode-se observar que ambas as porfirinas exibem uma banda de transição intensa em torno de 415 nm na região azul, que pode ser atribuída à essa banda de Soret ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ).

Figura 29. Espectros de absorção UV-vis dos compostos **3a-d** em soluções de DCM ( $[ ] = 1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).



Fonte: autora

O segundo ponto analisado foi a identificação das bandas Q. Essas bandas apresentam-se no espectro em menor intensidade e localizadas em maiores comprimentos de onda (500-650 nm). De acordo com os espectros eletrônicos de UV-vis apresentados na Figura 29, observa-se que todas as porfirinas exibem quatro bandas menos energéticas, atribuídas a uma transição do tipo vibrônica, que podem ser atribuídas às bandas Q (Figura 29). Os valores de absorção e absorvidade molar ( $\epsilon$ ) estão listados na Tabela 4.

## 5.2 Análise espectral de emissão dos compostos **3a-d**

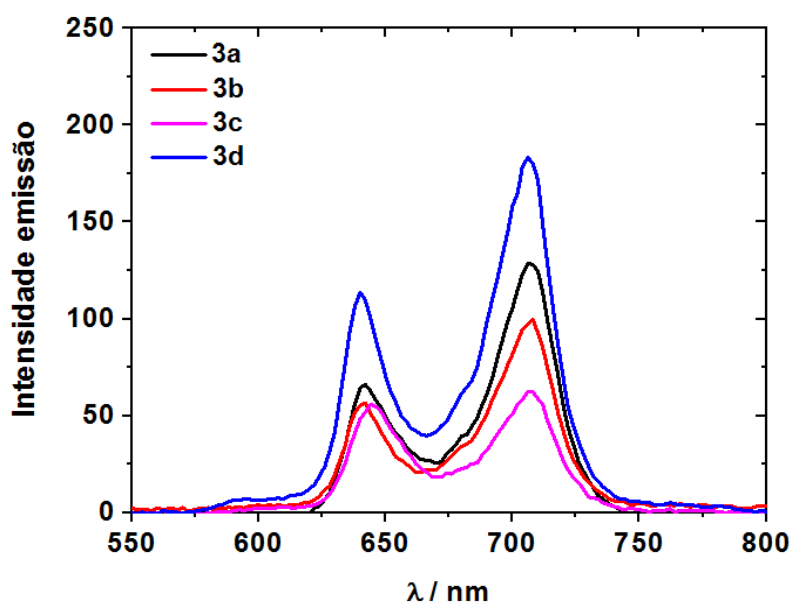
A análise dos espectros de emissão de selenoaril-porfirinas substituídas **3a-d** dissolvidas em solução de DCM seco é mostrada na Figura 30 e os parâmetros fotofísicos estão listados na Tabela 4.

Uma vez determinados os espectros de emissão é possível calcular os rendimentos quânticos de fluorescência dos compostos sintetizados. Os rendimentos quânticos de emissão de fluorescência ( $\Phi_{fl}$ ) para derivados de calcogênio foram estimados a partir da referência 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (TPP) por método comparativo.

Em geral, o rendimento quântico de fluorescência das moléculas indica a capacidade de um composto excitado (no primeiro estado excitado) para retornar ao estado eletrônico inicial por emissão de fóton. Este processo depende da estrutura molecular, tipo de interação com o solvente, e estereoquímica. Destaca-se que os valores de rendimento quântico de fluorescência foram determinados a uma densidade óptica (DO) no intervalo de 0,05 a 0,1.

Desta forma, ao inserir as porções selênio-aril na posição *para* dos anéis  $C_6F_4$  *meso*-aril, o rendimento quântico de fluorescência apresentou-se inferior quando comparado com o padrão TPP ( $\Phi_{fl} = 0,15$ ). Isto pode ser explicado pela presença dos grupos selênio-aril (efeito de átomos pesados nos estados excitados) ligados nas porções *meso*-arila. Além disso, o maior rendimento de fluorescência quântica pode ser atribuído ao composto *meso*-tetra-hidrogenado **3d**, na ausência de unidades de selênio ( $\Phi_{fl} = 0,11$ ).

Figura 30. Espectros de emissão de fluorescência em estado estacionário de derivados de porfirina (excitação em cada banda de Soret) em soluções de DCM saturadas com argônio.



Fonte: autora

Tabela 4. Dados fotofísicos de porfirinas **3a-d**.

| Porfirina | $\lambda$ , nm (log $\epsilon$ ) <sup>a</sup>              | $\lambda_{em}$ , nm ( $\Phi_{fl}$ ) <sup>b</sup> | $\Phi_{\Delta}$ <sup>c</sup> |
|-----------|--|--|------------------------------|
| <b>3a</b> | 414 (5,12), 507 (3,91), 541 (3,40), 583 (2,99), 643 (2,80) | 646, 707 (0,05)                                  | 0,37                         |
| <b>3b</b> | 413 (5,11), 506 (3,90), 540 (3,38), 582 (3,01), 638 (2,80) | 641, 708 (0,08)                                  | 0,39                         |
| <b>3c</b> | 414 (5,10), 507 (3,90), 541 (3,39), 582 (3,01), 642 (2,81) | 645, 706 (0,09)                                  | 0,44                         |
| <b>3d</b> | 412 (5,14), 506 (3,92), 548 (3,42), 582 (3,02), 636 (2,83) | 655, 707 (0,11)                                  | 0,53                         |

<sup>a</sup>Em solução de DCM na concentração de  $1,0 \times 10^{-6}$  M; <sup>b</sup> Medido em DCM e excitação em banda de transição Soret, usando TPP como padrão ( $\Phi_{fl} = 0,15$ ); <sup>c</sup>Usando  $C_6F_5P$  como padrão em DMF ( $\Phi_{\Delta} = 0,59$ ).

### 5.3 Fotoestabilidade dos compostos **3a-d**

A fotoestabilidade das porfirinas **3a-d** foi estudada através do monitoramento da diminuição da absorbância das bandas de Soret de cada porfirina, após diferentes tempos de irradiação com LEDs de luz branca ( $\lambda = 400-800$  nm), fornecida por um sistema de iluminação a uma taxa de fluência de  $50 \text{ mW cm}^{-2}$  (AURAS et al., 2018). Em soluções de DMF, ambos os compostos na concentração de  $2,0 \mu\text{M}$  exibiram uma fotodecomposição abaixo da faixa de 4-23% após receber uma dose total de luz de  $90 \text{ J cm}^{-2}$  (Tabela 5).

Tabela 5. Fotoestabilidade dos derivados de porfirina **3a-d** (banda Soret de cada porfirina) a  $2,0 \mu\text{M}$ , após irradiação com sistema LED de feixe de luz branca (400-800 nm) a uma taxa de fluência de  $50 \text{ mW cm}^{-2}$  durante diferentes períodos de tempo (0 para 30 min).

| Porfirina | Tempo de irradiação |        |        |        |        |
|-----------|---------------------|--------|--------|--------|--------|
|           | 0 min               | 10 min | 15 min | 20 min | 25 min |
| <b>3a</b> | 100%                | 97%    | 94%    | 93%    | 90%    |
| <b>3b</b> | 100%                | 98%    | 96%    | 95%    | 91%    |
| <b>3c</b> | 100%                | 97%    | 97%    | 94%    | 93%    |
| <b>3d</b> | 100%                | 99%    | 98%    | 96%    | 95%    |

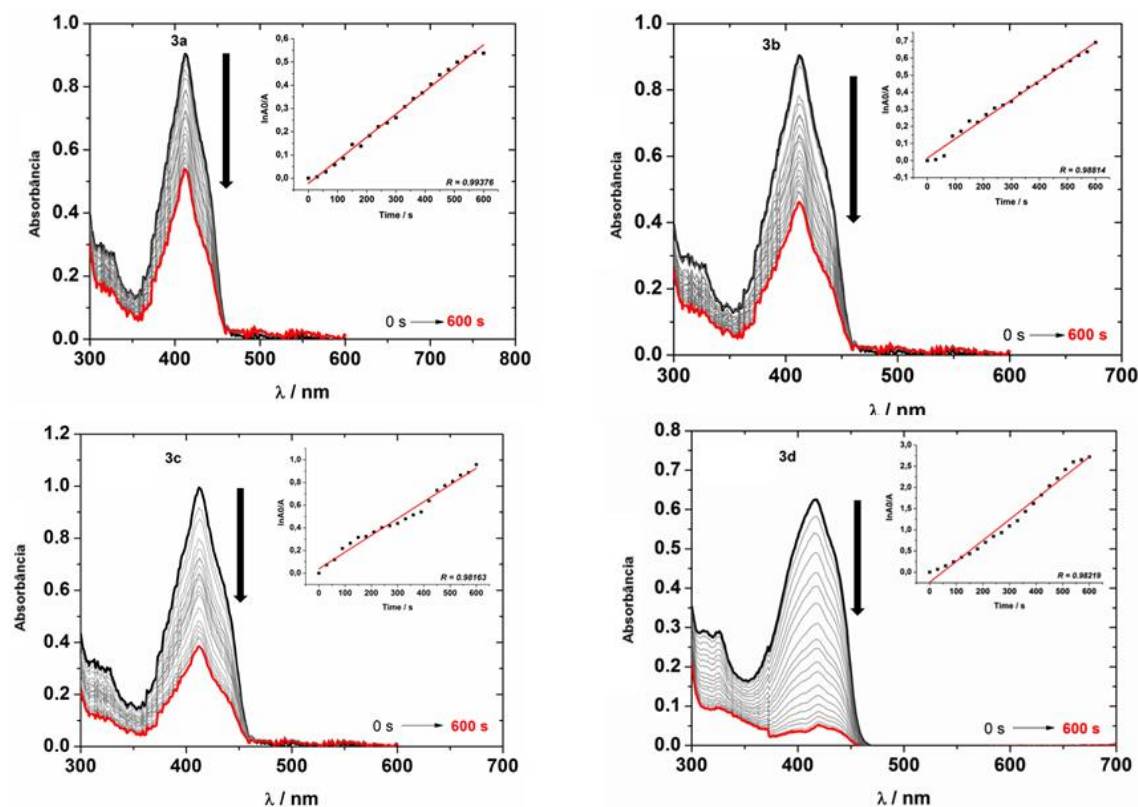
### 5.4 Geração de Oxigênio Singleto ( $^1O_2$ ) dos compostos **3a-d**

A capacidade dos compostos Se-porfirinas **3a-d** em produzir espécies de oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) foi monitorada utilizando 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) em N, N'-dimetilformamida (PIVETTA et al., 2017). O ensaio de foto-

oxidação de DPBF tem sido amplamente utilizado para analisar quantitativamente a produção de oxigênio singleto, visto que o produto da reação (1,2-dibenzoilbenzeno), não absorve na região do visível.

Neste experimento, mudanças na absorvância do DPBF estão diretamente relacionadas à quantidade de  $^1\text{O}_2$  gerado. Na Figura 31, encontram-se os perfis espectrais de foto-oxidação do DPBF na presença das porfirinas **3a-3d** que foram monitorada a 415 nm durante a irradiação com LEDs de luz vermelha ( $\lambda = 635$  nm; tempo de irradiação = 600 s) em solução de DMF.

Figura 31. Foto-oxidação do DPBF pela irradiação com LEDs de luz vermelha ( $\lambda = 635$  nm) em DMF, na presença das porfirinas **3a-3d**. Os gráficos em destaque mostram o perfil cinético de primeira ordem.



Fonte: autora

Como observado na Tabela 4, os rendimentos quânticos de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ) encontrados para os compostos **3a-c** que possuem porções Se-aril na posição *para* dos anéis  $\text{C}_6\text{F}_4$  meso-arila são menores que  $\text{C}_6\text{F}_5\text{P}$  ( $\Phi_{\Delta\text{st}} = 0,59$  para  $\text{C}_6\text{F}_5\text{P}$ ) (PINEIRO et al., 1998), embora apresentando ainda uma capacidade moderada de gerar oxigênio singleto.

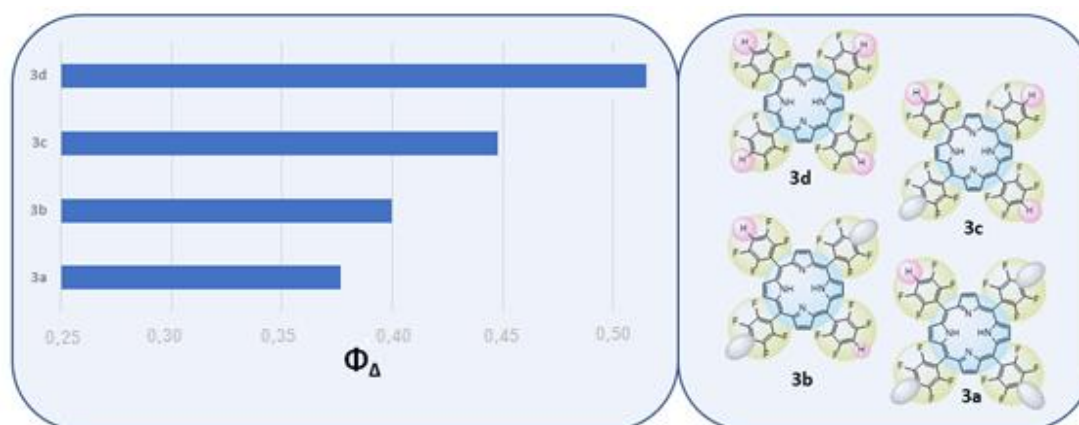


Esse comportamento pode ser atribuído à presença de unidades de seleno-aril (efeito de átomo pesado) e, provavelmente, vias de desativação eletrônica do estado excitado.

Embora a capacidade dos derivados de Se-porfirina para gerar espécies de  $^1\text{O}_2$  seja, em geral, menor do que a TPP ou  $\text{C}_6\text{F}_5\text{P}$ , após serem expostas a luz vermelha na presença de oxigênio, estes compostos ainda podem demonstrar potenciais aplicações para terapia fotodinâmica (PDT) (ALVES et al., 2014).

É interessante destacar um comportamento modular em  $\Phi_\Delta$  das porfirinas **3a-d** obtidas. Neste caso, a variação de  $\Phi_\Delta$  pode ser modulada dependendo do grau de substituição de seleno-aril incorporado na porfirina, visto que um grau mais alto permite um menor  $\Phi_\Delta$ , ao passo que um menor grau de substituição leva a um maior  $\Phi_\Delta$  (Figura 32).

Figura 32.  $\Phi_\Delta$  versus grau de substituição por seleno-aril



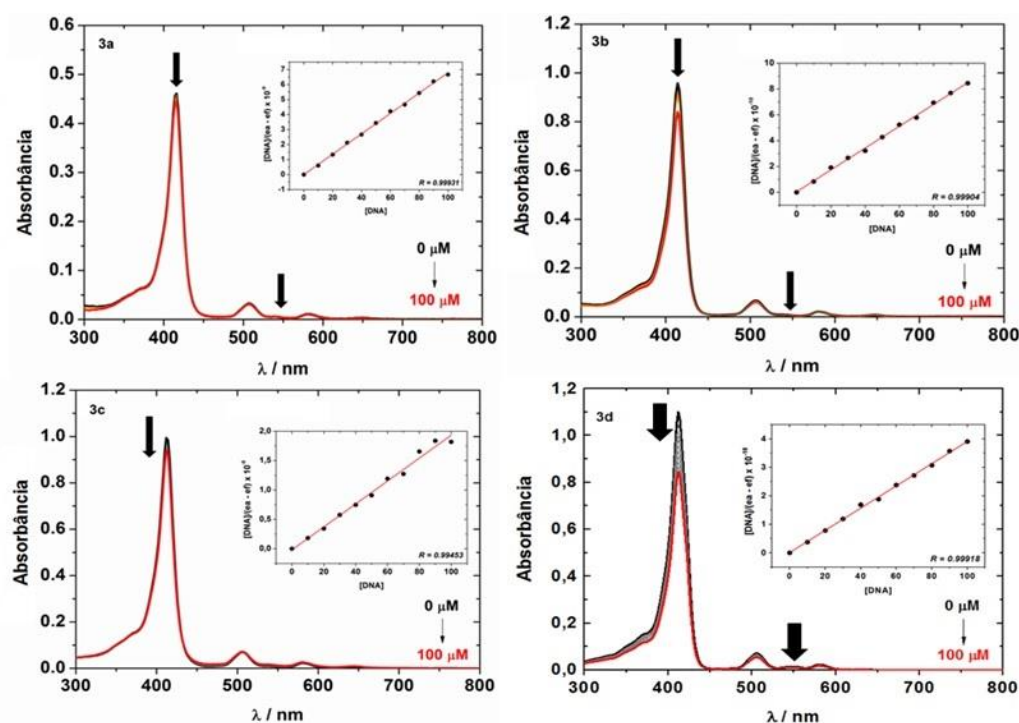
Fonte: autora

## 5.5 Ensaios de ligação CT-DNA por análise de absorção de porfirinas 3a-d

Com esses experimentos permitiu-se fornecer informações sobre a potencial aplicação dos compostos derivados **3a-d** como possíveis fotossensibilizadores na aplicação em terapia fotodinâmica, visto que a interação entre porfirinas substituídas e CT-DNA pode oferecer informações sobre sua capacidade de ligação a uma macromolécula.

A interação de derivados de porfirina **3a-d** com DNA de timo de bezerro (CT-DNA) foi estudada por espectroscopia de absorção UV-vis na faixa de 300-800 nm em solução de DMSO (1%) com tampão Tris-HCl (pH 7,4). Em geral, as porfirinas interagem com o DNA e causam uma mudança na banda de transição em uma região do visível. O efeito de diferentes concentrações de CT-DNA nos espectros de absorção dos compostos é apresentado na Figura 33 e os dados interativos estão listados na Tabela 6.

Figura 33. Espectros de absorção da titulação CT-DNA UV-vis dos derivados **3a-d** numa solução tampão DMSO (1%) / Tris-HCl (pH 7,4). A concentração de CT-DNA variou de 0 a 100  $\mu\text{M}$ . O gráfico destacado mostra o gráfico de  $[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus  $[\text{DNA}]$ .



Fonte: autora

Tabela 6. Parâmetros de ligação do DNA por análise de absorção das porfirinas **3a-d**.

| Porfirina | $H\%$ <sup>a</sup> | $\Delta\lambda$ (nm) <sup>b</sup> | $K_b$ ( $\text{M}^{-1}$ ) <sup>c</sup> |
|-----------|--------------------|-----------------------------------|--|
| <b>3a</b> | 3,26               | 0,0                               | $7,47 \times 10^5$                     |
| <b>3b</b> | 12,24              | 0,0                               | $1,02 \times 10^6$                     |
| <b>3c</b> | 5,64               | 0,0                               | $1,90 \times 10^6$                     |
| <b>3d</b> | 22,95              | 0,0                               | $4,09 \times 10^6$                     |

<sup>a</sup> $H(\%) = (\text{Abs}_{\text{inicial}} - \text{Abs}_{\text{final}}) / (\text{Abs}_{\text{inicial}}) \times 100$ ; <sup>b</sup> $\Delta\lambda(\text{nm})$

$= \lambda_{\text{final}} - \lambda_{\text{inicial}}$ ; <sup>c</sup> Constante de ligação intrínseca pela análise UV-vis CT-DNA

Desta forma, mediante interação com várias concentrações de CT-DNA, as porfirinas com Se-aril revelaram mudanças características de hipocromicidade (aumento de absorvância na banda Soret), de acordo com várias concentrações de CT-DNA (0 a 100  $\mu\text{M}$ ) na faixa de 400-420 nm para todos os compostos. Não há evidência de deslocamento batocrômico (desvio para o vermelho) em todos os compostos e isto é indicativo de interação eletrostática muito fraca ou não observada das moléculas com o DNA (Tabela 6). No entanto, apesar desses compostos não apresentarem potencial de ligação com os grupos fosfato de DNA através dessas forças eletrostáticas, há estudos que comprovam que as porfirinas neutras demonstraram atividade contra a replicação de DNA carcinogênico (AURAS et al., 2018) (BARRAGÁN et al., 2004).

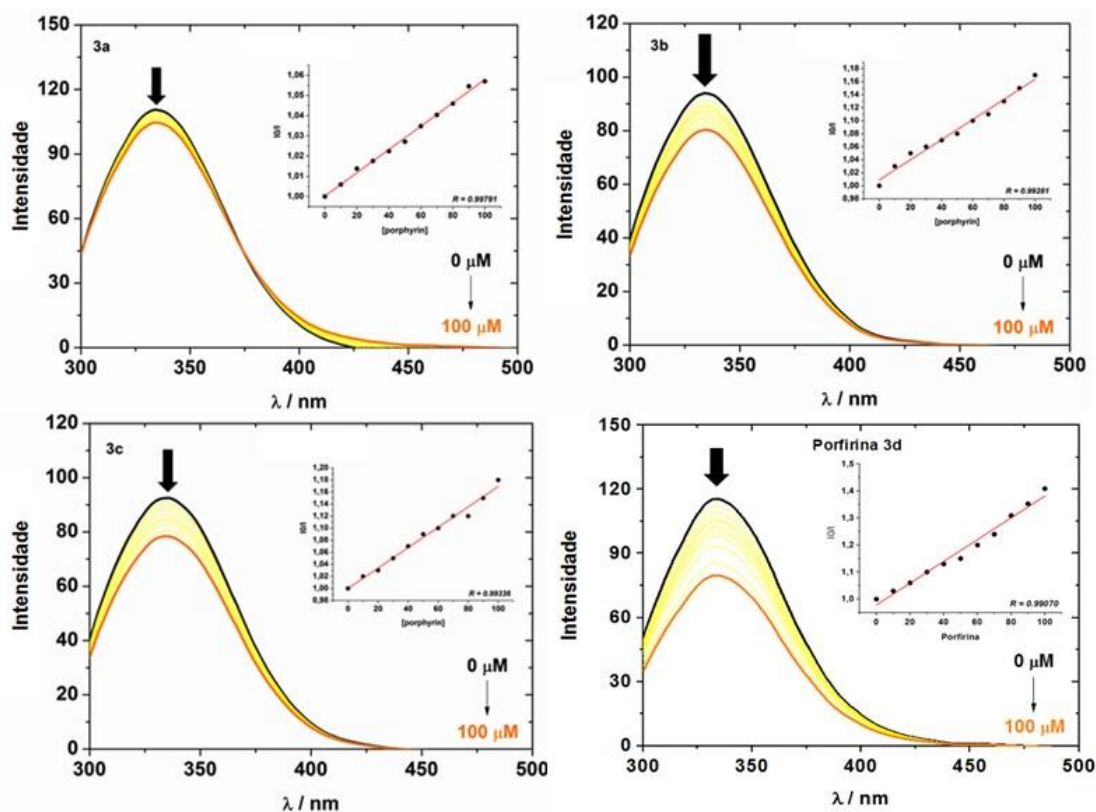
Também pode ser observado quando tem-se um número menor de unidades Se-aril ligadas às posições *meso*-aril da porfirina, a interação observada com a biomolécula é maior, como à porfirina tetra-hidrogênio substituída em **3d**. Este comportamento pode ser atribuído pela presença do macrociclo tetrapirrólico  $\pi$ -rico em densidade eletrônica na molécula que pode interagir com o DNA por meio de interações hidrofóbicas, como relatado anteriormente em alguns casos de derivados de porfirina, e possivelmente por forças de ligação de H nos sistemas fluorados (AURAS et al., 2018).

Além disso, para maior compreensão da ligação ao DNA, as constantes de ligação intrínsecas ( $K_b$ , de ligação das porfirinas à biomolécula) das porfirinas **3a-d** foram calculadas como descrito na Tabela 6. No presente estudo, as porfirinas demonstraram uma forte força de ligação ao CT-DNA, seguindo a ordem crescente dos valores de  $K_b$ : **3a** < **3b** < **3c** < **3d**.

## 5.6 Ensaios de ligação da albumina sérica humana (HSA) com porfirinas **3a-d**

Os espectros de emissão de fluorescência de HSA na ausência e presença dos derivados de porfirinas **3a-d** são mostrados na Figura 34.

Figura 34. Espectros de extinção de intensidade de fluorescência de emissão de HSA na ausência e presença dos compostos **3a/3d**, **3b/3d**, **3c/3d** ( $[HSA] = 1,0 \times 10^{-5} M$  e  $[3] = 0 - 100 \mu M$ ).



Fonte: autora

Para proteína livre de HSA, o pico observado em  $\lambda_{max} = 290$  nm corresponde à absorção de resíduos de triptofano e tirosina (BORDBAR et al., 2007). A variação de intensidade na faixa de emissão de HSA a 334 nm ( $\lambda_{exc} = 290$  nm), após a adição das porfirinas relacionadas, indicou que essas estruturas podem interagir com o sítio ativo da proteína. A alteração espectral de emissão em estado estacionário de HSA, após a adição destes derivados, pode refletir a alteração no ambiente dos resíduos de aminoácidos (isto é, as alterações estruturais / conformacionais que ocorrem após a ligação a estes compostos).

As constantes de extinção de Stern-Volmer ( $K_{SV}$ ), as constantes aparentes de ligação ( $K_{app}$ ) e o número de sítios de ligação ( $n$ ) foram avaliados a partir dos gráficos lineares das intensidades de emissão *versus* concentração (Tabela 7).

Tabela 7. Dados de ligação HSA por análise de emissão de fluorescência de derivados **3a-d**.

| Porfirina | Q(%) <sup>a</sup> | K <sub>SV</sub> (M <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup> | k <sub>q</sub> (s <sup>-1</sup> M <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup> | K <sub>app</sub> (M <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup> | n <sup>e</sup> |
|-----------|-------------------|---|--|--|----------------|
| <b>3a</b> | 5,40              | 5,76 x 10 <sup>2</sup>                          | 1,01 x 10 <sup>10</sup>  | 2,69 x 10 <sup>2</sup>                           | 0,98           |
| <b>3b</b> | 14,52             | 1,54 x 10 <sup>3</sup>                          | 2,71 x 10 <sup>10</sup>  | 2,07 x 10 <sup>3</sup>                           | 0,72           |
| <b>3c</b> | 15,25             | 1,69 x 10 <sup>3</sup>                          | 2,98 x 10 <sup>10</sup>  | 3,07 x 10 <sup>3</sup>                           | 0,96           |
| <b>3d</b> | 30,98             | 4,03 x 10 <sup>3</sup>                          | 7,10 x 10 <sup>10</sup>  | 3,83 x 10 <sup>3</sup>                           | 1,08           |

<sup>a</sup>Supressão de fluorescência =  $(I_{\text{inicial}} - I_{\text{final}}) / I_{\text{inicial}} \times 100$ ; <sup>b</sup> Constante de supressão de fluorescência de Stern–Volmer; <sup>c</sup>Constante de velocidade de supressão de Stern–Volmer; <sup>d</sup>Constante aparente de ligação; número de sítios de ligação.

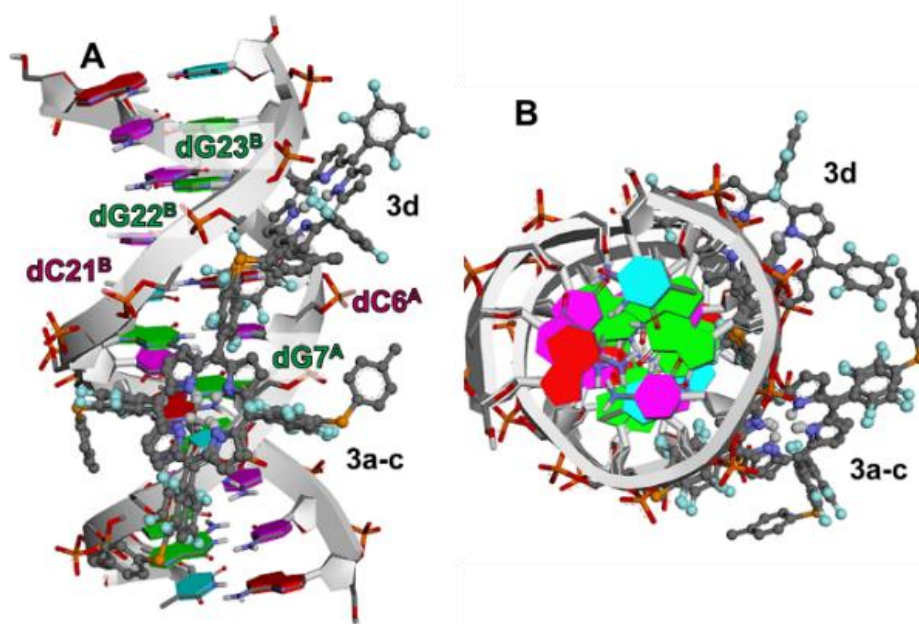
Os valores relativamente mais baixos de supressão de fluorescência e constante de ligação obtidos para os compostos estudados sugerem que há uma interação fraca entre os compostos e a estrutura de HSA. Este fato pode ser atribuído à estrutura volumosa das porfirinas. Como exemplo, a porfirina **3d** quando adicionada apresenta inibição na intensidade de emissão de fluorescência da HSA (Figura 34). Além disso, o número de sítios de ligação (n) em todos os compostos entre 0,7 e 1,10 sugere a presença de possíveis sítios de ligação dupla para os compostos nas subunidades HSA, mais relevantes no caso de derivados de porfirinas, que podem ser atribuídos à estereoquímica desfavorável para interagir na subunidade da proteína, confirmado por cálculos de *docking* molecular.

Além disso, os valores encontrados para constante de supressão (K<sub>SV</sub>) e constante aparente de ligação (K<sub>app</sub>) entre HSA e porfirinas estão de acordo com a literatura (AN et al., 2009)(HU et al., 2017). A supressão de fluorescência controlada por difusão normalmente resulta em valores de k<sub>q</sub> próximos a 10<sup>10</sup> M<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup>, o que é considerado como o maior valor possível em solução aquosa.

### 5.6.1 *docking* molecular de DNA com porfirinas (3a-d)

Simulações de *docking* molecular foram usadas para entender os modos de ligação dos compostos **3a-d** com o CT-DNA. Em geral, o *docking* molecular mostrou que os derivados de selenoaril-porfirina interagem na região do sulco menor, com praticamente metade da estrutura da molécula intercalada com o DNA (Figura 35).

Figura 35. Visão geral das interações entre o DNA e os compostos **3a-d** (A). Vista superior do modo de ligação de **3a-d** com DNA (B). Ambos os compostos interagem na região do sulco menor do DNA. Anéis em vermelho, azul, rosa e verde (no DNA), indicando desoxideno.



Fonte: autora

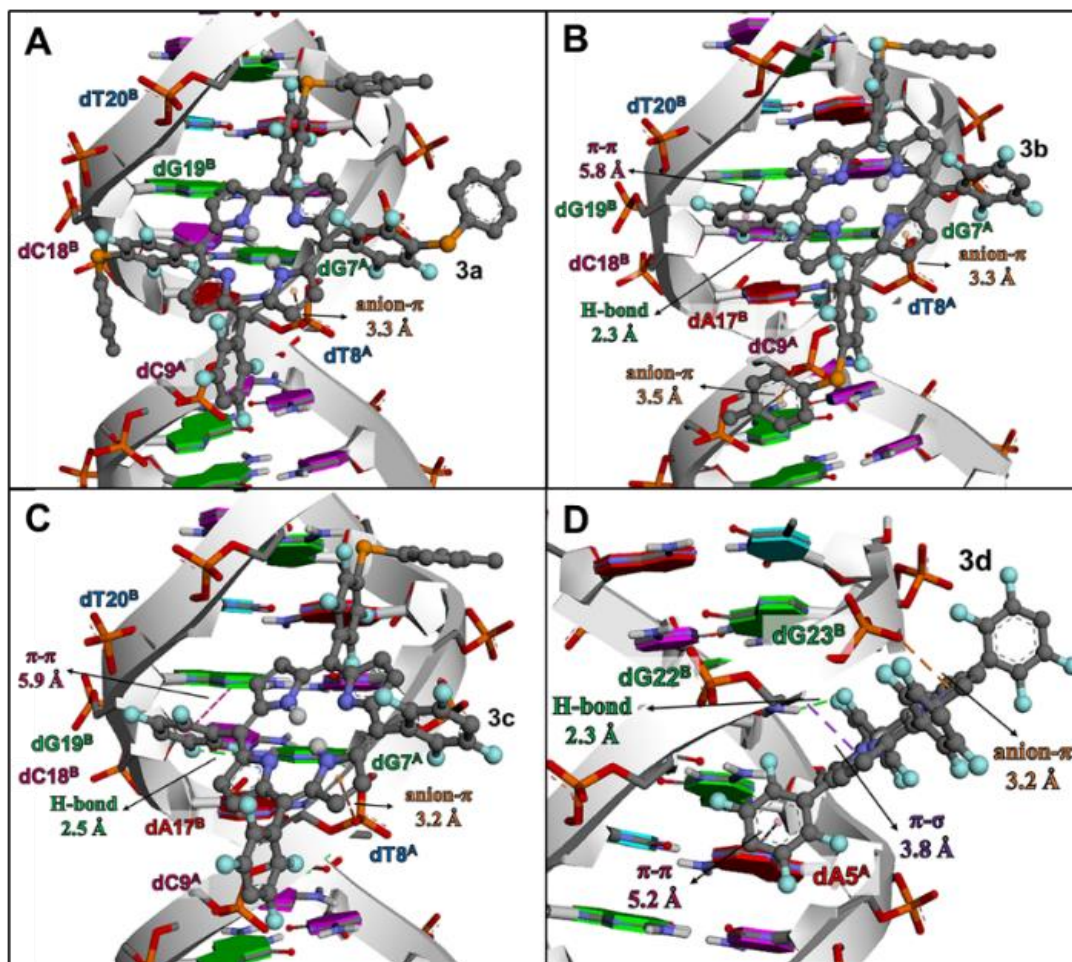
Os compostos **3a-c** apresentaram uma forma de ligação muito semelhante, interagindo principalmente com os nucleotídeos dG19<sup>B</sup>, dG7<sup>A</sup> e dT8<sup>A</sup> por interação hidrofóbica  $\pi$ - $\pi$ , ligações de H e interação eletrostática ânion- $\pi$ , respectivamente (Figura 36 A-C). Por outro lado, a molécula **3d** interage com dG22<sup>B</sup>, dG23<sup>B</sup> e dA5<sup>A</sup> por ligações H (e  $\pi$ - $\sigma$ ),  $\pi$ -ânion e  $\pi$ - $\pi$  (Figura 36 D).

Geralmente, os compostos apresentaram interações eletrostáticas  $\pi$ -ânion entre os grupos fosfato (dos resíduos nucleotídicos), o anel pirrol e o grupo fenil dos derivados das selenoaril-porfirinas, interações hidrofóbicas  $\pi$ - $\pi$  entre o anel de purina da desoxiguanosina e desoxiadenosina e o anel benzênico dos compostos **3a-d**, além de ligações de H entre as porções flúor e os grupos amino dos resíduos de desoxiguanosina.

Os dados termodinâmicos preditos ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) indicaram que todos os derivados da selenoaril-porfirina apresentam uma interação espontânea com o fragmento de DNA [3a (-9,7 kcal / mol); 3b (-10,0 kcal / mol); 3c (-10,5 kcal / mol); 3d (-10,3 kcal / mol)], respectivamente. As interações dos derivados selenoaril-porfirina no sulco menor do DNA demonstraram que essas moléculas se ligam

de modo semelhante a outras porfirinas (PENG et al., 2016)(ROMERA et al., 2010).

Figura 36. Interações entre o DNA e os compostos **3a-d** (A-D) obtidos pelo *docking* molecular. Ambos os compostos interagem na região do sulco menor do DNA. As linhas pontilhadas verdes indicam ligações H; linhas em laranja representam as interações anion- $\pi$ ;

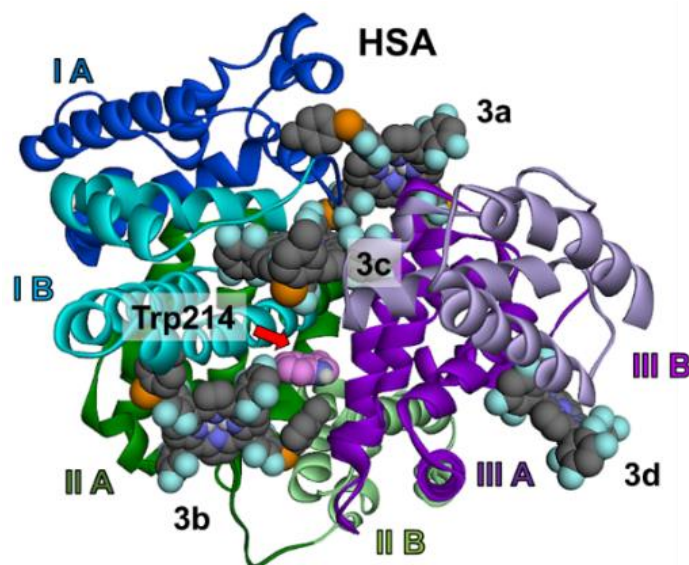


Fonte: autora

### 5.7 *docking* molecular de HSA com porfirinas (3a-d)

Para melhor entender as interações entre os compostos **3a-d** com a HSA, foi realizada uma simulação de *docking* molecular. De acordo com o *docking*, as selenoaril-porfirinas (3a-d) interagem em diferentes locais da HSA (Figura 37). A molécula **3a** interage entre os subdomínios IA, IIA e IIIA da HSA; a **3b** liga-se entre os subdomínios IB e IIA e é o composto que está mais próximo do resíduo Trp214 (7,9 Å); a **3c** está ancorada entre os subdomínios IB e IIIB; e a molécula **3d** interage com os subdomínios IIIA e IIIB da HSA.

Figura 37. Visão geral do modo de ligação dos compostos **3a-d** na proteína HSA. Os domínios HSA I A (1-112); I B (113-195); II A (196-303); II B (304-383); III A (384-500) e III B (501-583), foram baseados em relatos de Wang et al., (WANG et al., 2016) e Ramezani e Rafii-Tabar (RAMEZANI; RAFII-TABAR, 2015).



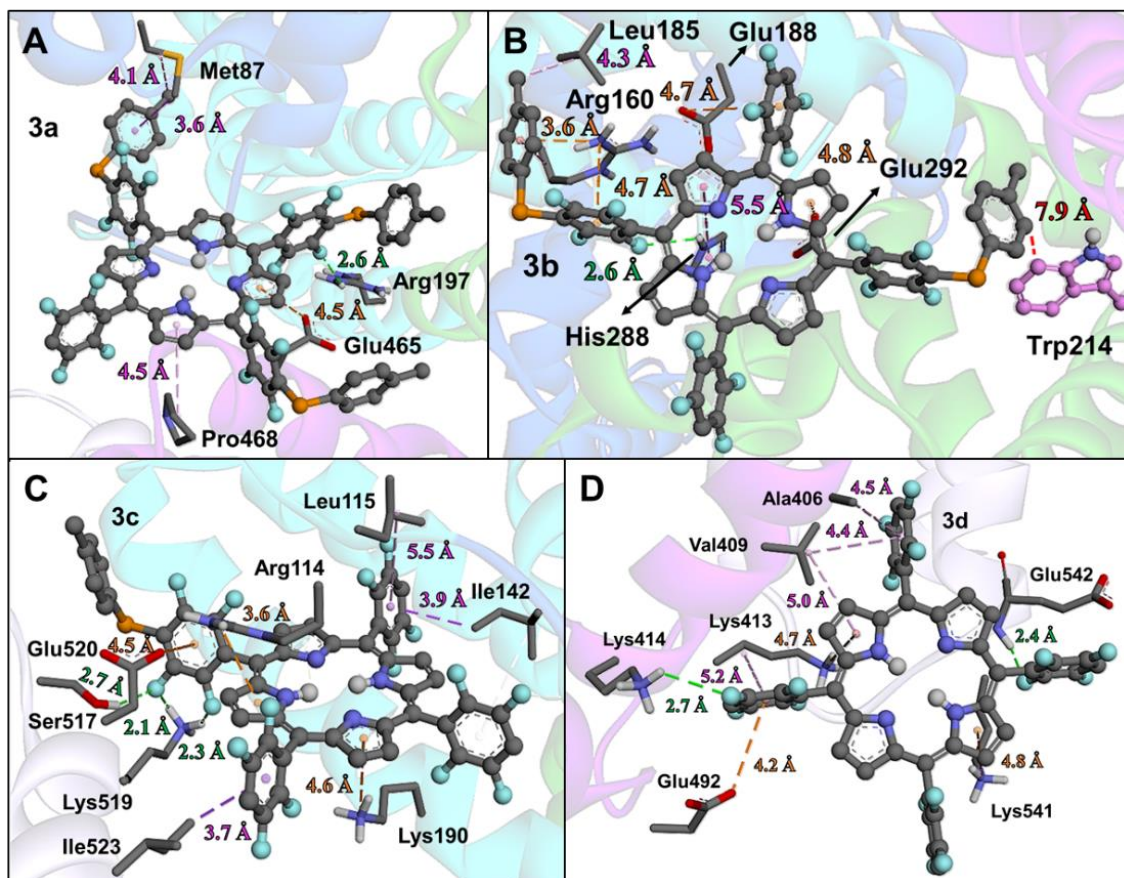
Fonte: autora

Em geral, todas as porfirinas **3a-d** interagem na região da superfície da HSA, provavelmente devido ao tamanho e à estereoquímica das selenoaril-porfirinas. De acordo com as simulações de *docking*, a adição e remoção da porção selenoaril interfere no modo de ligação das moléculas, visto que, os compostos **3a-d** mostraram interações hidrofóbicas com os resíduos Met, Pro, Leu, His, Ile, Val e Ala; interações eletrostáticas com Glu, Arg e Lys; e ligações de H com os resíduos Arg, His, Ser, Lys e Glu (figura 38).

A previsão de  $\Delta G_{\text{bind}}$  mostrou que os compostos **3a-d** interagem espontaneamente com a HSA [**3a** (-11,5 kcal / mol); **3b** (-11,3 kcal / mol); **3c** (-12,2 kcal / mol); **3d** (-11,2 kcal / mol) ], respectivamente. Destaca-se que ligação de derivados de porfirinas em mais de um sítio de HSA já é descrita na literatura (PENG et al., 2016)(SUŁKOWSKI et al., 2016).



Figura 38. Interações entre os compostos **3a-d** (A-D) com a HSA obtida do *docking* molecular. As linhas pontilhadas verdes indicam ligações H; linhas em laranja representam as interações eletrostáticas anion- $\pi$  e cation- $\pi$ ; Linhas de pontos cor-de-rosa mostram as interações hidrofóbicas  $\pi$ - $\pi$  e alquil- $\pi$ .

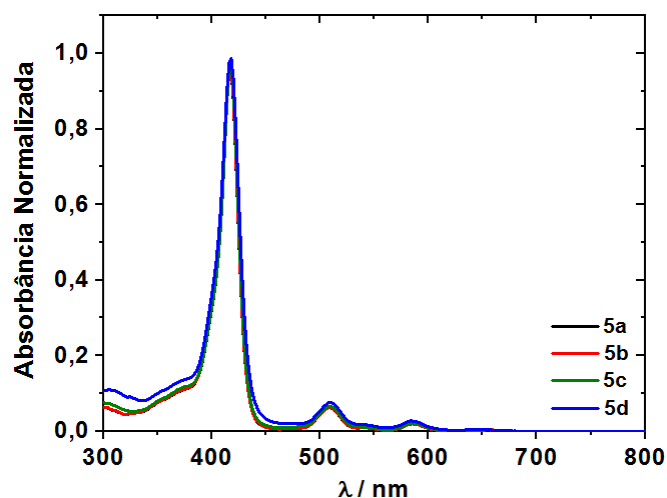


Fonte: autora

## 5.8 Análise da absorção no UV-visível dos compostos **5a-d**

As porfirinas **5a-d** em solução de clorofórmio mostram uma banda de transição Soret ( $\pi \rightarrow \pi^*$  anel macrocíclico) a cerca de 417 nm e quatro bandas de transições Q vibrônica a 508-652 nm (Figura 39). Todas as porfirinas apresentaram a mesma absorvidade molar ( $\log \epsilon$ ; Tabela 8), que está de acordo com as estruturas moleculares. Além disso, observa-se que a porção tioaril ligada a grupos que doam ou retiram elétrons não altera a posição da banda ou magnitude do pico, e, portanto, é muito provável que tenha sido sobreposto devido a intensidade da banda Soret.

Figura 39. Espectros de absorção UV-vis de tio-porfirinas **5a-d** em DCM.



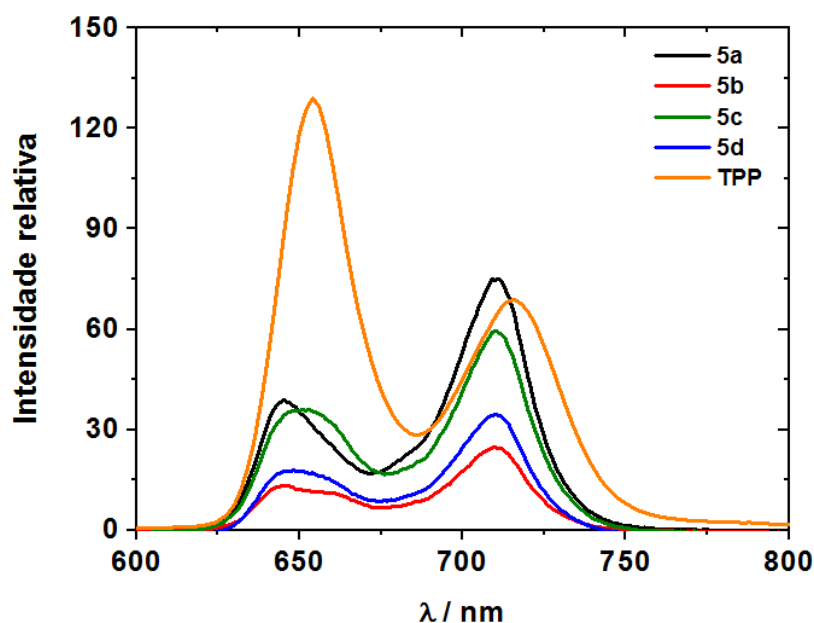
Fonte: autora

## 5.9 Análise espectral de emissão dos compostos **5a-d**

A análise espectral de emissão de tioaril-porfirinas **5a-d** dissolvidas em solução de clorofórmio seco ( $\lambda_{exc} = 418$  nm) são mostrados na Figura 40 e na Tabela 8. Os rendimentos quânticos de emissão de fluorescência ( $\Phi_f$ ) dos derivados de enxofre foram estimados utilizando a referência 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (TPP) por método comparativo. Os valores de rendimento quântico de fluorescência foram determinados a uma densidade óptica (DO) no intervalo de 0,01 a 0,03.

Neste sentido, pode ser observado que inserindo as unidades aril-enxofre com diferentes grupos eletrônicos na posição *para*, o rendimento quântico de fluorescência diminuiu comparado ao padrão TPP. Isto pode ser explicado pela presença dos átomos de halogênio nas porções *meso*-aril (AURAS et al., 2018). Além disso, o fator de acoplamento *spin*-órbita dos átomos de halogênio diminuiu os canais radiativos (emissão de luz) e aumentou o processo de canal não radiativo (liberação de calor).

Figura 40. Espectro de emissão dos derivados porfirínicos (excitação  $\lambda_{exc}= 418$  nm) em solução de  $CHCl_3$  saturada de argônio



Fonte: autora

Tabela 8. Dados de Absorção e emissão de derivados de porfirina **5a-d**.

| Porfirina | nm, $\lambda$ ( $\log \epsilon$ ; $M^{-1}cm^{-1}$ ) <sup>a</sup> | Emissão (nm) <sup>b</sup> | $\Phi_f$ <sup>c</sup> |
|-----------|--|---------------------------|-----------------------|
| <b>5a</b> | 417 (5,00), 509 (3,81), 542 (3,00), 585 (3,30),<br>648 (2,60)    | 648, 710                  | 0,03                  |
| <b>5b</b> | 417 (5,04), 509 (3,85), 540 (3,04), 585 (3,34),<br>647 (2,65)    | 648, 710                  | 0,01                  |
| <b>5c</b> | 418 (5,02), 508 (3,86), 542 (3,08), 585 (3,36),<br>652 (2,62)    | 652, 710                  | 0,02                  |
| <b>5d</b> | 418 (5,07), 509 (3,96), 543 (3,30), 584 (3,52),<br>646 (2,69)    | 649, 710                  | 0,01                  |

<sup>a</sup> Medido em clorofórmio ( $[ ]=10^{-5}M$ );

<sup>b</sup> Medido em solução de clorofórmio seco ( $[ ] = 2,0 \times 10^{-7} M$ ) a 298 K, ( $\lambda_{exc} = 418$  nm);

<sup>c</sup> TPP em DCM com padrão ( $\Phi_f = 0,15$ )<sup>(GOMES et al., 2013)</sup>

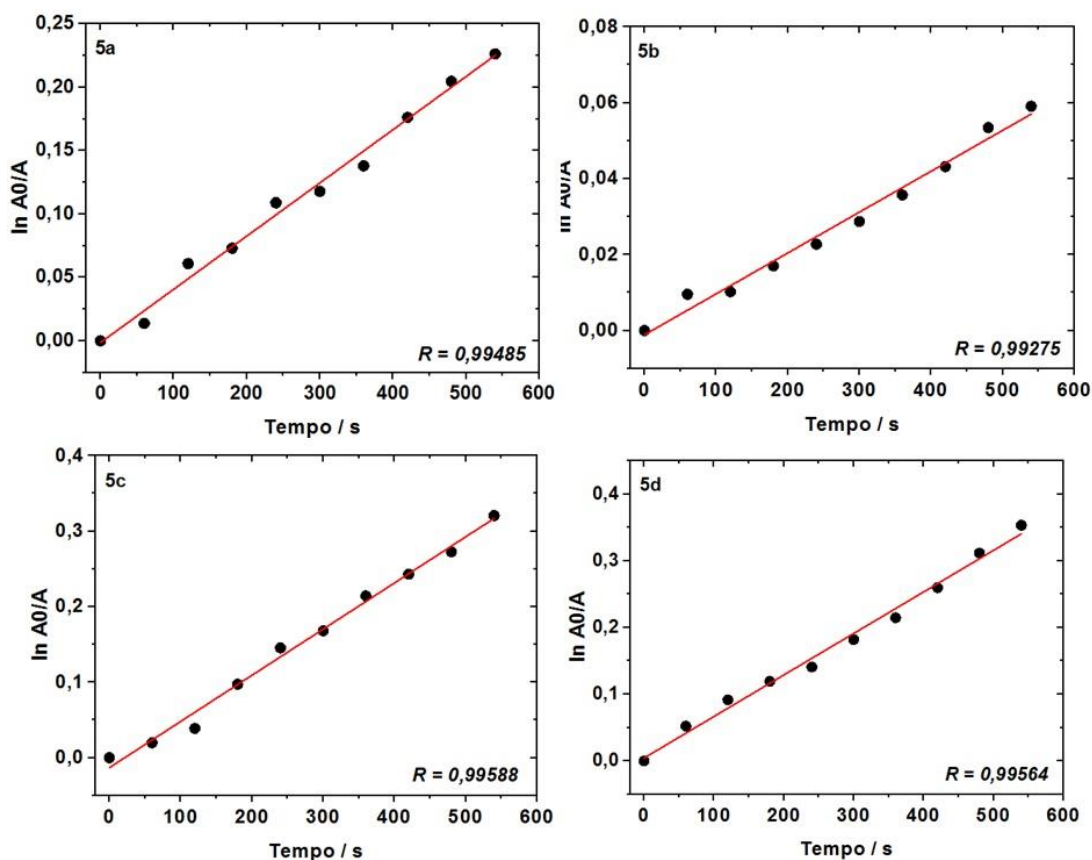
## 5.10 Geração de Oxigênio Singlete ( $^1O_2$ ) dos compostos 5a-d

A capacidade de porfirinas **5a-d** para produzir  $^1O_2$  foi monitorada usando 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) em solvente aprótico (DMF)(PIVETTA et al., 2017). O método de foto-oxidação do DPBF tem sido amplamente utilizado, como mencionado anteriormente, para analisar quantitativamente a produção de

oxigênio singleto, pois o produto da reação (1,2-dibenzoilbenzeno) não absorve na região visível.

Neste ensaio, as alterações na absorbância do DPBF estão diretamente relacionadas a quantidade de  $^1\text{O}_2$  gerada (SPILLER et al., 1998). Isso pode ser observado na Figura 41, na qual o perfil cinético de primeira ordem da foto-oxidação de DPBF na presença das tioaril-porfirinas **5a-d** são destacados e foram monitorados a 415 nm durante a irradiação com um sistema de LEDs de luz vermelha ( $\lambda = 635$  nm) em solução de DMF.

Figura 41. Perfil cinético na presença de tioaril-porfirina **5a-d**



Fonte: autora

Desta forma, um dos parâmetros importantes para avaliar o potencial fotodinâmico de um fotossensibilizador é a produção de oxigênio singleto, que é uma das mais importantes espécies reativas de oxigênio (ROS) em processos fotofísicos e fotoquímicos (PREUSS et al., 2014). Neste estudo, o rendimento

quântico de oxigênio singleto de porfirinas **5a-d** foi determinado, e os valores são apresentados na Tabela 9.

Como observado na Tabela 9, o  $\Phi_{\Delta}$  encontrado para o composto **5a** está próximo do padrão TPP e da TPPF<sub>20</sub> em vários solventes (GRANCHO et al., 2002)(PINEIRO et al., 2001)(CAVALEIRO et al., 2001). No caso das porfirinas **5b – d**, que têm unidades S-arílicas com diferentes substituintes (b: 4-CH<sub>3</sub>, c: 4-Cl, d: 2-NH<sub>2</sub>), os valores observados são menores que TPP ( $\Phi_{\Delta}^{\text{std}} = 0,66$ )(PREUSS et al., 2014)(PINEIRO et al., 1998), apesar de ainda exibirem uma capacidade de gerar oxigênio singleto. Esse comportamento pode ser atribuído a desativação eletrônica do estado excitado devido a presença dos substituintes nas porções tioaril. Apesar da capacidade de derivados de enxofre-porfirina para gerar <sup>1</sup>O<sub>2</sub> é, em geral, menor do que a TPP ou a TPPF<sub>20</sub>, todos os derivados de tioaril, depois de serem expostos a luz vermelha na presença de oxigênio, demonstraram potencial para aplicações de terapia fotodinâmica (PDT).

Tabela 9. Rendimento quântico de oxigênio singleto de tioaril-porfirinas **5a-d**

| Porfirina          | $\Phi_{\Delta}$   |
|--------------------|---|
| <b>5a</b>          | 0,67  |
| <b>5b</b>          | 0,10  |
| <b>5c</b>          | 0,11  |
| <b>5d</b>          | 0,14  |
| TPP*               | 0,66  |
| TPPF <sub>20</sub> | 0,70 <sup>a</sup> (GRANCHO et al., 2002); 0,80 <sup>b</sup> (PINEIRO et al., 2001),<br>0,60 <sup>c</sup> (CAVALEIRO et al., 2001) |

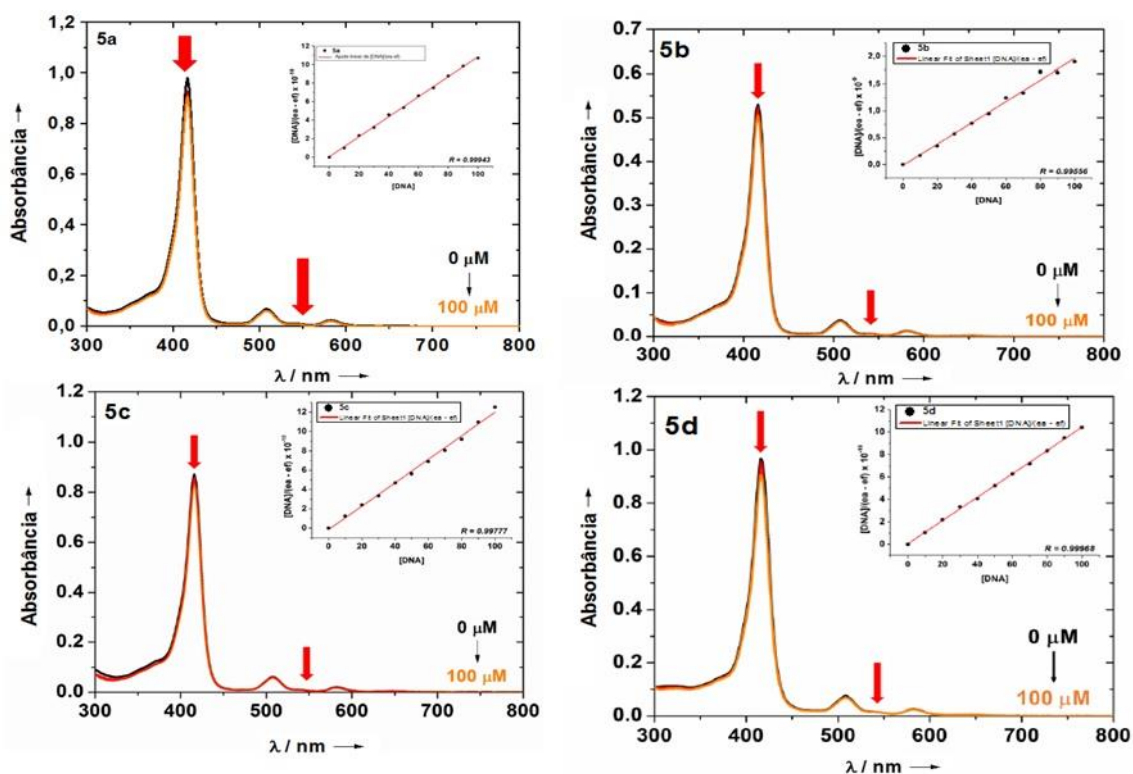
\*padrão em solução de DMF; <sup>a</sup> em benzeno; <sup>b</sup> em CHCl<sub>3</sub>; <sup>c</sup> em tolueno

Como observado na Tabela 9, os rendimentos quânticos de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ) encontrados para os compostos **5b-d** são menores quando comparados com as selenoaril-porfirinas, exceto o composto **5a** que apresenta ( $\Phi_{\Delta}$ ) maior que os compostos **3a-d**. No caso das porfirinas selenoaril-porfirinas **3a-c**, que possuem frações Se-arila na posição *meso*-arila dos anéis C<sub>6</sub>F<sub>4</sub>, os valores observados são menores que TPP e C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>P ( $\Phi_{\Delta}^{\text{std}} = 0,66$  para TPP e  $\Phi_{\Delta}^{\text{std}} = 0,59$  para C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>P)(PINEIRO et al., 1998), embora ainda apresentam uma capacidade moderada de gerar oxigênio singleto.

### 5.11 Ensaios de ligação ao DNA por análises de absorção e emissão dos compostos 5a-d

A interação de derivados de porfirina **5a-d** com CT-DNA também foi estudada por espectroscopia de absorção UV-vis na faixa de 300-800 nm em uma mistura de DMSO (2%)-Tris-HCl (pH 7,4). Em geral, as porfirinas interagem com o DNA e diminuem a banda de transição a uma faixa visível (banda de Soret). O efeito de diferentes concentrações de CT-DNA nas bandas de transição de Soret e Q no espectro de absorção dos compostos **5a-d** é apresentado na Figura 42.

Figura 42. Espectros de absorção da titulação CT-DNA UV-vis dos derivados **5a-d** numa solução tampão DMSO (1%) / Tris-HCl (pH 7,4).



Fonte: autora

Desta forma, mediante interação com várias concentrações de CT-DNA, as porfirinas com S-aryl revelaram mudanças características (ligeira hipocromicidade;  $H\%$ ) nos espectros eletrônicos de absorção (Tabela 10). A

adição de várias faixas de concentrações de CT-DNA (0 a 100  $\mu\text{M}$ ) demonstrou diminuição na intensidade da banda de Soret. Nenhum desvio para o vermelho foi observado em todos os casos, o que pode indicar a não interação eletrostática das moléculas de porfirina com os ácidos nucleicos (Figura 42; Tabela 10). Além disso, as mudanças na intensidade da banda de transição Soret  $\pi \rightarrow \pi^*$  podem ser devidas à interação da estrutura aromática dos derivados tetrapirrólicos e / ou grupos periféricos, o que é provavelmente devido a interações de ligação de H com as nucleobases do DNA.

Este comportamento pode ser atribuído pela presença do macrociclo tetrapirrólico  $\pi$ -rico em densidade eletrônica na molécula que pode interagir com o DNA por meio de interações hidrofóbicas, como relatado anteriormente em alguns casos de derivados de porfirina, e possivelmente por forças de ligação de H nos sistemas fluorados (AURAS et al., 2016) (AURAS et al., 2018).

Tabela 10. Dados de ligação ao DNA de derivados de tioaril porfirina **5a-d**

| Porfirina | Absorção  |                                   |  | Emissão   |   |   |
|-----------|-----------|-----------------------------------|--|-----------|---|---|
|           | $H(\%)^a$ | $\Delta\lambda$ (nm) <sup>b</sup> | $K_b$ ( $\text{M}^{-1}$ ) <sup>c</sup> | $Q(\%)^d$ | $K_{sv}$ ( $\text{M}^{-1}$ ) <sup>e</sup> | $k_q$ ( $\text{s}^{-1}\text{M}^{-1}$ ) <sup>f</sup> |
| <b>5a</b> | 7,65      | 0,0                               | $2,08 \times 10^6$                     | 32,58     | $4,92 \times 10^3$                        | $2,14 \times 10^{12}$                               |
| <b>5b</b> | 4,72      | 0,0                               | $1,27 \times 10^6$                     | 3,60      | $3,30 \times 10^2$                        | $1,43 \times 10^{11}$                               |
| <b>5c</b> | 3,22      | 0,0                               | $0,76 \times 10^6$                     | 21,28     | $2,66 \times 10^2$                        | $1,15 \times 10^{12}$                               |
| <b>5d</b> | 6,31      | 0,0                               | $2,86 \times 10^6$                     | 39,56     | $6,57 \times 10^3$                        | $2,85 \times 10^{12}$                               |

$H(\%)^a = (\text{Absinicial} - \text{Absfinal}) / (\text{Absinicial}) \times 100$  (banda de Soret);  $\Delta\lambda$  (nm)<sup>b</sup> =  $\lambda_{\text{final}} - \lambda_{\text{inicial}}$  (banda de Soret); <sup>c</sup> Constante de análise de ligação por UV-vis CT-DNA; <sup>d</sup>  $Q(\%) = (\text{Emissão inicial} - \text{Emissão final}) / (\text{Emissão inicial}) \times 100$ ; <sup>e</sup> Espectro de emissão por Constante de Stern-Volmer inibindo o brometo de etídio -DNA (BE-DNA); <sup>f</sup> Análise da velocidade da emissão por Constante de Stern-Volmer inibindo o brometo de etídio -DNA (BE-DNA).

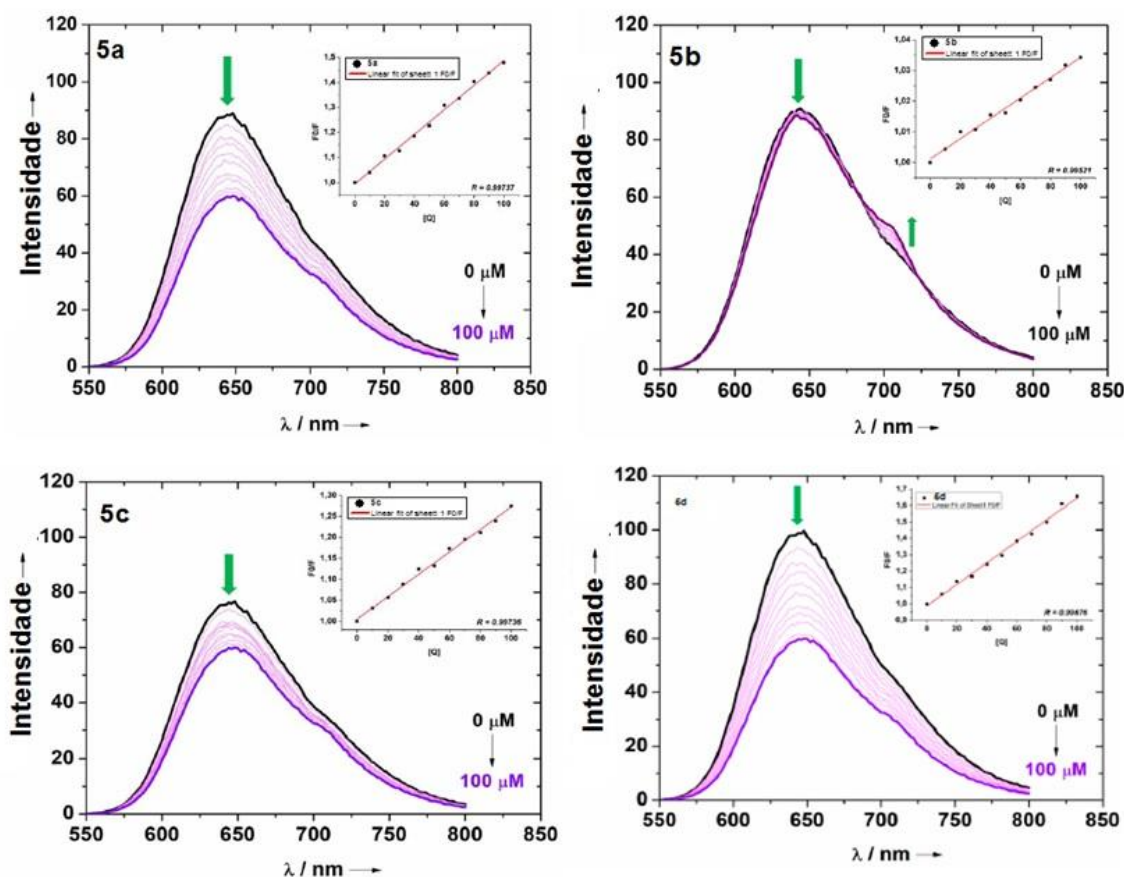
Além disso, as constantes de ligação intrínsecas ( $K_b$ ) das porfirinas **5a-d** foram calculadas como descrito na Tabela 10. No presente estudo, os derivados de porfirina contendo unidades S-arila demonstraram uma ligação mais forte ao CT-DNA ( $K_b \sim 10^6 \text{ M}^{-1}$ ), seguindo a ordem crescente dos dados de  **$K_b$** :  $5c < 5b < 5a < 5d$ .

Os estudos de competição no DNA foram realizados usando experimentos de emissão de fluorescência com CT-DNA na presença de brometo de etídio

(BE) e podem fornecer confirmação adicional da afinidade de ligação dos compostos.

Os espectros de fluorescência de emissão foram monitorados à medida que concentrações crescentes de porfirinas foram adicionadas por titulação a uma concentração fixa de CT-DNA pré-tratada com brometo de etídio (BE) (Figura 43).

Figura 43. Espectros de fluorescência de emissão de ligação de BE a CT-DNA na presença de porfirinas **5a-5d** em uma mistura de DMSO (2%)-Tris-HCl (pH 7,4) a  $\lambda_{exc} = 510$  nm. A seta indica as mudanças nas intensidades de fluorescência em amostras de concentrações crescentes. O gráfico em destaque mostra o gráfico de  $F_0 / F$  versus [porfirina].



Fonte: autora

Quando os derivados de tioaril-porfirina foram adicionados ao DNA pré-tratado com BE, a intensidade de emissão induzida pelo complexo BE-DNA diminuiu (Figura 43). Como exemplo, observou-se a interação do complexo BE-DNA com a porfirina **5d**, que mostrou forte emissão em  $\lambda_{em} = 644$  nm quando



excitada em  $\lambda_{exc}= 510$  nm, além de apresentar espectro de emissão do BE ligado ao CT-DNA tanto na ausência como na presença da porfirina.

Os resultados demonstraram uma supressão da intensidade de fluorescência do complexo BE-DNA após a adição de concentrações crescentes de cada derivado de porfirina. Este comportamento espectral pode ser atribuído à competição da porção porfirina com o BE sobre a ligação à estrutura do DNA. Neste contexto, os valores de  $K_{sv}$  sugerem o modo de competição da ligação ao BE. Além disso, os valores mais altos observados para a constante de supressão ( $k_q$ ) indicaram uma interação estática entre as porfirinas e o DNA (Tabela 10).

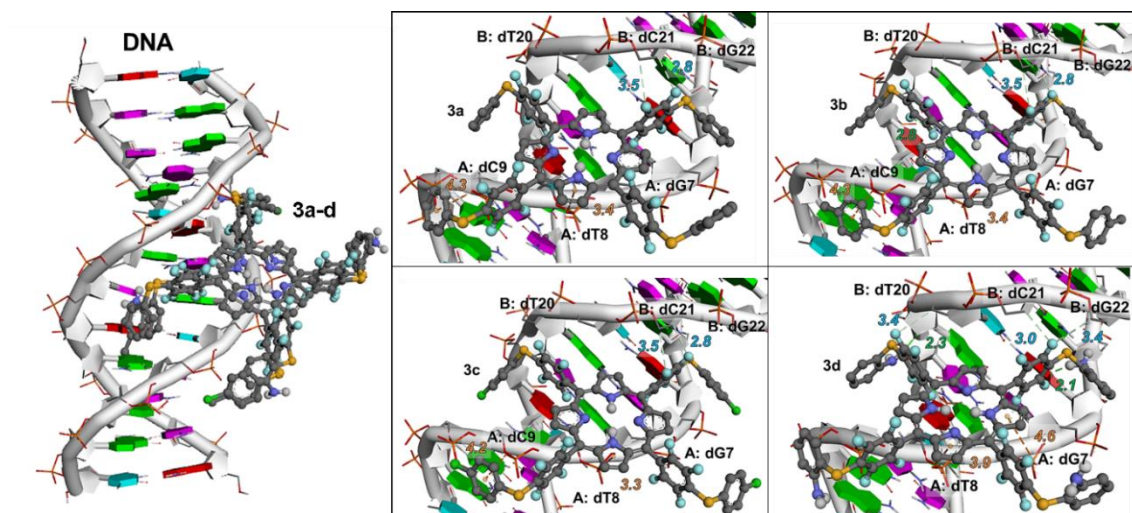
Os gráficos destacados na parte superior de cada figura, Figura 43, mostram o gráfico de Stern-Volmer, que foi obtido como a relação entre as concentrações de  $F_0/F$  e CT-DNA. Os valores da constante de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ) e da constante de supressão ( $k_q$ ) são apresentados na Tabela 10.

### 5.12 *docking* molecular de DNA com porfirinas (5a-d)

Simulações de *docking* molecular foram usadas para entender os modos de ligação dos compostos **5a-d** com o DNA. O *docking* molecular mostrou que os derivados de porfirina interagem na região do sulco menor, com uma forma de ligação muito semelhante (Figura 44).

Todas as moléculas se ligam na região entre os resíduos de nucleosídeo dG-7, dT-8, dC-9 da cadeia de DNA A, dG-20, dC-21 e dG-22 da cadeia de DNA B (Figura 44, lado esquerdo). De fato, alguns estudos indicaram que os híbridos tioaril-porfirina podem se ligar ao sulco menor do DNA (ARBA; TJAHJONO, 2015)(BENNETT et al., 2000).

Figura 44. Visão geral das interações entre o DNA e os compostos 5a-d. Ambos os compostos interagem na região do sulco menor do DNA. As linhas pontilhadas representam as respectivas interações: verde indica ligações de H; laranja representa as interações ânion- $\pi$ ; azul claro indica ligações carbono-hidrogênio. Anéis em vermelho, azul, rosa e verde (no DNA) indicam (dG), (dT), (dC) e (dG), respectivamente. As distâncias das interações estão em Å.



Fonte: autora

Em geral, os compostos apresentaram interações eletrostáticas  $\pi$ -ânion entre os grupos fosfato (do DNA), o anel pirrol e o anel aril dos derivados das tioaril-porfirinas, além de ligações de H entre as porções flúor e os grupos amino das bases de DNA. Estas observações indicam que os grupos substituintes não interferem significativamente nas interações, apesar do composto **5d** (que possui o grupo *orto*-amino) apresentar mais ligações de H com o DNA. Além disso, observou-se a importância da ligação carbono-hidrogênio com a porção flúor (C-H...F-C)(BISSANTZ; KUHN; STAHL, 2010)(BOER; CANALS; COLL, 2009)(MOCILAC; OSMAN; GALLAGHER, 2016)(THALLADI et al., 1998) como uma interação que estabiliza o aduto tioaril-porfirinas-DNA. Os dados termodinâmicos teóricos previstos ( $DG_{\text{bind}}$ ) indicaram que todos os derivados de tioaril-porfirina apresentaram interações espontâneas com fragmentos de DNA (5a (-8,8 kcal/mol); 5b (-9,3 kcal/mol); 5c (-9,3 kcal/mol), 5d (-8,8 kcal/mol). Provavelmente, isso ocorre devido ao impedimento estérico dos derivados de tioaril-porfirina, uma vez que eles se ligam ao sulco menor do DNA e não se intercalam (BOER; CANALS; COLL, 2009).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Considerando-se os objetivos propostos para o presente trabalho e tendo em vista os resultados obtidos, algumas considerações podem ser feitas frente ao estudo realizado.

Uma série de 4 moléculas inéditas seleno e hidrogenoporfirinas (**3a-d**) foi preparada, utilizando uma rota sintética eficiente, partindo da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorfenil)porfirina. A estratégia sintética adotada, demonstrou-se bastante satisfatória do ponto de vista sintético, visto que está envolvida apenas uma etapa reacional para essa preparação, dependendo apenas de controle rígido do tempo reacional para a formação dos respectivos produtos mistos em bons rendimentos.

Também, uma série de 4 moléculas inéditas tetra tioporfirinas simétricas (**5a-d**) foi preparada, empregando a mesma rota sintética citada anteriormente, partindo da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorfenil)porfirina e dissulfetos de diarila. A estratégia sintética empregada neste caso, demonstrou-se bastante satisfatória do ponto de vista sintético, pois a formação dos produtos ocorre com ótimos rendimentos em apenas 15 minutos de reação. Além disso, o protocolo sintético mostrou-se abrangente para outros dissulfetos.

Nesta metodologia desenvolvida para a síntese de seleno, hidrogeno e tioporfirinas foi possível a formação dos produtos em ótimos rendimentos, em curto tempo de reação, sem a utilização de base no meio reacional, com emprego de reagentes de fácil manuseio e inodoros, diferentemente do que se encontra na literatura, por exemplo, para a síntese de tioporfirinas (TUXEN et al., 2011) (GOMES et al., 2011).

Todos os compostos obtidos tiveram suas propriedades fotofísicas e interações biomoleculares analisadas durante o curso deste trabalho.

Neste sentido, os compostos sintetizados seleno e hidrogenoporfirinas (**3a-d**) e tetra tioporfirinas simétricas (**5a-d**) foram analisados com espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-vis e estudados quanto a geração de oxigênio singleto e rendimentos quânticos de fluorescência. Desta forma, todas as porfirinas estudadas apresentaram valores inferiores ao padrão (TPP) de geração de oxigênio singleto e rendimentos quânticos de fluorescência, e entre eles, os rendimentos quânticos de oxigênio singleto ( $\Phi_{\Delta}$ ) encontrados para os

compostos **5b-d** são menores quando comparados com as selenoaril-porfirinas **3a-d**, exceto o composto **5a** que apresentou maior rendimento quântico de oxigênio singlete ( $\Phi_{\Delta}$ ) que os compostos **3a-d**. Os compostos **3a-d** também foram estudados quanto a sua fotoestabilidade e apresentaram resultados satisfatórios, sendo uma característica apreciável segundo os princípios da terapia fotodinâmica.

No que tange as interações biomoleculares desses compostos, as oito porfirinas estudadas demonstraram um efeito hipercrômico que pode ser indício de interação destes compostos com o DNA. Estudos de interações através de *docking* molecular demonstraram que elas interagem preferencialmente no sulco menor do DNA.

Da mesma forma, os ensaios de ligação da HSA com as porfirinas sintetizadas (**3a-d**) mostraram através da variação da intensidade na faixa de emissão que essas estruturas podem interagir com o sítio ativo da proteína, no entanto, há uma interação fraca entre os compostos e a estrutura de HSA. Estudos de interações através de *docking* molecular mostraram nesses casos que a adição e remoção da porção selenoaril interfere no modo de ligação das moléculas.

Quanto aos estudos dos compostos **5a-d** de competição no DNA, os valores mais altos observados para a constante de supressão ( $k_q$ ) indicaram uma interação estática entre as porfirinas e o DNA.

Como perspectivas para esse trabalho, destacam-se estudar as moléculas sintetizadas em termos de atividade biológica, além de complexa-las com alguns metais para estudar as propriedades e atividades biológicas dessas novas moléculas.

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 6.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$ , RMN $^{13}\text{C}$ , RMN $^{19}\text{F}$  e RMN  $^{77}\text{Se}$  foram obtidos em espectrômetros Bruker Avance III, que operam na frequência de 600 MHz para hidrogênio, 565 MHz para flúor e 114 MHz para selênio (Departamento de Química – UFSM). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão relacionado em parte por milhão (PPM) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno para os espectros de RMN  $^1\text{H}$ . Para os espectros de RMN  $^{77}\text{Se}$ , disseleneto de difenila ( $\delta = 463$  ppm) foi utilizado como padrão interno (MENEZES et al., 2003). Entre parênteses a multiplicidade (s = simpleto, d = duplete, dd = duplo duplete, m = multiplete), o número de hidrogênios deduzidos na integral relativa e a constante de acoplamento ( $J$ ) expressa em Hertz.

#### 6.1.2 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-visível (UV-vis)

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e do visível foram obtidos em um espectrofotômetro UV-vis 2600 Shimadzu, localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria. As soluções foram feitas em diclorometano (DCM) em concentrações de  $1,0 \times 10^{-6}$  M. A partir disso, pode-se calcular o valor de coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ , em  $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), utilizando a equação  $A = \epsilon bc$ , onde  $A$  é a absorbância,  $b$  o caminho ótico ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $c$  a concentração ( $\text{mol L}^{-1}$ ).

#### 6.1.3 Espectroscopia de emissão

Os espectros de emissão fluorescente foram obtidos em um espectrofluorímetro Cary50 Eclipse Fluorescence Spectrophotometer (Agilent Technologies) localizado no laboratório de análises químicas LACHEM da Universidade Federal de Santa Maria. O comprimento de onda máximo de absorção foi usado como o comprimento de onda de excitação para medições de fluorescência.

#### 6.1.4 Fotoestabilidade

A fotoestabilidade dos derivados de porfirina **3a-d** foi determinada medindo a diminuição da absorvância na banda de Soret em solução de DMF antes e depois da irradiação com luz branca (400-800 nm) a uma taxa de fluência de 50 mW cm<sup>-2</sup> durante 30 min.

#### 6.1.5 Geração de oxigênio singleto (Ensaio DPBF)

O ensaio utilizado para avaliar a geração de oxigênio singleto, foi através da fotodegradação de 1,3-difenilisobenzofurano (*1,3-Diphenylisobenzofuran*, DPBF)(PIVETTA et al., 2017) onde 2,0 mL de uma solução de DPBF 100 µM em DMF foram misturados com 0,5 mL (50 µM) de porfirinas. A cubeta foi completada com DMF até um volume final de 3,0 mL. Para medir a geração de espécies de <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, os espectros de absorção das soluções (amostras e padrão) foram registrados para diferentes tempos de exposição usando um sistema de matriz de LED caseiro de 635 nm posicionado a 1,0 cm da amostra, com uma taxa de fluência de 25 mW cm<sup>-2</sup> por 135 s (AURAS et al., 2018). Os rendimentos quânticos de geração de oxigênio singleto (Φ<sub>Δ</sub>) foram calculados utilizando a Equação abaixo.

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{std}} k / k^{\text{std}} \cdot I^{\text{std}} / I$$

onde,  $I^{\text{std}}/I = (1 - 10^{A_{\text{std}}})/(1 - 10^A)$ , Φ<sub>Δ</sub><sup>std</sup> é o rendimento quântico de oxigênio singleto da amostra padrão (TPP é Φ<sub>Δ</sub><sup>std</sup> = 0,66 e C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>P é Φ<sub>Δ</sub><sup>std</sup> = 0,59)(PINEIRO et al., 1998)  $k$  e  $k^{\text{std}}$  são as constantes cinéticas de fotodegradação para porfirinas e TPP ou C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>P (Padrão), respectivamente, e  $A_{\text{std}}$  e  $A$  são as absorvâncias para TPP ou C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>P e porfirinas, respectivamente.

#### 6.1.6 Ensaios de interação com biomoléculas

##### 6.1.6.1 Ensaios de absorção e emissão com CT-DNA.

As análises de interações das porfirinas com DNA de timo de bezerro (CT-DNA) foram realizadas por medidas de UV-vis em temperatura ambiente em uma

mistura de DMSO (2%)-Tris-HCl (pH 7,4). As soluções estoques dos compostos foram feitas em DMSO na faixa de  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de 300 a 800 nm. As concentrações de par de base de DNA de baixo peso molecular de timo de bezerro (CT-DNA) foi determinada por espectroscopia de absorção na região do UV-vis, usando coeficiente de absorvidade molar  $6.600 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  (por par de base) em 260 nm. Os ensaios foram conduzidos com soluções dos derivados de porfirinas em mistura de solução de DMSO e Tris-HCl, em pH 7,4, onde houve a titulação com concentrações crescentes de DNA (de 0-100  $\mu\text{M}$ ). Os espectros de absorção foram adquiridos na faixa de comprimento de onda entre 250-800 nm.

As constantes intrínsecas de ligação ( $K_b$ ) foram calculadas de acordo com o decaimento das bandas de absorção dos compostos usando a Equação 2, através de um gráfico de  $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus  $[\text{DNA}]$ .

$$[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)$$

onde  $[\text{DNA}]$  é a concentração de DNA nos pares de bases,  $\epsilon_a$  é o coeficiente de absorvidade molar ( $A_{\text{obs}} / [\text{composto}]$ ),  $\epsilon_b$  e  $\epsilon_f$  são os coeficientes de absorvidade molar das formas ligada e totalmente livre, respectivamente. Através do gráfico entre  $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus  $[\text{DNA}]$ ,  $K_b$  é obtido pela razão entre a inclinação e a interceptação da equação da reta.

Os estudos de competição de BE- DNA foram realizados usando experimentos de emissão de fluorescência. A partir de uma solução estoque das porfirinas, em DMSO, houve a adição gradual desta na cubeta de quartzo de quatro faces (comprimento do caminho de 1,0 cm) contendo brometo de etídio (BE,  $2,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>) e DNA ( $2,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) numa solução tampão Tris-HCl pH 7,4. As concentrações das porfirinas variaram de 0 a 100  $\mu\text{M}$ . As amostras foram excitadas em  $\lambda_{\text{exc}} = 510 \text{ nm}$  e os espectros de emissão foram registrados na faixa de 550 a 800 nm, após cada adição de alíquota de porfirina, 5 minutos foi o tempo de espera necessário a cada medida para permitir a incubação com o DNA. As constantes de extinção de fluorescência de Stern-Volmer (KSV) dos compostos foram calculadas de acordo com o decaimento das bandas de emissão de BE-DNA usando a Equação abaixo através de um gráfico de  $F_0/F$  versus  $[\text{DNA}]$ ,

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q]$$

onde [Q] é a concentração de compostos de porfirina, F<sub>0</sub> e F são as intensidades inicial e final de emissão, respectivamente. Através de um gráfico entre F<sub>0</sub>/F *versus* [porfirina], o valor de K<sub>SV</sub> é obtido pela razão entre a inclinação e a interceptação da equação da reta.

#### 6.1.6.2 Ensaios de emissão com HSA

Para os experimentos de emissão com HSA, as interações das porfirinas com albumina de soro humano HSA (solução estoque de 1,0 x 10<sup>-5</sup> M) foram realizadas por medidas de emissão de fluorescência no estado estacionário em temperatura ambiente com mistura de solução de DMSO (1%) / Tris HCl - pH 7,4 (solução estoque a 1,0 x 10<sup>-5</sup> M) de 300 a 600 nm, respectivamente. É bem conhecido que a extinção ocorre através do processo estático ou dinâmico, ambos os quais podem resultar em um gráfico linear de Stern-Volmer. Para analisar os dados dos ensaios, utilizou-se a Equação de Stern-Volmer:

$$I_0/I = 1 + k_q\tau_0[Q] = 1 + K_{sv}[Q]$$

onde *I* e *I*<sub>0</sub> são as intensidades de emissão na presença e na ausência de um supressor, respectivamente. K<sub>SV</sub>, *k*<sub>q</sub>, τ<sub>0</sub> e [Q] denotam constante de Stern-Volmer, constante de velocidade de supressão de fluorescência, o tempo de vida original de HSA (56,7 x 10<sup>-9</sup> s)(ABOU-ZIED; AL-SHIHI, 2008) e a concentração de supressor, respectivamente.

De acordo com a Equação listada acima, as constantes de Stern-Volmer (K<sub>SV</sub>) foram calculadas a partir da inclinação e *kq* é igual a K<sub>SV</sub>/τ<sub>0</sub>. Além disso, é geralmente aceito que a constante máxima de Stern-Volmer para a supressão dinâmica de biomoléculas é em torno de 100 M<sup>-1</sup>. Para concluir, portanto, que a extinção não é um processo dinâmico, mas estático, ocorrendo no complexo - aduto de HSA, Stern-Volmer e Scatchard (equação abaixo), previu o Kapp (constante de ligação aparente) e *n* (sítio de ligação) na proteína HSA:

$$\log (I_0 - I)/I = \log K_b + n \log [Q]$$



onde  $I$  e  $I_0$  são as intensidades de emissão na presença e na ausência de derivados de calcogênio, respectivamente, e  $[Q]$  a concentração do inibidor. De acordo com a equação acima, as constantes de ligação ( $K_b$ ) foram calculadas a partir da interceptação e do número de sítios de ligação ( $n$ ) pela inclinação.

### 6.1.6.3 Simulações de docking molecular

As estruturas de DNA e HSA foram obtidas do Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>) com o ID PDB: 423D (ROZENBERG et al., 1998) e 1AO6 (SUGIO et al., 1999), respectivamente.

O software Chimera 1.8 (PETTERSEN et al., 2004) foi usado para remover águas, íons e outras moléculas e adicionar átomos de hidrogênio às estruturas de DNA e HSA. Os ligantes foram construídos no software Avogadro 1.1.1, (HANWELL et al., 2012) seguindo a otimização semi-empírica da geometria PM6 (STEWART, 2007) usando o programa MOPAC2016 (STEWART, 2016).

Os ligantes, DNA e HSA no formato pdbqt foram gerados pelo AutoDockTools, onde os ligantes foram considerados flexíveis (com cargas de PM6), e os receptores (DNA e HSA) rígidos (com cargas de Gasteiger) (MORRIS et al., 2009).

O programa AutoDock Vina 1.1.1 foi usado para o *docking* cego (TROTT; OLSON, 2010), usando uma exaustividade de 100 Å. Para o *docking* de DNA, uma grade de 60 x 60 x 60 Å centrada nas coordenadas  $x = -7,91$ ,  $y = 2,21$ ,  $z = -0,18$ , foi usada ( para compostos **3a-d**) e para os compostos **5** ( $x = -7,914$ ,  $y = 52,208$ ,  $z = -0,176$ ). Como modelo de forma de ligação, foi selecionado o conformero do composto com menor energia de ligação ( $\Delta G$ ) do aglomerado mais populoso. Os resultados do docking foram analisados usando o software Accelrys Discovery Studio 3.5 (DASSAULT SYSTÈMES BIOVIA, 2017)

### 6.1.7 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas foram adquiridos com um cromatógrafo a líquido com sistema Acquity UPLC e espectrômetro de massa do tipo quadrupolo e tempo de voo, modelo XEVO G2 Q-TOF (Waters, Milford, MA, USA), no

Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais – LAQIA da UFSM. As amostras foram diluídas em metanol, contendo 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NH}_4\text{OH}$  200 mM, e analisadas por infusão direta na probe de eletrospray no modo positivo (ESI+). O controle e aquisição dos dados foram feitos usando o software MassLynx V 4.1. Uma alça de amostragem de 250  $\mu\text{L}$  foi carregada com a amostra. A vazão da infusão foi de 20  $\mu\text{L min}^{-1}$  e as condições de ionização estão descritas a seguir: Capilar: 2,5 kV, Cone de amostragem: 112 V, \* Cone de extração: 4,5 V, Fonte: 150 °C, Dessolvatação: 400 °C, Vazão de  $\text{N}_2$  no cone de amostragem: 10  $\text{L h}^{-1}$ , Vazão de  $\text{N}_2$  da dessolvatação: 500  $\text{L h}^{-1}$ , Faixa de massa monitorada: 50 a 1800 Da

### 6.1.8 Solventes e Reagentes

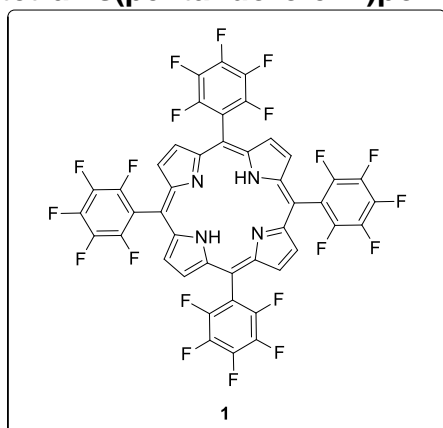
Os solventes foram purificados e secos antes de serem utilizados, conforme técnicas usuais. Os reagentes restantes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

O THF foi refluxado sob sódio metálico utilizando como indicador a benzofenona e destilado imediatamente antes do uso.

Para os produtos purificados utilizando cromatografia em placa preparativa, o material utilizado foi uma placa de vidro, gel de sílica e, como eluente, mistura de solventes adequados.

## 6.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

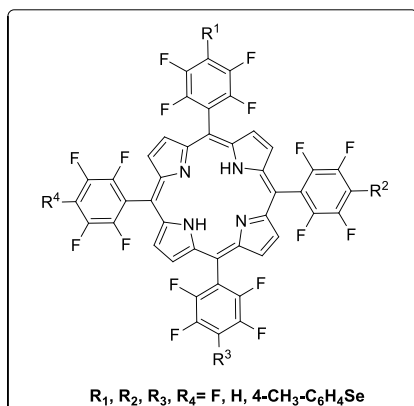
### 6.2.1 Procedimento para preparação da 5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)porfirina (1)



Em um balão de 2 L, munido de agitação magnética, sob atmosfera inerte de argônio a temperatura ambiente, contendo 1 litro de diclorometano, foram adicionados o pentafluoro benzaldeído (10 mmol, 1,92g, 1,23 mL) e o pirrol (10 mmol, 0,67g, 0,7 mL). Após solubilização (em torno de 5 minutos), adicionou-se o  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (2 mmol, 0,28 g, 0,246 mL) e 1 mL de etanol que atuou como um co-catalisador. A reação foi mantida sob agitação por 12 horas.

Decorrido o tempo reacional, adicionou-se DDQ (3g) e trietilamina (1mL) e manteve-se em agitação por mais 2 horas. A mistura resultante foi submetida à etapa de filtração em sílica gel utilizando diclorometano como eluente. Após, evaporou-se o solvente até um concentrado e adicionou-se metanol para recrystalizar.

### 6.2.2 Procedimento para obtenção das selenoaril-porfirinas 3a-d

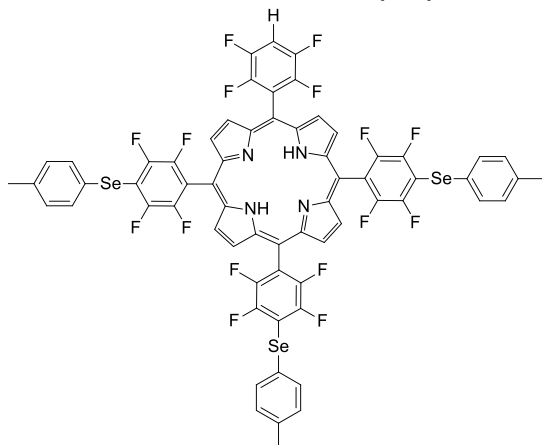


Em um tubo de Schlenk, munido de agitação magnética, sob atmosfera inerte de argônio a 50 °C, foi adicionado o *p*-metil-fenil-disseleneto (27 mg, 80 μmol, 8 eq) e THF (7mL). Após solubilização, adicionou-se boro hidreto de sódio (180 μmol; 6,8 mg, 2,25 eq) e etanol (3mL) gota a gota. Decorrido um minuto após o gotejamento de etanol e observação de

mudança da coloração da solução de amarela para incolor, adicionou-se a TPPF<sub>20</sub> (10 μmol; 10 mg). A reação foi mantida sob agitação por 3, 10, 20, 25, 30 minutos, 1 hora ou 12 horas. Transcorrido este tempo, a reação foi finalizada com 10mL de água e então, a mistura foi extraída com diclorometano e os extratos orgânicos secos com MgSO<sub>4</sub>. O sulfato de magnésio foi removido por filtração, e o solvente por aquecimento à pressão reduzida (rotaevaporador). A mistura resultante foi submetida à etapa de purificação por placa preparativa, empregando-se sílica como fase estacionária em uma mistura de 20% de diclorometano e 80% de hexano, como eluentes. Ressalta-se que todas as reações foram realizadas em triplicata e os rendimentos baseiam-se nas médias destas reações.

**5-(2,3,5,6-tetrafluorofenil)-10,15,20-tri[2,3,5,6-tetrafluoro-4-(4-metilfenilselan-1-il)fenil]porfirina (3a)**

**Rendimiento:** 57%; Sólido púrpura.



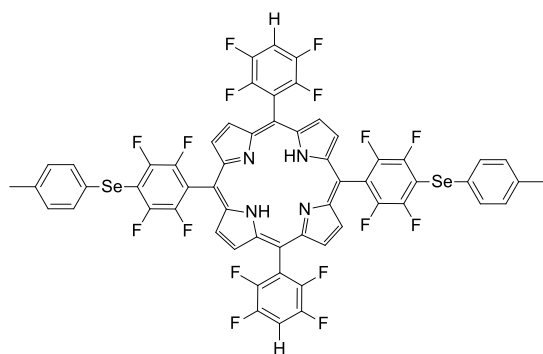
**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=8,88$  (s, 8H), 7,78 (d,  $J=6$  Hz, 6H), 7,66-7,59 (m, 1H), 7,26 (d,  $J=6$  Hz, 6H), 2,43 (s, 9H), -2,90 – -2,92 (m, 2H) ppm.

**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=127,87$  (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 6F), -136,28 (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 6F), -137,26 (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 2F), -138,59 (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 2F) ppm.

**RMN  $^{77}\text{Se}$**  (114 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=282,60$  ppm.

**HRMS:** m/z calcd para  $\text{C}_{65}\text{H}_{32}\text{F}_{16}\text{N}_4\text{Se}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; 1412,9940 encontrado: 1412,9908

**5,15-bis(2,3,5,6-tetrafluorofenil)-10,20-bis[2,3,5,6-tetrafluoro-4-(4-metilfenilselan-1-il)fenil]porfirina (3b)**



**Rendimiento:** 58%; Sólido púrpura

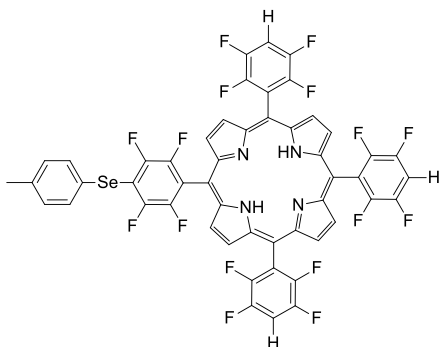
**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=8,89$  (s, 8H), 7,78 (d,  $J=6$  Hz, 4H), 7,67 – 7,60 (m, 2H), 7,26 (d,  $J=6$  Hz, 4H), 2,44 (s, 6H), -2,88 – -2,92 (m, 2H) ppm.

**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=127,87$  (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 4F), -136,28 (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 4F), -137,26 (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 4F), -138,59 (dd,  $J^4=22,6$  Hz,  $J^3=11,3$  Hz, 4F) ppm.

**RMN  $^{77}\text{Se}$**  (114 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta=282,59$  ppm.

**HRMS:** m/z calcd para  $\text{C}_{59}\text{H}_{30}\text{F}_{16}\text{N}_4\text{Se}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  1243,0305; encontrado: 1243,02636.

**5,10,15-tri(2,3,5,6-tetrafluorofenil)-20-[2,3,5,6-tetrafluoro-4-(4-metilfenilselan-1-il)fenil]porfirina (3c)**



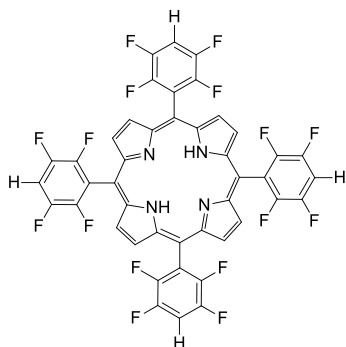
**Rendimiento:** 80%; Sólido púrpura

**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ = 8,92 (s, 8H), 7,78 (d,  $J$  = 6 Hz, 2H), 7,66 – 7,61 (m, 3H), 7,26 (d,  $J$  = 6 Hz, 2H), 2,43 (s, 3H), -2,87 – -2,89 (m, 2H) ppm.

**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ = -127,87 (dd,  $J^A$ =22,6 Hz,  $J^B$ =11,3 Hz, 2F), -136,27 (dd,  $J^A$ =22,6 Hz,  $J^B$ =11,3 Hz, 2F), -137,25 (dd,  $J^A$ =22,6 Hz,  $J^B$ =11,3 Hz, 6F), -138,59 (dd,  $J^A$ =22,6 Hz,  $J^B$ =11,3 Hz, 6F) ppm.

**HRMS:** m/z calcd para  $\text{C}_{51}\text{H}_{20}\text{F}_{16}\text{N}_4\text{Se}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  1073,0670; encontrado: 1073,0660.

**5,10,15,20-tetrakis(2,3,5,6-tetrafluorofenil)porfirina (3d)**



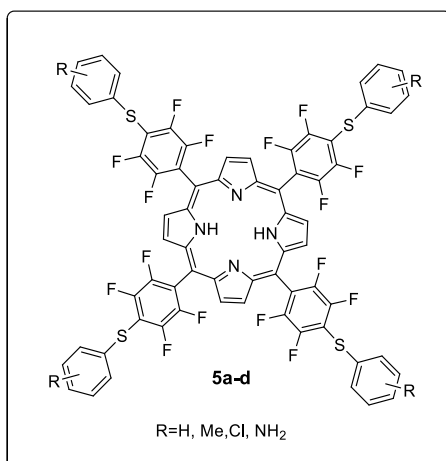
**Rendimiento:** 99%; Sólido púrpura

**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ =8,91 (s, 8H) 7,65-7,59 (m, 4H), -2,83, (s, 2H) ppm.

**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ =-137,27 (dd,  $J^A$ =22,6 Hz,  $J^B$ =11,3 Hz, 8F), -138,70 (dd,  $J^A$ =22,6 Hz,  $J^B$ =11,3 Hz, 8F) ppm.

**HRMS:** m/z calcd para  $\text{C}_{44}\text{H}_{14}\text{F}_{16}\text{N}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  903,1036; encontrado: 903,10206

### 6.2.3 Procedimento para obtenção das tioaril-porfirinas 5a-d

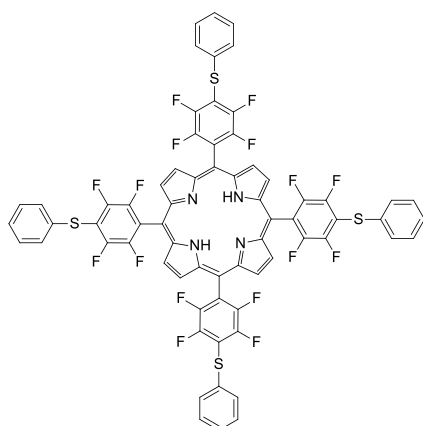


Em um tubo de schlenk, munido de agitação magnética, sob atmosfera inerte de argônio a 50 °C, foi adicionado o respectivo dissulfeto (80 μmol) e THF (7mL). Após solubilização, adicionou-se boro hidreto de sódio (180 μmol; 6.8 mg, 2,25 eq) e etanol (3mL) gota a gota. Decorrido um minuto, adicionou-se a TPPF<sub>20</sub> (10 μmol; 10 mg). A reação foi mantida sob agitação por 15 minutos. Transcorrido este

tempo, a reação foi finalizada com 10mL de água e então, a mistura foi extraída com diclorometano e os extratos orgânicos secos com MgSO<sub>4</sub>. O sulfato de magnésio foi removido por filtração, e o solvente por aquecimento à pressão reduzida (rotaevaporador). A mistura resultante foi submetida à etapa de purificação por placa preparativa, empregando-se sílica como fase estacionária em uma mistura de 20% de diclorometano e 80% de hexano, como eluente. Ressalta-se que todas as reações foram realizadas em triplicata e os rendimentos baseiam-se nas médias destas reações.

#### 5,10,15,20-tetrakis[4-(feniltio)-2,3,5,6-tetrafluorofenil]porfirina (5a)

**Rendimento:** 84%; Sólido púrpura.

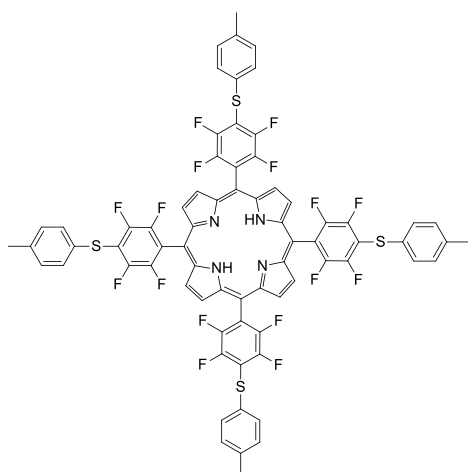


**RMN <sup>1</sup>H** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ= 8,91 (s, 8H), 7,70 (d, *J* = 6 Hz, 8H), 7,41-7,49 (m, 12H), -2,85 (s, 2H) ppm.

**RMN <sup>19</sup>F** (565 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -132,87 (dd, *J*<sup>4</sup> = 22,6, *J*<sup>3</sup>=11,3 Hz, F *orto*), -136,29 (dd, *J*<sup>4</sup>= 22,6, *J*<sup>3</sup>=11,3 Hz, F *meta*) ppm.

**HRMS-ESI:** m/z calcd para C<sub>68</sub>H<sub>30</sub>F<sub>16</sub>N<sub>4</sub>S<sub>4</sub>·. [M +H]<sup>+</sup> 1335,1176; encontrado: 1335,1223.

#### 5,10,15,20-tetrakis[4-(4-fenilmetiltio)-2,3,5,6-tetrafluorofenil]porfirina (5b)



**Rendimiento:** 92%; Sólido púrpura.

**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ = 8,90 (s, 8H), 7,65 (d,  $J$  = 6 Hz, 8H), 7,29 (d,  $J$  = 6 Hz, 8H), 2,44 (s, 12H), -2,91 (s, 2H).

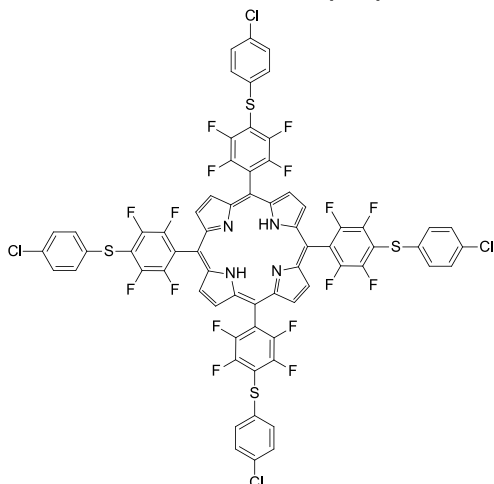
**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): -133,28 (dd,  $J^4$  = 28,2,  $J^3$ =11,3 Hz, F *orto*), -136,49 (dd,  $J^4$  = 28,2,  $J^3$ =11,3 Hz, F *meta*) ppm.

**HRMS-ESI:**m/z calcd para  $\text{C}_{72}\text{H}_{38}\text{F}_{16}\text{N}_4\text{S}_4$ ..

[M +H] $^+$  1391,1802 encontrado: 1391,1873.

### 5,10,15,20-tetrakis[4-(4-clorofeniltio)-2,3,5,6-tetrafluorofenil]porfirina (5c)

**Rendimiento:** 82%; Sólido púrpura.



**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ = 8,90 (s, 8H), 7,66 (d,  $J$  = 6 Hz, 8H), 7,47 (d,  $J$  = 6 Hz, 8H), -2,89 (s, 1H).

**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -132,80 (dd,  $J^4$  = 22,6,  $J^3$ =11,3 Hz, F *orto*), -135,90 (dd,  $J^4$  = 22,6,  $J^3$ =11,3 Hz, F *meta*) ppm.

**HRMS-ESI:**m/z calcd para

$\text{C}_{68}\text{H}_{26}\text{Cl}_4\text{F}_{16}\text{N}_4\text{S}_4$ .. [M +H] $^+$  1472,9588 encontrado: 1472,9628.

### 5,10,15,20-tetrakis[4-(2-aminofeniltio)-2,3,5,6-tetrafluorofenil]porfirina (5d)

**Rendimiento:** 93%; Sólido púrpura.

**RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ = 8,86 (s, 8H), 7,83-7,81 (m, 4H), 7,32-7,29 (m, 4H), 6,88-6,83 (m, 8H), 4,68 (s, 8H) -2,96 (s, 2H).

**RMN  $^{19}\text{F}$**  (565 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  -133,78 (dd,  $J^4$  =28,2,  $J^3$ =11,3 Hz, F *orto*), -136,53 (dd,  $J^4$  = 28,2,  $J^3$ =11,3 Hz, F *meta*) ppm.

**HRMS-ESI:**m/z calcd para  $\text{C}_{68}\text{H}_{34}\text{F}_{16}\text{N}_8\text{S}_4$  ..

[M +H] $^+$  1395,1612 encontrado: 1395,1611.





## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-ZIED, O. K.; AL-SHIHI, O. I. K. Characterization of subdomain HA binding site of human serum albumin in its native, unfolded, and refolded states using small molecular probes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 32, p. 10793–10801, 2008.

ADLER, A. D. et al. A Simplified Synthesis for Meso-Tetraphenylporphine. **Journal of Organic Chemistry**, v. 32, n. 2, p. 476, 1967.

ALBERTO, E. E. et al. Efficient synthesis of modular amino acid derivatives containing selenium with pronounced GPx-like activity. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 25, p. 4211–4214, 2009.

ALBERTO, E. E.; NASCIMENTO, V. DO; BRAGA, A. L. Catalytic application of selenium and tellurium compounds as glutathione peroxidase enzyme mimetics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 11, p. 2032–2041, 2010.

ALVES, E. et al. Potential applications of porphyrins in photodynamic inactivation beyond the medical scope. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 22, p. 34–57, 2014.

AN, W. et al. Spectroscopic and molecular modeling of the binding of meso-tetrakis ( 4-hydroxyphenyl ) porphyrin to human serum albumin. **Dyes and Pigments**, v. 81, n. 1, p. 1–9, 2009.

ARBA, M.; TIAHJONO, D. H. The binding modes of cationic porphyrin-anthraquinone hybrids to DNA duplexes: In silico study. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 33, n. 3, p. 657–665, 2015.

AURAS, B. L. et al. Meso-Mono-[4-(1,4,7-triazacyclononanyl)]-tri(phenyl)porphyrin and the respective zinc(ii)-complex: Complete characterization and biomolecules binding abilities. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 15, n. 4, p. 564–579, 2016.

AURAS, B. L. et al. Synthesis, spectroscopic/electrochemical characterization and DNA interaction study of novel ferrocenyl-substituted porphyrins. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 32:e4318, n. 5, p. 1–12, 2018.

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.

BATTIONI, P. et al. Preparation of functionalized polyhalogenated tetraaryl-porphyrins by selective substitution of the p-Fluorines of meso-tetra-(pentafluorophenyl)porphyrins. **Tetrahedron Letters**, v. 32, n. 25, p. 2893–2896, 1991.

BENNETT, M. et al. A DNA-porphyrin minor-groove complex at atomic resolution: the structural consequences of porphyrin ruffling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 17, p. 9476–9481, 2000.

BISSANTZ, C.; KUHN, B.; STAHL, M. A medicinal chemist's guide to molecular interactions. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 14, p. 5061–5084, 2010.

BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. DNA-binding drugs caught in action: The latest 3D pictures of drug-DNA complexes. **Dalton Transactions**, n. 3, p. 399–414, 2009.

BOOSALIS, M. G. The Role of Selenium in Chronic Disease. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 23, p. 152–160, 2008.

BORDBAR, A.-K. et al. Thermodynamics investigation of a series of metalloporphyrine-bovine serum albumin complexes. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 11, n. 08, p. 556–565, 2007.

BRAGA, A. L. et al. Straightforward method for the synthesis of selenocysteine and selenocystine derivatives from L-serine methyl ester. **Synthesis**, n. 18, p. 3131–3137, 2010.

CASTRO, K. A. D. F. et al. Copper–Porphyrin–Metal–Organic Frameworks as Oxidative Heterogeneous Catalysts. **ChemCatChem**, v. 9, n. 15, p. 2939–2945, 2017.

CAVALEIRO, J. A. S. et al. Singlet oxygen formation and photostability of meso-tetraarylporphyrin derivatives and their copper complexes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 144, n. 2–3, p. 131–140, 2001.

CHITGUPI, U.; LOVELL, J. F.; RAJENDIRAN, V. Assessing photosensitizer targeting using meso-tetra(Carboxyphenyl) porphyrin. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 1–12, 2018.

COSTA, J. I. T. et al. 5,10,15,20-Tetrakis(Pentafluorophenyl)Porphyrin: a Versatile Platform To Novel Porphyrinic Materials. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 15, n. 11n12, p. 1116–1133, 2011.

COSTA, L. et al. Sewage bacteriophage photoinactivation by cationic porphyrins: A study of charge effect. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 7, n. 4, p. 415–422, 2008.

COSTA, L. D. et al. Photophysical Characterization and in Vitro Phototoxicity Evaluation of 5,10,15,20-Tetra(quinolin-2-yl)porphyrin as a Potential Sensitizer for Photodynamic Therapy. **Molecules**, v. 21, n. 4, 2016.

CRUZ, I. et al. Neurocysticercosis: optimal dose treatment with albendazole. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 133, n. 1–2, p. 152–154, 1995.

DA ROSA, R. M. et al. Synthesis, antioxidant and antitumoral activities of 5'-arylchalcogeno-3-aminothymidine (ACAT) derivatives. **MedChemComm**, v. 8, n. 2, p. 408–414, 2016.

DASSAULT SYSTÈMES BIOVIA. **Discovery Studio Modeling Environment**.

DE OLIVEIRA, K. T. et al. Conceitos Fundamentais e Aplicações de

Fotossensibilizadores do Tipo Porfirinas, Clorinas e Ftalocianinas em Terapias Fotônicas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 310–335, 2015.

DE PAULA, R. et al. Kinetic study of meso-tetraphenylporphyrin synthesis under microwave irradiation. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 453–459, 2008.

DE SOUZA, D. et al. New organochalcogen multitarget drug: Synthesis and antioxidant and antitumoral activities of chalcogenozidovudine derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 3329–3339, 2015.

DEMAS, J. N. Photophysical pathways in metal complexes. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 10, p. 803, 1983.

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

FERRONI, C. et al. Wool Keratin 3D Scaffolds with Light-Triggered Antimicrobial Activity. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 9, p. 2882–2890, 2016.

FISCHER, H. On haemin and the relationships between haemin and chlorophyll. **Nobel lectures in chemistry**, p. 165, 1930.

GOMES, A. T. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S. Cancer, photodynamic therapy and porphyrin-type derivatives. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 1, p. 993–1026, 2018.

GOMES, M. C. et al. Photodynamic inactivation of *Penicillium chrysogenum* conidia by cationic porphyrins. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 10, n. 11, p. 1735–1743, 2011.

GOMES, M. C. et al. Cationic galactoporphyrin photosensitisers against UV-B resistant bacteria: Oxidation of lipids and proteins by  $^1O_2$ . **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 12, n. 2, p. 262–271, 2013.

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

GRANCHO, J. C. P. et al. Synthesis, spectra and photophysics of some free base tetrafluoroalkyl and tetrafluoroaryl porphyrins with potential applications in imaging. **Photochemistry and photobiology**, v. 75, n. 3, p. 249–56, 2002.

GULDI, D. M. Fullerene-porphyrin architectures; photosynthetic antenna and reaction center models. **Chemical Society Reviews**, v. 31, n. 1, p. 22–36, 2002.

HANWELL, M. D. et al. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of Cheminformatics**, v. 4, n. 8, p. 1–17, 2012.

HEWAGE, N. et al. Introduction of carboxylic ester and acid functionalities

to meso-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin and their limited electronic effects on the chromophore. **Dyes and Pigments**, v. 121, p. 159–169, 2015.

HIROHARA, S. et al. Synthesis, photophysical properties and photocytotoxicity of mono-, di-, tri- and tetra-glucosylated fluorophenylporphyrins. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 4, p. 1526–1535, 2010.

HIROTO, S.; MIYAKE, Y.; SHINOKUBO, H. Synthesis and Functionalization of Porphyrins through Organometallic Methodologies. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 4, p. 2910–3043, 2017.

HU, J. et al. Experimental and computational characterization of photosensitized conformational effects mediated by protoporphyrin ligands on human serum albumin. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 16, n. 5, p. 694–710, 2017.

IVERSEN, P. et al. Bicalutamide monotherapy compared with castration in patients with nonmetastatic locally advanced prostate cancer: 6.3 years of followup. **Journal of Urology**, v. 164, n. 5, p. 1579–1582, 2000.

JONES, D. P. Redox sensing: Orthogonal control in cell cycle and apoptosis signalling. **Journal of Internal Medicine**, v. 268, n. 5, p. 432–448, 2010.

KADISH, K. M.; HAN, B. C.; FRANZEN, M. M. Syntheses and Spectroscopic Characterization of and ( T ( p-Me<sub>2</sub>N ) F<sub>4</sub>PP ) M Where T ( p-Me<sub>2</sub>N ) F<sub>4</sub>PP Is the Dianion of porphyrin and M = Co ( II ), Cu ( II ), or Ni ( II ). Structures of ( TF<sub>5</sub>PP ) Co A . **Journal of the American Chemical Society**, v. 112, n. 14, p. 8364–8368, 1990.

KALDOR, S. W. et al. Viracept (nelfinavir mesylate, AG1343): A potent, orally bioavailable inhibitor of HIV-1 protease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 24, p. 3979–3985, 1997.

KAZEMI, M. et al. Biological and Pharmaceutical Organosulfur Molecules. **J. Med. Chem. Sci. Journal of Medicinal and Chemical Science J. Med. Chem. Sci.**, v. 1, n. 20181, p. 1–4, 2018.

KIM, J. B.; LEONARD, J. J.; LONGO, F. R. A Mechanistic Study of the Synthesis and Spectral Properties of mero-Tetraarylporphyrins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 94, n. 11, p. 3986–3992, 1972.

KULKARNI, A. D.; KUPPERMANN, B. D. Wet age-related macular degeneration. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 14, p. 1994–2009, 2005.

LATOS-GRAZYNSKI, L. et al. Alteration of the Reactivity of a Tellurophene Within a Core-Modified Porphyrin Environment: Synthesis and Oxidation of 21-Telluraporphyrin. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 34, n. 20, p. 2252–2254, 1995.

LINDSEY, J. S. et al. Rothmund and Adler-Longo Reactions Revisited: Synthesis of Tetraphenylporphyrins under Equilibrium Conditions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 827–836, 1987.

LIU, N.-W.; LIANG, S.; MANOLIKAKES, G. Recent Advances in the Synthesis of Sulfones. **Synthesis**, v. 48, n. 13, p. 1939–1973, 2016.

LOVELL, J. F. et al. Activatable photosensitizers for imaging and therapy. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 5, p. 2839–2857, 2010.

MENEZES, P. H. et al. Efficient Chiral Discrimination by  $^{77}\text{Se}$  NMR. **Organic letters**, v. 5, n. 10, p. 1601–1604, 2003.

MEOTTI, F. C.; NOGUEIRA, C. W. Ações biológicas de compostos de selênio e telúrio: efeitos tóxicos sobre o sistema nervoso central. **Ciência & Natura**, v. 25, p. 163–187, 2003.

MERCIER-GUYON, C.; CHABANNES, J. P.; SAVIUC, P. The role of captodiamine in the withdrawal from long-term benzodiazepine treatment. **Current Medical Research and Opinion**, v. 20, n. 9, p. 1347–1355, 2004.

MILGROM, R. L. **The Colour of Life: An Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds**; 1. ed. Oxford, UK, 1997.

MITTRA, R. A.; SINGERMAN, L. J. Recent Advances in the Management of Age-Related Macular Degeneration. **Optometry and Vision Science**, v. 79, n. 4, p. 218–224, 2002.

MOCILAC, P.; OSMAN, I. A.; GALLAGHER, J. F. Short C-H...F interactions involving the 2,5-difluorobenzene group: Understanding the role of fluorine in aggregation and complex C-F/C-H disorder in a  $2 \times 6$  isomer grid. **CrystEngComm**, v. 18, n. 30, p. 5764–5776, 2016.

MORRIS, G. M. et al. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009.

MULLER, A. et al. GLUTATHIONE PEROXIDASE-LIKE ACTIVITY IN VITRO AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF PZ 51 (EBSELEN). **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 20, p. 3235–3239, 1984.

MUNCHEN, T. S. et al. New 3'-Triazolyl-5'-aryl-chalcogenothymidine: Synthesis and Anti-oxidant and Antiproliferative Bladder Carcinoma (5637) Activity. **ChemistrySelect**, v. 3, n. 12, p. 3479–3486, 2018.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre, Artmed, 2011.

NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6255–6285, 2004.

OL'SHEVSKAYA, V. A. et al. Synthesis and antitumor activity of novel tetrakis [4-(closo-carboranylthio)tetrafluorophenyl] porphyrins. **Russian Chemical Bulletin, International Edition**, v. 63, n. 10, p. 2383–2387, 2014.

OLIVEIRA, A. et al. Porphyrin derivatives as photosensitizers for the inactivation of *Bacillus cereus* endospores. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 6, p. 1986–1995, 2009.

PACHOLSKA, E. et al. Pyrrole-Inverted Isomer of 5,10,15,20-Tetraaryl-

21-Selenaporphyrin. **J. Org. Chem.**, v. 65, p. 8188–8196, 2000.

PARNHAM, M. J.; KINDT, S. A novel biologically active seleno-organic compound—II. **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 20, p. 3247–3250, 1984.

PASETTO, P. et al. Synthesis of hydrolytically stable porphyrin C- and S-glycoconjugates in high yields. **Chemical Communications**, n. 1, p. 81–82, 2001.

PENG, S.-H. et al. The magnetic properties, DNA/HSA binding and nuclease activity of manganese N -confused porphyrin. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 20, n. 05, p. 624–638, 2016.

PEREIRA, M. M. et al. Synthesis and photophysical properties of amphiphilic halogenated bacteriochlorins:: new opportunities for photodynamic therapy of cancer. **J. Porphyrins Phthalocyanines**, v. 13, p. 567–573, 2009.

PEREIRA, M. M. et al. An insight into solvent-free diimide porphyrin reduction: A versatile approach for meso-aryl hydroporphyrin synthesis. **Green Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 1666–1672, 2012.

PETTERSEN, E. F. et al. UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, 2004.

PINEIRO, M. et al. Photoacoustic measurements of porphyrin triplet-state quantum yields and singlet-oxygen efficiencies. **Chemistry - A European Journal**, v. 4, n. 11, p. 2299–2307, 1998.

PINEIRO, M. et al. Singlet oxygen quantum yields from halogenated chlorins: Potential new photodynamic therapy agents. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 138, n. 2, p. 147–157, 2001.

PIVETTA, R. C. et al. Synthesis, photophysical properties and spectroelectrochemical characterization of 10-(4-methyl-bipyridyl)-5,15-(pentafluorophenyl)corrole. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 332, p. 306–315, 2017.

POWELL, W. H. Revised nomenclature for radicals, ions, radical ions and related species. **Pure and Applied Chemistry**, v. 65, n. 6, p. 1357–1455, 1993.

PREUSS, A. et al. Photodynamic inactivation of mold fungi spores by newly developed charged corroles. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 133, p. 39–46, 2014.

PUSHPAN, S. K. et al. Inverted meso -Aryl Porphyrins with Heteroatoms ; Characterization of Thia , Seleno , and Oxa N-Confused Porphyrins †. **J. Org. Chem.**, v. 66, p. 153–161, 2001.

RAMEZANI, F.; RAFII-TABAR, H. An in-depth view of human serum albumin corona on gold nanoparticles. **Molecular BioSystems**, v. 11, n. 2, p. 454–462, 2015.

RHO, S. B.; KIM, B. R.; KANG, S. A gene signature-based approach identifies thioridazine as an inhibitor of phosphatidylinositol-3'-kinase (PI3K)/AKT pathway in ovarian cancer cells. **Gynecologic Oncology**, v. 120, n. 1, p. 121–127, 2011.

ROMERA, 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.

ROZENBERG, H. et al. Structural code for DNA recognition revealed in crystal structures of papillomavirus E2-DNA targets. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 26, p. 15194–15199, 1998.

SAMAROO, D. et al. meso-Tetra(pentafluorophenyl)porphyrin as an efficient platform for combinatorial synthesis and the selection of new photodynamic therapeutics using a cancer cell line. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 9, n. 6, p. 998–1011, 2007.

SANCINETO, L. et al. Design and Synthesis of DiselenoBisBenzamides (DSeBAs) as Nucleocapsid Protein 7 (NCp7) Inhibitors with anti-HIV Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 24, p. 9601–9614, 2015.

SCHWARZ, K. SELENIUM AS AN INTEGRAL PART OF FACTOR 3 AGAINST DIETARY NECROTIC LIVER DEGENERATION. **Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.**, v. 79, p. 3292, 1951.

SENGE, M. O. et al. Nonlinear Optical Properties of Porphyrins. **Advanced Materials**, v. 19, n. 19, p. 2737–2774, 2007.

SEVRIN, M. et al. Transformation of selenides to alkylhalides new routes for homologization of primary alkylhalides. **Tetrahedron Letters**, v. 17, n. 30, p. 2647–2650, 1976.

SHI, L. et al. Water-soluble manganese and iron mesotetrakis(carboxyl)porphyrin: DNA binding, oxidative cleavage, and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 20–24, 2017.

SPILLER, W. et al. Singlet Oxygen Quantum Yields of Different Photosensitizers in Polar Solvents and Micellar Solutions. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 2, p. 145–158, 1998.

STADTMAN, T. C. Biosynthesis and function of selenocysteine-containing enzymes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 25, p. 16257–16260, 1991.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **Journal of Molecular Modeling**, v. 13, n. 12, p. 1173–1213, 2007.

STEWART, J. J. P. **Stewart Computational Chemistry**. Colorado Springs, CO, USAMOPAC2016, 2016. Disponível em: <<http://openmopac.net>>. Acesso em: 22 out. 2018

SUGIO, S. et al. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. **Protein Engineering, Design and Selection**, v. 12, n. 6, p. 439–446, 1999.

SUŁKOWSKI, L. et al. Characteristics of the protoporphyrin IX binding sites on human serum albumin using molecular docking. **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1519, 2016.

SUN, Z. et al. Synthesis of substituted meso-tetraphenylporphyrins in mixed solvent systems. **Arkivoc**, v. 2013, n. 3, p. 389–400, 2013.

TABARELLI, G. et al. Synthesis and Antitumoral Lung Carcinoma A549 and Antioxidant Activity Assays Of New Chiral  $\beta$ -Aryl-Chalcogenium Azide Compounds. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 27, p. 8423–8430, 2017.

THALLADI, V. R. et al. C-H...F interactions in the crystal structures of some fluorobenzenes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 34, p. 8702–8710, 1998.

THIERMANN, H. et al. Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning. **Toxicology Letters**, v. 107, n. 1–3, p. 233–239, 1999.

TOMÉ, J. P. C. et al. Synthesis and antibacterial activity of new poly-S-lysine-porphyrin conjugates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 26, p. 6649–6652, 2004.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–61, 2010.

TÜXEN, J. et al. Highly fluorous porphyrins as model compounds for molecule interferometry. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 25, p. 4823–4833, 2011.

ULMAN, A. et al. SYNTHESIS OF NEW TETRAPHENYLPORPHYRIN MOLECULES CONTAINING HETEROATOMS OTHER THAN NITROGEN. III. TETRAPHENYL-LI-TELLURA-23-THIAPORPHYRIN: AN INTERNALLY-BRIDGED PORPHYRIN A. **Tetrahedron Letters**, v. 19, n. 21, p. 1885–1886, 1978.

VALEUR, B. **Molecular fluorescence: Principles and applications**. 1. ed. Weinheim: Wiley, 2001.

VARGAS, J. et al. Synthesis of chiral  $\beta$ -chalcogen amine derivatives and Gram-positive bacteria activity. **Tetrahedron**, v. 68, n. 51, p. 10444–10448, 2012.

VAROTTO, A. et al. Self-organization of a new fluorous porphyrin and C60 films on indium-tin-oxide electrode. **Chemical Communications**, v. 1, n. 40, p. 4921–4923, 2008.

WANG, Q. et al. Binding interaction of atorvastatin with bovine serum albumin: Spectroscopic methods and molecular docking. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 156, p. 155–163, 5 mar. 2016.

WENDEL, A. et al. A novel biologically active seleno-organic compound. II. Activity of PZ 51 in relation to glutathione peroxidase. **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 20, p. 3241–3245, 1984.

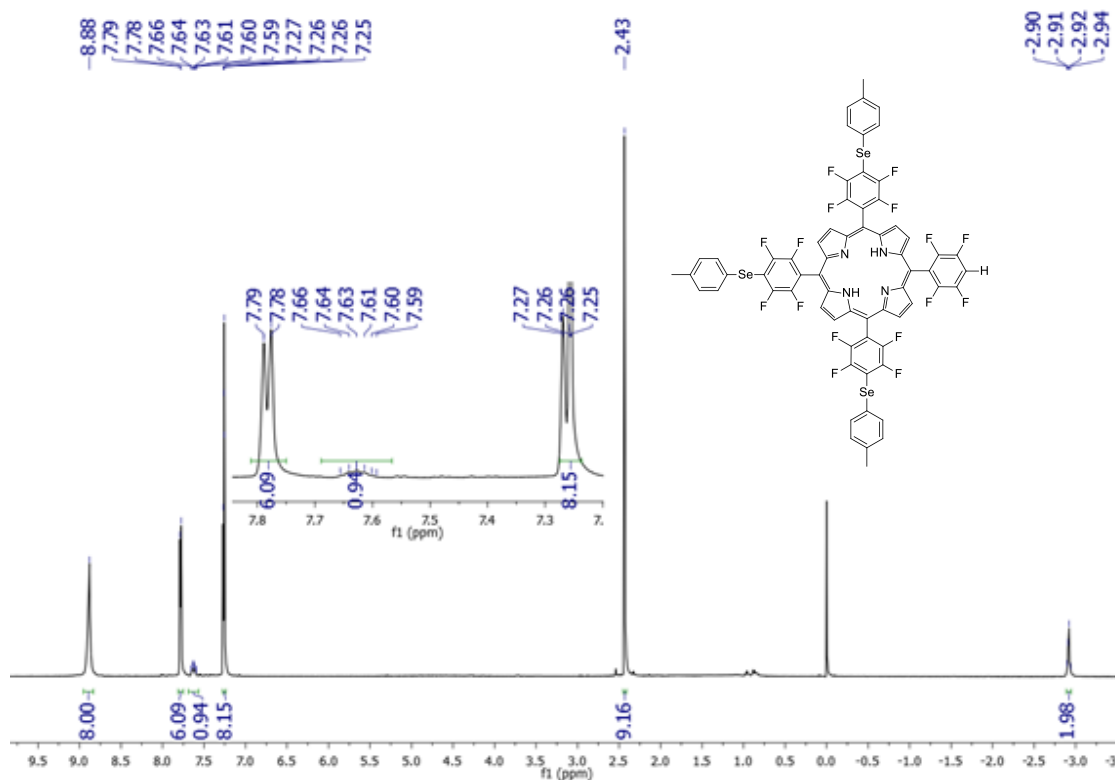
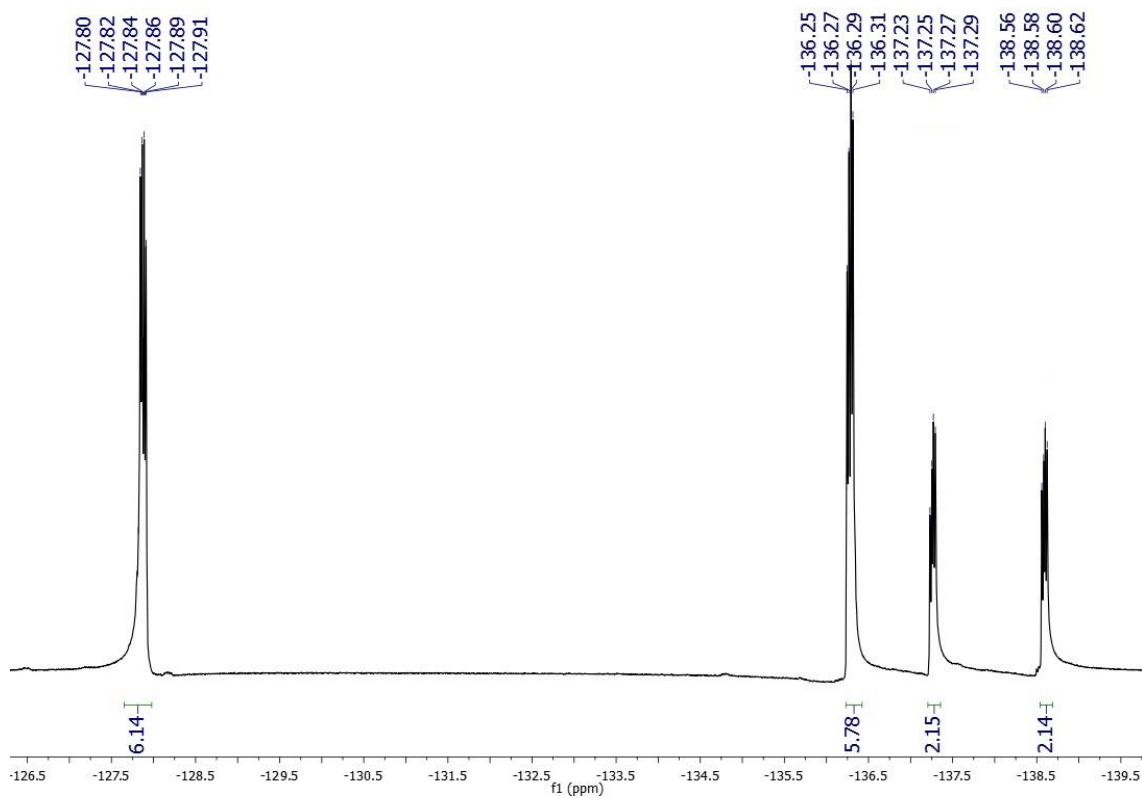


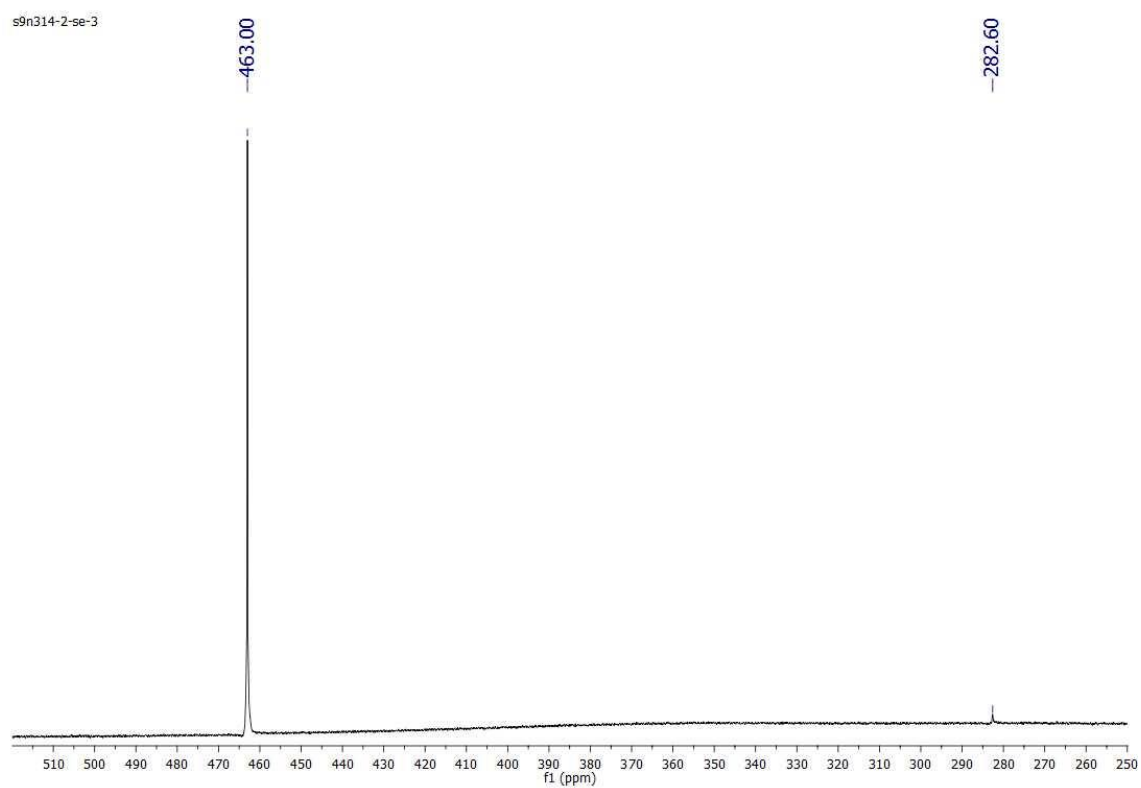
ZHONG, L.; HOLMGREN, A. Essential role of selenium in the catalytic activities of mammalian thioredoxin reductase revealed by characterization of recombinant enzymes with selenocysteine mutations. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 24, p. 18121–18128, 2000.

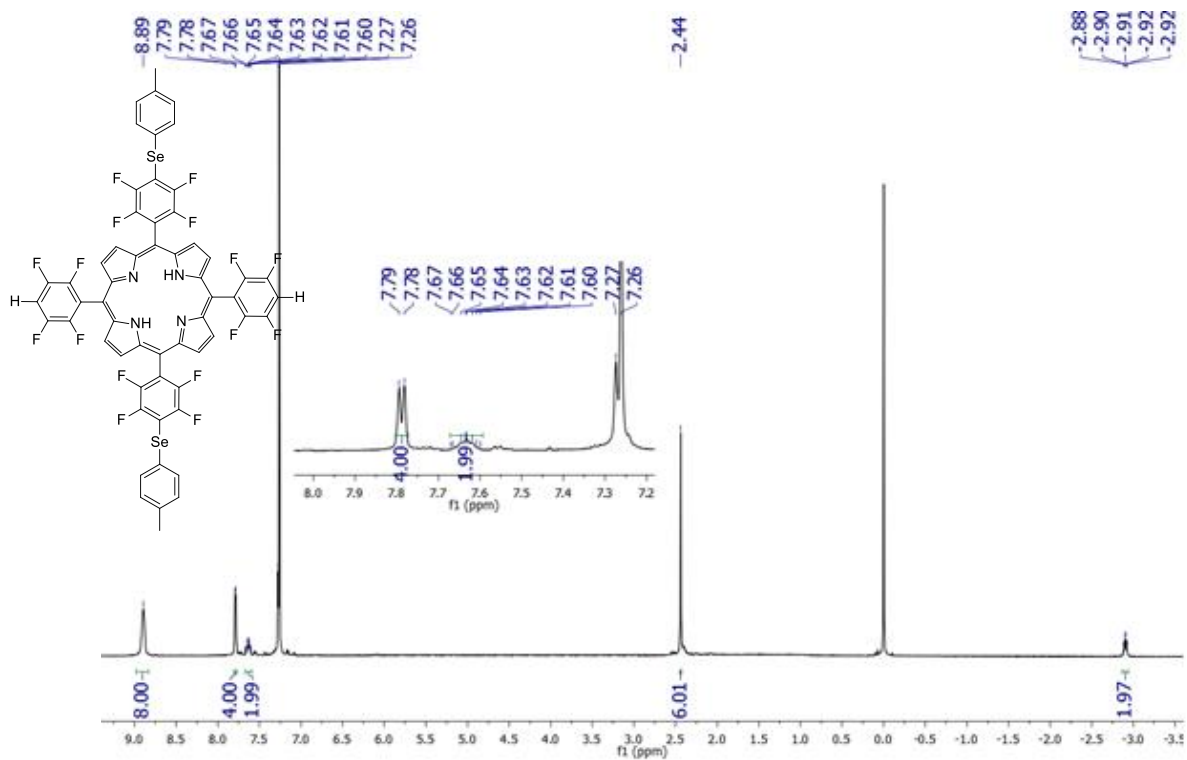
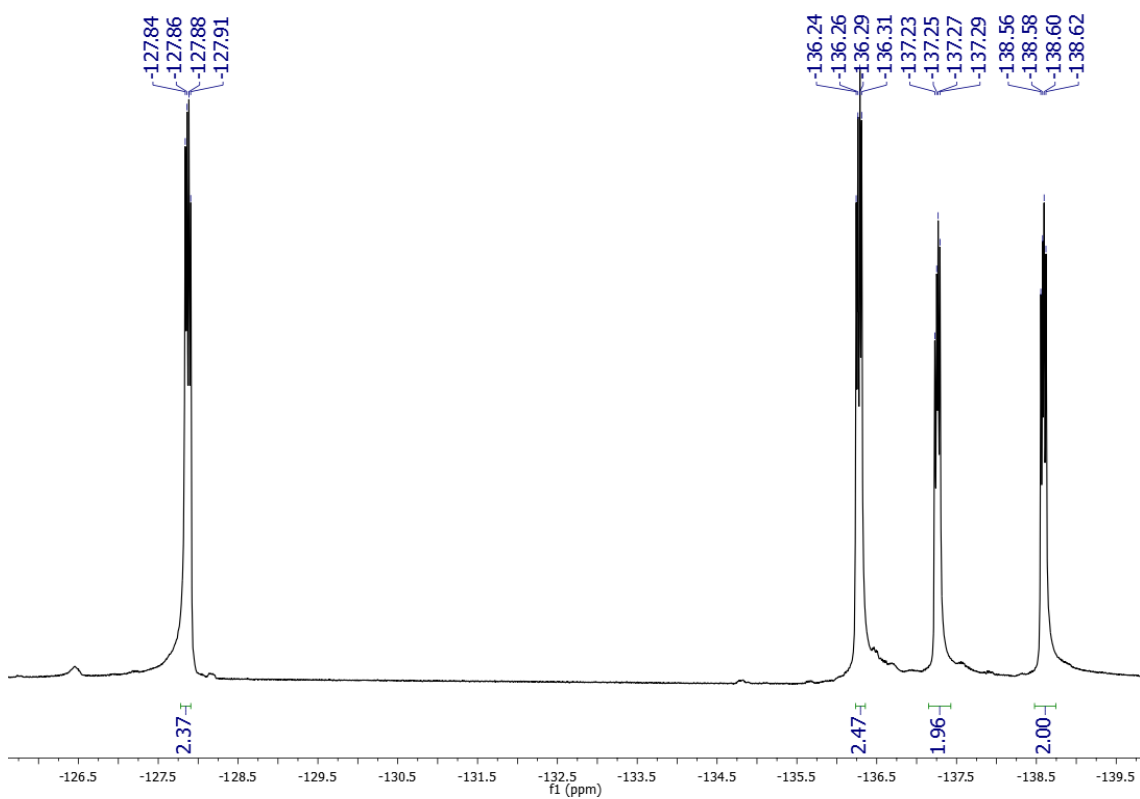
# ANEXOS

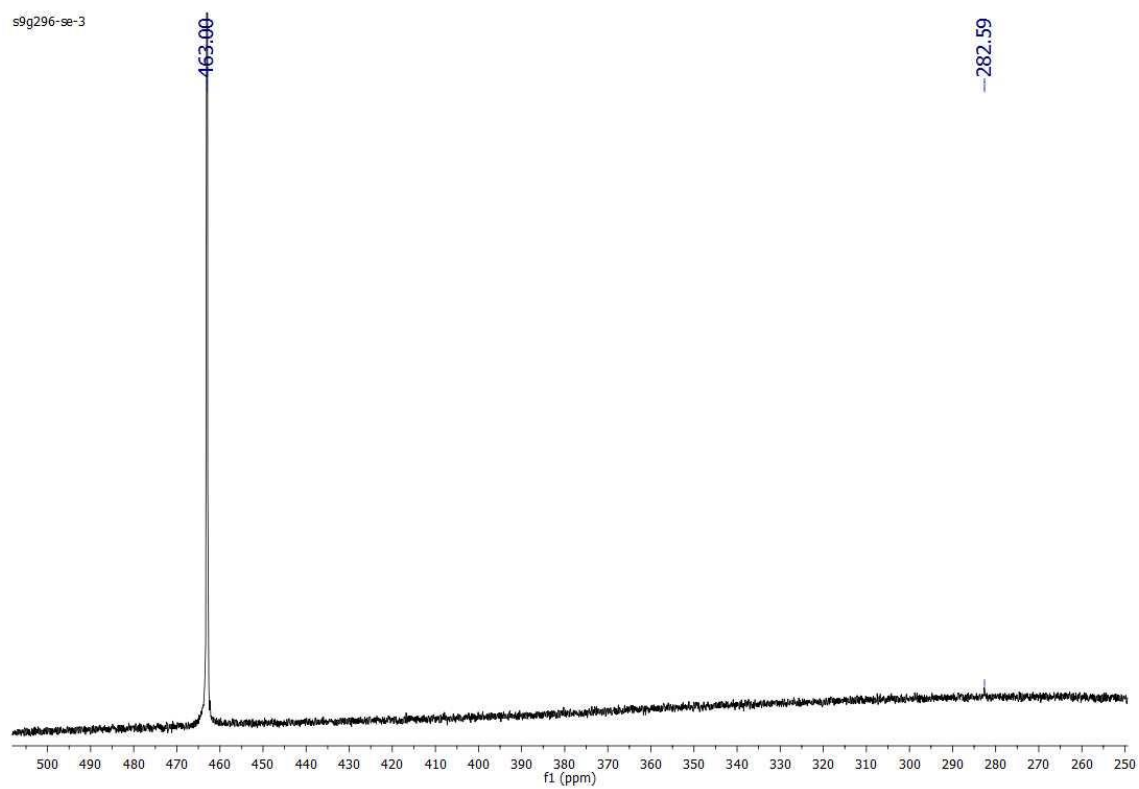
## ESPECTROS SELECIONADOS

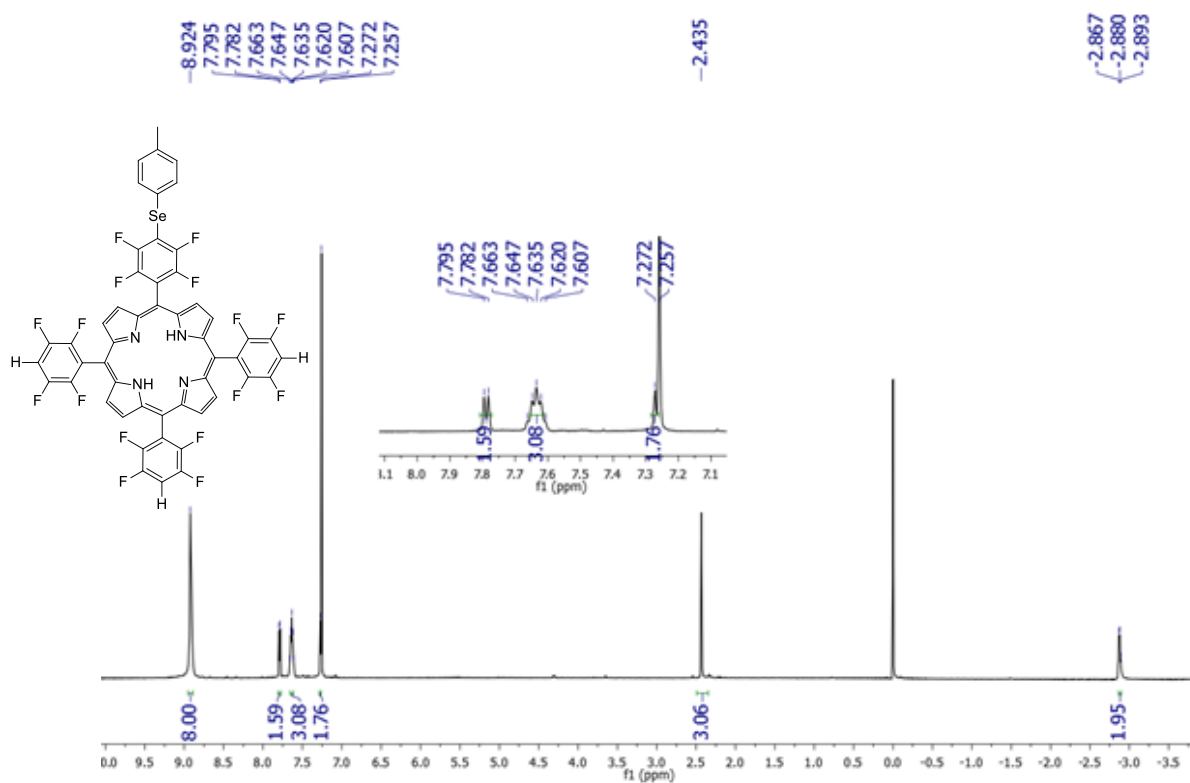
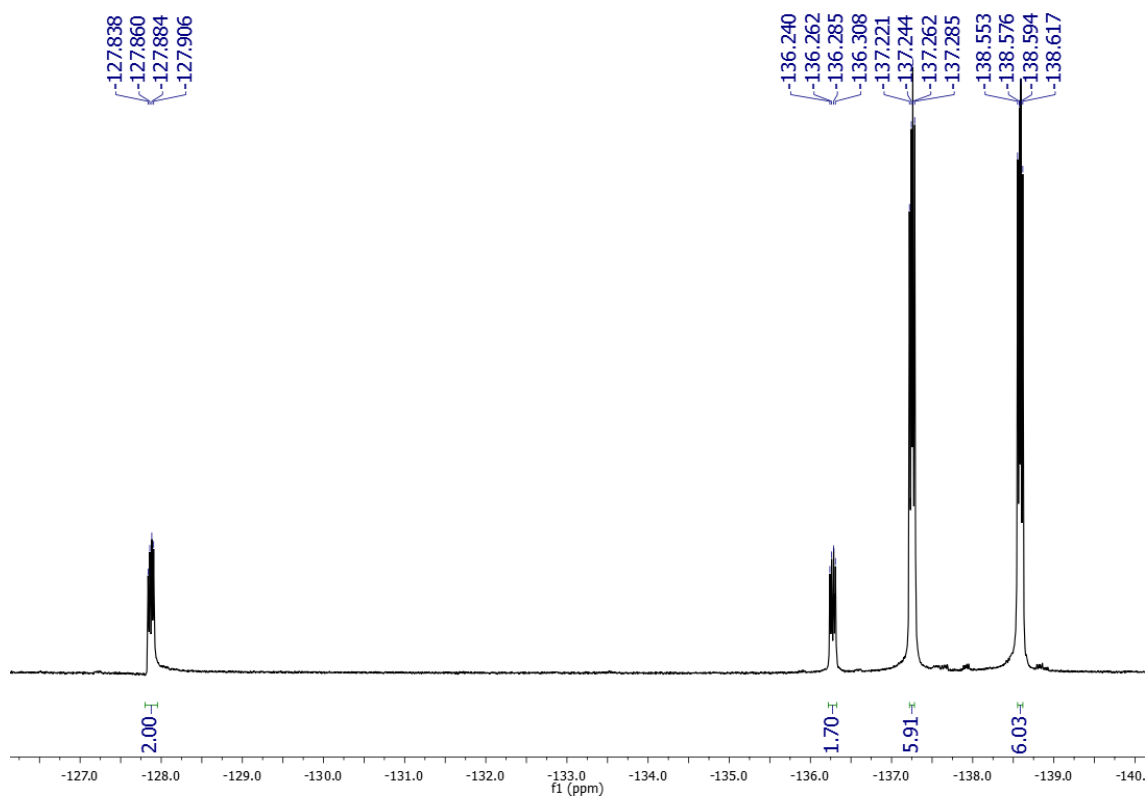
## Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

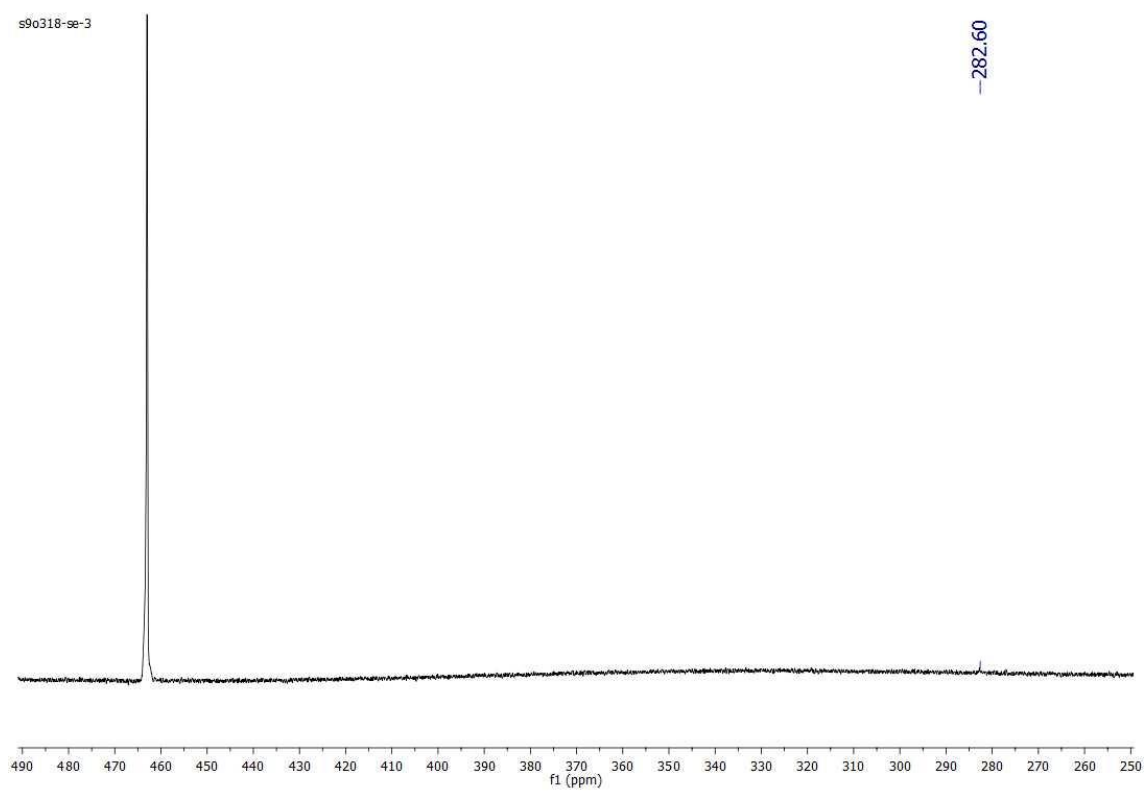
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 3aEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 3a em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

**Espectro de RMN  $^{77}\text{Se}$  do composto 3a em  $\text{CHCl}_3$  a 114 MHz**

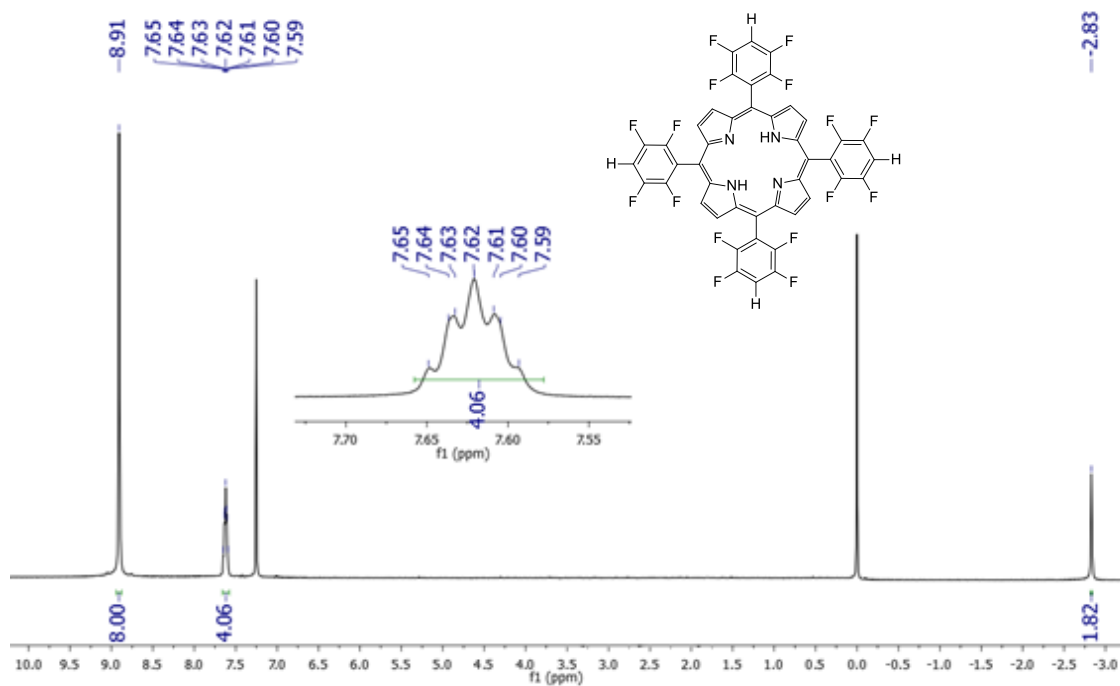
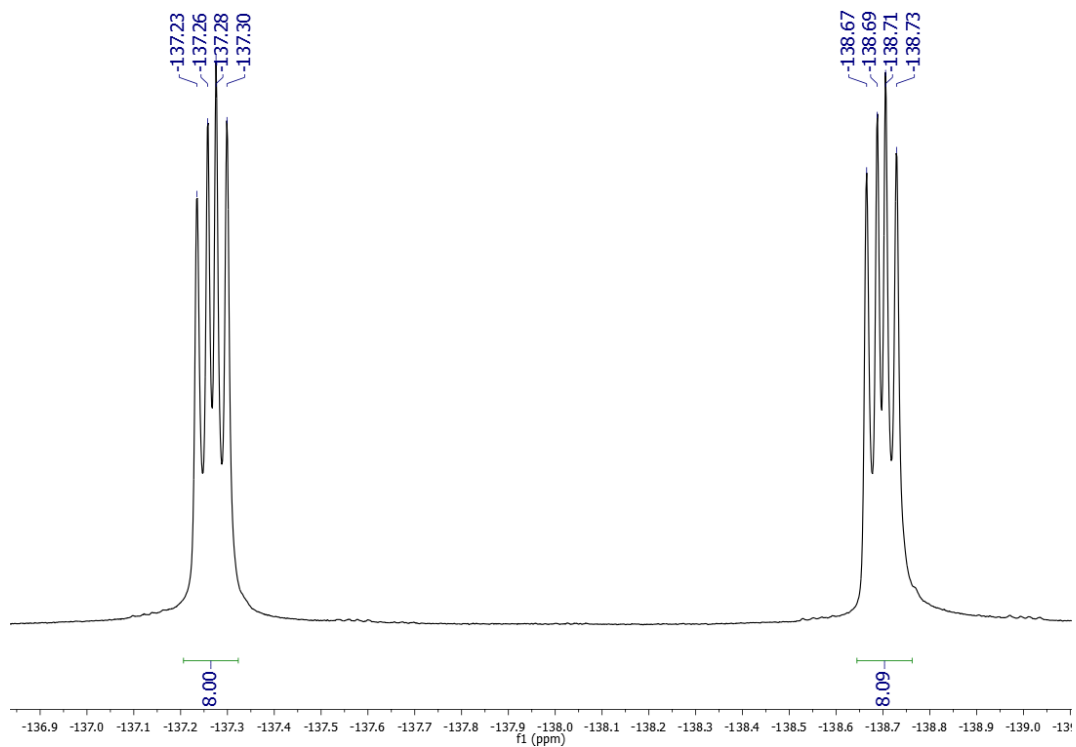
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 3bEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 3b em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

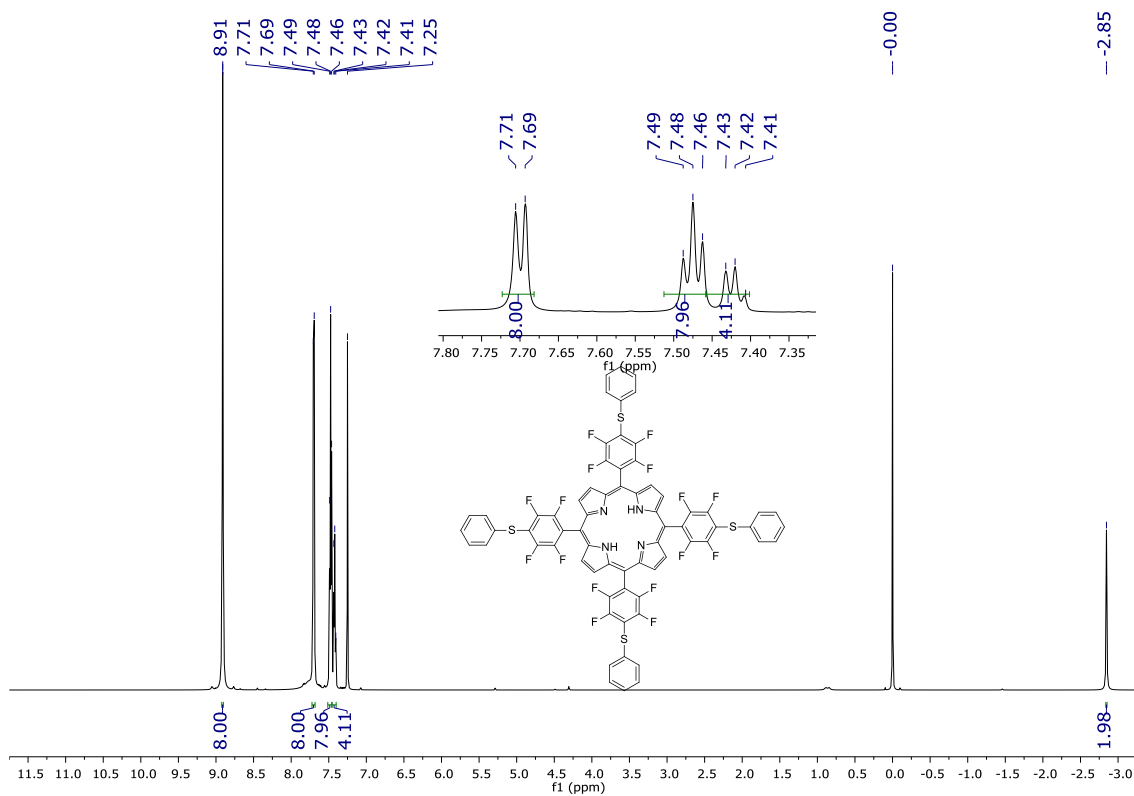
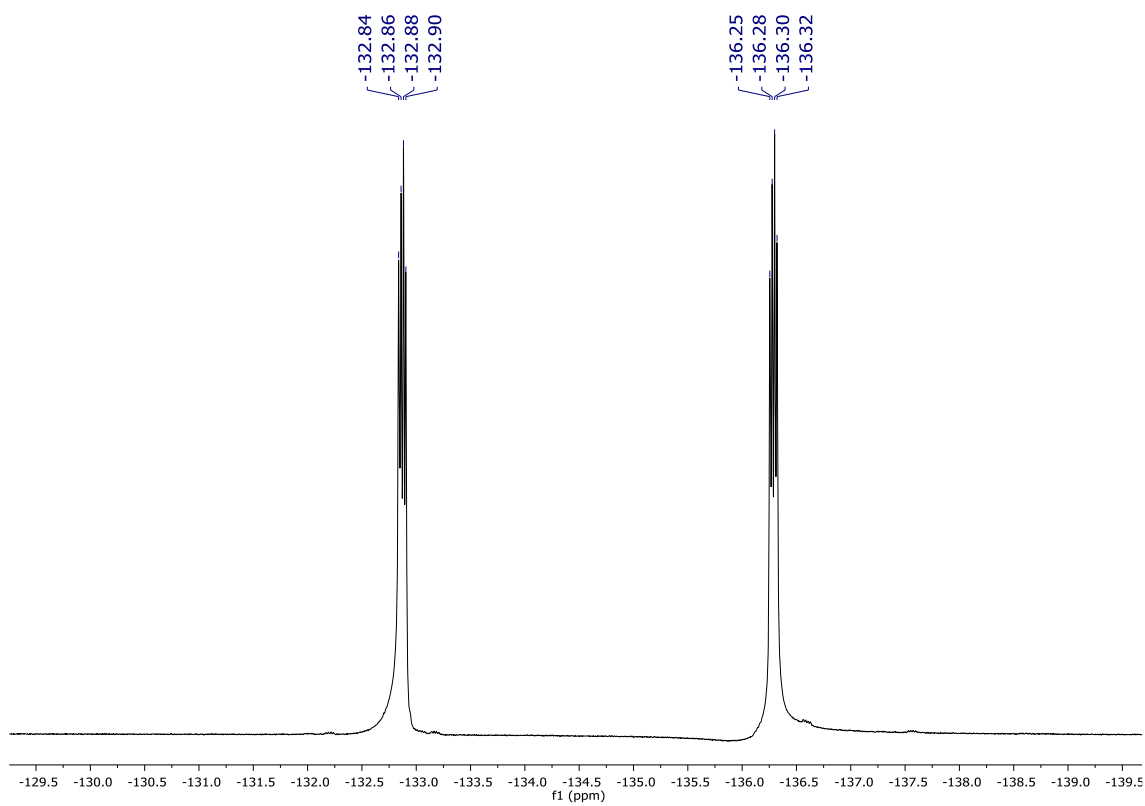
Espectro de RMN  $^{77}\text{Se}$  do composto 3b em  $\text{CHCl}_3$  a 114 MHz

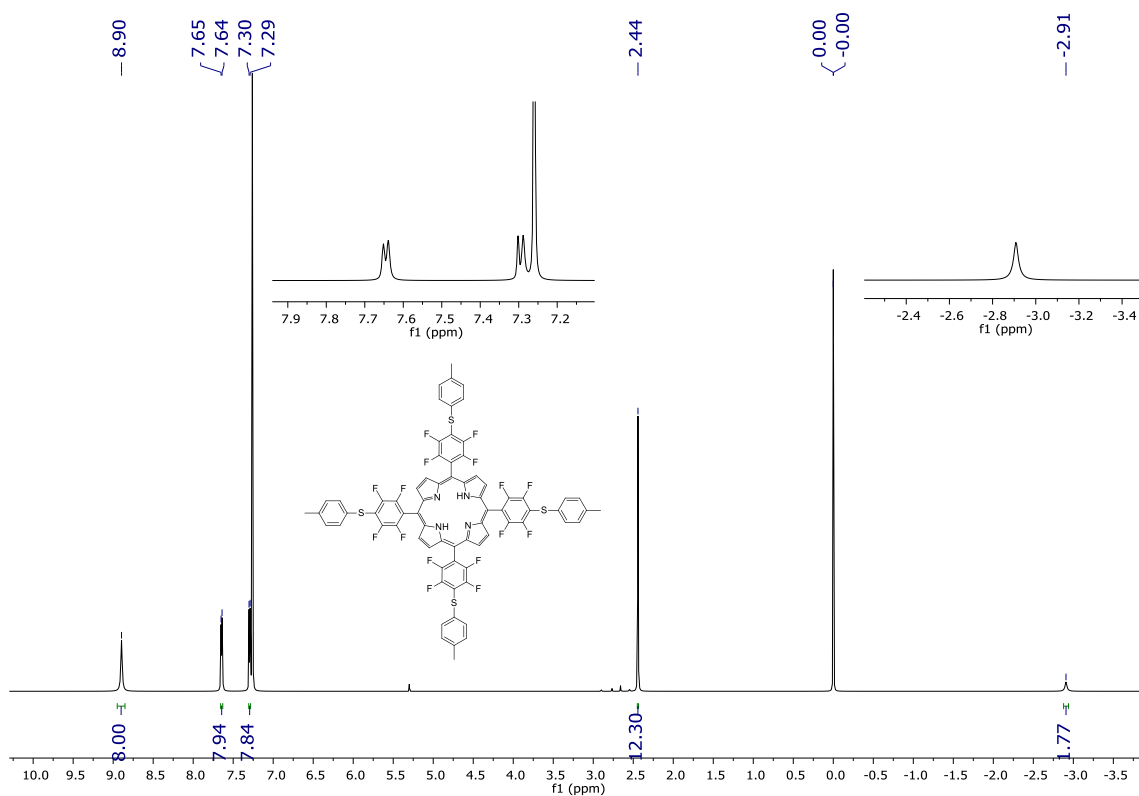
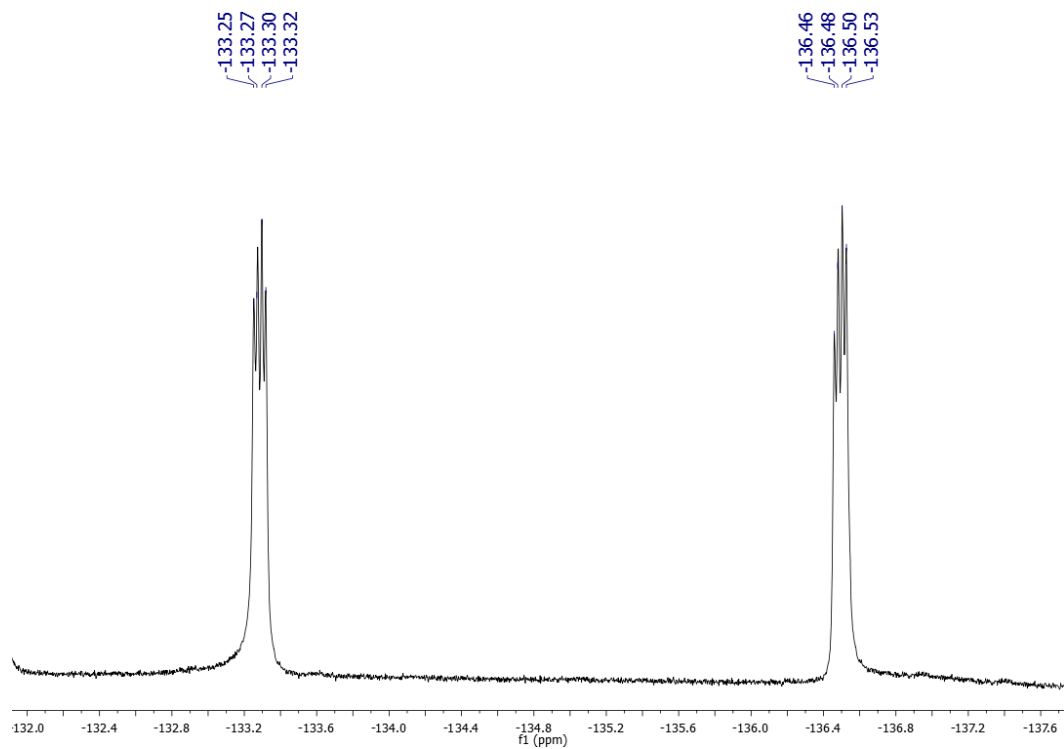
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 3cEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 3c em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

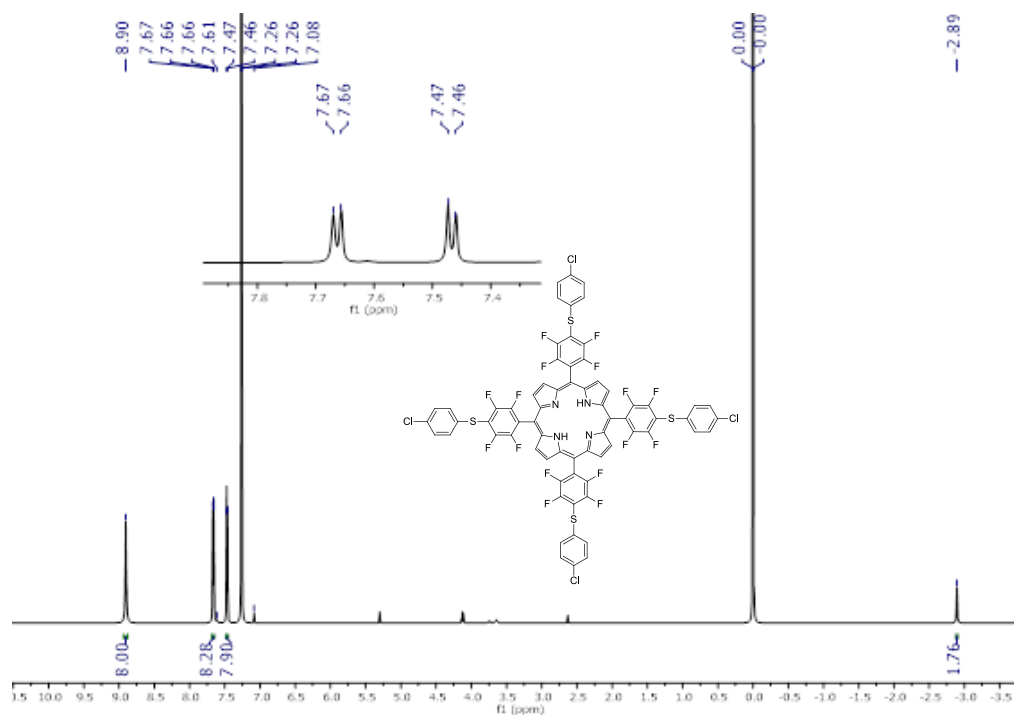
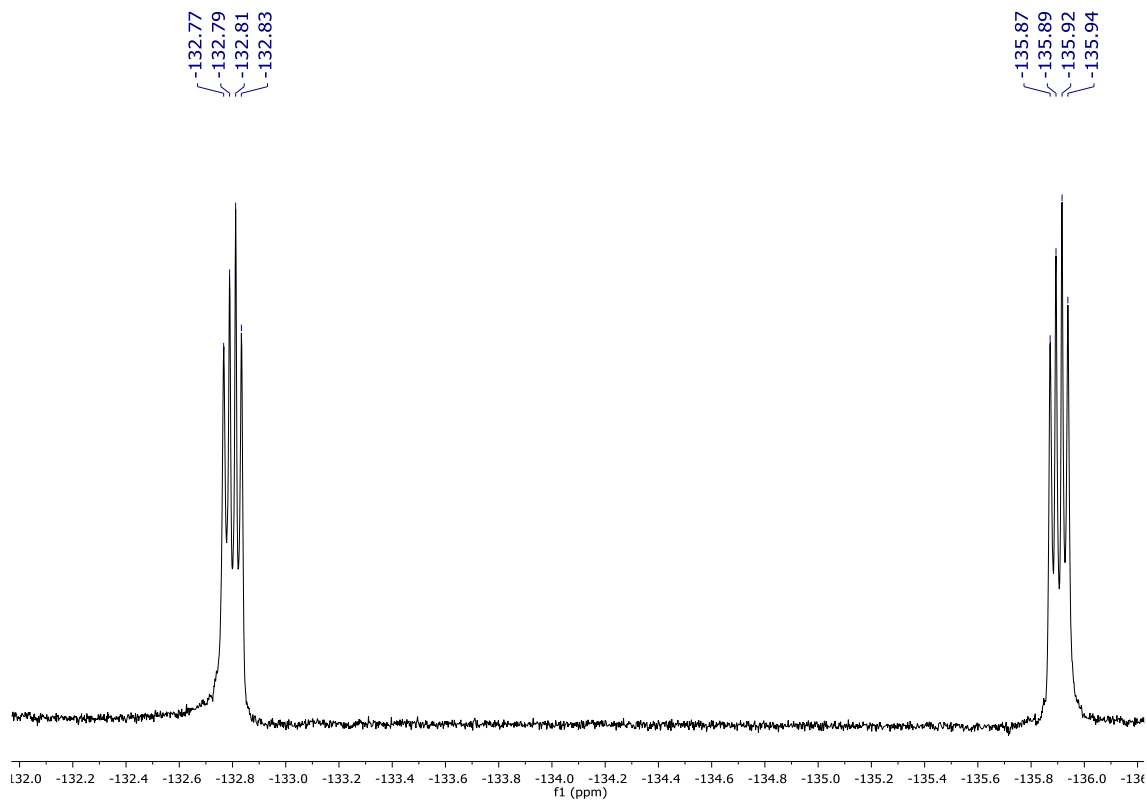
Espectro de RMN  $^{77}\text{Se}$  do composto 3c em  $\text{CHCl}_3$  a 114 MHz

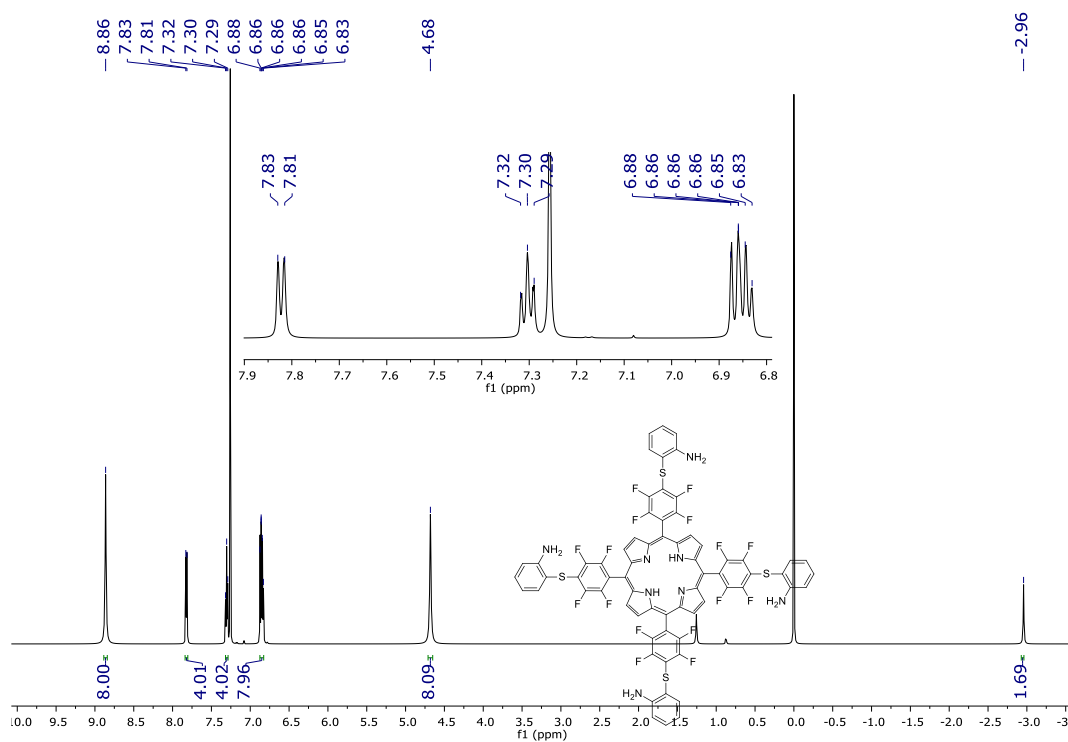
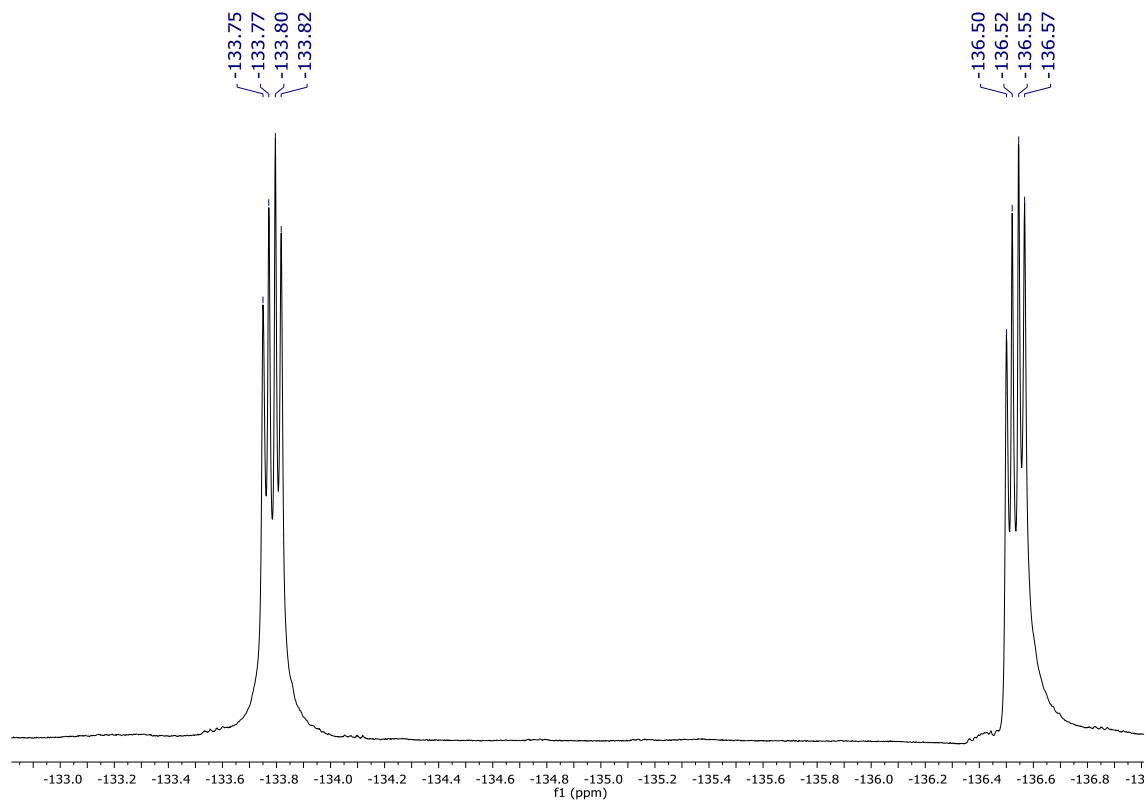


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 3dEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 3d em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5aEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 5a em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5bEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 5b em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

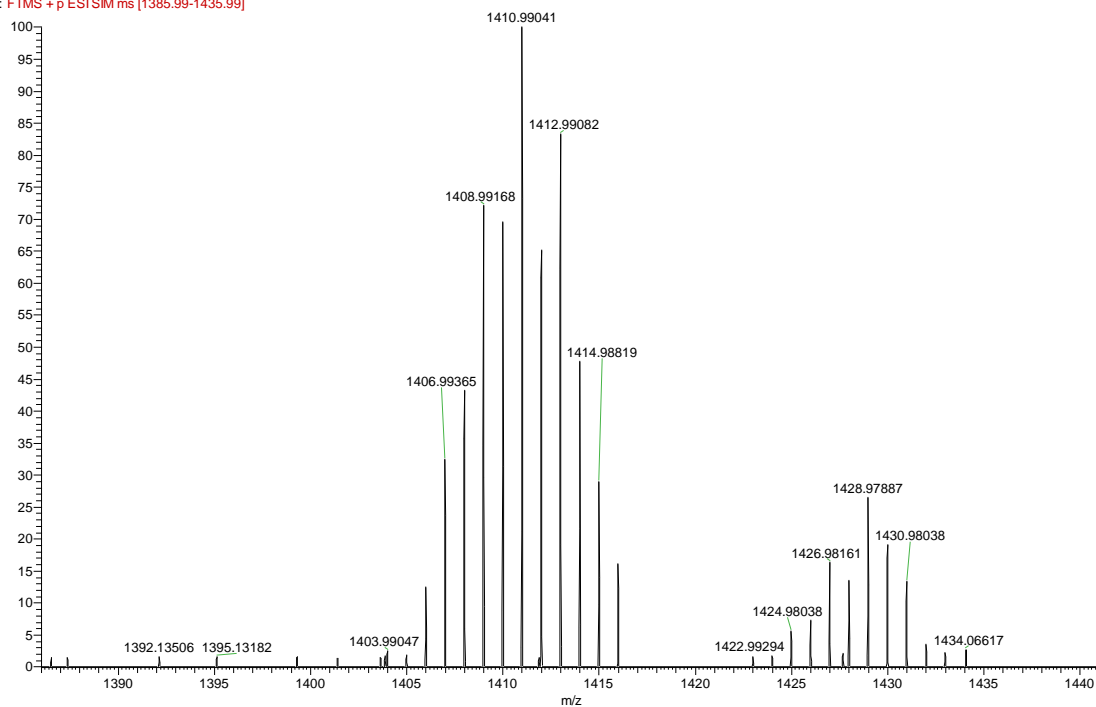
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5cEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 5c em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5dEspectro de RMN  $^{19}\text{F}$  do composto 5d em  $\text{CHCl}_3$  a 565 MHz

## Espectrometria de massas de alta resolução

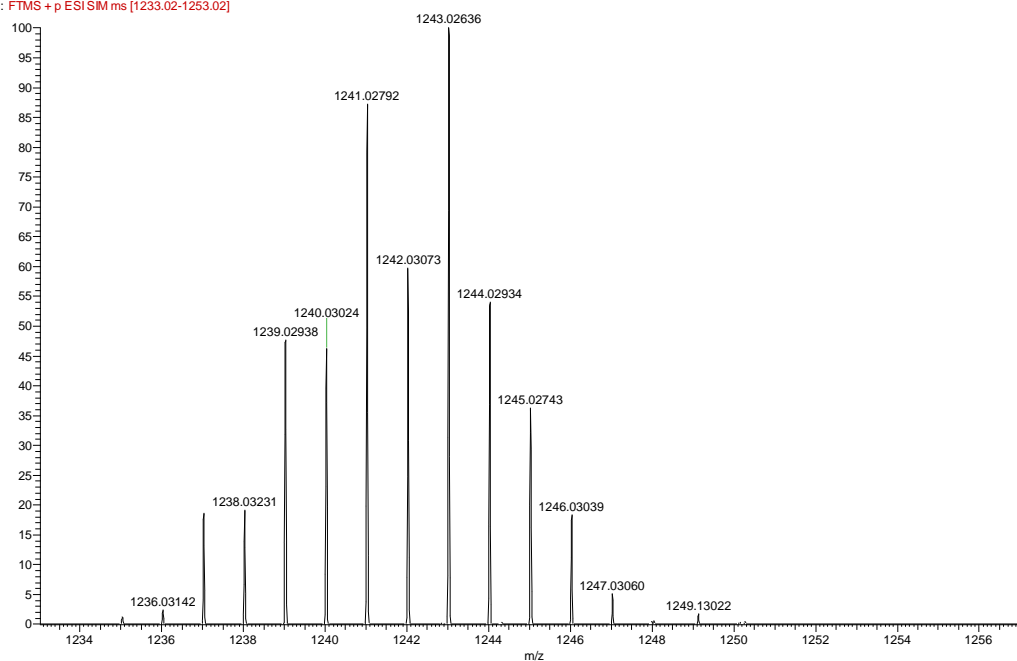
### HRMS do composto 3a

triSe-pMeMono\_S9S-307-4 #128-135 RT: 2.38-2.49 AV: 8 NL: 2.16E4  
F: FTMS + p ESI SIM ms [1385.99-1435.99]



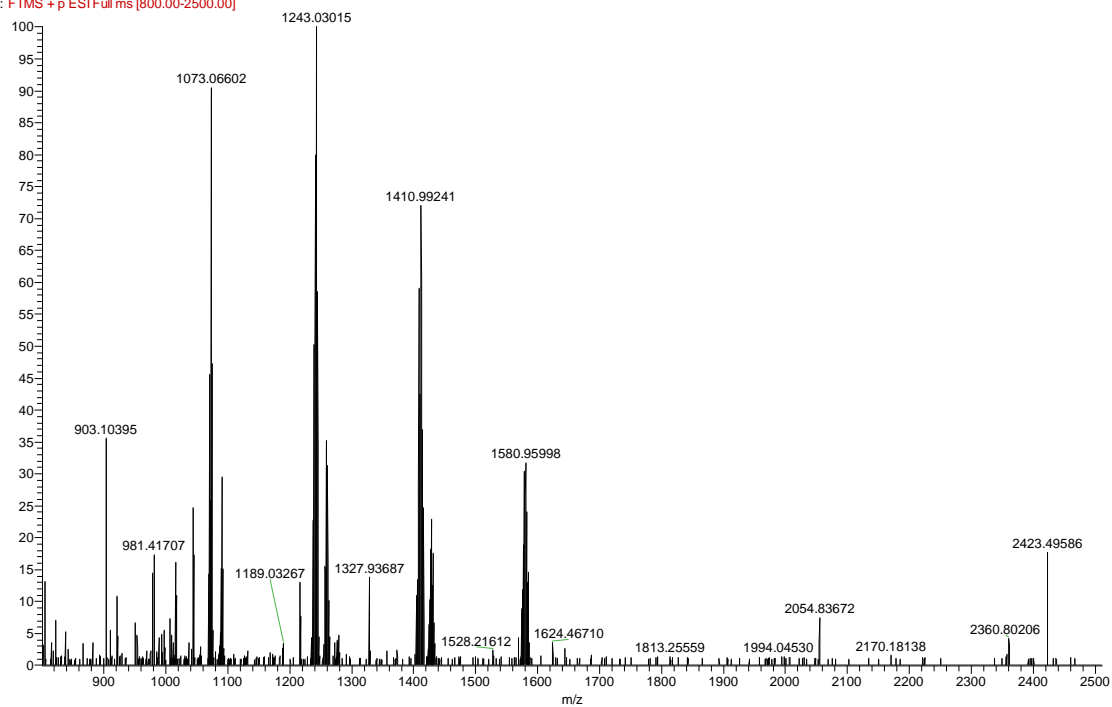
### HRMS do composto 3b

DiSe-p-Me-DiH\_S9S-307-6 #126-135 RT: 2.47-2.62 AV: 10 NL: 5.67E4  
F: FTMS + p ESI SIM ms [1233.02-1253.02]



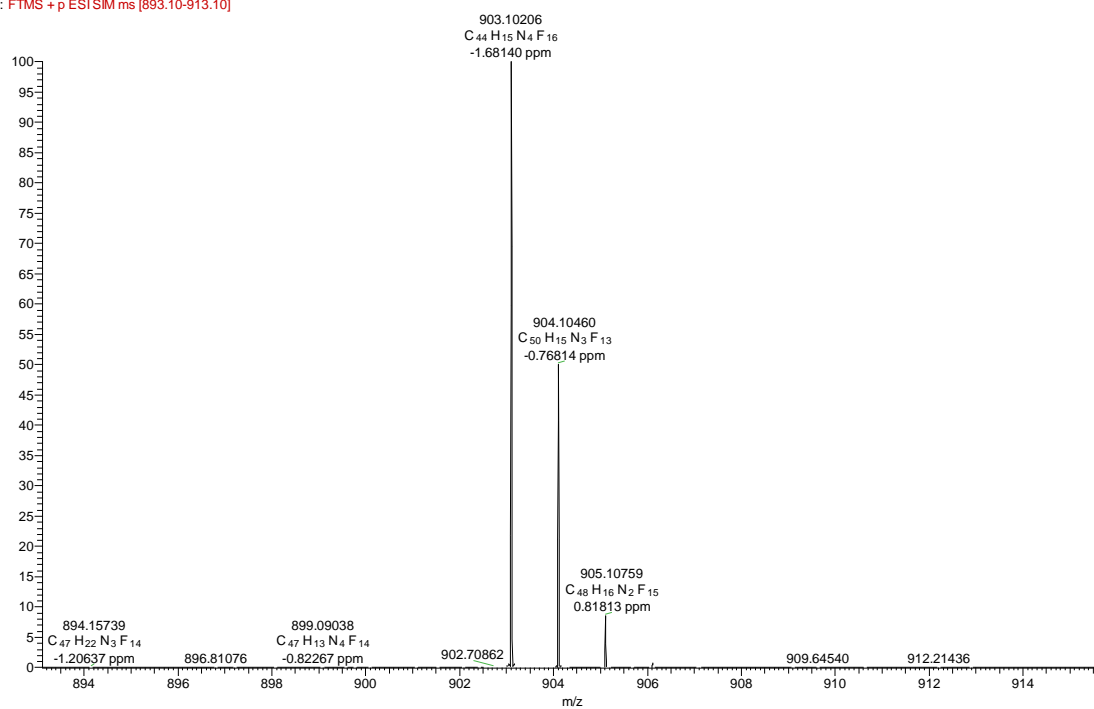
## HRMS do composto 3c

triSe-pMeMono\_S9S-307-4 #61-65 RT: 1.12-1.18 AV: 5 NL: 3.33E4  
F: FTMS + p ESI Full ms [800.00-2500.00]

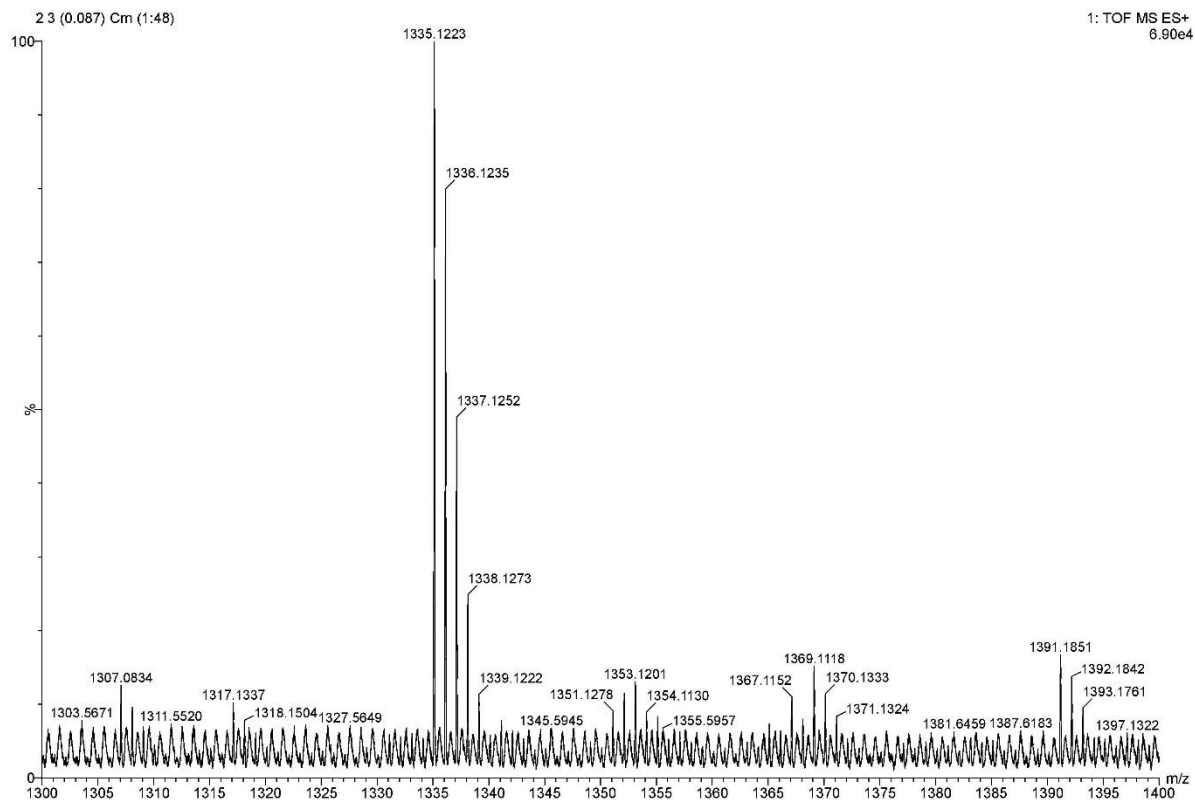


## HRMS do composto 3d

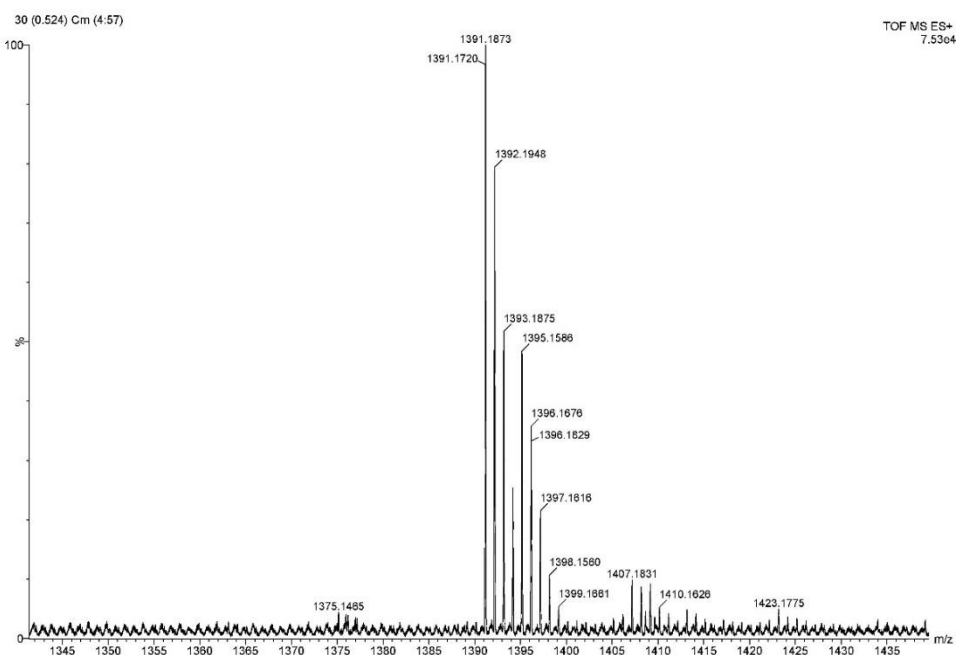
TetraH\_S9L-289 #12-35 RT: 0.19-0.51 AV: 21 NL: 4.05E6  
F: FTMS + p ESI SIM ms [893.10-913.10]



## HRMS do composto 5a

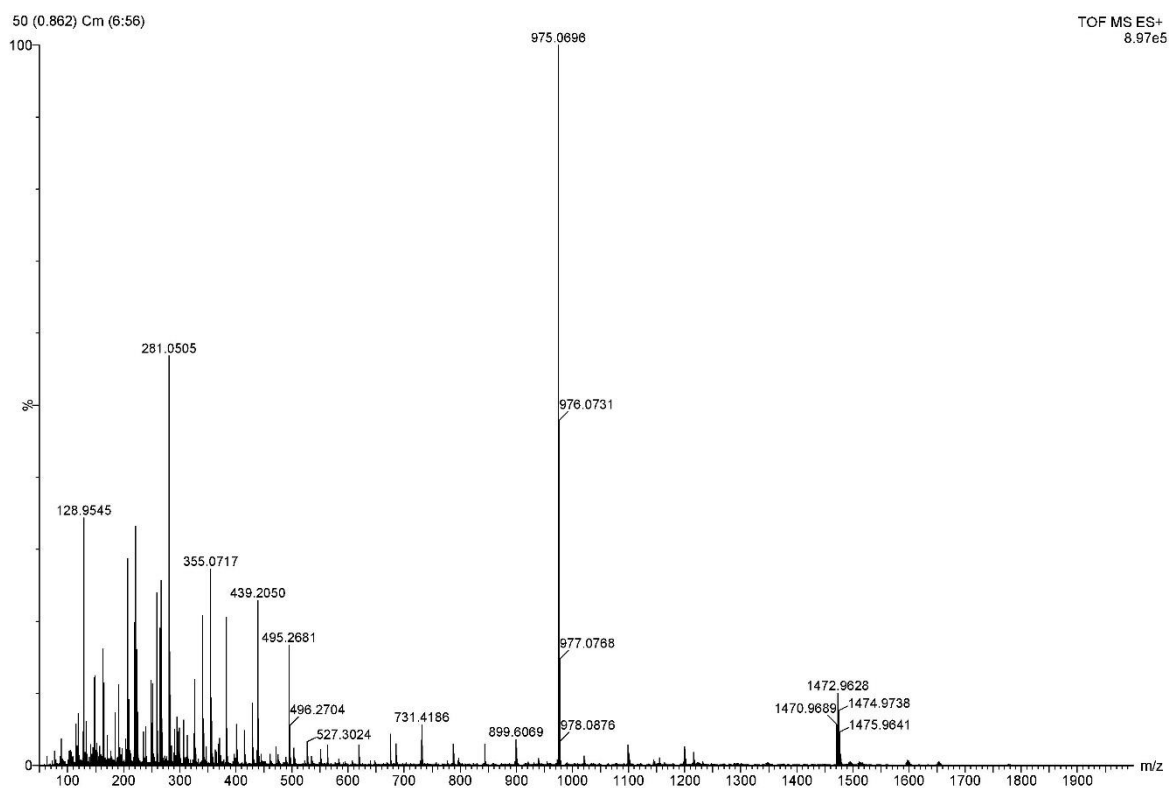


## HRMS do composto 5b





## HRMS do composto 5c



## HRMS do composto 5d

