

**César Augusto Silva Henriques**

# **SÍNTESE DE *MESO*-PORFIRINAS MISTAS**

**Estudos fotofísicos e térmicos**

**Mestrado em Química**

Departamento de Química

FCTUC

Setembro de 2011



UNIVERSIDADE DE COIMBRA





César Augusto da Silva Henriques

**SÍNTESE DE *MESO*-PORFIRINAS MISTAS**  
**Estudos fotofísicos e térmicos**

Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química, área de  
especialização em Processos Químicos Industriais

Orientador: Mariette Pereira

Co-orientador: Artur Abreu

**Setembro de 2011**

**Universidade de Coimbra**

## **Agradecimentos**

Tudo que envolveu o trabalho aqui apresentado só foi possível com a contribuição de muitas pessoas que de forma mais ou menos directa me incentivaram e apoiaram nesta importante etapa para mim, por isso quero agradecer:

À minha orientadora Professora Doutora Mariette Pereira por, para além de me ter proporcionado inestimável apoio e orientação na sua área de investigação, tem participado de forma decisiva para o meu crescimento pessoal académico de forma crítica e construtiva.

Ao meu co-orientador Doutor Artur Abreu, pois foi ele que me despoletou o fascínio pela Química Orgânica, com a sua sabedoria, sensatez e personalidade. Sem ele este trabalho não fazia sentido para mim, pelo acompanhamento e ajuda em todas as dificuldades.

Ao Doutor João Canotilho e Doutora Ermelinda Eusébio pela ajuda na iniciação nos estudos térmicos.

A todos os meus colegas do laboratório de catálise e química fina pela disponibilidade, companheirismo e por serem os melhores colegas de laboratório. Ao Nuno, Vanessa, Kamila, Álvaro e Roberto pelos momentos descontraídos que vivemos no dia-a-dia. Ao Carlos, à Andreia, à Mirtha, à Ângela, à Carla, ao Rui, ao Juvêncio e ao Gonçalo por todo o apoio e ajuda. Um muito obrigado à Sara e ao Mário por todas as correcções. À Ana pela ajuda incansável na elaboração deste trabalho, sem ela este trabalho não seria o mesmo.

Ao Hélder, à Fani, à Rita, à Marta, ao Gonçalo, à Diana, ao Renato e a todos os elementos do NEQ 2010/2011 por estarem sempre presentes e directa ou indirectamente influenciaram o desenvolvimento do meu trabalho. Também queria fazer um pedido de desculpa a todos os meus amigos pela minha ausência neste último ano.

Aos meus Pais, Irmãos, Cunhada e sobrinho Afonso, que apesar de virem em último, foram a principal força para esta etapa. Obrigado pela vossa compreensão e carinho ao longo destes anos.

# Índice

Resumo .....	i
Abstract.....	iii
Abreviaturas.....	v
Nomenclatura.....	vii
1. Introdução.....	1
1.1. Síntese de porfirinas <i>meso</i> -substituídas .....	1
1.2. Porphirinas catiónicas na inativação de bactérias.....	13
1.3. Modelação estrutural de porfirinas para diminuição do ponto de fusão.....	16
1.4. Referências.....	21
2. Síntese e caracterização de porfirinas mistas <i>meso</i> -substituídas .....	27
2.1. Síntese de porfirinas mistas neutras .....	28
2.2. Síntese de porfirinas mistas catiónicas .....	39
2.3. Coeficientes de partição .....	44
2.4. Caracterização fotofísica.....	47
2.5. Caracterização térmica.....	59
2.6. Referências.....	65
3. Conclusão .....	68
4. Experimental.....	71
4.1. Solventes e reagentes .....	71
4.2. Instrumentação e metodologia .....	71
4.3. Síntese de porfirinas mistas <i>meso</i> -substituídas .....	76
4.4. Síntese de porfirinas catiónicas.....	84
4.5. Referências.....	86

## Resumo

As porfirinas e seus derivados desempenham, na natureza, múltiplas funções, de entre as quais se salienta o seu papel como centros de absorção e transferência de energia. Neste contexto, a modelação estrutural e síntese de novas porfirinas tem crescido exponencialmente com o intuito de otimizar as suas propriedades electrónicas, térmicas, estereoquímicas e também de “*self-assembly*” em solução.

A conjugação de substituintes alquílicos com substituintes *N*-heterocíclicos numa só porfirina permite, por uma lado, obter compostos com baixos pontos de fusão e com capacidade de permear membranas e, por outro, gerar facilmente átomos de azoto quaternários e, conseqüentemente, porfirinas com carga positiva.

Nesta dissertação descreve-se a síntese de um conjunto de porfirinas mistas, estruturalmente constituídas pela combinação de grupos piridina com grupos alquílicos nas posições *meso*, originando compostos do tipo  $A_4$ ,  $A_3B_1$ ,  $A_2B_2$ ,  $A_1B_3$ ,  $B_4$ , onde A representa as cadeias alquílicas e B os grupos piridina. A síntese baseada no método do nitrobenzeno, recorreu à condensação de pirrol com aldeídos alquílicos (dodecanal ou tetradecanal) e 4-formil-piridina nas proporções de 3:1 e 4:1.

Com a utilização de dois aldeídos alquílicos contendo cadeias de diferente tamanho e o mesmo número de resíduos de piridina pretendeu-se avaliar o efeito nos valores do ponto de fusão dos compostos. Por outro lado, com o aumento da proporção relativa de aldeídos alquílicos quis-se averiguar alterações nos rendimentos de cada porfirina. Assim, através destes estudos, foi possível obter a 5,10,15,20-tetra(undecil)porfirina, 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina, 5,15-di(4-piridil)-10,20-di(undecil)porfirina, 5,10-di(4-piridil)-15,20-di(undecil)porfirina, 5,10,15-tri(4-piridil)-20-(undecil)porfirina, 5,10,15,20-tetra(4-piridil)porfirina, 5,10,15,20-tetra(tridecil)porfirina, 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina, 5,15-di(4-piridil)-10,20-di(tridecil)porfirina, 5,10-di(4-piridil)-15,20-di(tridecil)porfirina e 5,10,15-tri(4-piridil)-20-(tridecil)porfirina com rendimento global de 4-10 %. A utilização das proporções de 4:1 de alquilaldeído/4-formil-piridina permitiu melhorar o rendimento das porfirinas do tipo  $A_3B_1$  5-(4-piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina e 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina de 1.18 e 1.27 para 3.93 e 5.83 respectivamente, e  $A_2B_2$  5,15-di(4-piridil)-10,20-di(undecil)porfirina, 5,10-di(4-piridil)-15,20-di(undecil)porfirina, 5,15-di(4-piridil)-10,20-di(tridecil)porfirina e 5,10-di(4-piridil)-15,20-di(tridecil)porfirina de <0.01, 0.54, 0.42 e 1.12 para 3.52, 2.02, 3.05 e 1.36, respectivamente.

Todas as porfirinas foram isoladas e caracterizadas por RMN  $^1\text{H}$ , espectrometria de massa, espectroscopia de absorção UV-visível e espectroscopia de emissão de fluorescência. Foram também determinados os coeficientes de partição octanol/água, cujos valores se encontraram compreendidos entre 0.83 e 2.15 e para os quais se verificou uma diminuição do valor de log CP com o aumento do número de grupos piridina nas posições *meso* das porfirinas.

Os estudos térmicos preliminares efectuados por microscopia de capilar, realizados para todas as porfirinas, mostraram que o aumento do número de átomos de carbono na cadeia alquílica conduz a uma diminuição do ponto de fusão. Recorreu-se ainda às técnicas de DSC de potência compensada e de termomicroscopia para avaliar as características térmicas da 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina e 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina.

Sendo que era ainda objectivo deste trabalho, a síntese de porfirinas catiónicas que pudessem apresentar baixos pontos de fusão e ser utilizadas como potenciais sensibilizadores em PDT anti-bacteriano fez-se reagir a 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina e a 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina com iodeto de metilo obtendo-se as porfirinas catiónicas, iodeto de 5-(4-(metil)piridil)-10,15,20-(undecil)porfirina e iodeto de 5-(4-(metil)piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina com rendimentos de 95 e 98%, respectivamente. Estas porfirinas foram isoladas e caracterizadas por  $^1\text{H}$  RMN, espectrometria de massa, espectroscopia de absorção UV-visível e espectroscopia de emissão de fluorescência. Para estas duas porfirinas foram também determinados os coeficientes de partição octanol/água, contudo apenas para a segunda foi observado um aumento significativo deste valor em relação à porfirina de partida.

## Abstract

Porphyrins and their derivatives play multiple functions in nature. Their roles as absorption centers and energy transfer stand out among them. In this context, the structural modeling and synthesis of new porphyrins has grown exponentially in order to control their electronic, thermal, stereochemical and also solution self-assembly properties.

The combination of alkyl and *N*-heterocyclic substituents in the same porphyrin molecule allows to achieve low melting points compounds, with the ability to permeate membranes and moreover to generate quaternary nitrogen atoms and subsequently positively charged porphyrins.

In this dissertation, the synthesis of a set of mixed porphyrins, structurally composed by the combination of pyridine with alkyl groups in *meso* positions, giving rise to compounds of type  $A_4$ ,  $A_3B_1$ ,  $A_2B_2$ ,  $A_1B_3$  and  $B_4$ , where A represents the alkyl chains and B the pyridine groups. The synthesis, based on nitrobenzene method, consisted in the condensation of pyrrole with alkylaldehydes (dodecanal or tetradecanal) and 4-formyl-pyridine in 3:1 and 4:1 molar ratios. The use of alkylaldehydes with different alkyl chain length intended to evaluate, for porphyrins with the same number of pyridine substituents, the effect on the compound melting points while, the increasing alkylaldehyde relative proportion intended to assess the effect in each porphyrin synthesis yield. Thus, through this study, it was possible to obtain the 5,10,15,20-tetra(undecyl) porphyrin, 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(undecyl)porphyrin, 5,15-di(4-pyridyl)-10,20-di(undecyl)porphyrin, 5,10-di(4-pyridyl)-15,20-di(undecyl)porphyrin, 5,10,15-tri(4-pyridyl)-20-(undecyl)porphyrin, 5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin, 5,10,15,20-tetra(tridecyl)porphyrin, 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(tridecyl)porphyrin, 5,15-di(4-pyridyl)-10,20-di(tridecyl)porphyrin, 5,10-di(4-pyridyl)-15,20-di(tridecyl)porphyrin and 5,10,15-tri(4-pyridyl)-20-(tridecyl)porphyrin with an overall yield of 4-10 %. The use of 4:1 ratio of alkylaldehyde/4-formyl-aldehyde improved the yield of  $A_3B_1$  porphyrin-type (5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(undecyl)porphyrin and 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(tridecyl)porphyrin) from 1.18 and 1.27 to 3.93 and 5.83 respectively and  $A_2B_2$  porphyrin-type (5,15-di(4-pyridyl)-10,20-di(undecyl)porphyrin, 5,10-di(4-pyridyl)-15,20-di(undecyl)porphyrin, 5,15-di(4-pyridyl)-10,20-di(tridecyl)porphyrin and 5,10-di(4-pyridyl)-15,20-di(tridecyl)porphyrin) from <0.01, 0.54, 0.42 and 1.12 to 3.52, 2.02, 3.05 and 1.36, respectively.



All porphyrins were isolated and characterized by  $^1\text{H}$  NMR, mass spectrometry, UV-visible absorption and fluorescence emission spectroscopy. The octanol/water partition coefficients were also determined, with values comprised between 0.83 and 2.15, for which decrease in log CP value was observed with increased number of pyridine groups in the porphyrins *meso* positions.

The thermal studies of capillary microscopy performed for all porphyrins shown that the increase of the alkyl side chain length leads to a decrease in the melting points. Power compensation DSC and thermomicroscopy techniques were also used for 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(undecyl)porphyrin and 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(tridecyl)porphyrin to evaluate their thermal properties.

Since, in this work, we also expected to synthesize cationic porphyrins that might have low melting points and, could be used as potential anti-bacterial PDT sensitizers, we synthesized the 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(undecyl)porphyrin iodide and, 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(tridecyl)porphyrin iodide with 95 and 98% yields, respectively, from the reaction of 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(undecyl)porphyrin and 5-(4-pyridyl)-10,15,20-tri(tridecyl)porphyrin with methyl iodide. These porphyrins were isolated and characterized by  $^1\text{H}$  NMR, mass spectrometry and UV-visible absorption and fluorescence emission spectroscopy. We also determined the octanol/water partition coefficients however only the second showed a significant increase in the log CP value when compared with the starting compound.

## Abreviaturas

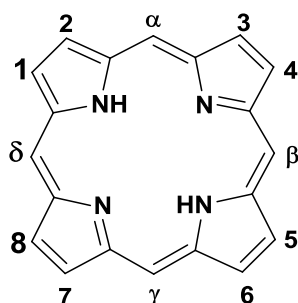
$\epsilon$	Coeficiente de absorvidade molar
$\lambda$	Comprimento de onda
$\Delta$	Desvio químico
$\Phi_F$	Rendimento quântico de fluorescência
$\Phi_T$	Rendimento quântico de formação do estado tripleto
c.d.o.	Comprimento de onda
CI	Interface do computador (do inglês “computer interface”)
Co	Concentração na fase orgânica
CP	Coeficiente de partição
Cw	Concentração na fase aquosa
COSY	Correlação espectroscópica homonuclear bidimensional em RMN
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-dicianobenzoquinona
DSC	Calorimetria diferencial de varrimento (do inglês “differential scanning calorimetry”)
ESI	Ionização por “electrospray” (do inglês “electrospray ionization”)
HPLC	Cromatografia líquida de elevada performance (do inglês “High performance liquid chromatography”)
HOMO	Orbital molecular ocupada de maior energia (do inglês “highest occupied molecular orbital”)
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês “International Union of Pure and Applied Chemistry”)
$J$	Constante de acoplamento
LUMO	Orbital molecular desocupada de menor energia (do inglês “lowest unoccupied molecular orbital”)
LNP	do inglês “liquid nitrogen pump”
m	Multiplete
$(M+H)^+$	Ião molecular protonado
m/z	Razão massa/carga
PBS	Tampão fosfato (pH=7.4) ( do inglês “phosphate buffer saline”)

PDI	Inativação fotodinâmica
PDT	Terapia fotodinâmica (do inglês “photodynamic therapy”)
PS	Fotossensibilizador
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de próton
S	Estado electrónico singuleto
s	Singuleto
S <sub>N</sub> 2	Substituição nucleofílica bimolecular
t	Tripleto
T	Estado electrónico tripleto
TDCPP	<i>meso</i> -tetra(2,6-diclorofenil)porfirina
TFA	Ácido trifluoroacético
TLC	Cromatografia em camada fina
TMS	Tetrametilsilano
TPP	<i>meso</i> -tetrafenilporfirina
TOF	Espectrómetro de massa de tempo de voo (do inglês “time-of-flight”)
UV-visível	Ultravioleta-visível
RTVMS	do inglês “real time video measurement system”
VTO	do inglês “video tect overlay”

## Nomenclatura

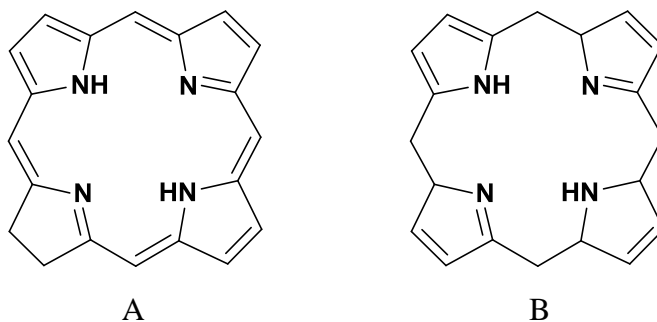
Nesta dissertação, com exceção de alguns macrociclos tetrapirrólicos, foram seguidas as recomendações da IUPAC para numerar e nomear os compostos.<sup>i</sup>

Nos macrociclos tetrapirrólicos foi usada também a nomenclatura proposta por Fischer, uma vez que a designação destes compostos por essa via se torna mais simples.<sup>ii</sup> De acordo com a nomenclatura de Fischer o composto mais simples (**figura I**), tem as posições *meso* (pontes metilénicas) designadas por  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  e as posições  $\beta$  pirrólicas (posições periféricas) numeradas de 1 a 8.



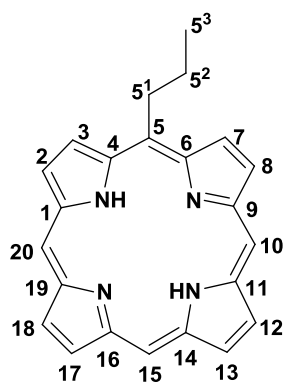
**Figura I-** Numeração e denominação de porfirinas segundo a nomenclatura de Fischer<sup>ii</sup>

A nomenclatura de Fischer é também utilizada para denominar hidroporfirinas. Desta forma, uma porfirina reduzida nas posições 7 e 8 é designada por clorina (**figura II – A**) e uma porfirina com as posições  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  reduzidas é denominada por porfirinogénio (**figura II – B**).



**Figura II-** Nomenclatura de hidroporfirinas:  
A) Clorina; B) Porfirinogénio

Na parte experimental, por questões de rigor, os macroclicos tetrapirrólicos serão numerados e denominados de acordo com as recomendações da IUPAC.<sup>i</sup> Segundo a nomenclatura da IUPAC os carbonos dos macroclicos tetrapirrólicos são numerados sequencialmente de 1 a 20 e os átomos de carbono externos são designados com índices de acordo com a **figura III**.



**Figura III-** Numeração e denominação de porfirinas segundo a nomenclatura da IUPAC<sup>i</sup>

<sup>i</sup> W. E. Powell, *Pure & Appl. Chem.*, 65 (1993) 1357.

<sup>ii</sup> H. Fischer, H. Orth, *Die Chemie des Pyrrols*, Akad. Verlagsges, Leipzig, 1934, vol I.

# CAPÍTULO 1

## 1. Introdução

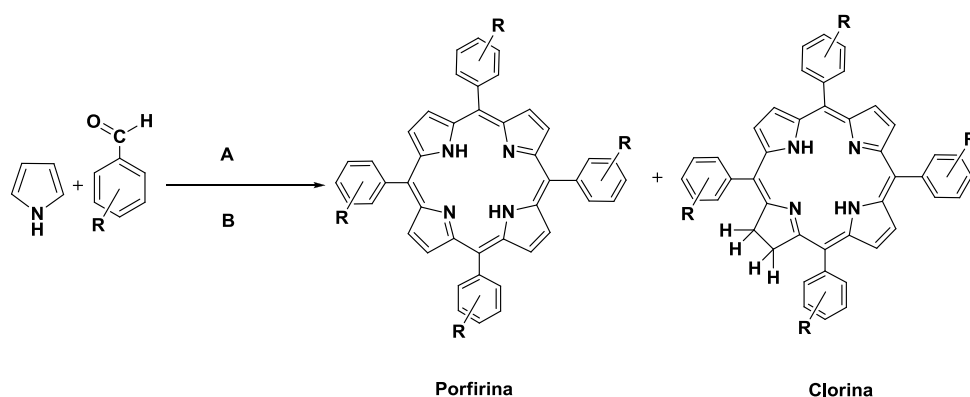
Os macrociclos tetrapirrólicos, em particular as porfirinas, são uma das classes de compostos orgânicos mais estudadas em todo o mundo, não só por serem moléculas com funções biológicas fundamentais para a continuação da vida no Planeta Terra mas também, por poderem ser parte da solução de alguns dos problemas que enfrentamos nos dias de hoje. Por este motivo, a investigação centrada neste tipo de compostos tem sido um constante desafio para os Químicos Orgânicos na procura de novas rotas de síntese de compostos tetrapirrólicos. A enorme diversidade de compostos tetrapirrólicos e, dos respectivos complexos metálicos, tem contribuído significativamente para o desenvolvimento de outros domínios científicos, nomeadamente na área da medicina,<sup>1,2</sup> biologia,<sup>3</sup> nanotecnologia<sup>4</sup> e catálise.<sup>5,6</sup> De entre os vários tipos de porfirinas, obtidos por métodos sintéticos, salientam-se as porfirinas *meso*-substituídas pois estas apresentam grandes potencialidades para utilização nas mais diversas aplicações. Assim, e tendo em conta que um dos objectivos deste trabalho é a síntese de porfirinas mistas com *meso*-substituintes alquílicos, na secção seguinte apresenta-se de forma detalhada uma revisão da literatura da evolução dos métodos de síntese deste tipo de porfirinas.

### 1.1. Síntese de porfirinas *meso*-substituídas

As porfirinas de origem natural são normalmente substituídas nas posições  $\beta$ -pirrólicas contudo, devido à enorme dificuldade de síntese destes compostos, as porfirinas obtidas por *via* sintética apresentam, em geral, substituintes nas posições *meso*, uma vez que a sua obtenção é bastante mais simples. É possível encontrar na literatura duas diferentes aproximações à síntese de porfirinas *meso*-substituídas: i) a síntese total dos compostos – condensação, ciclização e oxidação – ocorre num só processo reaccional; ii) a síntese ocorre em dois processos reaccionais separados – os passos de condensação e ciclização ocorrem no primeiro processo e o passo de oxidação dá-se no segundo processo.

Em 1935, Rothmund<sup>7</sup> descreveu, pela primeira vez, a síntese de porfirinas simétricas, num único processo, através da reacção de condensação de pirrol com o aldeído apropriado, realizada em atmosfera inerte, usando como solvente piridina. Com este método o autor obteve 25 novos compostos porfirínicos, com diferentes substituintes nas posições *meso*, todos com rendimentos bastante baixos, excepto quando foi usado o benzaldeído onde alcançou um rendimento de 10% para a *meso*-tetrafenilporfirina (TPP).<sup>8</sup> Apesar destes resultados, neste trabalho e em trabalhos subsequentes desenvolvidos por Calvin e outros autores,<sup>9,10</sup> foi sempre detectada a contaminação com cerca de 10-20 % da correspondente clorina, **figura 1.1**. Os estudos desenvolvidos por Calvin revelaram que o aparecimento de clorina como subproduto, dependia não só da temperatura, mas também da presença de sais de metais de transição. Assim, quando a reacção era efectuada na presença de acetato de zinco e, tal como Rothmund, usando piridina como solvente, Calvin conseguiu melhorar significativamente o rendimento para a preparação de TPP.

Mais tarde, em 1964, Adler<sup>11-13</sup> introduziu melhorias no processo de síntese das *meso*-arilporfirinas, quando efectuou a condensação/oxidação do pirrol com o aldeído em ácido acético ou propiónico, em vez da piridina, usando o vaso reaccional aberto para o ar. Esta estratégia permitiu a obtenção da TPP, cuja cristalização ocorria directamente no meio reaccional, com rendimentos de cerca de 20 %. No entanto, este método era muito irreprodutível quando se utilizavam benzaldeídos substituídos nas posições *orto*, para além de conduzir sempre à formação de uma elevada quantidade de clorina (~ 10%), **figura 1.1**.



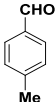
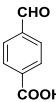
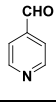
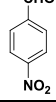
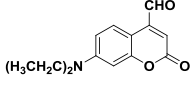

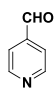
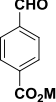
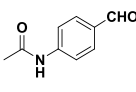

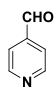
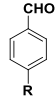

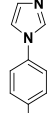






**Figura 1.1-** Condensação/oxidação, num único processo, de pirrol com aldeído através das condições de reacção de: A) Rothmund<sup>7</sup>: piridina/metanol, 115 °C, tubo selado; B) Adler<sup>11</sup>: ácido propiónico, 130°C, ar.

O trabalho de Adler foi um dos maiores contributos para o desenvolvimento de um método fiável de obtenção da TPP, porém não conseguiu solucionar todos os problemas associados à síntese de porfirinas *meso*-tetrasubstituídas. Algumas das limitações relativas a este método centram-se no facto de não permitirem preparar, com rendimentos aceitáveis, *meso*-arilporfirinas com substituintes volumosos nas posições *orto* dos grupos fenilo, nem *meso*-alquilporfirinas de forma reprodutível. Além destes problemas as porfirinas obtidas continham sempre contaminação, com pelo menos 10 %, das respectivas clorinas. Por esta razão, para se obterem porfirinas puras por este método, era indispensável proceder à oxidação das clorinas recorrendo a quinonas de alto potencial oxidativo (DDQ ou cloranil).<sup>14-16</sup>.

Apesar das desvantagens referidas, a metodologia de Adler permitiu a síntese de um elevado número de porfirinas mistas, como está bem patente nos artigos de revisão de Lindsey<sup>17</sup> e Pereira.<sup>18</sup> Na **tabela 1.1** apresentam-se as misturas de aldeídos que têm vindo a ser condensadas com pirrol, bem como os rendimentos das correspondentes porfirinas mistas. É possível observar que este método foi muito utilizado no processo de condensação de misturas de aldeídos, contudo a sua aplicação na síntese de *meso*-tetra-alquilporfirinas é praticamente inexistente.



**Tabela 1.1-** Exemplos seleccionados de porfirinas *meso*-substituídas sintetizadas pela metodologia de Adler.<sup>19</sup>

Aldeídos <sup>a)</sup>		Rendimento (%)	Referências
		5 <sup>b)</sup>	20
		4-8 <sup>b)</sup>	21,22
		c)	23
		25 <sup>d)</sup>	24
		3 <sup>b)</sup>	25
		c)	25, 26
		31 <sup>b)</sup>	27
		c)	28
		c)	29
		6 <sup>b)</sup>	29

a) Condensação de pirrol com a mistura apropriada de aldeídos

b) Rendimento correspondente à porfirina que incorpora 3 unidades do primeiro aldeído e uma do segundo

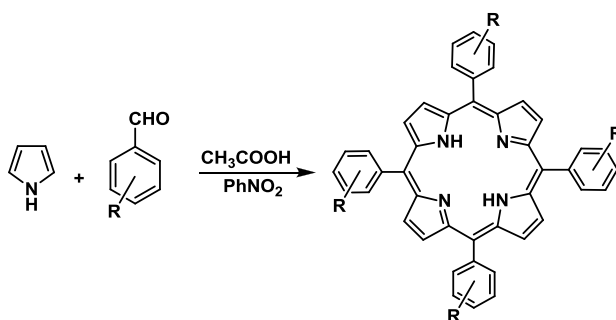
c) Rendimento não avaliado

d) Rendimento das 6 porfirinas possíveis da mistura dos dois aldeídos

No sentido de colmatar as limitações que este método apresentava, foi desenvolvido em Coimbra uma metodologia de síntese de porfirinas, num único processo reaccional,

na qual o ácido acético ou propiónico foi substituído por uma mistura de ácido acético e nitrobenzeno.<sup>30-32</sup>

Este novo método de síntese de *meso*-porfirinas é actualmente conhecido, na literatura, como método do nitrobenzeno e consiste na reacção aeróbia do pirrol com os diferentes aldeídos, a uma temperatura de 130°C durante aproximadamente 1 hora, utilizando como solvente uma mistura de ácido acético/nitrobenzeno (7:3), **figura 1.2**.



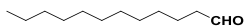

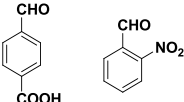
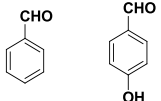
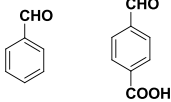
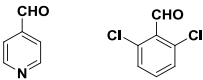

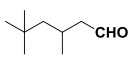
**Figura 1.2-** Método de nitrobenzeno para a síntese de *meso*-porfirinas.

Na maioria dos casos em que este método é utilizado, a porfirina cristaliza directamente no meio reaccional, após adição de metanol, com um elevado grau de pureza e com pequenas ou nenhuma contaminação com a respectiva clorina. Actualmente sabe-se que a mistura nitrobenzeno/ar, a temperaturas superiores a 120°C, é capaz de promover, não só, a oxidação do porfirinogénio na correspondente porfirina, mas também oxidar outros intermediários às respectivas porfirinas, evitando contaminações do produto final.

Tal como o método de Adler, o método do nitrobenzeno tem sido utilizado para sintetizar inúmeras porfirinas *meso*-substituídas.<sup>17,18</sup> Na **tabela 1.2** apresenta-se uma selecção de porfirinas mistas, algumas contendo substituintes alquílicos, sintetizadas por este método. É de notar que o método do nitrobenzeno, para além de ter solucionado os problemas de contaminação com clorina, permitiu também, como é possível constatar pela **tabela 1.2**, a obtenção de *meso*-tetraalquilporfirinas e outras com substituintes volumosos nas posições *orto* dos grupos fenilo das posições *meso*, de forma reprodutível e com rendimentos razoáveis. Assim, o método nitrobenzeno permite a síntese de porfirinas mistas com *meso*-substituintes alquílicos, o que não era possível sob as condições de Adler. Por esse motivo o método do nitrobenzeno foi o

seleccionado para efectuar a síntese das porfirinas mistas alquílicas que é também o tema central dos estudos apresentados nesta dissertação.

**Tabela 1.2-** Exemplos seleccionados de porfirinas assimétricas e/ou alquílicas sintetizadas pelo método sintético do nitrobenzeno.<sup>19</sup>

Aldeídos <sup>a)</sup>	Rendimento (%)	Referências
	13	33
	12	34
	5 <sup>b)</sup>	35
	7 <sup>b)</sup>	36
	13 <sup>b)</sup>	36
	c)	37
	6	38
	8	

a) Condensação do pirrol com a mistura apropriada de aldeídos

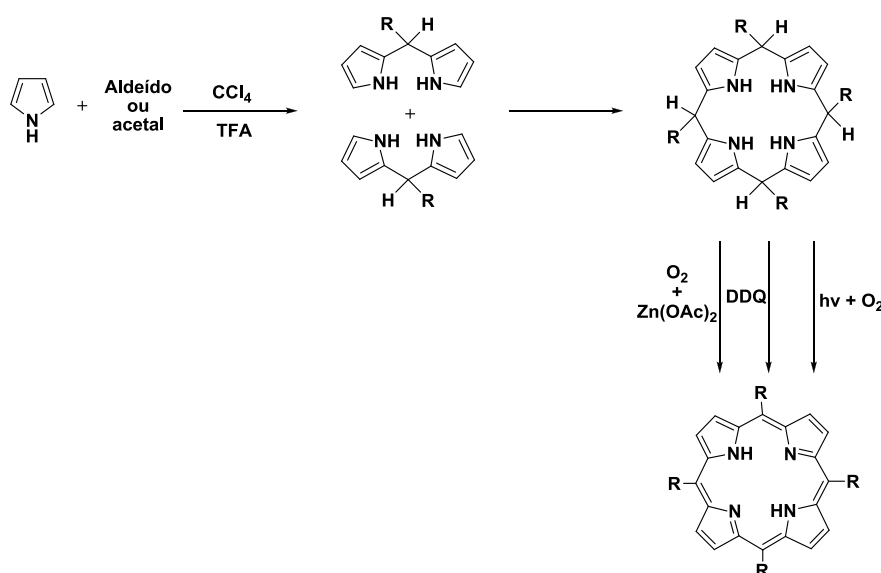
b) Rendimento correspondente à porfirina que incorpora 3 unidades do primeiro aldeído e uma do segundo

c) Rendimento não avaliado

Como referimos no início do capítulo, existe uma outra abordagem sintética, que consiste na separação dos processos reaccionais de condensação/ciclização, da oxidação do porfirinogénio. Esta estratégia foi, inicialmente, desenvolvida por Gonsalves e Pereira,<sup>39</sup> para a síntese de *meso*-tetraalquilporfirinas e resultou na obtenção do porfirinogénio com elevados rendimentos. As melhorias introduzidas consistiam na

utilização de acetais, em detrimento dos respectivos aldeídos alquílicos, de tetracloreto de carbono como solvente e quantidades catalíticas de ácido trifluoroacético (TFA), **figura 1.3**.

Neste trabalho, através de ressonância magnética nuclear de próton (RMN  $^1\text{H}$ ) realizada *in situ*, observou-se a condensação entre o acetal e as duas unidades de pirrol formando dipirrilmetano. Posteriormente, as duas unidades de dipirrilmetano recém-formadas davam origem ao correspondente porfirinogénio, através de uma ciclização do tipo MacDonald 2+2.<sup>40</sup> Deve salientar-se que em termos mecanísticos, esta foi uma observação importante, pois demonstrou que a reacção de formação do porfirinogénio ocorria através da condensação de duas unidades de dipirrilmetano, **figura 1.3**, nunca tendo sido observada a formação do tetrâmero.<sup>41</sup>



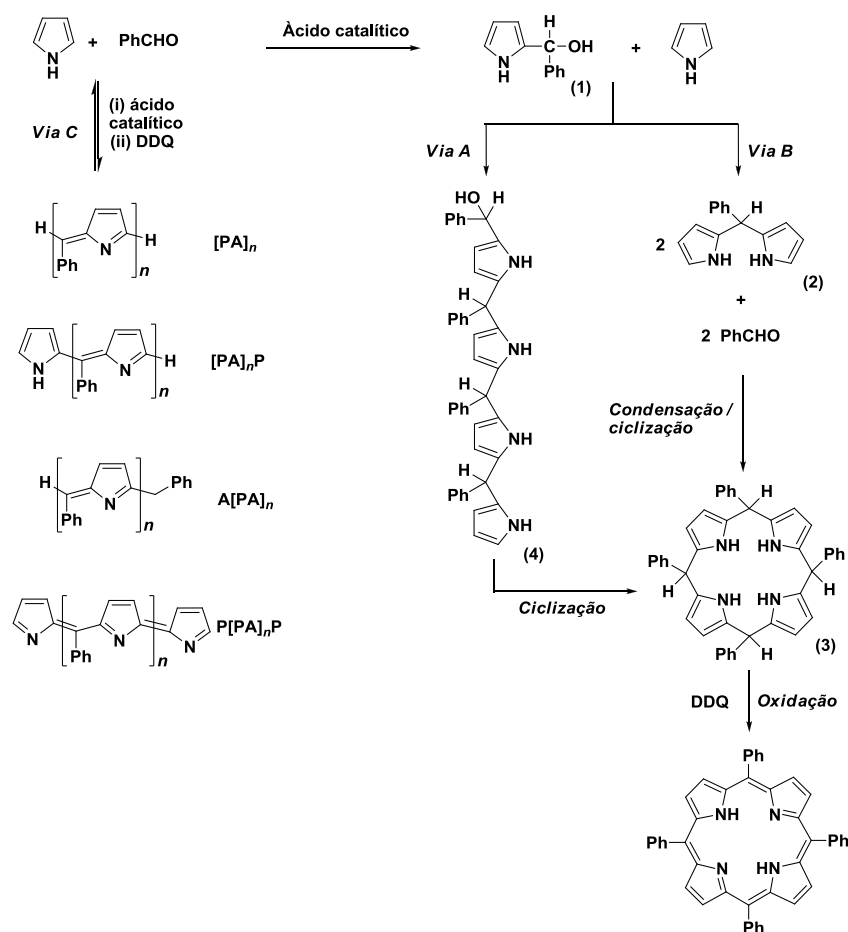
**Figura 1.3-** Síntese de *meso*-tetra-alkilporfirinas *via* acetal.

No sentido de promover a transformação do porfirinogénio na respectiva porfirina foram desenvolvidos três diferentes estratégias de oxidação: a primeira utiliza quinonas de alto potencial como agente oxidante, a segunda consiste na foto-oxidação na presença de ácido acético e a terceira recorre ao ar como oxidante na presença de acetato de zinco (II), **figura 1.3**. Dos três métodos utilizados, a primeira aproximação, na qual é utilizada 2,6-dicloro-3,5-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) como agente oxidante, foi a que conduziu a melhores rendimentos. Esta aproximação, em que os dois processos reaccionais são realizados separadamente, foi posteriormente utilizada e

melhorada por Drenth<sup>42</sup> e Lindsey.<sup>43-45</sup> As melhorias introduzidas consistiam na realização da condensação do pirrol com o aldeído em solventes clorados, na presença de trifluoreto de boro como catalisador, usando elevadas diluições e atmosfera inerte. A utilização do ácido de Lewis como catalisador conduziu a uma melhoria significativa na síntese de porfirinas com substituintes volumosos nas posições *orto*, permitindo alcançar rendimentos de 30% para a TDCPP.

Esta abordagem, cujos processos reaccionais são efectuados separadamente, exigiu a optimização de dois aspectos fulcrais: i) condensação e ciclização preferencial do pirrol com os aldeídos de forma a originar o porfirinogénio; ii) oxidação do porfirinogénio à correspondente porfirina. Na condensação do pirrol com o benzaldeído foi demonstrado por vários autores<sup>23,46-58</sup> e, em especial, pelo extenso trabalho de Lindsey<sup>43-45,59,60</sup> que o processo de condensação é muito sensível à concentração dos reagentes, à natureza do ácido usado em quantidades catalíticas<sup>45,61,62</sup> e aos co-catalisadores utilizados, como etanol<sup>47,63</sup> ou sais.<sup>64,65</sup> Modulando estes parâmetros foi possível produzir TPP com rendimentos entre 5% e 58 %, sendo os melhores resultados obtidos com BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O (1 mM), NaCl (25 mM), numa solução de pirrol (10 mM) e benzaldeído (10 mM), utilizando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como solvente.<sup>62</sup> No entanto, convém sublinhar que estas condições não podem ser generalizadas, pois existe uma forte dependência dos aldeídos e catalisadores usados.<sup>66</sup>


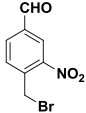
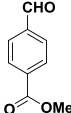
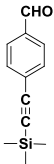

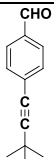

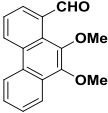
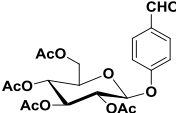
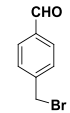
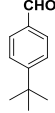
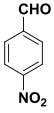
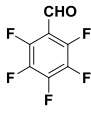
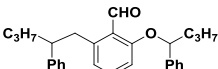
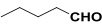




Até aos dias de hoje ainda não foi possível mostrar de forma inequívoca se a primeira etapa da síntese de porfirinas envolve a condensação do pirrol com benzaldeído dando origem ao pirrilcarbinol (1) e fenildipirrometano (2), seguida pela ciclização ao correspondente porfirinogénio (3) ou se, preferencialmente, envolve a autocondensação de pirrilcarbinol (1) para formar espécies tetrapirrólicas lineares (4), seguida pela ciclização ao porfirinogénio desejado (3), **figura 1.4**. Porém como já foi referido anteriormente, os estudos de RMN *in situ* da condensação de pirrol com alquilaldeídos realizados por Gonsalves e Pereira,<sup>39</sup> mostraram a formação exclusiva de dipirrilmetano e porfirinogénio.



**Figura 1.4-** Possíveis mecanismos para a síntese de porfirinas em dois passos.<sup>18</sup>

O método de Lindsey é actualmente considerado um marco histórico na síntese de porfirinas *meso*-substituídas não só devido à melhoria nos rendimentos alcançados, mas também devido ao facto de os produtos finais não apresentarem qualquer contaminação com a correspondente clorina. Por esta razão este método tem sido utilizado na síntese de uma vasta gama de porfirinas *meso*-substituídas simétricas e assimétricas, algumas delas *meso*-alquilporfirinas, que foram apresentadas numa extensa revisão realizada por Lindsey<sup>17</sup> e Pereira<sup>18</sup>, em 2000 e 2008, respectivamente. Na **tabela 1.3** apresentam-se alguns exemplos seleccionados de porfirinas mistas e/ou com substituintes alquílicos, sintetizadas até aos dias de hoje, pelo método de Lindsey.

**Tabela 1.3-** Exemplos selecionados de porfirinas *meso*-substituídas sintetizadas pelo método de Lindsey.<sup>19</sup>

Aldeídos <sup>a)</sup>		Rendimento (%)	Referências
		10.5 <sup>b)</sup>	67
		10 <sup>b)</sup>	68
		11 <sup>b)</sup>	69
		22 <sup>b)</sup>	70
		31 <sup>b)</sup>	71
		11 <sup>b)</sup>	72
		8.1 <sup>b)</sup>	73
		6.2	
		6.2	
		5.1	74
		15	
		5.3	

a) Condensação do pirrol com a mistura apropriada de aldeídos

b) Rendimento correspondente à porfirina que incorpora 3 unidades do primeiro aldeído e uma do segundo

Apesar dos bons resultados que este método permitiu alcançar, este possui ainda algumas desvantagens para a aplicação em larga escala, nomeadamente, a utilização de quinonas como agentes oxidantes, a necessidade de grandes diluições no primeiro passo e o emprego de processos de purificação laboriosos e dispendiosos. Na tentativa de colmatar o emprego de quinonas no processo de oxidação surgiram alternativas centradas na utilização de peróxido de hidrogénio como agente oxidante do porfirinogénio.<sup>30,33</sup> Com esta aproximação foi possível alcançar bons rendimentos para porfirinas mesmo quando são utilizados arilaldeídos com grupos volumosos nas posições *orto*. Recentemente, Serra<sup>75</sup> alargou este método à síntese de derivados bromados e iodados de *meso*-tetraarilporfirinas contendo grupos hidroxilo. Na **tabela 1.4** apresentam-se alguns exemplos seleccionados de *meso*-tetraarilporfirinas sintetizadas, através do método cujos processos reaccionais são separados, usando o peróxido de hidrogénio como oxidante.

Este método de oxidação mostrou ser uma boa alternativa ao uso de DDQ, porém não tem sido ainda muito utilizado na síntese de porfirinas *meso*-substituídas.

Apesar do grande número de trabalhos publicados neste domínio é importante notar que a optimização da síntese de *meso*-tetraarilporfirinas é ainda um desafio e uma questão de grande interesse para os Químicos uma vez que as porfirinas sintéticas têm inúmeras aplicações. Na secção seguinte desta dissertação destaca-se a sua aplicação na inactivação de bactérias uma vez que as características estruturais dos compostos sintetizados neste trabalho serão modeladas para esta finalidade.



**Tabela 1.4-** Síntese de meso-tetraarilporfirinas usando peróxido de hidrogénio como oxidante.<sup>19</sup>

<b>Grupo meso</b>	<b>Rendimento<sup>a)</sup> (%)</b>	<b>Referências</b>
Fenil	14	
4-bifenil	12	
4-metoxifenil	21	
3,4-dimetoxifenil	23	
3,4,5-trimetoxifenil	30	
3,4-metilenodioxifenil	20	33
3-clorofenil	19	
4-clorofenil	27	
2,6-diclorofenil	23	
4-metilsulfoxifenil	40	
2,4,6-tribromo-3-metoxifenil	10	
3-hidroxifenil	12	
2-bromo-5-hidroxifenil	10	75
2,4,6-tribromo-3-hidroxifenil	7	
4-iodo-3-hidroxifenil	13	

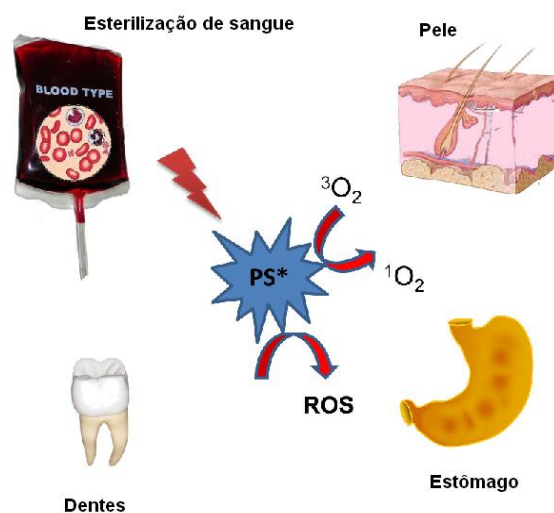
a) Rendimentos de produto isolado sem contaminação com clorina.

## 1.2. Porfirinas catiónicas na inativação de bactérias

A enorme diversidade estrutural das porfirinas e dos seus complexos metálicos, obtidos pelos métodos de síntese apresentados na secção anterior, justificam a plethora de aplicações destas moléculas em múltiplos domínios tais como: medicina, biologia, engenharia, catálise, entre outras.

O desenvolvimento de compostos e métodos capazes de inactivar bactérias é um tema de elevado interesse para a saúde pública mundial, uma vez que as rápidas mutações observadas nas bactérias têm aumentado consideravelmente a sua resistência aos antibióticos existentes no mercado. Para este facto tem contribuído muito o uso excessivo de antibióticos e já existem *profecias* sobre o fim da “era antibiótica”,<sup>76,77</sup> o que torna premente a procura de substâncias/métodos alternativos. É neste enquadramento que a terapia fotodinâmica (PDT) utilizando porfirinas como sensibilizadores tem também assumido um papel importante no combate a agentes patogénicos microbianos.<sup>78</sup> Recentemente foi publicado um artigo no qual é descrita a utilização, de forma promissora, de porfirinas catiónicas simétricas e assimétricas na foto-destruição de bactérias.<sup>79</sup>

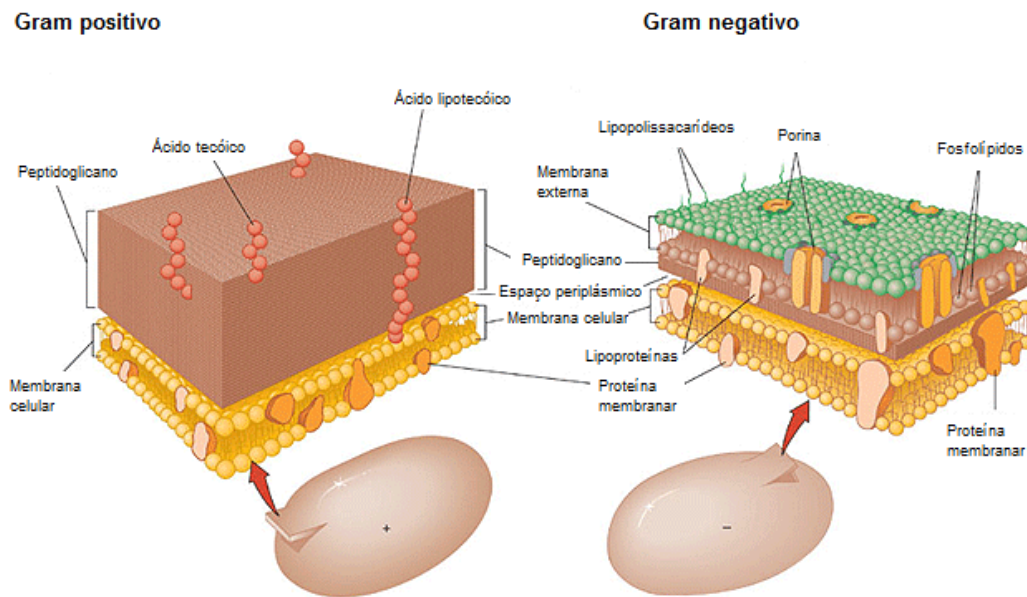
A PDT é uma técnica terapêutica que envolve o uso de corantes ou fotossensibilizadores (PS) combinados com luz visível ou infravermelho próximo, de comprimento de onda apropriado para excitar o PS.<sup>80</sup> A luz irradiada é absorvida pelo fotossensibilizador, convertendo-o a um estado tripleto de longa duração que, por sua vez, interage com o oxigénio molecular. Este leva à geração de espécies citotóxicas nomeadamente, radicais livres e oxigénio singuleto (ROS), que são capazes de destruir as estruturas biológicas que se encontram dentro do seu raio de acção, **figura 1.5**.<sup>81</sup> Um fotossensibilizador para ser aplicado em PDT deve possuir algumas características desejáveis<sup>82</sup>, tais como: não apresentar toxicidade no escuro, ter elevada selectividade e afinidade com as células microbianas, ter rendimento quântico e energia do estado tripleto ( $\Phi_T$ ) elevado e não formar agregados com facilidade.



**Figura 1.5-** Representação esquemática da utilização de tecidos biológicos *ex vivo* e materiais para simular *in vitro*, o uso de PDT na morte de células microbianas em infecções.

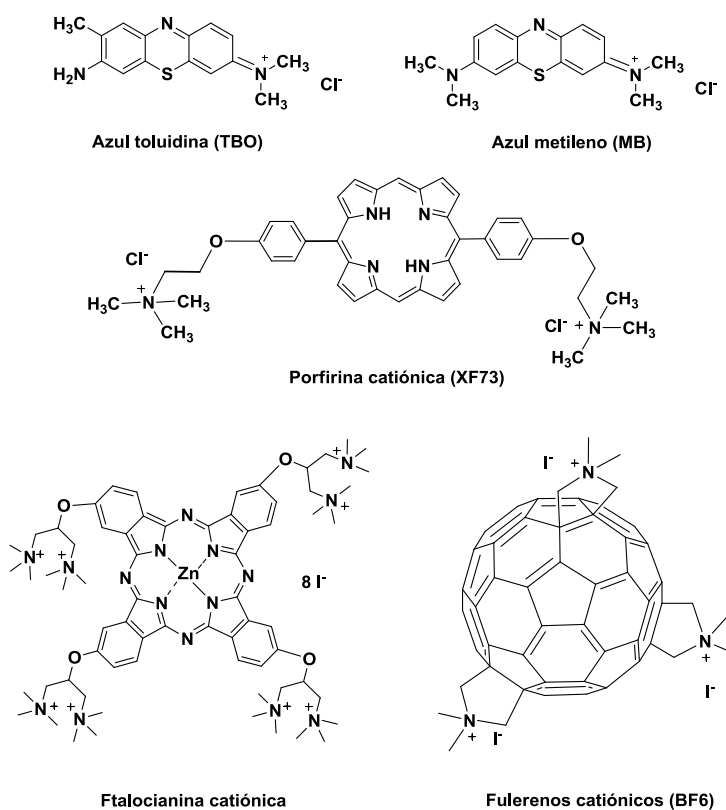
O primeiro exemplo descrito na literatura no qual é utilizada a PDT na inativação de células microbianas foi publicado em 1900.<sup>83</sup> Contudo, devido ao facto destas descobertas terem ocorrido durante a chamada “idade de ouro dos antibióticos” a sua possível utilização clínica não foi devidamente explorada.<sup>84</sup> Só mais recentemente, têm surgido publicações onde são descritas combinações de PS e luz de forma a provocar a morte ou inativação de bactérias.<sup>85</sup>

Está descrito que existe uma diferença significativa na eficiência com que os PS conseguem permear as bactérias do tipo *gram* positivo e *gram* negativo, **figura 1.6**, devido às diferenças estruturais que estas apresentam.<sup>86</sup> Em geral, PS neutros, aniónicos e catiónicos podem destruir as bactérias de *gram* positivo, uma vez que a permeação através das suas membranas é mais fácil. Por outro lado, para as bactérias tipo *gram* negativo são eficientes apenas PS catiónicos pois as suas características anfifílicas são mais apropriadas para a permeação das membranas celulares deste tipo de bactérias.



**Figura 1.6-** Estruturas das paredes celulares dos dois tipos de classes de bactérias microbianas.

Com intuito de possibilitar a inativação fotodinâmica (PDI) de bactérias de *gram* negativo e *gram* positivo têm sido desenvolvidas várias moléculas, cujas características são modeladas de forma a promover uma rápida e preferencial acumulação destas em células microbianas. A estratégia, adotada por vários grupos de investigação, centra-se na utilização de uma molécula fotossensibilizadora com uma ou mais cargas positivas intrínsecas, habitualmente geradas por átomos de nitrogénio quaternários cujas estruturas mais relevantes estão apresentadas na **figura 1.7**.<sup>87-97</sup>



**Figura 1.7-** Estruturas moleculares de PS antimicrobianos utilizados na inativação fotodinâmica.

### 1.3. Modelação estrutural de porfirinas para diminuição do ponto de fusão

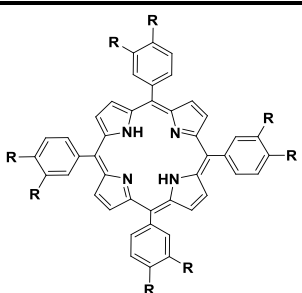
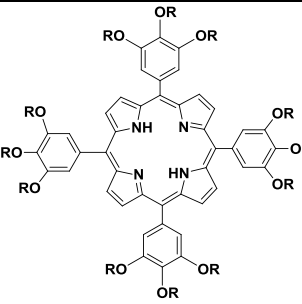
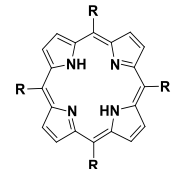
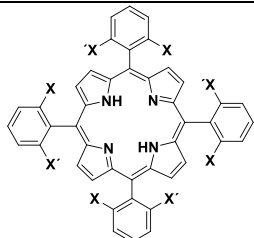
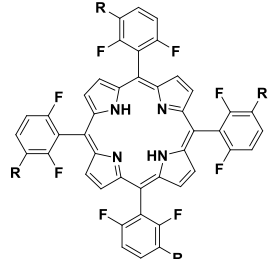
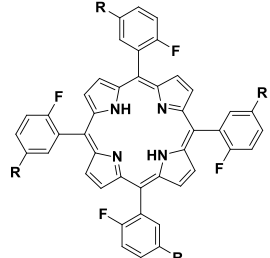
As porfirinas são macrociclos aromáticos, que apresentam uma grande tendência para formar agregados, devido à interacção dos sistemas  $\pi$ , que conduz a uma baixa solubilidade, alta cristalinidade e alto ponto de fusão.<sup>98</sup> Porém, uma vez que se tratam de compostos cuja síntese é relativamente simples, é possível delinear estratégias sintéticas capazes de modelar as suas propriedades estruturais, eléctricas e físico-químicas.

Como foi possível observar pela revisão da literatura apresentada anteriormente, os diversos métodos sintéticos desenvolvidos ao longo dos anos permitiram a síntese de um grande número de compostos com os mais variados substituintes. Com o intuito de racionalizar o efeito dos substituintes no ponto de fusão, decidimos compilar alguns

exemplos elucidativos de porfirinas com substituintes nas posições *meso* (**tabela 1.5**) e nas posições  $\beta$  (**tabela 1.6**) das porfirinas.

A **tabela 1.5** mostra que a introdução de cadeias alquílicas quer estas estejam ligadas aos grupos fenilo das posições *meso* (entradas 1-2, **tabela 1.5**) quer estejam directamente ligadas à posição *meso* das porfirinas (entrada 9, **tabela 1.5**) permite baixar, consideravelmente, o ponto de fusão. Este efeito é também observado com substituintes alcoxi (entradas 3-8, **tabela 1.5**), para os quais se verifica uma diminuição do ponto de fusão à medida que número de átomos de carbono aumenta, até cadeias alquílicas com 10 carbonos no grupo alcoxi (entrada 5, **tabela 1.5**). A introdução de átomos de flúor nas posições *orto* dos grupos fenilo (entrada 10-11, **tabela 1.5**) não conduziu a uma diminuição do valor do ponto de fusão destas porfirinas, quando comparado com o valor do ponto de fusão da TPP (entrada 1, **tabela 1.5**). No entanto, quando introduzido nas cadeias alquílicas dos grupos sulfonamida, este substituinte diminui significativamente os valores dos pontos de fusão. Desta forma, a colocação de pequenas cadeias alquílicas fluoradas nos grupos fenilo das posições *meso* (entrada 12, **tabela 1.5**) permitiu baixar o ponto de fusão para valores que, com cadeias alquílicas normais, só seriam alcançados com um número de átomos de carbono muito superior (entrada 16, **tabela 1.5**). A diminuição dos valores dos pontos de fusão com o aumento do tamanho das cadeias alquílicas foi também observada para a restante família de porfirinas com substituintes do tipo sulfonamida (entradas 13-16, **tabela 1.5**).

Tabela 1.5- Influência dos *meso*-substituintes no ponto de fusão

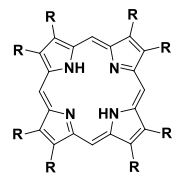
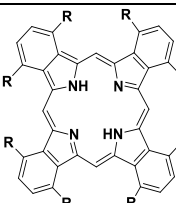
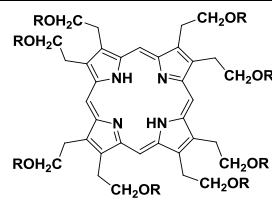
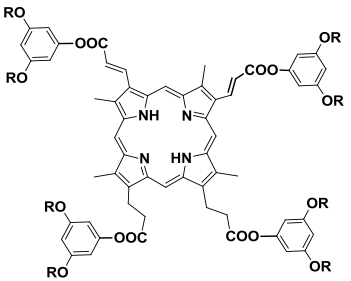
Entrada	Porfirina	Ponto de fusão (°C)	Ref.	
1 2		R=H R=C <sub>18</sub> H <sub>37</sub>	> 300 33.5	32 99
3 4 5 6 7 8		R=C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> R=C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> R=C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> R=C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> R=C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> R=C <sub>18</sub> H <sub>37</sub>	55.1 26.2 -54.6 -23.8 32.0 44.0	98
9		R=C <sub>11</sub> H <sub>23</sub>	80-81	34
10 11		X=X'=F X=F; X'=H	>300 >300	100
12		R=SO <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CF <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	130-133	a)
13 14 15 16		R=SO <sub>2</sub> NHCH <sub>3</sub> R=SO <sub>2</sub> NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> R=SO <sub>2</sub> NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> R=SO <sub>2</sub> NH(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	298-299 >300 210-211 134-135	100

a) Resultado ainda não publicado, gentilmente cedido por A.V.C. Simões

Relativamente às porfirinas  $\beta$ -substituídas as estratégias para obter compostos com baixos pontos de fusão são análogas às utilizadas para as porfirinas *meso*-substituídas. Para este tipo de porfirinas observa-se, em geral, uma diminuição do ponto de fusão com o aumento do tamanho da cadeia alquílica, quer para substituintes alquílicos simples (entradas 1-4, **tabela 1.6**) quer para cadeias alquílicas ligadas a grupos alcoxi- (entradas 5-8, **tabela 1.6**).

Comparando as porfirinas com substituintes idênticos nas posições *meso* (entrada 9, **tabela 1.5**) e nas posições  $\beta$  (entrada 1-3, **tabela 1.6**) verifica-se que as substituições nas posições *meso* permitem atingir pontos de fusão relativamente inferiores.

**Tabela 1.6-** Influência dos  $\beta$ -substituintes no ponto de fusão

Entrada	Porfirina	Ponto de fusão (°C)	Ref.	
1 2 3		R=C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> R=C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> R=C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	137 115,4 106,6	101
4		R=C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	60,6	102
5 6 7 8		R=C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> R=C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> R=C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> R=C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	154 111 84 69	103
9 10 11 12		R=C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> R=C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> R=C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> R=C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	13 -10 -31 22	104



A modelação estrutural das propriedades das porfirinas com baixo ponto de fusão é de extrema importância devido às características únicas que estas moléculas apresentam nomeadamente para aplicação no domínio dos nanomateriais.<sup>105-107</sup> Por esse motivo, nos últimos anos, têm surgido na literatura múltiplos exemplos de síntese e caracterização de porfirinas nano-estruturadas de para potencial aplicação em dispositivos fotovoltaicos,<sup>108</sup> catalisadores<sup>4</sup> e sensores químicos.<sup>109</sup>

#### 1.4. Referências

- <sup>1</sup> J. C. P. Grancho, M. M. Pereira, M. G. Miguel, A. M. A. R. Gonsalves, H. D. Burrows, *Photochem. Photobiol.*, 75 (2002) 249.
- <sup>2</sup> S. K. Pandey, A. L. Gryshuk, A. Graham, K. Ohkubo, S. Fukuzumi, M. P. Dobhal, G. Zheng, Z. Ou, R. Zhan, K. M. Kadish, A. Oseroff, S. Ramaprasad, R. K. Pandey, *Tetrahedron*, 59 (2003) 10059.
- <sup>3</sup> D. G. Johnson, M. P. Niemczyk, D. W. Minsek, G. P. Wiederrecht, W. A. Svec, G. L. Gaines, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.*, 115 (1993) 5692.
- <sup>4</sup> A. C. Grimsdale, K. Müllen, *Ang. Chem. Int. Ed.*, 44 (2005) 5592.
- <sup>5</sup> D. Mansuy, P. Battioni, *Cytochrome P450 Model Systems*, Sheldon R.A. (Ed.) *Metalloporphyrins in Catalytic Oxydations*, Marcel Dekker Inc, Nova Iorque, 1994.
- <sup>6</sup> S. L. H. Rebelo, M. M. Pereira, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Catalysis*, 234 (2005) 76.
- <sup>7</sup> P. Rothmund, *J. Am. Chem. Soc.*, 57 (1935) 2010.
- <sup>8</sup> P. Rothmund, A. R. Menotti, *J. Am. Chem. Soc.*, 63 (1941) 267.
- <sup>9</sup> S. Aronoff, M. Calvin, *J. Org. Chem.*, 8 (1943) 205.
- <sup>10</sup> M. Calvin, R. H. Ball, S. Aronoff, *J. Am. Chem. Soc.*, 65 (1943) 2259.
- <sup>11</sup> A. D. Adler, F. R. Longo, W. Shergalis, *J. Org. Chem.*, 86 (1964) 3145.
- <sup>12</sup> A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Godmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *J. Org. Chem.*, 32 (1967) 476.
- <sup>13</sup> A. D. Adler, L. Sklar, F. R. Longo, J. D. Finarelli, M. G. Finarelli, *J. Heterocycl. Chem.*, 5 (1968) 669.
- <sup>14</sup> D. Dolphin, K. Rousseau, *Tetrahedron*, 48 (1974) 4251.
- <sup>15</sup> G. H. Barnett, M. F. Hudson, K. M. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, (1975) 1401.
- <sup>16</sup> J. T. Groves, T. E. Nemo, *J. Am. Chem. Soc.*, 105 (1983) 6243.
- <sup>17</sup> J. S. Lindsey, in: *The Porphyrin Handbook*, K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds.), Academic Press: San Diego, 2000, Vol.1.
- <sup>18</sup> M. M. Pereira, C. J. P. Monteiro, A. F. Peixoto, in: *Targets in Heterocyclic Systems*, O. A. Attanasi, D. Spinelli (Eds), Società Chimica Italiana, Itália, Vol.12, 2010,.
- <sup>19</sup> Tabela retirada da referência 18 e complementada com uma pesquisa de 2008-2011.
- <sup>20</sup> J. Habdas, B. Boduszek, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 180 (2005) 2039.

- 
- <sup>21</sup> E. Biron, N. Voyer, *Chem. Commun.*, (2005) 4652.
- <sup>22</sup> Q. Raffy, R. Ricoux, J. P. Mahy, *Tetrahedron Lett.*, 49 (2008) 1865.
- <sup>23</sup> W. Lin, L. Long, J. Feng, B. Wang, C. Guo, *Eur. J. Org. Chem.*, (2007) 4301.
- <sup>24</sup> T. Gianferrara, D. Giust, I. Bratsos, E. Alessio, *Tetrahedron*, 63 (2007) 5006.
- <sup>25</sup> P. Zhao, L. C. Xu, J. W. Huang, K. C. Zheng, B. Fu, H. C. Yu, L. N. Ji, *Biophys. Chem.*, 135 (2008) 102.
- <sup>26</sup> L. Wu, P. Hu, Y. Xiao, M. Zhang, L. Zhang, X. Weng, X. Wu, X. Zhou, X. Cao, *Chem. Biodivers.*, 5 (2008) 153.
- <sup>27</sup> V. Seng, X. Wang, R. Ali, W. Fang, F. C.-Pierre, S. Bhagan, A. G. Hyslop, *J. Heterocycl. Chem.*, 43 (2006) 1077.
- <sup>28</sup> E. Fagadar-Cosma, L. Cseh, V. Badea, G. Fagadar-Cosma, D. Vlascici, *Comb. Chem. High T. Scr.*, 10 (2007) 466.
- <sup>29</sup> M. Haeubl, S. Schuerz, B. Svejda, L. M. Reith, B. Gruber, R. Pfragner, W. Schoefberger, *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (2010) 760.
- <sup>30</sup> M. M. Pereira, *Estudos de ativação de peróxido de hidrogénio como oxidante – catálise por metaloporfirinas e preparação de ácidos peroxocarboxílicos*, Tese de Doutoramento, Universidade de Coimbra, Coimbra, 1991.
- <sup>31</sup> J. M. T. V. Varejão, *Desenvolvimentos na síntese de porfirinas meso-substituídas para preparação de catalisadores oxidativos*, dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra, Coimbra, 1990.
- <sup>32</sup> A. M. A. R. Gonsalves, J. M. T. B. Varejão, M. M. Pereira, *J. Heterocycl. Chem.*, 28 (1991) 635.
- <sup>33</sup> R. A. W. Johnstone, M. L. P. G. Nunes, M. M. Pereira, A. M. D. R. Gonsalves, A. C. Serra, *Heterocycles* 43 (1996) 1423.
- <sup>34</sup> H. D. Burrows, A. M. Rocha Gonsalves, M. L. P. Leitão, M. da G. Miguel, M. M. Pereira, *Supramol. Sci.*, 4 (1997) 241
- <sup>35</sup> M. A. Schiavon, L. S. Iwamoto, A. G. Ferreira, Y. Iamamoto, M. V. B. Zanoni, M. D. Assis, *J. Braz. Chem. Soc.*, 11 (2000) 458.
- <sup>36</sup> J. P. C. Tomé, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Tomé, J. A. S. Cavaleiro, A. F. Mendonça, I. N. Pegado, R. Duarte, M. L. Valdeira, *Bioorg. Med. Chem.*, 13 (2005) 3878.

- 
- <sup>37</sup> I. C. M. S. Santos, S. L. H. Rebelo, S. L. H. Balula, R. R. L. Martins, M. M. M. S. Pereira, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, A. M. V. Cavaleiro, *J. Mol. Cat. A-Chem.*, 231 (2005) 35.
- <sup>38</sup> C. Paliteiro, A. Sobral, *Electrochim. Acta*, 590 (2010) 2445.
- <sup>39</sup> A. M. D. R. Gonsalves, M. M. Pereira, *J. Heterocycl. Chem.*, 22 (1985) 931.
- <sup>40</sup> G.P. Arsenaut, E. Bullock, S.F. MacDonald, *J. Am. Chem. Soc.*, 82 (1960) 4384.
- <sup>41</sup> M.M. Pereira, *Síntese de Porfirinas Simples. Sua Utilização em Catalisadores do tipo Enzimático*, Dissertação de Mestrado, Universidade de Coimbra, Coimbra, 1986, 40.
- <sup>42</sup> A. W. van der Made, E. J. H. Hoppenbrouwer, R. J. M. Nolte, W. Drenth, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 107 (1988) 15.
- <sup>43</sup> J. S. Lindsey, H. C. Hsu, I. C. Schreimen, *Tetrahedron Lett.*, 27 (1986) 4969.
- <sup>44</sup> R. W. Wagner, D. S. Lawrence, J. S. Lindsey, *Tetrahedron Lett.*, 28 (1987) 3069.
- <sup>45</sup> J. S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz, *J. Org. Chem.*, 52 (1987) 827.
- <sup>46</sup> M. G. H. Vicente, S. J. Shetty, A. Wickramasinghe, K. M. Smith, *Tetrahedron Lett.*, 41 (2000) 7623.
- <sup>47</sup> N. Jux, *Org. Lett.*, 2 (2000) 2129.
- <sup>48</sup> G. Reginato, L. Di Bari, P. Salvadori, R. Guillard, *Eur. J. Org. Chem.*, (2000) 1165.
- <sup>49</sup> S. Smeets, C. V. Asokan, F. Motmans, W. Dehaen, *J. Org. Chem.*, 65 (2000) 5822.
- <sup>50</sup> M. Cornia, M. Menozzi, E. Ragg, S. Mazzini, A. Scarafoni, F. Zanardi, G. Casiraghi, *Tetrahedron*, 56 (2000) 3977.
- <sup>51</sup> P. Bhyrappa, G. Vaijayanthimala, B. Verghese, *Tetrahedron Lett.*, 43 (2002) 6427.
- <sup>52</sup> A. N. Cammidge, O. Öztürk, *J. Org. Chem.*, 67 (2002) 7457.
- <sup>53</sup> B-H. Ye, Y. Naruta, *Tetrahedron*, 59 (2003) 3593.
- <sup>54</sup> C. Ruzié, D. Gueyrard, B. Boitrel, *Tetrahedron Lett.*, 45 (2004) 1713.
- <sup>55</sup> J. Leroy, B. Schöllhorn, J-L. Syssa-Magalé, K. Boubekour, P. Palvadeau, *J. Fluorine Chem.*, 125 (2004) 1379.
- <sup>56</sup> F. Loiseau, S. Campagna, A. Hameurlaine, W. Dehaen, *J. Am. Chem. Soc.*, 127 (2005) 11352.
- <sup>57</sup> A. Tohara, M. Sato, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 11 (2007) 513.
- <sup>58</sup> Y. Zhou, E-H. Ryu, Y. Zhao, L. K. Woo, *Organometallics*, 26 (2007) 358.

- <sup>59</sup> J. S. Lindsey, K. A. MacCrum, J. S. Tyhonas, Y-Y. Chuang, *J. Org. Chem.*, 59 (1994) 579.
- <sup>60</sup> J. S. Lindsey, S. Prathapan, T. E. Johnson, R. W. Wagner, *Tetrahedron*, 50 (1994) 8941.
- <sup>61</sup> G. R. Geier, J. S. Lindsey, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 6 (2002) 159.
- <sup>62</sup> G. R. Geier, F. Ciringh Li, D. M. Haynes, J. S. Lindsey, *Org. Lett.*, 2 (2000) 1745.
- <sup>63</sup> J. S. Lindsey, R. W. Wagner, *J. Org. Chem.*, 54 (1989) 828.
- <sup>64</sup> G. R. Geier, J. A. Riggs, J. S. Lindsey, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 5 (2001) 681.
- <sup>65</sup> F. Li, K. Yang, J. S. Tyhonas, K. A. MacCrum, J. S. Lindsey, *Tetrahedron*, 53 (1997) 12339.
- <sup>66</sup> C-C. Guo, R-B. Tong, K-L. Li, *Bioorg. Med. Chem.*, 12 (2004) 2469.
- <sup>67</sup> W. Lin, D. Peng, B. Wang, L. Long, C. Guo, J. Yuan, *Eur. J. Org. Chem.*, (2008) 793.
- <sup>68</sup> N. Wang, Y. Li, F. Lu, Y. Liu, X. He, L. Jiang, J. Zhuang, X. Li, Y. Li, S. Wang, H. Liu, D. Zhu, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 43 (2005) 2851.
- <sup>69</sup> W. J. Youngblood, D. T. Gryko, R. K. Lammi, D. F. Bocian, D. Holten, J. S. Lindsey, *J. Org. Chem.*, 67 (2002) 2111.
- <sup>70</sup> M. Speck, D. Niethammer, M. O. Senge, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (2002) 455.
- <sup>71</sup> M. Amessou, D. Carrez, D. Patin, M. Sarr, D. S. Grierson, A. Croisy, A. C. Tedesco, P. Maillard, L. Johannes, *Bioconjugate Chem.*, 19 (2008) 532.
- <sup>72</sup> M. Séverac, L. Le Pleux, A. Scarpaci, E. Blart, F. Odobel, *Tetrahedron Lett.*, 48 (2007) 6518.
- <sup>73</sup> S. P. Foxon, J. R. L. Smith, P. O'Brien, G. Reginato, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (2001) 1145.
- <sup>74</sup> M. O. Senge, I. Bischoff, N. Y. Nelson, K. M. Smith, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 3 (1999) 99.
- <sup>75</sup> A. C. Serra, M. Pineiro, A. M. D. R. Gonsalves, M. Abrantes, M. Laranjo, A. C. Santos, M. F. Botelho, *J. Photochem. Photobiol. B*, 92 (2008) 59.
- <sup>76</sup> S. G. Bell, *Neonatal Netw*, 22 (2003) 47.
- <sup>77</sup> M. D. Poole, *Ear Nose Throat J.*, 72 (1993) 433.
- <sup>78</sup> P. W. Taylor, P. D. Stapleton, J.P. Luzio, *Drug Discov. Today*, 7 (2002) 1086.
- <sup>79</sup> T. Dai, Y.-Y. Huang, M. R. Hamblin, *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, 6 (2009) 170.

- <sup>80</sup> P. Mroz, M. R. Hamblin, *Advances in photodynamic therapy: Basic, translacional and clinical*, M. A. Norwood: Artech House, **2008**.
- <sup>81</sup> M. Ochsner, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 39 (**1997**) 1.
- <sup>82</sup> M. Pineiro, M. M. Pereira, A. M. A. R Gonsalves, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, *J. Photochem. Photobiol. A.*, (**2001**) 147.
- <sup>83</sup> O. Z. Raab, *Z. Biol.*, 39 (**1900**) 524.
- <sup>84</sup> M. Wainwright, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 36 (**2010**) 14.
- <sup>85</sup> M. R. Hamblin, T. Hassan, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 3 (**2004**) 436.
- <sup>86</sup> Y. Nitzan, M. Gutterman, Z. Malik, B. EEhrenberg, *Photochem. Photobiol.* 55 (**1992**) 89.
- <sup>87</sup> A.D. Lazzeri, M. Rovera, L. Pascual, E. N. Durantini, *Photochem. Photobiol.*, 80 (**2004**) 286.
- <sup>88</sup> A. Segalla, C. D. Borsarelli, S. E. Braslavsky, J. D. Spikes, G. Roncucci, D. Dei, G. Chiti, G. Jori, E. Reddi, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 1 (**2002**) 641.
- <sup>89</sup> A. Minnock, D. I. Vermon, J. Schofield, J. Griffiths, J. H. Parish, S. B. Brown, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 32 (**1996**) 159.
- <sup>90</sup> M. N. Usacheva, M. C. Teichert, M. A. Biel, *Lasers Surg. Med.*, 29 (**2001**) 165.
- <sup>91</sup> M. Wainwright, K. B. Crossley, *J. Chemotherapy.*, 14 (**2002**) 431.
- <sup>92</sup> M. Wainwright, D. A. Phoenix, S. L. Laycock, D. R. Wareing, P. A. Wright, *FEMS Microbiol. Lett.*, 160 (**1998**) 177.
- <sup>93</sup> T. Maisch, C. Bosl, R. M. Szeimes, N. Leh, C. Abels, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49 (**2005**) 1542.
- <sup>94</sup> S. Ferro, F. Ricchelli, D. Monti, G. Mancini, G. Jori, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39 (**2007**) 1026.
- <sup>95</sup> V. Kussoky, V. Mantareva, I. Angelov, P. Orozova, D. Wohrle, G. Schnurpfeil, E. Borisova, L. Avramov, *FEMS Microbiol. Lett.*, 294 (**2009**) 133.
- <sup>96</sup> M. R. Hamblin, D. A. O'Donnel, N. Murthy, K. Rajagopalan, N. Michaud, M. E. Sherwood, T. Hassan, *J. Antimicrob. Chemother.*, 49 (**2002**) 941.
- <sup>97</sup> L. Huang, M. Terakawa, T. Zhiyentayev, Y.-Y. Huang, Y. Sawayama, A. Jahnke, G. P. Tegos, T. Wharton, M. R. Hamblin, *Nanomedicine: Nanotech. Biol. Med.*, 6 (**2010**) 442.
- <sup>98</sup> A. Nowak-Król , D. Gryko, D. T. Gryko, *Chem. Assian J.*, 5 (**2010**) 904.

- <sup>99</sup> Nakai, K. Ban, K. Ohta, M. Kimura, *J. Mater. Chem.*, 12 (2002) 844.
- <sup>100</sup> C.J.P. Monteiro, M. M. Pereira, S. M. A. Pinto, A. V.C. Simões, G. F.F. Sá, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, S. Simões, M. F. Wyatt, *Tetrahedron*, 64 (2008) 5132.
- <sup>101</sup> G. C. Shearman, G. Yahioğlu, J. Kirstein, L. R. Milgrom, J. M. Seddon, *J. Mater. Chem.*, 19 (2009) 598.
- <sup>102</sup> A.A. Joraid, S. N. Alamari, S. Y. Al-Raqa, A. A. Mohamed, *Liq. Cryst.*, 35 (2008) 31.
- <sup>103</sup> B. A. Gregg, M. A. Fox, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.*, 111 (1989) 3024.
- <sup>104</sup> A. Segade, M. Castella, F. L.-Calahorra, D. Velasco, *Chem. Mater*, 17 (2005) 5366.
- <sup>105</sup> S. Kuchibhata, A. Karakoti, S. Seal, *Nanotechnology*, 18 (2007) 1.
- <sup>106</sup> J. M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, Germany, 1995.
- <sup>107</sup> J. M. Lehn, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 27 (1988) 89.
- <sup>108</sup> D. Monti, S. Nardis, M. Stefanelli, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, *J. Sensors*, 2009.
- <sup>109</sup> D. Filippini, S. P. S. Svensson, I. Lundström, *Chem. Commun.*, 9 (2003) 240.

## CAPÍTULO 2

### 2. Síntese e caracterização de porfirinas mistas *meso*-substituídas

A síntese de porfirinas com diferentes substituintes nas posições *meso* pode ser efectuada pela metodologia descrita no Capítulo 1, que envolve a condensação de pirrol com uma mistura de diferentes aldeídos no vaso reaccional<sup>1-3</sup> ou através da derivatização de alguns dos substituintes do anel porfirínico.<sup>4,5</sup> Ambas as estratégias permitem a obtenção de porfirinas que conjugam as várias funções dos diferentes substituintes numa só molécula, o que potencia a síntese de compostos com características apropriadas às aplicações pretendidas.

Tendo em conta o nosso interesse na síntese de porfirinas mistas e com base nos pressupostos referidos anteriormente, decidimos iniciar os estudos adoptando a primeira estratégia, isto é, promovendo a condensação de pirrol com uma mistura de aldeídos, alquilícos e arílicos. A utilização da mistura destes dois aldeídos, permite conjugar na mesma porfirina as funções dos substituintes alquilícos, importantes para a obtenção de baixos pontos de fusão e para a permeação destes compostos em membranas,<sup>6</sup> com as funções dos substituintes *N*-heterocíclicos, que facilmente geram azotos quaternários e, consequentemente, cargas positivas. De entre os vários métodos de síntese descritos no capítulo 1, não existe nenhum que possa considerar-se como o método perfeitamente adequado para a síntese de porfirinas mistas. Como já vimos anteriormente, Gonsalves e Pereira,<sup>7</sup> observaram que para síntese *meso*-tetraalquilporfirinas o método em dois passos era bastante vantajoso contudo o uso de quinonas de alto potencial representa um grande inconveniente. Fazendo uma análise dos métodos que englobam a condensação e a oxidação num só passo, consideramos que o método do nitrobenzeno, desenvolvido na Universidade de Coimbra, é o único que permite a síntese de porfirinas com substituintes alquilícos nas posições *meso* de forma reprodutível e com rendimentos aceitáveis.



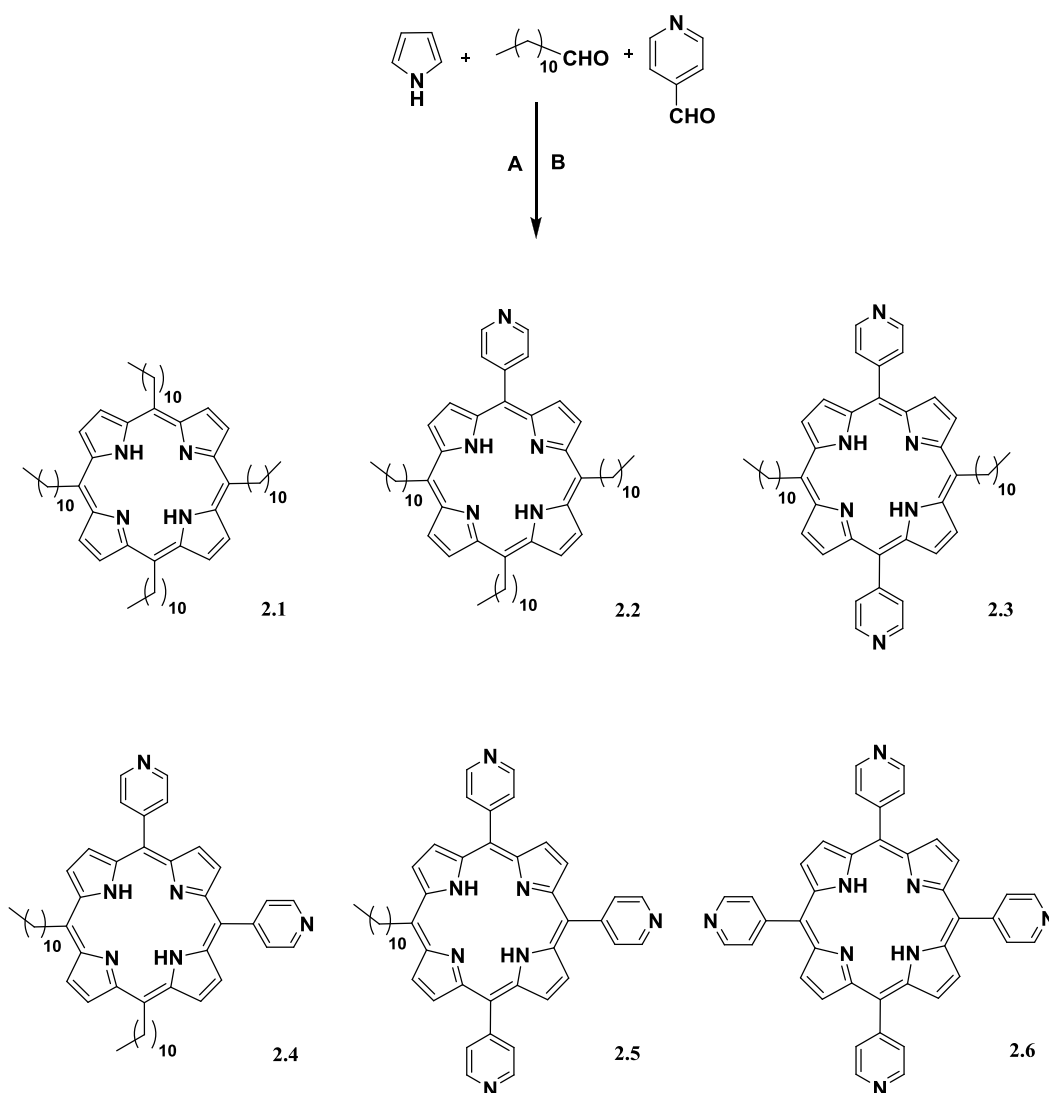
Assim, neste capítulo serão apresentados os resultados da síntese de diversas porfirinas mistas obtidas pelo referido método do nitrobenzeno, bem como a sua caracterização estrutural, fotofísica e térmica.

## 2.1. Síntese de porfirinas mistas neutras

A síntese de porfirinas mistas, *via* método do nitrobenzeno, foi efectuada utilizando como aldeídos alquílicos, o dodecanal e o tetradecanal, e como arilaldeídos, o 4-formil-piridina. A utilização de aldeídos alquílicos com diferentes tamanhos de cadeia alquílica tem como objectivo avaliar as alterações que o aumento da cadeia alquílica pode induzir nos pontos de fusão das respectivas porfirinas e também na permeação de membranas.

As porfirinas *meso*-substituídas obtidas da mistura reaccional do dodecanal com o 4-formil-piridina e pirrol foram sintetizadas recorrendo a dois métodos (**A** e **B**). O método **A** consistiu na adição de quatro equivalentes de pirrol (29.4 mmol), três equivalentes de dodecanal (22.0 mmol) e um equivalente de 4-formil-piridina (7.35 mmol) a uma mistura de ácido acético/nitrobenzeno (3:1), a uma temperatura de 130°C. Após 3 horas de refluxo, o ácido acético e o nitrobenzeno foram evaporados a pressão reduzida. As diversas porfirinas obtidas **2.1-2.6**, que se encontram representadas na **figura 2.1**, foram isoladas, após um moroso e minucioso trabalho de separação cromatográfico. Este trabalho cromatográfico consistiu numa pré-coluna de sílica, utilizando como eluente um gradiente de éter petróleo/diclorometano (2:1) até acetato de etilo/metanol (9:1), donde foram recolhidas 6 fracções. Subsequentemente estas fracções foram isoladas por cromatografia em placa preparativa de sílica, uma vez que a sua separação é bastante difícil devido ao facto das moléculas apresentarem polaridade muito similar. Os rendimentos dos produtos puros obtidos apresentam-se na **tabela 2.1**.

Está bem estabelecido na literatura que a reactividade dos aldeídos alquílicos é inferior à dos aldeídos *N*-heterocíclicos,<sup>7</sup> pelo que decidimos proceder a síntese das porfirinas *meso*-substituídas mistas, anteriormente apresentadas, modificando as condições de reacção. Estas mudanças centraram-se principalmente na alteração da proporção estequiométrica de cada aldeído.



**Figura 2.1-** Esquema da síntese de porfirinas *meso*-substituídas obtidas da mistura reaccional do dodecanal com o 4-formil-piridina pelos métodos **A** e **B**.

Assim, o método **B** resume-se à adição de quantidades equimolares (29.4 mmol; 4 equivalentes) de pirrol e dodecanal e de um equivalente de o 4-formil-piridina (7.35 mmol) à mistura de ácido acético:nitrobenzeno (3:1) a 130°C de temperatura. Após 3 horas de reacção e utilizando-se o mesmo método de purificação, obtiveram-se as porfirinas **2.1-2.6** (**figura 2.1**), com os rendimentos apresentados na **tabela 2.1**.

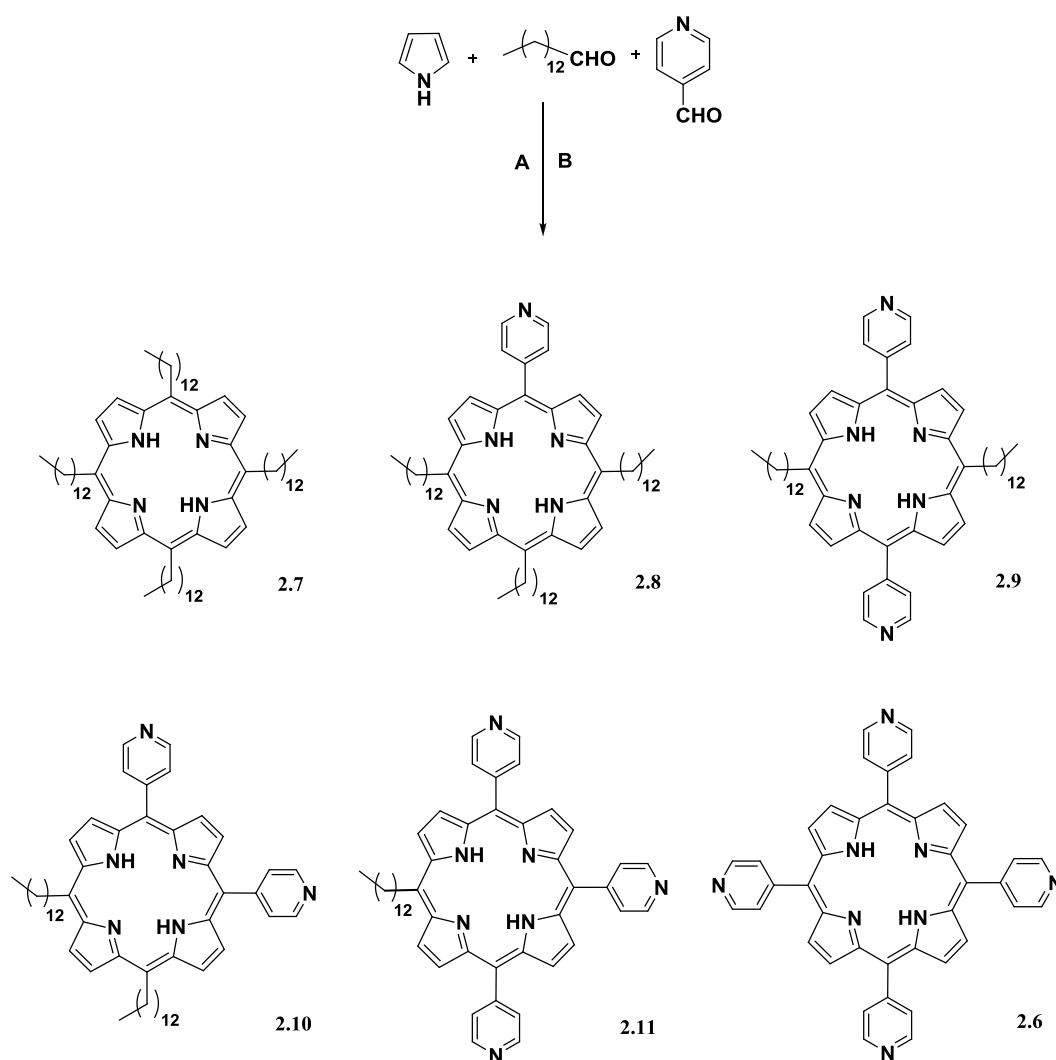
**Tabela 2.1-** Rendimentos dos produtos isolados obtidos pelo método **A** e **B** para a síntese das porfirinas *meso*-substituídas obtidas da mistura reaccional de dodecanal com a 4-formil-piridina e pirrol.

Porfirina	Rendimentos (%)	
	Método A	Método B
<b>2.1</b>	0.46	0.45
<b>2.2</b>	1.18	3.93
<b>2.3</b>	<0.01	3.52
<b>2.4</b>	0.54	2.02
<b>2.5</b>	1.14	0.52
<b>2.6</b>	0.18	<0.01

Da análise da **tabela 2.1**, pode concluir-se que a utilização de um excesso de aldeído alquílico, quando comparado com o método **A**, conduziu a uma melhoria nos rendimentos das porfirinas **2.2-2.4**. A porfirina **2.1** é obtida praticamente com o mesmo rendimento em qualquer um dos métodos, o que evidencia a baixa reactividade do dodecanal. Por outro lado, como seria de esperar, para as porfirinas **2.5** e **2.6** os rendimentos baixaram pelo segundo método devido à relação de aldeídos utilizada.

Dado que o objectivo global do trabalho pretendia avaliar o efeito do tamanho da cadeia alquílica nas posições *meso* das porfirinas mistas, procedeu-se também à síntese do mesmo tipo de moléculas pelos métodos **A** e **B**, mas substituindo o dodecanal pelo tetradecanal.

Assim, no método **A** adicionaram-se quatro equivalentes de pirrol (29.4 mmol), três equivalentes de tetradecanal (22.0 mmol) e um equivalente de o 4-formil-piridina (7.35 mmol), a uma mistura de ácido acético:nitrobenzo nas proporções de 3:1. Após 3 horas sob refluxo a uma temperatura de 130°C, procedeu-se à purificação das porfirinas obtidas (**2.7-2.11** e **2.6**), representadas na **figura 2.2**, seguindo o método de purificação descrito aquando a utilização do dodecanal, visto que a única diferença reside na diferença do número de carbonos da cadeia alquílica.



**Figura 2.2-** Esquema da síntese de porfirinas *meso*-substituídas obtidas da mistura reaccional de tetradecanal com o 4-formil-piridina e pirrol pelos métodos **A** e **B**.

Devido à reactividade dos aldeídos alquílicos, procedeu-se também à síntese destas porfirinas pelo método **B**. Numa reacção tipo adicionaram-se, a uma mistura de ácido acético:nitrobenzeno (3:1), quatro equivalentes de pirrol (29.4 mmol), quatro equivalentes de tetradecanal (29.4 mmol) e um equivalente de o 4-formil-piridina (7.35 mmol). Após 3 horas sob refluxo, adoptou-se o método de purificação acima referido. Os rendimentos obtidos pelos dois métodos apresentam-se na **tabela 2.2**.

**Tabela 2.2-** Rendimentos dos produtos isolados obtidos pelo método **A** e **B** para a síntese das porfirinas obtidas da mistura reaccional de tetradecanal com a 4-formil-piridina e pirrol.

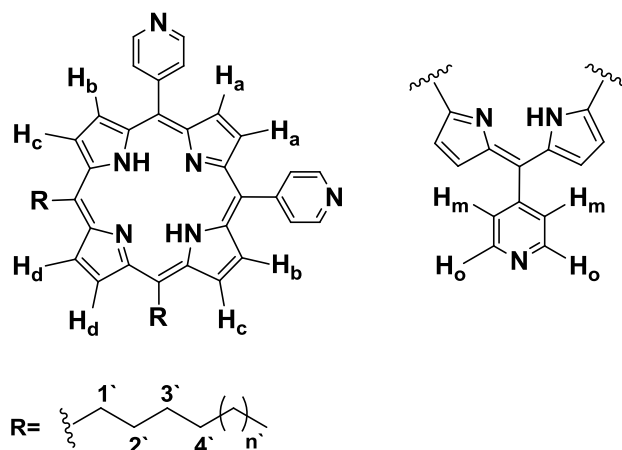
Porfirina	Rendimentos (%)	
	Método A	Método B
<b>2.7</b>	0.41	0.33
<b>2.8</b>	1.27	5.83
<b>2.9</b>	0.42	3.05
<b>2.10</b>	1.12	1.36
<b>2.11</b>	1.17	0.82
<b>2.6</b>	0.05	<0.01

Analisando a **tabela 2.2**, verifica-se que os rendimentos são ligeiramente mais altos do que os obtidos, sob as mesmas condições, para as porfirinas análogas com 11 carbonos nas posições *meso*. Tal como no caso anterior, houve também aqui um aumento significativo do rendimento para as porfirinas **2.8** e **2.9** e um ligeiro aumento do rendimento para a porfirina **2.10**, quando utilizado o método **B**. Por outro lado, para as porfirinas **2.11** e **2.6** o rendimento diminui, devido às proporções entre os dois aldeídos utilizadas com este método. Esta pequena alteração nos rendimentos não se deverá à diferente reactividade dos aldeídos alquílicos, mas sim a uma optimização nos processos de isolamento que certamente ocorreram ao longo deste trabalho.

Os baixos rendimentos globais obtidos em ambos os casos (4-10%) podem ser atribuídos à fácil formação de materiais poliméricos em detrimento da ciclização.

Todos os compostos apresentados anteriormente foram caracterizados por espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  e as propostas de atribuição dos valores de desvios químicos dos prótons e também, sempre que possível, a multiplicidade do sinal e as constantes de acoplamento são apresentadas na **tabela 2.3** e no capítulo 4. A maioria dos compostos isolados não apresenta o mesmo substituinte simultaneamente nas quatro posições *meso*, originando alterações no desvio químico dos prótons  $\beta$ -pirrólicos da macromolécula tetrapirrólica. A título de exemplo e para demonstrar a estratégia seguida na atribuição do efeito dos diferentes substituintes apresenta-se, na **figura 2.3**, a porfirina **2.4** que contém duas piridinas em posições adjacentes, uma vez que esta mostra todos os

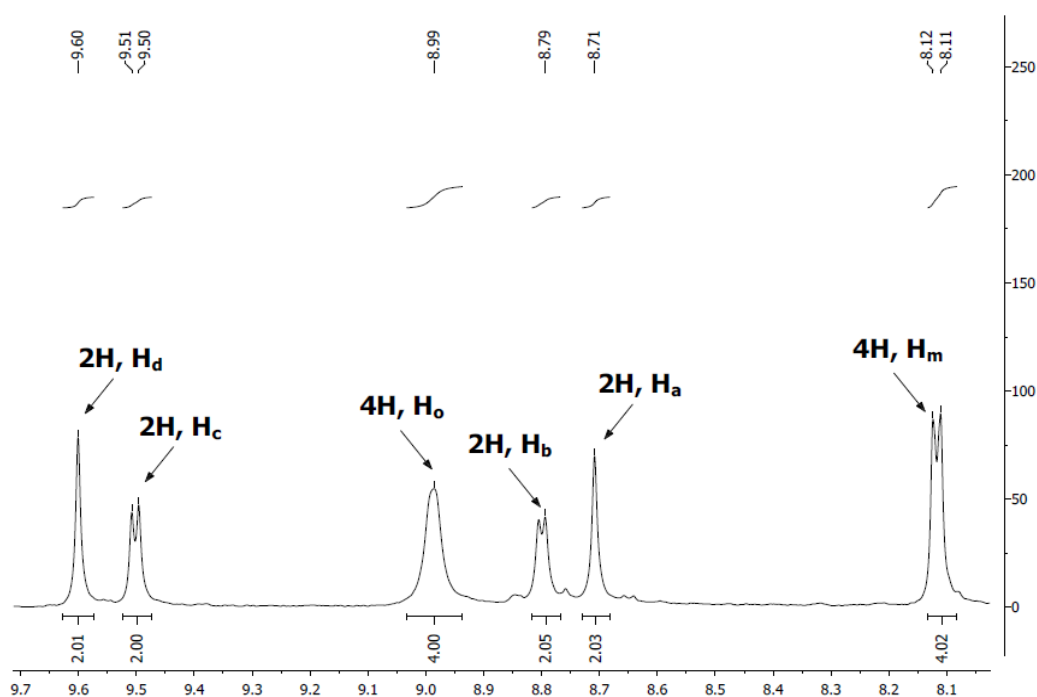
ambientes químicos possíveis aos quais os prótons  $\beta$ -pirrólicos podem estar sujeitos, no domínio da família de compostos estudados. O conjunto de porfirinas sintetizadas neste trabalho apresenta espectros de RMN  $^1\text{H}$  similares ao apresentado pela porfirina **2.4**, diferindo desta apenas no número de cada substituinte e/ou na posição relativa destes no anel porfirínico.



**Figura 2.3-** Numeração proposta para efectuar as atribuições dos valores de desvio químico dos prótons da porfirina **2.4**.

Para facilitar a atribuição dos prótons, os das posições *beta* pirrólicas e do anel de piridina são referenciados por letras e os das cadeias alquílicas, das posições *meso*, são referenciados por números seguidos de apóstrofo, **figura 2.3**.

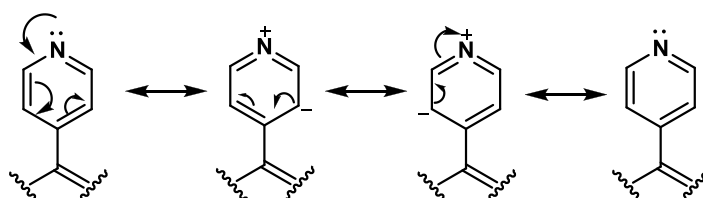
Na porfirina **2.4** é possível observar quatro tipos de hidrogénios nas posições  $\beta$ -pirrólicas:  $\text{H}_a$ ,  $\text{H}_b$ ,  $\text{H}_c$  e  $\text{H}_d$ , **figura 2.3**. Estes representam os diferentes tipos de prótons das posições  $\beta$  que se podem observar nas porfirinas resultantes da reacção da mistura de alquilaldeídos com 4-formil-piridina e as suas atribuições no espectro RMN  $^1\text{H}$  apresentam-se na **figura 2.4**.



**Figura 2.4**-Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (zona aromática) da porfirina **2.4** em  $\text{CDCl}_3$ .

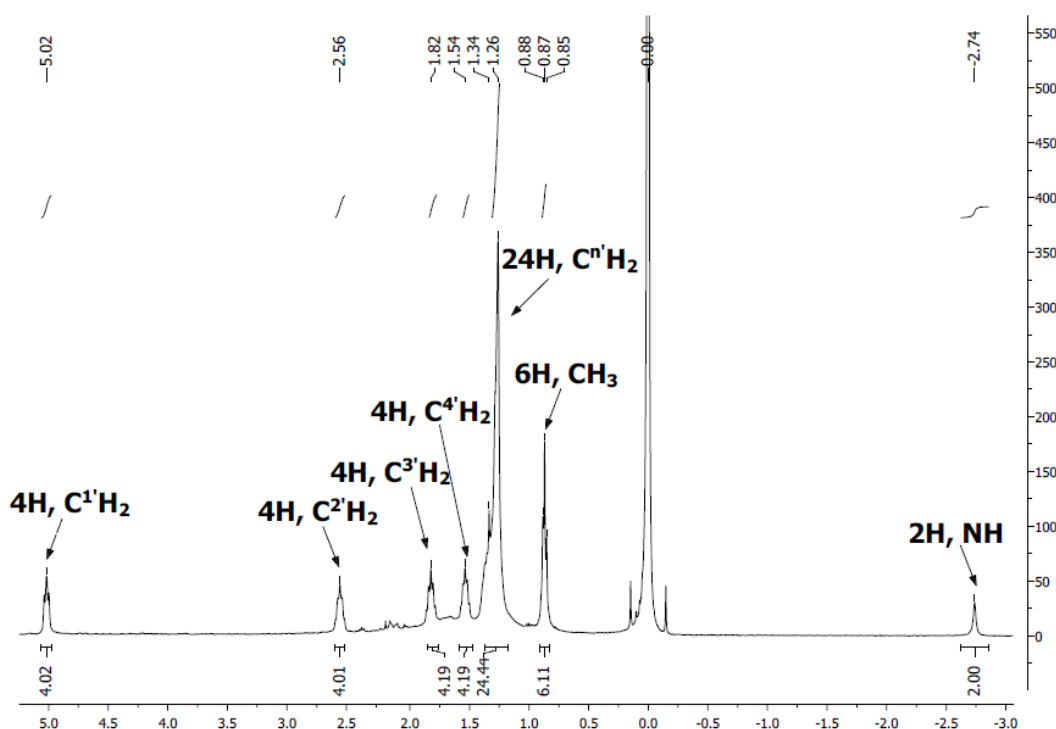
Os prótons  $\text{H}_d$ , posicionados entre duas cadeias alquílicas, apresentam o maior desvio químico ( $\delta=9.60$  ppm), semelhante ao desvio apresentado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  dos prótons das posições  $\beta$ -pirrólicas das *meso*-tetraalquilporfirinas simétricas.<sup>8</sup> Por outro lado, os prótons  $\text{H}_a$  que se encontram entre dois fragmentos piridínicos têm ressonância a uma frequência idêntica à dos prótons análogos da *meso*-tetra(4-piridil)porfirina e, portanto, aparecem para desvios relativamente menores ( $\delta=8.71$  ppm).<sup>9</sup> O desvio químico dos prótons  $\text{H}_c$ , dado que se encontram próximos de uma cadeia alquílica, vão por sua vez surgir com desvios químicos maiores ( $\delta=9.50$  ppm) do que os prótons  $\text{H}_b$  ( $\delta=8.79$  ppm), que se encontram adjacentes ao grupo piridina. Os sinais destes dois prótons apresentam-se sob a forma de dupletos, o que se deve ao acoplamento existente entre prótons  $\text{H}_b$  e  $\text{H}_c$ , cujas constantes de acoplamento são muito próximas, 4.4 e 4.7 Hz respectivamente. Por sua vez, os prótons  $\text{H}_a$  e  $\text{H}_d$  da porfirina **2.4**, aparecem sob a forma de singuletos, devido à simetria apresentada pela molécula, que leva a que os dois prótons nas posições  $\beta$  sejam equivalentes e não acoplem entre si. Relativamente aos prótons da piridina, os prótons  $\text{H}_m$  encontram-se mais blindados, pelo que apresentam desvios químicos com valores inferiores ( $\delta=8.12$  ppm), enquanto que os prótons  $\text{H}_o$  se encontram menos blindados e, portanto, aparecem para desvios químicos superiores ( $\delta=8.99$  ppm), o que está de acordo com o descrito na literatura.<sup>9</sup> Esta

observação pode ser explicada com base nas formas de ressonância da piridina ligada às posições meso da porfirina, representadas na **figura 2.5**, onde se evidencia que a densidade electrónica na posição *meta* da piridina é mais elevada provocando conseqüentemente uma maior blindagem dos prótons associados.



**Figura 2.5** - Formas de ressonância da piridina.

Para além dos prótons aromáticos, os espectros de RMN  $^1\text{H}$  apresentam também os prótons referentes às cadeias alquílicas. Uma expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da porfirina **2.4**, para os desvios químicos compreendidos entre -3 e 5 ppm, encontram-se na **figura 2.6** e as atribuições foram feitas segundo a numeração proposta na **figura 2.3**.



**Figura 2.6**- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  representativo da zona das cadeias alquílicas da porfirina **2.4** em  $\text{CDCl}_3$ .



O pico a  $\delta=5.02$  ppm pode atribuir-se aos prótons do carbono 1<sup>o</sup> da cadeia alquílica ( $C^1H_2$ ) e à medida que os prótons vão ficando progressivamente mais afastados do anel porfirínico, vão aparecendo para desvios químicos inferiores. Os prótons a partir do quinto carbono ( $C^5H_2$ ) aparecem como multipletos compreendidos entre  $\delta=1.18-1.40$  ppm, visto que o efeito electrónico do anel porfirínico deixa de ser sentido pelos prótons mais afastados. Todos estes sinais surgem como multipletos, uma vez que existem sempre acoplamento com outros prótons adjacentes. Os prótons do grupo  $CH_3$  da cadeia alquílica apresentam-se sobre a forma de tripleto a  $\delta=0.87$  ppm, com uma constante de acoplamento 8 Hz, visto que acoplam com os dois prótons  $C^4H$  adjacentes. No que diz respeito aos prótons pirrólicos, situados no interior do anel, estes apresentam-se como um singuleto facilmente identificável, uma vez que aparecem para desvios químicos com valores negativos, no caso específico da porfirina **2.4** a  $\delta=-2.74$  ppm, o que se deve ao facto do campo magnético, resultante das correntes de anel do sistema  $\pi$  do macrociclo tetrapirrólico, ter no interior do anel um sentido contrário ao do campo externo aplicado.

Foi com base nesta metodologia que foi proposta a identificação dos sinais de RMN  $^1H$  dos outros compostos e que se apresentam na **tabela 2.3**.

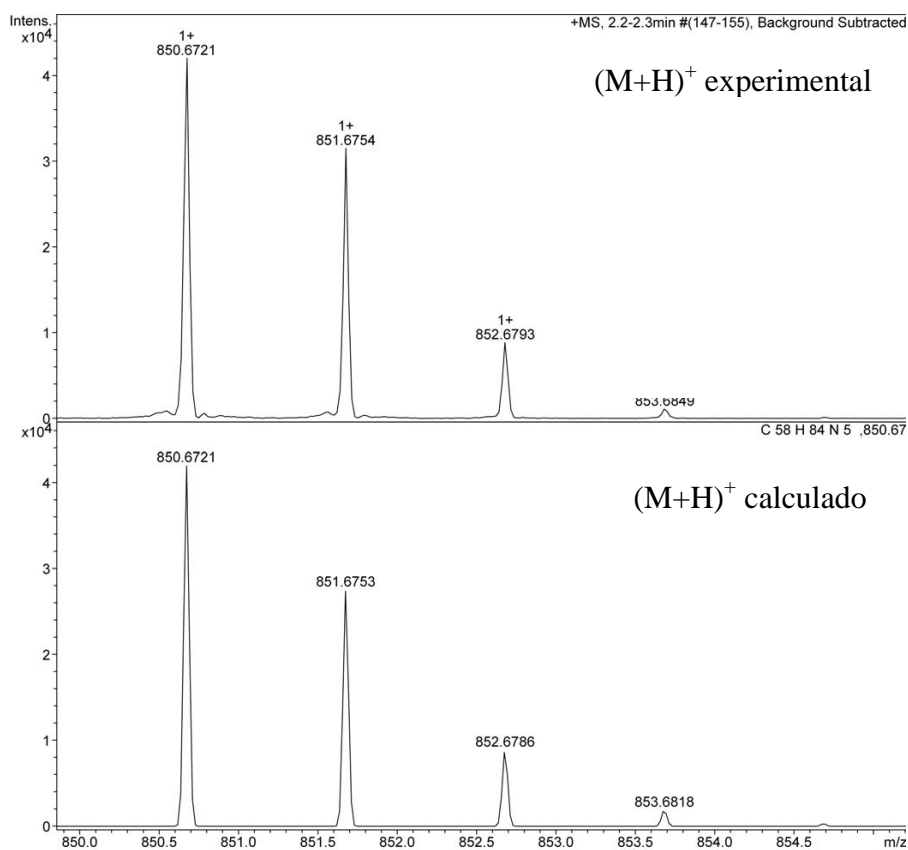
**Tabela 2.3-** Desvios químicos (ppm a partir de TMS), constante de acoplamento e multiplicidade de RMN de  $^1\text{H}$  das porfirinas sintetizadas em  $\text{CDCl}_3$ .

Porf.	$\text{H}_d$	$\text{H}_c$	$\text{H}_o$	$\text{H}_b$	$\text{H}_a$	$\text{H}_m$	$\text{C}^1\text{H}_2$	$\text{C}^2\text{H}_2$	$\text{C}^3\text{H}_2$	$\text{C}^4\text{H}_2$	$\text{C}^n\text{H}_2$	$\text{CH}_3$	NH
<b>2.1</b>	9.44						4.90	2.55-2.45	1.86-1.76	1.56-1.45	1.38-1.22	0.87	-2.65
	-	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-	-	7.0	-
	s						t	m	m	m	m	t	s
<b>2.2</b>	9.51	9.40	8.93	8.72		8.09	4.98	2.60-2.45	1.88-1.74	1.60-1.47	1.40-1.18	0.88	-2.69
	13.8;4.7	4.8	-	4.6	-	4.7	8.0	-	-	-	-	8.0	-
	dd	d	s	d		d	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.3</b>		9.47	9.05	8.80		8.18	4.95	2.55-2.46	1.82-1.73	1.54-1.46	1.39-1.18	0.88	-2.75
	-	4.9	5.8	4.9	-	4.3; 1.6	8.0	-	-	-	-	8.0	-
		d	d	d		dd	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.4</b>	9.60	9.50	8.98	8.80	8.71	8.12	5.02	2.62-2.52	1.85-1.80	1.60-1.48	1.40-1.18	0.85	-2.74
	-	4.7	-	4.4	-	5.20	8.0	-	-	-	-	8.0	-
	s	d	s	d	s	d	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.5</b>		9.56	9.01	8.88	8.79	8.13	5.04	2.60-2.55	1.91-1.77	1.57-1.47	1.49-1.19	0.87	-2.83
	-	4.7	-	4.6	-	10.7;5.1	8.0	-	-	-	-	8.0	-
		d	s	d	s	dd	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.6</b>			9.07		8.87	8.17							-2.92
	-	-	3.8	-	-	4.8	-	-	-	-	-	-	-
			d		s	d							s
<b>2.7</b>	9.46						4.97	2.59-2.41	1.89-1.74	1.58-1.48	1.40-1.20	0.88	-2.63
	-	-	-	-	-	-	8.0	-	-	-	-	13.3	-
	s						t	m	m	m	m	t	s
<b>2.8</b>	9.52	9.41	9.01	8.74		8.12	4.96	2.62-2.42	1.88-1.74	1.60-1.46	1.43-1.19	0.87	-2.67
	13.8;4.5	4.7	4.7	4.6	-	4.9	8.0	-	-	-	-	5.8	-
	dd	d	d	d		d	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.9</b>		9.48	9.05	8.81		8.18	4.97	2.59-2.45	1.83-1.73	1.54-1.45	1.40-1.18	0.87	-2.75
	-	4.8	4.7	4.7	-	5.3	.08	-	-	-	-	8.0	-
		d	d	d		d	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.10</b>	9.57	9.48	9.01	8.80	8.71	8.12	4.98	2.60-2.49	1.87-1.75	1.58-1.48	1.43-1.18	0.87	-2.75
	-	4.7	5	4.5	-	5.4	8.0	-	-	-	-	6.5	-
	s	d	d	d	s	d	t	m	m	m	m	t	s
<b>2.11</b>		9.56	9.05	8.88	8.80	8.15	5.05	2.60-2.48	1.88-1.70	1.59-1.45	1.32-1.18	0.86	-2.82
	-	4.8	6.5	4.7	-	10.4; 5.5	14.8; 7.0	-	-	-	-	6.7	-
		d	t	d	s	dd	dd	m	m	m	m	t	s

Para cada porfirina: 1ª linha: desvios químicos; 2ª linha: constantes de acoplamento (em Hz); 3ª linha: multiplicidade do sinal.

n=6: **2.1, 2.2, 2.3, 2.4 e 2.5**; n=8: **2.7, 2.8, 2.9, 2.10 e 2.11**.

Com base nos conhecimentos prévios da literatura e nos conceitos básicos de RMN a atribuição dos sinais de RMN  $^1\text{H}$  não ofereceu dúvidas não sendo necessário recorrer a técnicas bidimensionais para obter uma completa informação estrutural destes compostos. Para complementar a caracterização das porfirinas acima apresentadas, recorreu-se à espectrometria de massa, efectuada pela Unidade de Espectrometria de Massa da Universidade de Santiago de Compostela. Nos espectros de ESI-TOF obtidos para as porfirinas mistas (**2.1-2.11**), observou-se sempre a presença do ião molecular  $(\text{M}+\text{H})^+$ , assim como uma excelente concordância entre o padrão isotópico calculado e o observado, como se pode verificar na secção experimental. Na **figura 2.7** apresenta-se, como exemplo, a comparação entre o espectro de massa calculado e observado para o ião molecular  $(\text{M}+\text{H})^+$  da porfirina **2.2**.



**Figura 2.7-** Comparação do padrão isotópico calculado e observado para a porfirina **2.2**.

Nos espectros apresentados na **figura 2.7**, constata-se uma excelente concordância entre o espectro de massa calculado e observado experimentalmente para o ião molecular  $(\text{M}+\text{H})^+$ , com uma distribuição isotópica compreendida entre 850.0-854.5 m/z, cujo pico de maior intensidade com o valor de 850.7 m/z corresponde à massa do

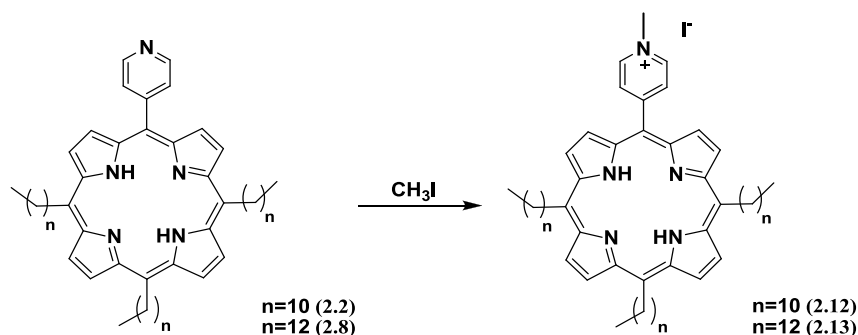
ião molecular  $(M+H)^+$  da porfirina **2.2** e os restantes picos dizem respeito aos diferentes isótopos.

## 2.2. Síntese de porfirinas mistas catiónicas

Um outro objectivo desta dissertação consiste na síntese de porfirinas catiónicas para poder modelar os respectivos pontos de fusão e potenciar a sua aplicação tanto como sensibilizadores na inactivação de bactérias como na preparação de nanomateriais.

A carga positiva é facilmente gerada através da formação de azotos quaternários, por reacção do substituinte piridina, existente nos compostos sintetizados na secção anterior, com halogenetos de alquila de cadeias variáveis.

Por questões temporais, nos estudos que conduziram à escrita desta dissertação foi utilizado exclusivamente o iodometano, muito reactivo em reacções  $S_N2$ , e as porfirinas que contêm na sua estrutura apenas uma unidade piridina (**2.2** e **2.8**), **figura 2.8**.

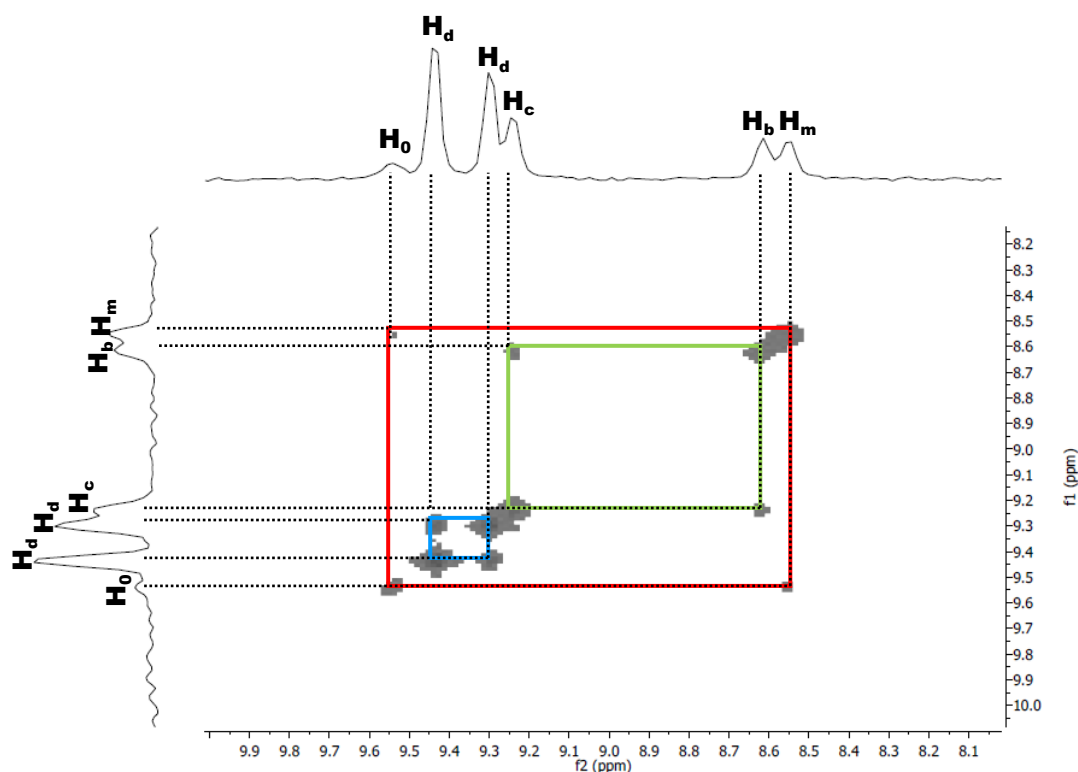


**Figura 2.8**-Esquema da reacção de metilação das porfirinas **2.2** e **2.8**.

O método de metilação utilizado resultou de optimizações de processos descritos na literatura,<sup>10,11</sup> onde o iodometano funcionou não só como reagente mas também como solvente da reacção. As reacções foram realizadas, à temperatura ambiente, com um excesso de iodometano (cerca de 40 equivalentes) durante aproximadamente 24 horas. A monitorização do evoluir da reacção foi efectuada por TLC. Após o *terminus* da reacção efectuaram-se lavagens sucessivas (3 vezes) com diclorometano/água, obtendo-se as porfirinas **2.12** e **2.13** com rendimentos quase quantitativos (95 e 98 %, respectivamente).

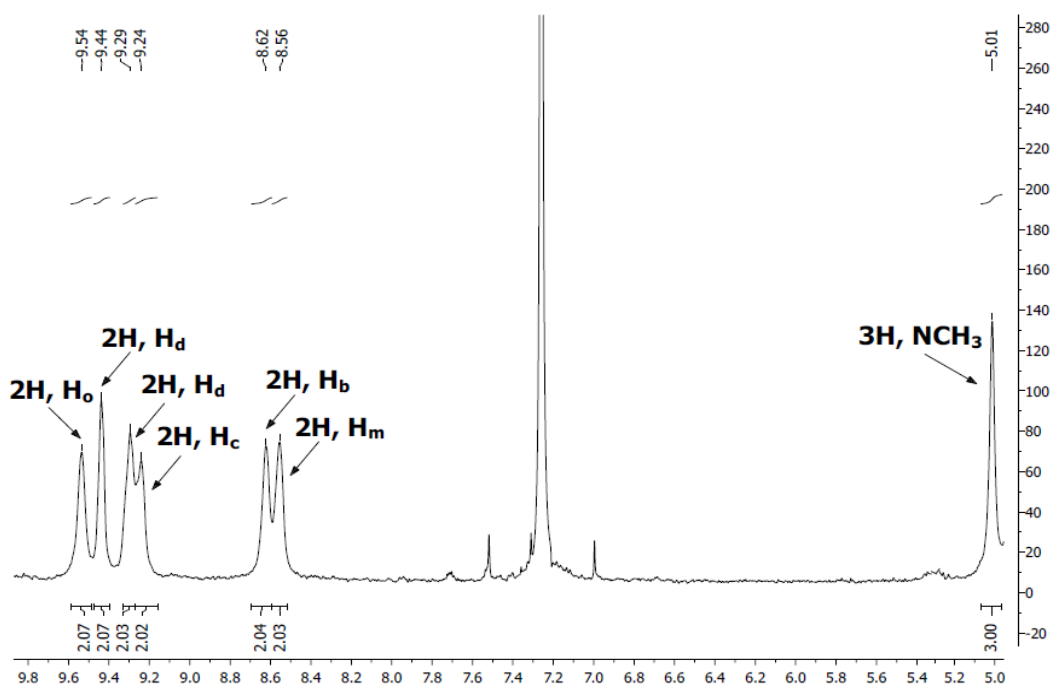
As porfirinas catiónicas sintetizadas **2.12** e **2.13** foram também caracterizadas por espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ . As propostas de atribuição dos valores de desvios químicos dos prótons tiveram como base de comparação as porfirinas de partida (**2.2** e **2.8**), **tabela 2.4**. Comparando os espectros obtidos da região aromática, verificou-se que atribuição completa dos sinais referentes aos prótons das posições  $\beta$  e os do anel de piridina não era inequívoca e para esclarecimento complementar recorreu-se à técnica de RMN bidimensional homonuclear COSY.

Na **figura 2.9** apresenta-se o espectro COSY da porfirina catiónica **2.12** estando representado a vermelho o acoplamento entre os prótons  $\text{H}_m$  e  $\text{H}_o$  da piridina, a verde o acoplamento entre os prótons beta  $\text{H}_b$  e  $\text{H}_c$  e a azul o acoplamento entre os prótons beta  $\text{H}_d$ , que nas porfirinas catiónicas se desdobram em dois sinais.



**Figura 2.9-** Espectro de RMN bidimensional homonuclear COSY da porfirina **2.12** em  $\text{CDCl}_3$ .

Com base nas correlações observadas entre os diferentes prótons da molécula, na **figura 2.10** apresenta-se a atribuição dos prótons da porfirina **2.12**, excluindo a zona da cadeia alquílica, uma vez que o desvio químico dos prótons entre 1 e 5 ppm mantém-se praticamente inalterado após metilação e geração da carga positiva.



**Figura 2.10-** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da porfirina **2.12** em  $\text{CDCl}_3$ .

As alterações observadas nos espectros das porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13**, quando comparados com os espectros das porfirinas de partida, devem-se ao efeito da carga positiva gerada pelo azoto quaternário. O efeito mais acentuado é observado para os prótons  $\text{H}_0$  que, anteriormente, apresentavam desvios químicos com valores inferiores ( $\delta=8.93$  ppm) e nesta molécula, devido à carga positiva no anel da piridina, o sinal correspondente desvia-se para valores de desvio químico superiores ( $\delta=9.54$  ppm), **tabela 2.4**. Este facto pode ser interpretado tanto por efeito de ressonância como por efeito indutivo uma vez que os dois efeitos contribuem para que os prótons  $\text{H}_0$  fiquem menos blindados, desviando por isso o sinal para maiores desvios químicos. Para além desta observação, verifica-se também o desdobramento do sinal dos prótons  $\beta$ -pirrólicos  $\text{H}_d$  ( $\delta=9.44$  e  $9.29$  ppm), possivelmente devido a uma alteração de simetria da molécula. Por outro lado o sinal dos prótons  $\beta$ -pirrólicos  $\text{H}_b$  aparece a  $\delta=8.62$  muito próximo do dos prótons  $\text{H}_m$ , a  $\delta=8.56$  ppm e para valores apenas ligeiramente desviados para maiores desvios químicos do que os da molécula inicial **2.2**. Esta observação pode ser interpretada com base no efeito indutivo resultante da carga positiva. Esta porfirina catiónica apresenta também um sinal com um desvio a  $\delta=5.01$  ppm correspondente aos 3 prótons do grupo metilo ligado ao azoto quaternário.

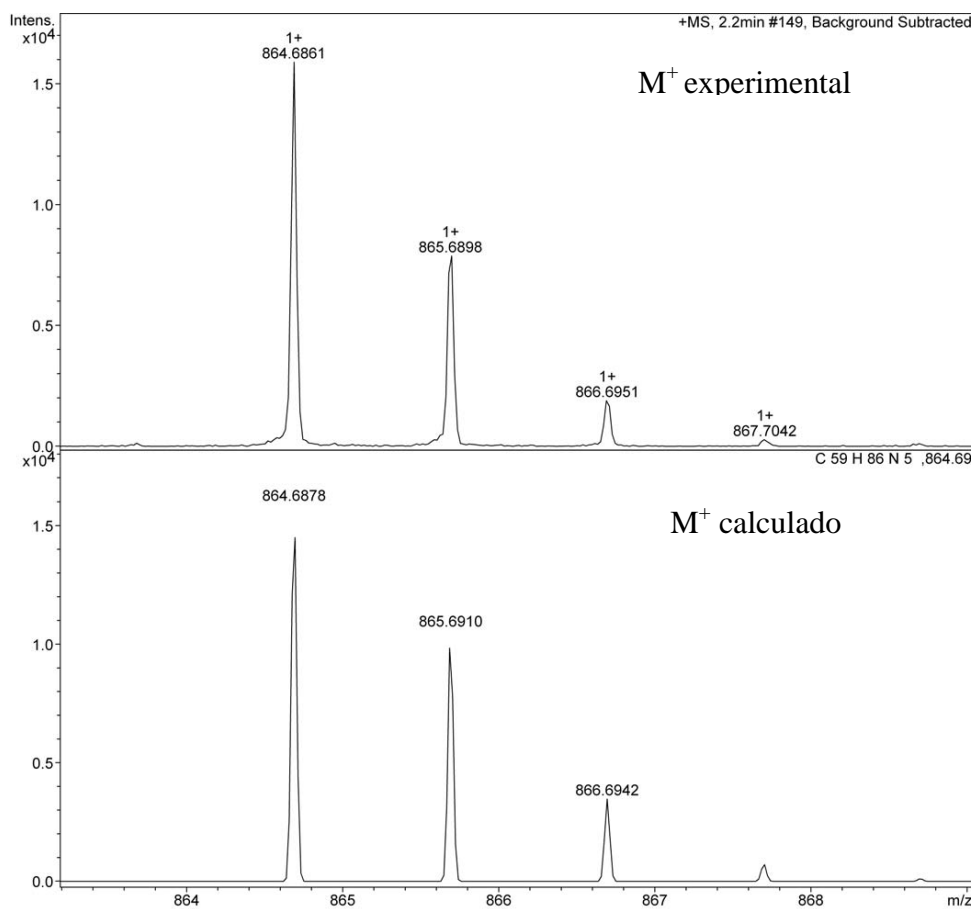
**Tabela 2.4-** Comparação dos desvios químicos (ppm a partir de TMS), constante de acoplamento e multiplicidade de RMN de  $^1\text{H}$  das porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13** e suas precursoras **2.2** e **2.8**, respectivamente.

Porf.	$\text{H}_d$	$\text{H}_c$	$\text{H}_o$	$\text{H}_b$	$\text{H}_a$	$\text{H}_m$
	9.51	9.40	8.93	8.72		8.09
<b>2.2</b>	13.8;4.7	4.8	-	4.6	-	4.7
	dd	d	s	d		d
	9.44;9.29	9.24	9.54	8.62		8.56
<b>2.12</b>	-	-	-	-	-	-
	s;s	s	s	s		s
	9.52	9.41	9.01	8.74		8.12
<b>2.8</b>	13.8;4.5	4.7	4.7	4.6	-	4.9
	dd	d	d	d		d
	9.29;9.02	8.97	9.39	8.56		8.45
<b>2.13</b>	-	-	-	-	-	-
	s;s	s	s	s		s

Para cada porfirina: 1ª linha: desvios químicos; 2ª linha: constantes de acoplamento (em Hz); 3ª linha: multiplicidade do sinal

As porfirinas sintetizadas neste subcapítulo foram também caracterizadas por espectrometria de massa. A título de exemplo apresenta-se na **figura 2.11** a comparação entre o espectro de massa calculado e observado para a porfirina **2.12**.

Nos espectros apresentados na **figura 2.11** verificou-se, mais uma vez, uma excelente concordância entre o valor da massa calculado e observado com uma distribuição isotópica compreendida entre 864.0-868.0 m/z, cujo pico de maior intensidade a 864.7 m/z corresponde à massa da porfirina **2.12**.



**Figura 2.11-** Comparação do padrão isotópico calculado e observado experimentalmente para a porfirina **2.12**.



### 2.3. Coeficientes de partição

Os processos de transporte de analitos pela membrana celular são essenciais em todas as formas de vida, já que o correcto funcionamento das células depende das trocas que estabelece com o exterior (obter metabolitos indispensáveis e excretar substâncias indesejadas). Está estabelecido que a actividade biológica de um composto é o resultado do contacto deste com as membranas e da função barreira da membrana celular, particularmente na difusão passiva de solutos hidrofóbicos.

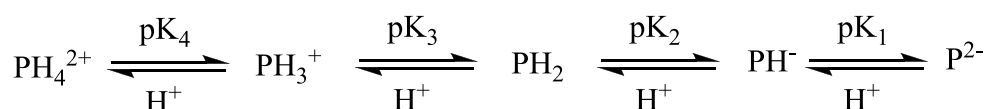
O sucesso da PDT depende de vários factores, dos quais salientamos a selectividade e acumulação do fotossensibilizador nas células alvo. Como referimos anteriormente, espera-se que a presença de cadeias alquílicas longas na molécula do fotossensibilizador facilitem a permeação das membranas celulares e a carga positiva crie afinidade para as células alvo.

O coeficiente de partição octanol-água (CP) é um modelo experimental químico-físico frequentemente utilizado pela indústria farmacêutica para previsão do comportamento *in vivo* de permeação de fármacos nas membranas celulares. As moléculas para atingirem o meio intracelular da célula alvo, passam dum meio extracelular aquoso para um meio hidrofóbico (lípidos membranares) e de seguida para um meio aquoso intracelular.<sup>12,13</sup> A partição de solventes mais utilizados neste modelo centra-se no equilíbrio entre 1-octanol e água, visto que o álcool possui uma cadeia alquílica longa e um grupo funcional com características de aceitador e dador de ligações de hidrogénio, simulando os fosfolípidos das membranas celulares. Além disso, dissolve uma vasta gama de compostos orgânicos, é transparente no ultravioleta, o que permite determinações espectroscópicas sem interferências e a baixa pressão de vapor origina medidas reprodutíveis. Existem na literatura dois métodos para a determinação de coeficientes de partição. O primeiro é essencialmente aplicado na determinação dos coeficientes de partição de analitos neutros e recorre à utilização de HPLC munido de uma coluna de fase inversa (saturada de 1-octanol) e como fase móvel a água.<sup>14</sup> O segundo, denominado por “*shake-flash method*”,<sup>15,16</sup> consiste na agitação do soluto numa mistura de água e 1-octanol, seguindo-se a quantificação da concentração do composto nas duas fases por técnicas espectroscópicas de fluorescência ou UV-visível, após construídas as curvas de calibração com os padrões apropriados.

O coeficiente de partição (CP) é definido pela razão entre a concentração de soluto (porfirina) na fase orgânica ( $C_o$ ) e na fase aquosa ( $C_w$ ):

$$CP = \frac{C_o}{C_w}$$

A determinação do coeficiente de partição de algumas das porfirinas sintetizadas neste trabalho foi realizada utilizando o “*shake-flash method*”. A fase orgânica utilizada foi o 1-octanol e como fase aquosa utilizou-se o tampão fosfato, PBS (do inglês “*Phosphate Saline Buffer*”). A água é substituída pelo tampão de fosfato porque o núcleo tetrapirrólico das porfirinas apresenta um carácter anfotérico com dois átomos de nitrogénio, -N=, capazes de aceitar protões e outros dois, -NH-, capazes de doar protões. Assim, temos vários equilíbrios ácido-base possíveis que englobam várias espécies desde dianiões a dicatiões. Estes possíveis equilíbrios em solução aquosa são representados na **figura 2.12**.



**Figura 2.12-** Esquema representativo do equilíbrio ácido-base do núcleo tetrapirrólico de uma porfirinas,  $PH_2$  e das porfirinas de base livre.

Pelos equilíbrios apresentados na **figura 2.12**, percebe-se a influência do pH nos coeficientes de partição neste tipo de moléculas,<sup>17,18</sup> pelo que se utiliza uma solução tampão, pH=7,4 para controlar a protonação do macrociclo.

Assim, prosseguimos os estudos no sentido de obter os valores dos coeficientes de partição octanol/água das *meso*-porfirinas sintetizadas, segundo pequenas modificações ao método de Pandey<sup>19,20</sup>

O primeiro passo consiste em traçar as curvas de calibração que permitirão calcular a concentração de composto em cada fase da mistura bifásica. Para isso traçam-se rectas de concentração em função da fluorescência de seis soluções do composto, com concentrações compreendidas entre  $10^{-8}$  e  $10^{-6}$  M, em 70% etanol/30% octanol e 70% etanol/ 30% PBS. O composto é dissolvido na fase do octanol (onde as interacções soluto-solvente são privilegiadas) e procede-se a uma agitação vigorosa durante 2 minutos, e após este período é-lhe adicionado igual volume de PBS e é agitado de novo

durante 3 minutos, seguido da introdução num banho de ultra-sons (2 minutos). Finalmente, a mistura bifásica é colocada numa centrifugadora para melhorar a separação de fases. Após o registo do espectro de emissão de fluorescência e com recurso à recta de calibração è possível obter as concentrações das porfirinas em cada uma das fases e utilizando a expressão de CP anteriormente apresentada foram determinados os coeficientes de partição. Na **tabela 2.5** apresentam-se os valores do logaritmo da razão entre a concentração de composto na fase orgânica e na fase aquosa (log CP) apenas das porfirinas com uma ou mais piridinas nas posições *meso* e das correspondentes porfirinas catiónicas sintetizadas.

**Tabela 2.5-** Valores de log CP das porfirinas sintetizados

Entrada	Porfirina	log CP
1	<b>2.2</b>	1.95
2	<b>2.3</b>	1.72
3	<b>2.4</b>	1.65
4	<b>2.5</b>	1.42
5	<b>2.8</b>	2.15
6	<b>2.9</b>	1.94
7	<b>2.10</b>	1.92
8	<b>2.11</b>	1.73
9	<b>2.12</b>	1.88±0.28
10	<b>2.13</b>	2.85±0.29

Pela análise dos valores obtidos para os coeficientes de partição, e admitindo que os erros serão inferiores aos das porfirinas catiónicas, observa-se que o aumento do número de piridinas nas posições *meso* das porfirinas conduz a um aumento da sua hidrofilicidade, o que se traduz numa diminuição do valor de log CP, independentemente do tamanho da cadeia alquílica (entradas 1-4 e 5-8, **tabela 2.5**). Comparando os dois grupos de porfirinas verifica-se que as que apresentam 13 carbonos na cadeia alquílica (entrada 5-8, **tabela 2.5**) apresentam valores de log CP ligeiramente superiores às suas análogas de 11 carbonos na cadeia alquílica, resultante do aumento da hidrofobicidade com o aumento do comprimento da cadeia alquílica.

A porfirina **2.12** resultante da metilação da porfirina **2.2**, que contém apenas um anel de piridina, apesar de catiónica, não induziu a alteração significativa nos valores dos coeficientes de partição, passando de 1.95 (entrada 1, **tabela 2.5**) para  $1.88 \pm 0.28$  (entrada 9, **tabela 2.5**). Pelo contrário, a porfirina **2.13**, cujas cadeias alquílicas contêm mais dois átomos de carbono, os valores dos coeficientes de partição variaram de 2.15 (entrada 5, **tabela 2.5**) para  $2.85 \pm 0.29$  (entrada 10, **tabela 2.5**).

Não é do nosso conhecimento que existam trabalhos na literatura que correlacionem os valores óptimos de log CP com a actividade anti-bacteriana. Devemos salientar ainda que estudos preliminares, efectuados em colaboração com a Universidade de Cracóvia-Polónia, revelaram que a porfirina **2.12** provocou aproximadamente 50% de morte celular das bactérias *E. Coli* e *Staph. Aureus* após 5 minutos de irradiação com luz vermelha ( $\lambda=655$  nm), enquanto a porfirina **2.13** não revelou nenhuma eficiência.

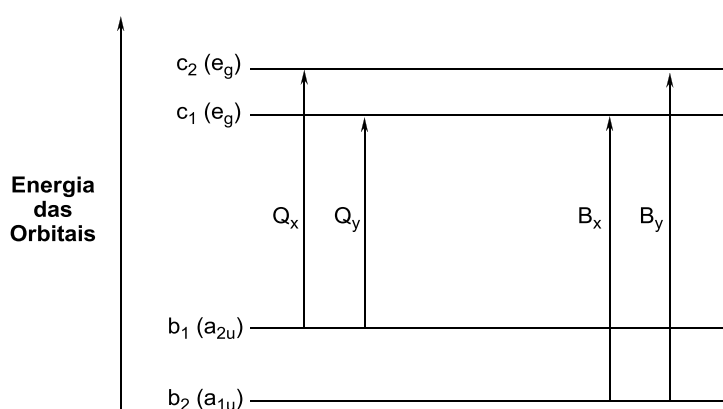
Para além disso, de acordo com a literatura, as porfirinas catiónicas sintetizadas **2.12** e **2.13** apresentam valores de log CP adequados para uma possível administração oral e com valores que permitem a permeação de membranas de tecidos cerebrais.<sup>21,22</sup>

## 2.4. Caracterização fotofísica

Os compostos apresentados nesta dissertação foram também caracterizados por espectroscopia de absorção e emissão. Estas duas técnicas fornecem informação importante para a possível aplicação dos compostos em PDT, uma vez que as moléculas têm que apresentar algumas características específicas.

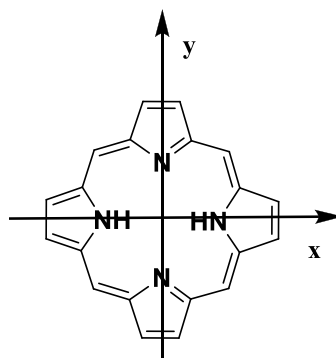
Uma das características que distingue as porfirinas dos restantes compostos aromáticos é a cor que apresentam, devido à sua forte absorção na zona do visível e ultravioleta próximo. Esta característica deve-se às diferentes transições electrónicas resultantes da elevada conjugação do anel porfírinico, que podem ocorrer quando estas moléculas são sujeitas a irradiação com a luz visível. O espectro de absorção UV-visível da porfirina é caracterizado pela existência de quatro bandas de baixa intensidade, entre os 500 e os 700 nm, correspondentes a transições proibidas, denominadas por bandas **Q**. Observa-se ainda uma outra banda próxima dos 400 nm, com um coeficiente de absorvidade molar mais elevado que as anteriores, designada por banda **B** ou Soret.

Os espectros de absorção de porfirinas foram interpretados por vários autores,<sup>23-26</sup> mas o modelo teórico proposto por Gouterman (“modelo das quatro orbitais”)<sup>27-29</sup> tem prevalecido até hoje, uma vez que explica e interpreta, de forma simples, as mudanças observadas nos espectros dos macrociclos tetrapirrólicos, por pequenas alterações estruturais. De acordo com este modelo as transições electrónicas originárias das bandas **B** e **Q** encontram-se associadas a quatro orbitais: duas orbitais HOMO, designadas por  $b_1$  e  $b_2$  com simetria  $a_{2u}$  e  $a_{1u}$  (orbital  $\pi$ ) e duas LUMO, designadas por  $c_1$  e  $c_2$  com simetria  $e_g$  (orbital  $\pi^*$ ), **figura 2.13**.



**Figura 2.13-** Representação das orbitais e transições electrónicas entre o estado fundamental e o estado excitado de porfirinas de base livre segundo o modelo proposto por Gouterman.<sup>28</sup>

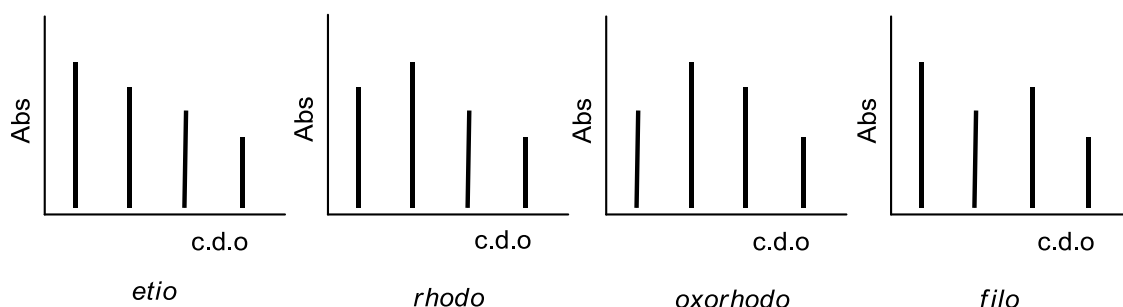
As cinco bandas observadas no espectro de absorção podem ser explicadas, segundo Gouterman, arbitrando-se um sistema de eixos cartesianos  $x$  e  $y$  sobre a estrutura do macrociclo tetrapirrólico (**figura 2.14**), podendo neste caso ocorrer transições  $B_x$ ,  $B_y$ ,  $Q_x$  e  $Q_y$ , **figura 2.13**.



**Figura 2.14-** Sistema de eixos coordenados escolhidos para o estudo de porfirinas de base livre.

Como demonstra a **figura 2.13**, a banda  $Q_y$  tem origem na transição entre as orbitais  $b_1 \rightarrow c_1$  e a banda  $Q_x$  na transição entre  $b_1 \rightarrow c_2$ . Por outro lado, as bandas  $B_x$  e  $B_y$  correspondem às transições  $b_2 \rightarrow c_1$  e  $b_2 \rightarrow c_2$ , respectivamente. Estas bandas podem ainda ser representadas por  $B_x(0,0)$ ,  $B_y(0,0)$ ,  $Q_x(0,0)$  e  $Q_y(0,0)$ , no caso de ocorrerem transições entre o nível vibracional zero do estado fundamental para o nível vibracional zero do estado excitado. Associadas às transições  $Q_x(0,0)$  e  $Q_y(0,0)$ , temos as transições  $Q_x(1,0)$  e  $Q_y(1,0)$  que são atribuídas a um movimento electrónico para um nível vibracional superior em relação às anteriores. Contudo, se observarmos um espectro de absorção de uma porfirina de base livre, apenas se observam cinco transições, uma vez que as transições  $B_x(0,0)$  e  $B_y(0,0)$  têm uma diferença energética mínima, aparecendo sob a forma de uma única banda a 400 nm.

A intensidade das quatro bandas Q é variável e está inteiramente relacionada com os grupos substituintes presentes no macrociclo, uma vez que estes podem estabilizar ou destabilizar as orbitais HOMO e LUMO do anel porfirínico. De acordo com as intensidades relativas das bandas Q, os espectros de absorção podem ser classificados em quatro tipos: *etio*, *rhodo*, *oxorhodo* e *filo*,<sup>30</sup> **figura 2.15**.

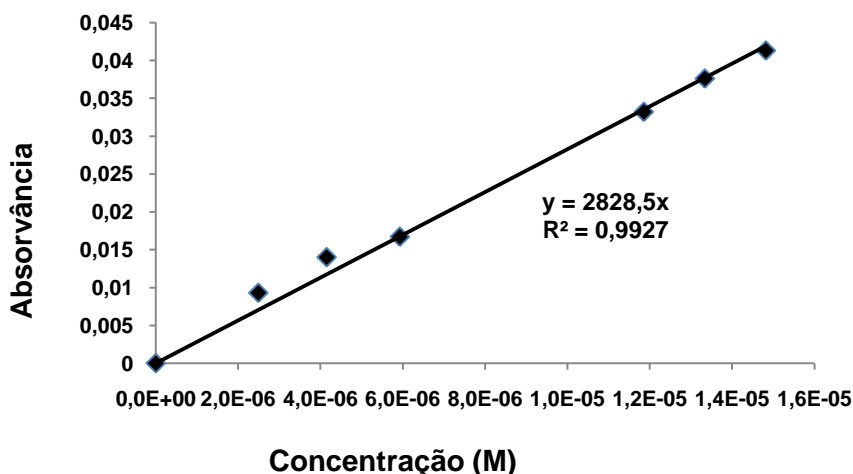


**Figura 2.15-** Tipos de espectros e respectivas intensidades relativas atribuídas às bandas Q.

Segundo Gouterman, a substituição de um grupo nas posições *meso* da porfirina altera a energia e simetria do estado fundamental  $b_1$ , sem afectar  $b_2$ , tal como previsto pelas orbitais moleculares calculadas por Longuett-Higgins.<sup>31</sup> Como o estado  $b_1$  está directamente relacionado com a intensidade das bandas Q, uma perturbação das orbitais moleculares deste estado electrónico irá contribuir para uma significativa alteração da intensidade relativa destas bandas.

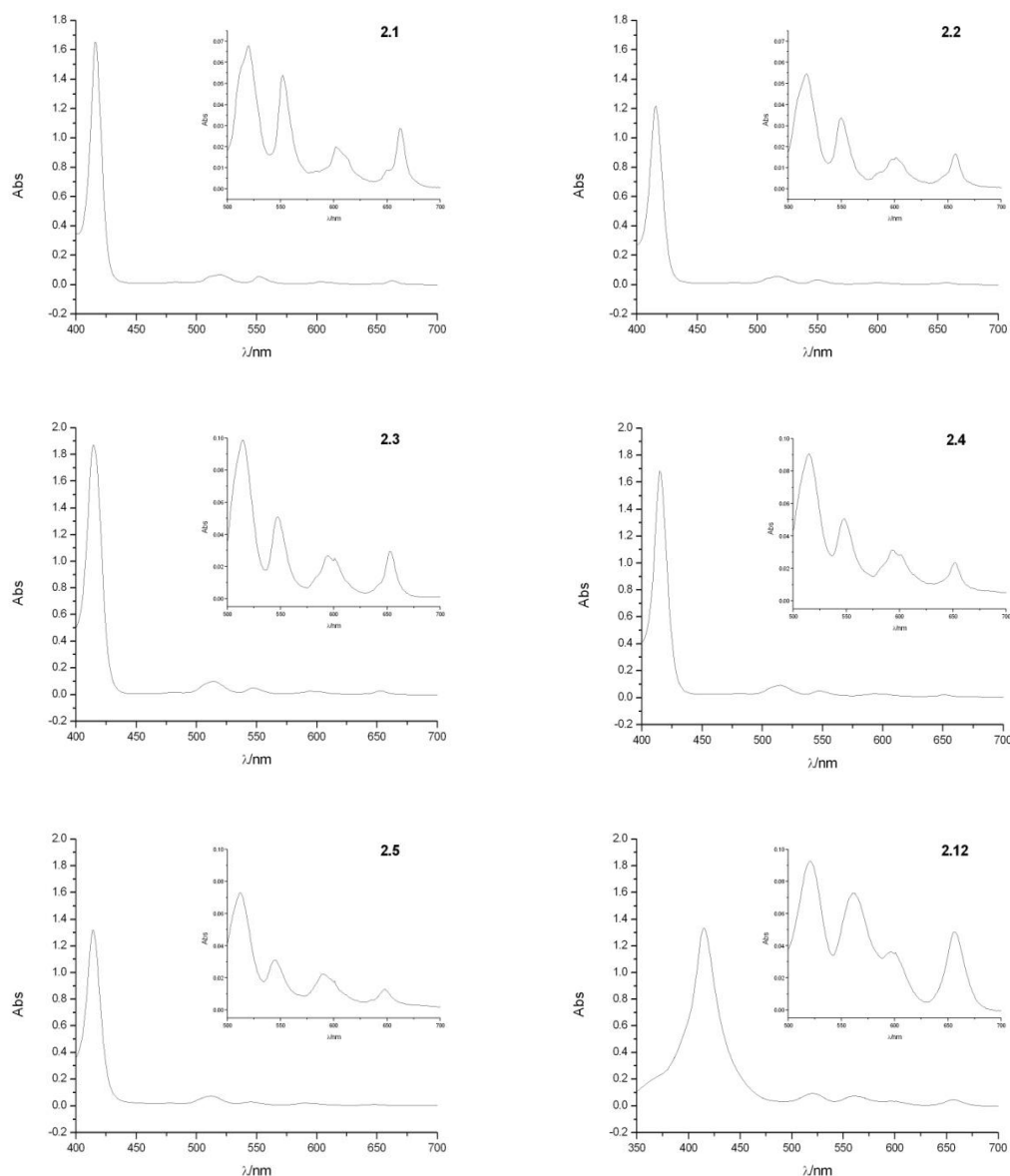
Um aspecto fotofísico importante para caracterizar as diferentes famílias de compostos sintetizados é o cálculo do valor da absorvidade molar para cada banda do espectro de absorção. Neste sentido, foram preparadas soluções em ciclohexano ou etanol (dependendo da solubilidade dos compostos) com concentrações entre  $10^{-5}$  e  $10^{-7}$  M, tendo-se determinado os espectros de absorção UV-visível com as respectivas absorvâncias de cada banda. Através da aplicação da lei de Beer-Lambert ( $A=\epsilon bc$ , onde  $A$  é a absorvância,  $\epsilon$  é o coeficiente de absorvidade molar,  $b$  é o caminho óptico percorrido pela luz e  $c$  é a concentração da solução), representa-se num gráfico a absorção em função da concentração, **figura 2.16**, e através do declive da recta ajustada determina-se o valor do coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) para as bandas Q e Soret. Os coeficientes de correlação obtidos para as rectas foram bastante bons e no intervalo de concentrações utilizado não verificámos qualquer desvio à lei de Beer-Lambert, o que nos indica a ausência de agregação dos compostos na gama de concentrações estudadas.<sup>31</sup>

Na **figura 2.16** apresenta-se um exemplo seleccionado das rectas utilizadas na determinação do  $\epsilon$  para a banda  $Q_x(0,0)$  da porfirina **2.2**. Todos os outros valores de  $\epsilon$  foram determinados de igual modo e apresentam-se na **tabela 2.6**.



**Figura 2.16-** Gráfico de absorvância em função da concentração para a banda  $Q_x(0,0)$  ( $\lambda=657$  nm) da porfirina **2.2**.

Os espectros de absorção e respectivas ampliações das bandas Q das porfirinas **2.1-2.5** e **2.12** encontram-se na **figura 2.17**.



**Figura 2.17-** Espectros de absorção e respectivas ampliações das bandas Q das porfirinas **2.1-2.5** e **2.12**.

Analisando os espectros apresentados na **figura 2.17** verifica-se que o aumento do número de anéis de piridina nas posições *meso* do macrociclo produz mudanças significativas na intensidade banda  $Q_x(0,0)$ . Na porfirina com quatro cadeias alquílicas **2.1** temos a banda de maior comprimento de onda [ $Q_x(0,0)$ ] com maior absortividade que a  $Q_x(1,0)$ . O mesmo pode observar-se para a porfirina **2.2**, porém com duas ou mais piridinas os espectros de absorção assumem uma forma de espectro do tipo *etio*. Estas mudanças devem-se, principalmente, às mudanças de simetria que alteram o acoplamento vibrónico e, assim, a intensidade da banda  $Q_x(0,0)$ . No espectro da



porfirina catiónica **2.12** verifica-se que a intensidade da banda  $Q_x(1,0)$  diminui relativamente às restantes bandas, quando comparada com o espectro da porfirina com a piridina sem carga **2.2**. Para a família de porfirinas sintetizadas a partir da mistura do tetradecanal e da 4-formil-piridina **2.6-2.11** e para a respectiva porfirina catiónica **2.13**, a forma e intensidade das bandas dos espectros de absorção são análogos aos apresentados e discutidos para a família de porfirinas apresentadas na **figura 2.17**.

**Tabela 2.6** - Comprimento de onda do máximo de absorção e coeficientes de absortividade molar de algumas porfirinas sintetizadas.

Porfirina	Absorção $\lambda_{\text{máx}}[\text{nm}]$ ( $\epsilon$ [ $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ])				
	B(0,0)	$Q_y(1,0)$	$Q_y(0,0)$	$Q_x(1,0)$	$Q_x(0,0)$
<b>2.1<sup>a</sup></b>	416	520	552	602	662
	( $2.1 \times 10^5$ )	( $8.6 \times 10^3$ )	( $6.7 \times 10^3$ )	( $2.3 \times 10^3$ )	( $3.6 \times 10^3$ )
<b>2.2<sup>a</sup></b>	416	517	550	597	657
	( $2.1 \times 10^5$ )	( $9.1 \times 10^3$ )	( $5.7 \times 10^3$ )	( $2.5 \times 10^3$ )	( $2.8 \times 10^3$ )
<b>2.3<sup>a</sup></b>	415	514	547	594	653
	( $2.0 \times 10^5$ )	( $1.0 \times 10^4$ )	( $5.2 \times 10^3$ )	( $2.7 \times 10^3$ )	( $2.9 \times 10^3$ )
<b>2.4<sup>a</sup></b>	415	515	548	595	652
	( $1.7 \times 10^5$ )	( $8.6 \times 10^3$ )	( $4.7 \times 10^3$ )	( $2.7 \times 10^3$ )	( $2.2 \times 10^3$ )
<b>2.5<sup>a</sup></b>	414	512	544	590	648
	( $1.1 \times 10^5$ )	( $5.9 \times 10^3$ )	( $2.5 \times 10^3$ )	( $1.8 \times 10^3$ )	( $1.0 \times 10^3$ )
<b>2.6<sup>33;b</sup></b>	418	514	547	588	644
	( $4.0 \times 10^5$ )	( $1.9 \times 10^4$ )	( $5.1 \times 10^3$ )	( $5.0 \times 10^3$ )	( $3.6 \times 10^3$ )
<b>2.7<sup>a</sup></b>	416	520	552	602	662
	( $2.9 \times 10^5$ )	( $1.1 \times 10^4$ )	( $9.2 \times 10^3$ )	( $3.2 \times 10^3$ )	( $4.9 \times 10^3$ )
<b>2.8<sup>a</sup></b>	416	517	550	601	657
	( $3.0 \times 10^5$ )	( $1.2 \times 10^4$ )	( $7.0 \times 10^3$ )	( $2.4 \times 10^3$ )	( $3.5 \times 10^3$ )
<b>2.9<sup>a</sup></b>	415	514	547	594	653
	( $1.2 \times 10^5$ )	( $5.8 \times 10^3$ )	( $2.8 \times 10^3$ )	( $1.4 \times 10^3$ )	( $1.3 \times 10^3$ )
<b>2.10<sup>a</sup></b>	415	515	548	594	652
	( $2.1 \times 10^5$ )	( $9.8 \times 10^3$ )	( $5.1 \times 10^3$ )	( $2.9 \times 10^3$ )	( $2.1 \times 10^3$ )
<b>2.11<sup>a</sup></b>	414	512	544	590	648
	( $1.1 \times 10^5$ )	( $6.3 \times 10^3$ )	( $2.6 \times 10^3$ )	( $1.9 \times 10^3$ )	( $1.1 \times 10^3$ )
<b>2.12<sup>c</sup></b>	416	521	561	596	656
	( $1.2 \times 10^5$ )	( $8.1 \times 10^3$ )	( $6.4 \times 10^3$ )	( $3.3 \times 10^3$ )	( $4.4 \times 10^3$ )
<b>2.13<sup>c</sup></b>	415	520	562	596	656
	( $1.3 \times 10^5$ )	( $7.4 \times 10^3$ )	( $5.7 \times 10^3$ )	( $2.5 \times 10^3$ )	( $3.7 \times 10^3$ )

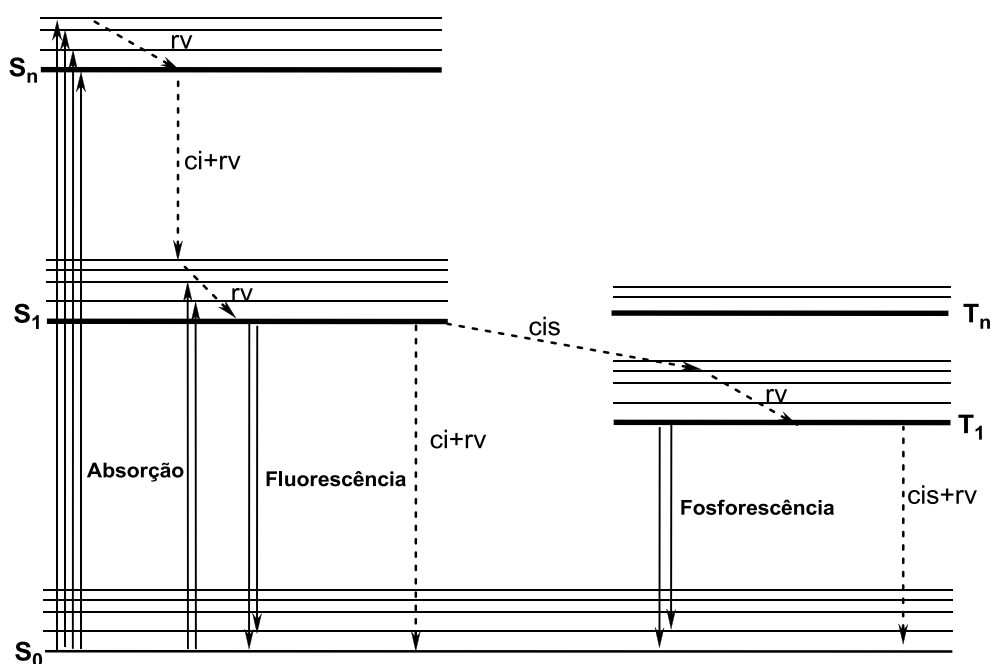
Solventes utilizados na determinação dos coeficientes de absortividade: <sup>a</sup>ciclohexano; <sup>b</sup>clorofórmio; <sup>c</sup>etanol

Observando os valores dos comprimentos de onda dos máximos de absorção, apresentados na **tabela 2.6**, verifica-se um efeito bastante significativo relativamente ao número de grupos piridina presentes. Com o aumento do número de piridinas observa-se um desvio para a zona de absorção do azul (menores c.d.o.) e uma diminuição dos respectivos coeficientes de absorvidade molar. Esta diminuição encontra-se relacionada com diferenças entre os níveis energéticos (diferentes posições energéticas, possível redução da energia e, por conseguinte, possível redução do oscilador).<sup>34</sup>

Relativamente às porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13** não é possível estabelecer uma comparação com as porfirinas de partida, visto que os estudos de espectroscopia UV-visível foram realizados em solventes diferentes e, tal como é referido na literatura, o solvente pode ter uma forte influência tanto no comprimento de onda de absorção como na sua absorvidade molar.<sup>35</sup> Porém, comparando as duas porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13** pode observar-se que os coeficientes de absorvidade molar e comprimento de onda do máximo de absorção são praticamente iguais.

Uma outra técnica espectroscópica utilizada na caracterização dos compostos foi a fluorescência, pois os compostos porfirínicos podem também ter aplicação biomédica, nomeadamente como agentes de contraste.<sup>36</sup> Tal como referimos anteriormente, um dos objectivos centrais desta dissertação é a síntese de fotossensibilizadores para potencial utilização de PDT na destruição de bactérias. Neste contexto, interessam-nos compostos com baixo rendimento quântico de fluorescência, elevada conversão intersistemas e elevado tempo de vida do estado tripleto para promover com eficiência a formação do oxigénio singuleto.<sup>37</sup> O rendimento quântico de fluorescência dá-nos, indirectamente, alguma informação sobre o estado tripleto, uma vez que quanto menor for a desactivação do estado excitado por fluorescência, maior será a eficiência de formação do estado tripleto.

O fotossensibilizador ao absorver luz pode sofrer uma série de processos radiativos e não radiativos, como é mostrado o diagrama de Jablonsky,<sup>38</sup> **figura 2.18**.



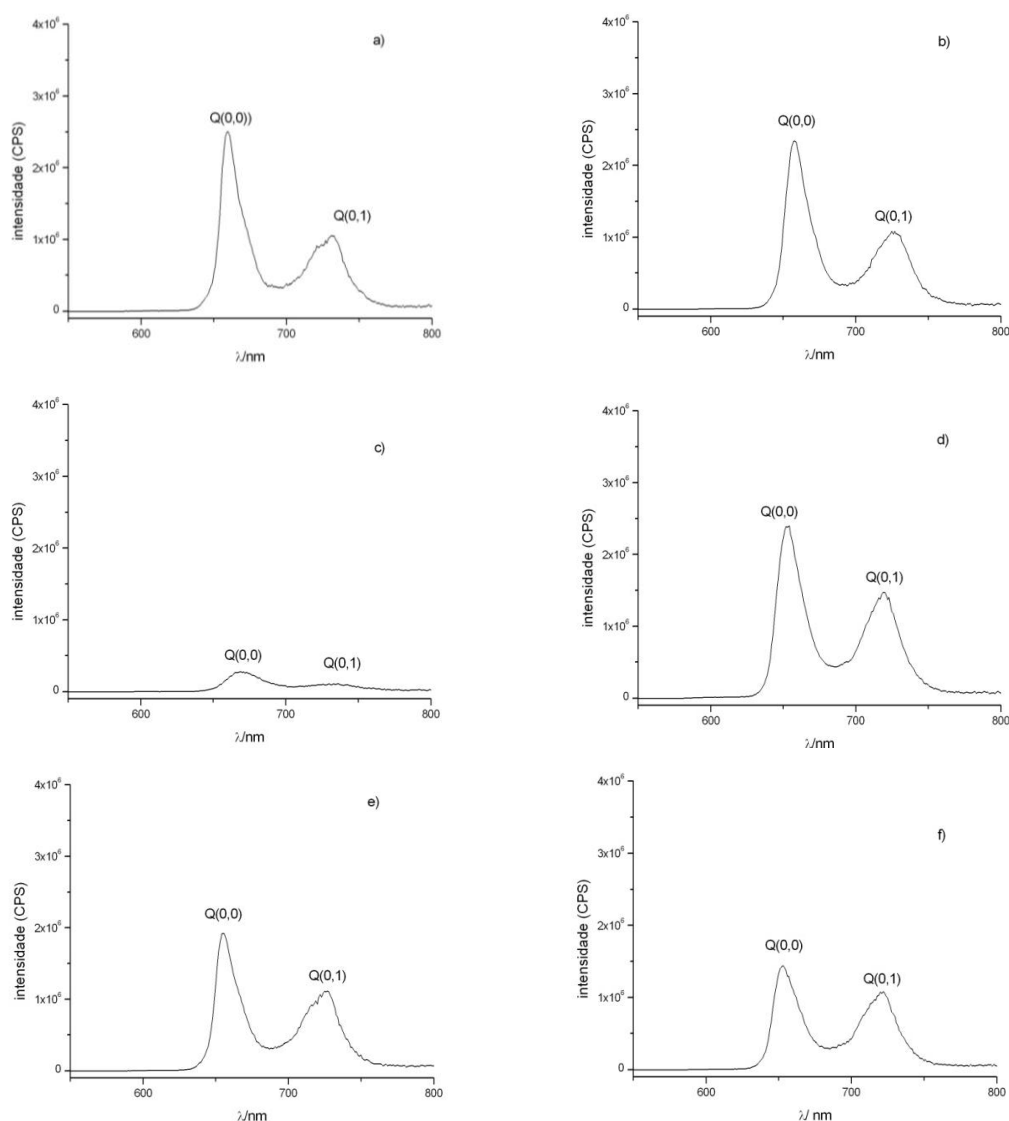
**Figura 2.18-** Diagrama de Jablonski indicando os processos fotofísicos: fluorescência, fosforescência, conversão interna (ci), conversão intersistemas (cis) e relaxação vibracional (rv). As setas a cheio indicam os processos radiativos e as setas a tracejado indicam os processos não radiativos.

Neste diagrama estão representados os possíveis processos de transição eletrônica que ocorrem quando uma molécula, inicialmente no seu estado fundamental  $S_0$ , absorve um fóton de radiação e é excitado a um estado de mais alta energia;  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_n$ . A absorção pode levar o elétron para estados de excitação elevados, mas este vai decair até ao estado de menor energia ( $S_1$ ) através de colisões com outras moléculas vizinhas, sem a emissão de luz. Após a passagem do elétron para o estado excitado  $S_1$ , este pode ser desactivado para o estado fundamental  $S_0$ , sob a forma de luz – fluorescência, ou sofrer conversão intersistemas e passar ao estado tripleto. A transição realizada entre o nível vibracional mais baixo do estado excitado  $c_1$  ( $e_g$ ) e o nível vibracional mais baixo do estado fundamental  $b_1(a_{2u})$  origina uma banda Q (0,0), que no respectivo espectro é identificada como a banda de maior energia e apresenta-se como imagem no espelho da banda de menor energia do espectro de absorção.<sup>29</sup> Os espectros podem apresentar outras bandas, designadas por Q(0,n), onde n representa o estado vibracional do qual se dá a transição para o estado fundamental ( $n=0,1,2,\dots$ ).<sup>39</sup> Estes compostos cumprem a regra de Kasha,<sup>40</sup> razão pela qual, as bandas correspondentes à emissão da banda Soret

não é observável, uma vez que não existe emissão a partir de estados electrónicos superiores ao estado  $S_1$ .

Assim, pretendia-se determinar os espectros de emissão dos compostos sintetizados bem como os seus rendimentos quânticos de fluorescência. Para calcular os rendimentos quânticos de fluorescência é necessário escolher uma referência adequada e, nestes estudos, a TPP foi a referência utilizada, uma vez que é obtida com elevado grau de pureza e existem diversas referências bibliográficas acerca das suas propriedades fotofísicas. Assim, preparámos soluções de TPP e das porfirinas em estudo (**2.1** a **2.13**) em tolueno, de forma a apresentarem no espectro de absorção uma absorvância de 0.2 a 419 nm (comprimento de onda de excitação). Estas soluções foram diluídas num factor de 1/10, de modo a obter absorvâncias 0.02 no mesmo comprimento de onda. Após cerca de 10 minutos de desarejamento obtiveram-se os espectros de emissão das respectivas porfirinas e referência. Na **figura 2.19** apresentam-se os espectros de emissão de fluorescência das porfirinas **2.2** a **2.5** e **2.12**.

Como é típico para estes tipo de compostos, os espectros registados apresentam uma banda para menores comprimentos de onda atribuída à transição  $Q(0,0)$ , sendo a banda adjacente atribuída à transição  $Q(0,1)$ . Atendendo à intensidade relativa das bandas de cada um dos espectros apresentados, verificamos que em todos os casos a intensidade da primeira banda é superior à segunda. A primeira banda de emissão refere-se à emissão de estados vibrónicos superiores a  $S_1$  e a segunda banda à emissão de energia do estado electrónico  $S_1$ .



**Figura 2.19-** Espectros de emissão de fluorescência e atribuição das bandas de emissão de fluorescência: a) **2.2**, b) **2.3**, c) **2.12**, d) **TPP**, e) **2.4** e f) **2.5**.

Verifica-se também que a intensidade da primeira banda diminui à medida que o número de piridinas nas posições *meso* aumenta, o que se deve ao facto da constante radiativa de emissão, que é directamente proporcional com a força do oscilador, diminuir.

Uma vez determinados os espectros de emissão é possível calcular os rendimentos quânticos de fluorescência dos compostos sintetizados. O rendimento quântico de fluorescência é definido como a razão entre o número de fótons emitidos por fluorescência e o número total de fótons absorvidos, ou seja, de moléculas excitadas.

Este pode obter-se indirectamente por comparação, com o rendimento quântico de fluorescência do padrão escolhido (**equação 2.1**).<sup>39</sup>

**Equação 2.1:**

$$\frac{\Phi F(\text{composto})}{\Phi F(\text{TPP})} = \frac{\text{Área}(\text{composto})}{\text{Área}(\text{TPP})} \times \frac{\text{Abs}(\text{TPP})}{\text{Abs}(\text{composto})} \times \frac{\eta^2(\text{composto})}{\eta^2(\text{TPP})}$$

Onde  $\eta$  simboliza o índice de refração do solvente no qual o composto ou referência foram dissolvidos, *Abs* é a absorvância medida no comprimento de onda de excitação e a área obtém-se através dos espectros de emissão de fluorescência.

Na **tabela 2.7**, apresentam-se os comprimentos de onda máximos de cada uma das bandas de emissão de fluorescência e o rendimento quântico de fluorescência das porfirinas sintetizadas.

**Tabela 2.7-** Comprimento de onda da banda de emissão e respectivos rendimentos quânticos de fluorescência das porfirinas sintetizadas

Porfirina	Fluorescência		$\Phi_F$
	$\lambda_{\text{max}}(\text{nm})$		
	Q(0,0)	Q(0,1)	
<b>2.1</b>	662	737	0,12
<b>2.2</b>	660	731	0,091
<b>2.3</b>	658	727	0,088
<b>2.4</b>	655	727	0,082
<b>2.5</b>	653	722	0,073
<b>2.6</b>	653	712	0,069 <sup>33</sup>
<b>2.7</b>	664	740	0,11
<b>2.8</b>	660	732	0,090
<b>2.9</b>	656	725	0,087
<b>2.10</b>	655	727	0,079
<b>2.11</b>	652	722	0,074
<b>2.12</b>	669	736	0,012
<b>2.13</b>	667	733	0,018

Pela análise dos valores apresentados na **tabela 2.7**, verifica-se que o aumento do número de anéis de piridina nas posições *meso* faz desviar as duas bandas de emissão de fluorescência para valores de c.d.o. menores. Por outro lado, a metilação das piridinas dando origem às porfirinas catiónicas (**2.12** e **2.13**) tem como consequência o desvio das bandas Q(0,0) e Q(0,1) para maiores comprimentos de onda. Comparando os rendimentos quânticos de fluorescência dos diversos macrociclos tetrapirrólicos, nota-se que o aumento do número de *meso*-substituintes *N*-heterocíclicos faz baixar o  $\Phi_F$ , favorecendo a conversão intersistemas  $S_1-T_1$ . Os factores que favorecem a conversão intersistemas encontram-se relacionados, por exemplo, com a rigidez da estrutura química das moléculas e com o acoplamento spin-orbital. Os macrociclos porfirínicos são estruturas muito rígidas e com elevado acoplamento spin-orbital entre o estado singuleto e tripleto, pelo que o aumento do número de piridinas resulta no aumento do acoplamento spin-orbital e na diminuição do rendimento quântico de fluorescência. A maior redução do rendimento quântico de fluorescência é observada aquando a geração de azotos quaternários nas piridinas. Esta diminuição do valor  $\Phi_F$  é resultado da metilação dos nitrogénios das piridinas, pois este passa a tratar-se de um substituinte atractor de electrões, o que diminui a disponibilidade electrónica do macrociclo. A metilação dos átomos de azoto conduz à deterioração do estado singuleto excitado através de processos não radiativos (cruzamento intersistemas e conversão interna).<sup>41</sup>

Os rendimentos quânticos de fluorescência obtidos para os compostos sintetizados apresentam valores relativamente baixos, principalmente para as porfirinas catiónicas, o que se apresenta como uma propriedade favorável para a aplicação em PDT. Para avaliar a potencialidade destes compostos na morte de células através de PDT é importante avaliar a sua eficiência na formação de oxigénio singuleto e, por esta razão, os estudos já se encontram em fase experimental.

## 2.5. Caracterização térmica

No capítulo 1 apresentou-se uma revisão da literatura de algumas das estratégias de modulação estrutural utilizadas para baixar o ponto de fusão de porfirinas. De entre elas, seleccionámos a que se baseava na preparação de porfirinas mistas com cadeias alquílicas e piridina nas posições *meso* por considerarmos que a sua síntese permite a obtenção de maiores quantidades de compostos e conseqüentemente pode abrir perspectivas de aplicação destes em maior escala.

Para todos os compostos sintetizados, cuja síntese foi discutida nas secções anteriores, foram realizados estudos preliminares qualitativos de determinação de intervalos de ponto de fusão num microscópio de capilar *Electrothermal-Melting Point Apparatus* não calibrado. Dos compostos sintetizados a partir da mistura do dodecanal com 4-formil-piridina (**2.1** a **2.5**), verificou-se que o composto que possui quatro cadeias alquílicas nas posições *meso* (**2.1**) apresenta um ponto de fusão de 80-81°C, que está de acordo com o valor descrito na literatura.<sup>8</sup> Por outro lado, quando uma das cadeias alquílicas, das posições *meso* da porfirina, é substituída por um anel de piridina (tipo AB<sub>3</sub> - **2.2**) observa-se um ligeiro aumento do ponto de fusão para 83-85°C, **tabela 2.8**. Os compostos com dois anéis de piridina na estrutura da porfirina dão origem a dois isómeros estruturais do tipo A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>, **2.3** e a **2.4** porque as moléculas de piridina podem encontrar-se em posições *meso* adjacentes e opostas, respectivamente. Tal como seria de esperar, estes dois isómeros estruturais apresentam propriedades físico-químicas distintas, que se reflectem de forma muito significativa no ponto de fusão. A porfirina **2.3** funde a uma temperatura de 73-74 °C enquanto a **2.4** funde a uma temperatura muito superior, 153-155°C (**tabela 2.8**).

Finalmente, o ponto de fusão de **2.5** do tipo A<sub>3</sub>B<sub>1</sub> em que A representa os 3 grupos piridina e o B uma cadeia alquílica, aumenta substancialmente o valor do ponto de fusão para 227-228°C.



**Tabela 2.8-** Pontos de fusão dos compostos sintetizados

Porfirina	P. F. (°C)
<b>2.1</b>	80-81
<b>2.2</b>	83-85
<b>2.3</b>	73-74
<b>2.4</b>	153-155
<b>2.5</b>	227-228
<b>2.6</b>	> 300
<b>2.7</b>	72-74
<b>2.8</b>	75-77
<b>2.9</b>	72-73
<b>2.10</b>	141-143
<b>2.11</b>	249-251

No sentido de procurar evidências para o efeito do tamanho da cadeia alquílica no ponto de fusão deste tipo de moléculas, foi efectuado um estudo similar para a família de porfirinas sintetizadas a partir da mistura de tetradecanal com 4-formil-piridina (**2.6-2.11**) e os resultados encontram-se na **tabela 2.8**. Da análise global dos pontos de fusão apresentados na **tabela 2.8** pode concluir-se que há um variação análoga à observada para as porfirinas com 11 carbonos na(s) cadeia(s) alquílica(s) (**2.1-2.5**). Os pontos de fusão de porfirinas estruturalmente análogas (**2.1** e **2.7**; **2.2** e **2.8**; **2.4** e **2.10**), que diferem entre si apenas pelo número de átomos de carbono da cadeia alquílica, diminuem de uma forma sistemática. Contudo, há que salientar que, este efeito não se observa para as duas porfirinas que apenas contêm uma cadeia alquílica nas posições *meso*, **2.5** e **2.11**, uma vez que, com o aumento do número de carbonos da cadeia conduziu a uma variação do ponto de fusão de 227-228 para 249-251 °C, respectivamente. Tal como descrito na literatura<sup>42</sup> a *meso*-tetra(4-piridil)porfirina (**2.6**), que não contém na sua estrutura nenhuma cadeia alquílica, não funde para temperaturas inferiores a 300°C.

Sendo também nosso objectivo inicial obter porfirinas catiónicas com baixos pontos de fusão, efectuámos um estudo similar para as porfirinas **2.12** e **2.13** que contêm 3 cadeias alquílicas e um grupo metil-piridina catiónico e os resultados apresentam-se na **tabela 2.9**.

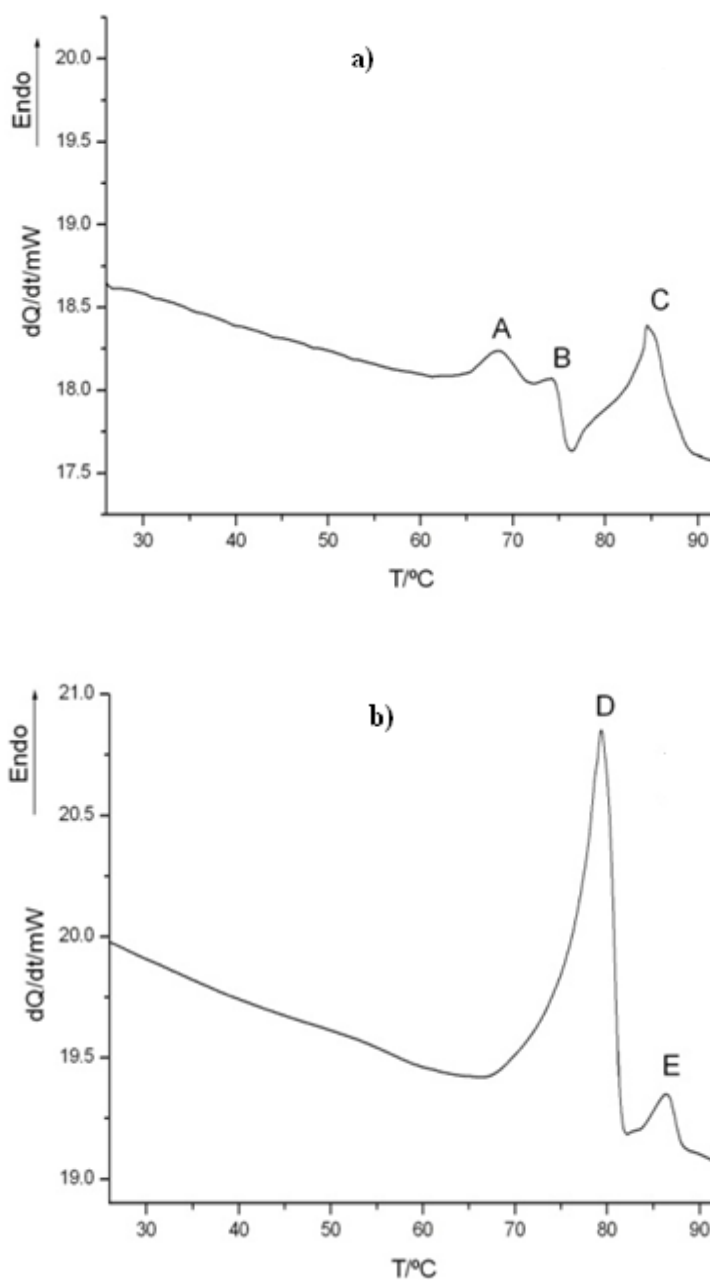
**Tabela 2.9-** Pontos de fusão das porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13**

Porfirina	P.F. (°C)
<b>2.12</b>	156-158
<b>2.13</b>	152-154

Com as duas porfirinas catiónicas observou-se um aumento do ponto de fusão praticamente para o dobro, em relação ao das porfirinas neutras, estruturalmente idênticas, possivelmente devido à existência de forças intermoleculares tipo iónico.

Atendendo às múltiplas aplicações de compostos porfirínicos com baixos pontos de fusão descritos na literatura<sup>8,43-46</sup> e à possível formação de mesofases quando submetidas a energia sob a forma de calor, decidiu-se seleccionar algumas das porfirinas sintetizadas e realizar estudos de caracterização térmica por calorimetria diferencial de varrimento de potência compensada, e termomicroscopia com luz polarizada. A técnica de calorimetria diferencial de varrimento permite obter propriedades termodinâmicas com elevado grau de precisão e a termomicroscopia foi utilizada como técnica complementar para observar visualmente as transformações da amostra na gama de temperatura de interesse.<sup>47</sup>

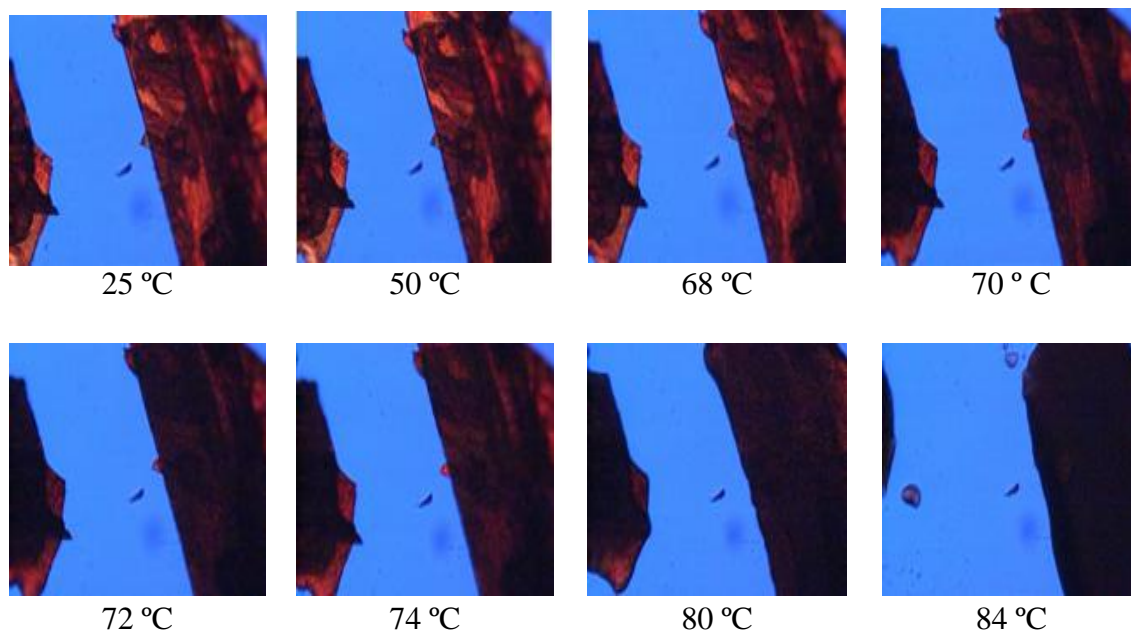
Os compostos seleccionados, por questões de pureza, para caracterização por estas duas técnicas foram as porfirinas **2.2** e **2.8**.



**Figura 2.20-** Curvas de DSC ilustrativas do primeiro aquecimento:  
a) **2.2** ( $\beta=3^\circ\text{C}/\text{min}$ ; cápsula fechada 30  $\mu\text{L}$ ;  $m=2.43$  mg);  
b) **2.8** ( $\beta=3^\circ\text{C}/\text{min}$ ; cápsula fechada 30  $\mu\text{L}$ ;  $m=3.12$  mg).

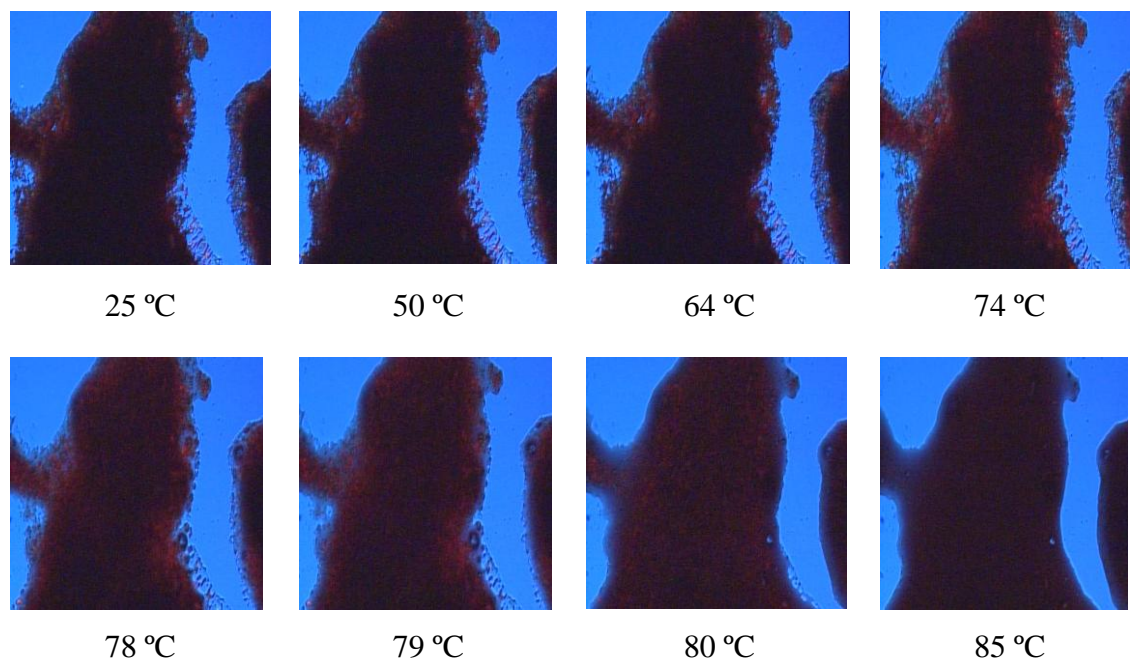
Na **figura 2.20-a**) apresenta-se a curva de DSC ilustrativa do primeiro aquecimento do sólido da porfirina **2.2**, obtido nas condições descritas na secção experimental, realizado com uma velocidade de  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ . O comportamento térmico é complexo, como se esperaria para compostos com esta estrutura molecular,<sup>8,48</sup> registando-se antes da fusão a  $T_{\text{onset}}\sim 65^\circ\text{C}$  (2 ensaios), processos de transição sólido-sólido, confirmados com as observações de termomicroscopia apresentadas na **figura 2.21**. A fusão do

composto regista-se à temperatura  $T_{\text{onset}} \sim 83 \text{ }^\circ\text{C}$  (2 ensaios) em concordância com os valores obtidos por microscopia de capilar apresentados na **tabela 2.8**.



**Figura 2.21-** Imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada no aquecimento da porfirina **2.2**,  $\beta=3^\circ\text{C}/\text{min}$ , ampliação 200x.

Os resultados de DSC apresentados na **figura 2.20-b)** para o sólido **2.8**, obtido nas condições descritas na secção experimental, e realizado também a uma velocidade de  $3^\circ\text{C}/\text{min}$ , apontam para que a passagem para líquido isotrópico ocorra em etapas sucessivas, com uma primeira transição de energia elevada ( $\Delta H=51.7\pm 1.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) à temperatura de  $77.2\pm 1.3 \text{ }^\circ\text{C}$  (média de 3 ensaios), seguida de uma transição de baixa energia ( $\Delta H=3.1\pm 1.7 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) a  $T= 83.2\pm 0.6 \text{ }^\circ\text{C}$  (média de 3 ensaios). O As imagens de termomicroscopia, **figura 2.22**, típicas de um material policristalino, confirmam que a fusão só ocorre no segundo processo.



**Figura 2.22-** Imagens obtidas por termomicroscopia com luz polarizada no aquecimento da porfirina **2.8**,  $\beta=3^{\circ}\text{C}$ , ampliação 200x.

Destes estudos preliminares é possível concluir que o comportamento térmico de porfirinas mistas tipo  $\text{AB}_3$  onde A é uma molécula de piridina e  $\text{B}_3$  são cadeias alquílicas é dependente com o número de átomos de carbono da cadeia alquílica.

Para avaliar o efeito da carga nas propriedades térmicas destes sistemas estão a decorrer no laboratório estudos similares envolvendo as porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13**.

## 2.6. Referências

- <sup>1</sup> J. Habdas, B. Boduszek, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 180 (2005) 2039.
- <sup>2</sup> E. Biron, N. Voyer, *Chem. Commun.* (2005) 4652.
- <sup>3</sup> P. Zhao, L. C. Xu, J. W. Huang, K. C. Zheng, B. Fu, H. C. Yu, L. N. Ji, *Biophys. Chem.*, 135 (2008) 102.
- <sup>4</sup> M. O. Senge, Y. M. Shaker, M. Pintea, C. Ryppa, S.S. Hatscher, A. Ryan, Y. Sergeeva, *Eur. J. Org. Chem.*, (2010) 237.
- <sup>5</sup> M. O. Senge, *Chem. Commun.*, 47 (2011) 1943.
- <sup>6</sup> G. Jori, C. Fabris, M. Soncin, S. Ferro, O. Coppellotti, D. Dei, L. Fantetti, G. Chiti, G. Roncucci, *Laser Surg. Med.*, 38 (2006) 468.
- <sup>7</sup> A. M. D. R. Gonsalves, M. M. Pereira, *J. Heterocycl. Chem.*, 22 (1985) 931.
- <sup>8</sup> H. D. Burrows, A. M. Rocha Gonsalves, M. L. P. Leitão, M. da G. Miguel, M. M. Pereira, *Supramol. Sci.*, 4 (1997) 241
- <sup>9</sup> M. Haeubl, S. Schuerz, B. Svejda, L. M. Reith, B. Gruber, R. Pfragner, W. Schoefberger, *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (2010) 760.
- <sup>10</sup> V. Seng, X. Wang, R. Ali, W. Fang, F.C.-Pierre, S. Bhagan, A. G. Hyslop, *J. Heterocycl. Chem.*, 43, (2006) 1077.
- <sup>11</sup> Y. Ishikawa, A. Yamashita, T. Uno, *Chem. Pharm. Bull.*, 49 (2001) 287.
- <sup>12</sup> L. G. Biagi, M. Recanatini, A. M. Barbaro, P. A. Borea, *Process Control Quality*, 10 (1997) 129.
- <sup>13</sup> S. Baláz, *Persp. Drug. Disc. Design*, 19 (2000) 157
- <sup>14</sup> F. Péhourcq, J. Thomas, C. Jarry, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 23 (2000) 443.
- <sup>15</sup> R. Collander, *Acta Chem. Scand.*, 5 (1951) 774
- <sup>16</sup> C. Hansch, T. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 86 (1964) 1616.
- <sup>17</sup> B. Cunderlíková, L. Gangeskar, J. Moan, *J. Photochem. Photobiol., B*, 53 (1999) 81.
- <sup>18</sup> B. Cunderlíková, O. Kaalhaus, R. Cunderlík, A. Mateásik, J. Moan, M. Kongshaug, *Photochem. Photobiol.*, 79 (2004) 242.
- <sup>19</sup> D. Kessel, K.M. Smith, R.K. Pandey, *Photochem. Photobiol.*, 58 (1993) 209.
- <sup>20</sup> C. J. P. Monteiro, M. M. Pereira, S. M. A. Pinto, A. V.C. Simões, G. F. F. Sá, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, S. Simões, M. F. Wyatt, *Tetrahedron*, 64 (2008) 5132.

- 
- <sup>21</sup> S. L. Murov, I. Carmichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*, Nova Iorque, **1993**.
- <sup>22</sup> A. K. Chose, V. N. Viwanadhem, J. J. Wendoloski, *J. Comb. Chem.*, 1 (**1999**) 55.
- <sup>23</sup> H. C. L.-Higgins, C. W. Rector, J. R. Platt, *J. Chem. Phys.*, 18 (**1950**), 1174.
- <sup>24</sup> P. R. Platt, *J. Chem. Phys.*, **1950**, 18, 1168.
- <sup>25</sup> M. Stillman, J. Mack, N. Kobayashi, *J. Porphyrins Phtalocyanines*, 6 (**2002**) 296.
- <sup>26</sup> A. Gosh, *J. Porphyrins Phtalocyanines*, 4 (**2000**) 380.
- <sup>27</sup> M. Gouterman, *J. Mol. Spectrosc.*, 6 (**1961**) 138.
- <sup>28</sup> M. Gouterman, *J. Chem. Phys.*, 30 (**1959**) 1139.
- <sup>29</sup> M. Gouterman, in *Optical Spectra and Electronic Structure of Porphyrins and Related Rings*, D. Dolphin (Ed.): *The Porphyrins*, Vol. 3, Academic Press, Nova Iorque, **1978**.
- <sup>30</sup> A. Stern, H. Wenderlein, *Z. Phys. Chem.*, 176A (**1936**) 81.
- <sup>31</sup> H.C. L.-Higgins, C.W. Rector, J.R. Platt, *J. Chem. Phys.*, 18 (**1950**) 1174.
- <sup>32</sup> R. F. Pasternack, P. R. Huber, P. Boyd, G. Engasser, L. Francesconi, E. Gibbs, P. Fasella, G. C. Venturo, L. C. Hinds, *J. Am. Chem. Soc.*, 9 (**1972**) 4511.
- <sup>33</sup> X. He, G. Xia, Y. Zhou, M. Zhang, T. Shen, *Spectrochim. Acta, Part A*, 55 (**1999**) 873.
- <sup>34</sup> N. J. Turro, *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, Sausalito, **1991**.
- <sup>35</sup> R. Socoteanu, R. Boscencu, V. Nacea, A. S. Oliveira, L. F. Ferreira, *Rev. Chim.*, 59 (**2008**) 969.
- <sup>36</sup> A. T. J Klein, F. Rösch, H. H. Coenen, S. M. Qaim, *Appl. Radiat. Isto.*, 62 (**2005**) 711.
- <sup>37</sup> E.G. Azenha, A.C. Serra, M. Pineiro, M.M. Pereira, J.S. de Melo, L.G. Arnaut, S.J. Formosinho, A.M.A.R Gonsalves, *Chem. Phys.*, 28 (**2002**) 177.
- <sup>38</sup> H. D. Burrows, M. M. Pereira, *Química: Síntese e Estrutura- Uma abordagem prática*, Escolar Editora, **2006**.
- <sup>39</sup> T. Gensch, C. Viappiani, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2 (**2003**) 699.
- <sup>40</sup> M. Kasha, H.R. Rawis, M.A. El-Bayoumi, *Pure Appl. Chem.*, 11 (**1965**) 375.
- <sup>41</sup> E. M. Kosower, J. A. Skorcz, *J. Am. Chem. Soc.*, 82 (**1960**) 2195.
- <sup>42</sup> J. A. Anton, P. A. Loach, *J. Heterocycl. Chem.*, 12 (**1975**) 573.

- 
- <sup>43</sup> A. Nowak-Król , D. Gryko, D. T. Gryko, *Chem. Asian J.*, 5 (2010) 904.
- <sup>44</sup> C.-Y. Liu, H.-I. Pan, M. A. Fox, A. J. Bard, *Chem. Mater.*, 9 (1997) 1422.
- <sup>45</sup> V. Paganuzzi, P. Guatteri, P. Riccardi, T. Sacchelli, J. Barberá, M. Costa, E. Dalcanale, *Eur. J. Org. Chem.*, (1999) 1527.
- <sup>46</sup> G. C. Shearman, G. Yahioğlu, J. Kirstein, L. R. Milgrom, J. M. Seddon, *J. Mater. Chem.*, 19 (2009) 598.
- <sup>47</sup> E. Lu, N.-Hornedo, R. Suryanarayanan, *Cryst. Eng. Comm.*, 10 (2008) 665.
- <sup>48</sup> J. Li, T. Tang, F. Li, M. Li, *Dyes Pigm.*, 77 (2008) 395.



## Capítulo 3

### 3. Conclusão

Existem na literatura diversas estratégias para sintetizar porfirinas com baixos pontos de fusão e/ou catiónicas. As condições de reacção estabelecidas envolviam, em geral, a síntese de porfirinas mistas contendo nas posições *meso* grupos arilo substituídos com longas cadeias alquílicas combinados com grupos heteroaromáticos (piridina ou imidazol) que podiam ser posteriormente cationizadas.

Contudo, deve salientar-se que no início dos estudos que conduziram à escrita do trabalho apresentado nesta dissertação, não era do nosso conhecimento a existência de porfirinas mistas do tipo  $A_nB_x$  ( $n=1-3$ ;  $x=1-3$ ) que combinassem na mesma molécula um ou mais resíduos de piridina com grupos alquilo de cadeias variáveis, directamente ligados às posições *meso* das porfirinas.

O plano de trabalho que deu origem a esta dissertação centrou-se pois na optimização das condições de reacção e de purificação de porfirinas mistas e a sua derivatização às respectivas porfirinas catiónicas. Assim, os estudos iniciaram-se com a avaliação do efeito das diferentes proporções dos dois aldeídos no rendimento da síntese das porfirinas mistas *meso*-substituídas, recorrendo ao método do nitrobenzeno, utilizando a mistura reaccional de alquilaldeído (dodecanal ou tetradecanal) e 4-formil-piridina nas proporções de 3:1 e 4:1 e quantidades equimolares (4 equivalentes) de pirrol. O método do nitrobenzeno, que utiliza ácido acético-nitrobenzeno (3:1) como solvente e oxidante respectivamente, permitiu obter os compostos pretendidos, **2.1-2.11**, com rendimentos moderados, mas aceitáveis para este tipo de síntese (< 6%).

Deve salientar-se também o efeito benéfico, no rendimento global da reacção, resultante da variação da razão de alquilaldeído/4-formil-piridina de 3:1 para 4:1. Após isolamento e caracterização pode concluir-se que nestas condições de reacção se observou essencialmente uma melhoria nos rendimentos das porfirinas *meso*-substituídas que possuem como substituintes duas ou três cadeias alquílicas.

As porfirinas que continham na sua estrutura um resíduo de piridina e três cadeias alquílicas como substituintes das posições *meso* (**2.2** e **2.8**) foram seleccionadas como

modelos para otimizar as reacções de metilação utilizando o iodometano simultaneamente como reagente e solvente do processo. A porfirina catiónica **2.12**, cuja cadeia alquílica contém 11 átomos de carbono, foi obtida com um rendimento de 95 % enquanto que a porfirina catiónica **2.13**, cuja cadeia alquílica contém de 13 átomos de carbono, foi obtida com um rendimento de 98%.

Todas as porfirinas neutras e catiónicas foram caracterizadas por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e espectrometria de massa. Foram também efectuados estudos que permitiram determinar os coeficientes de partição octanol/água das porfirinas neutras **2.2-2.5** e **2.8-2.11** e cujos valores se encontram compreendidos entre 0.83 e 2.15. Estes valores permitem-nos concluir que o aumento do número de moléculas de piridina nas posições *meso* das porfirinas provoca um aumento da hidrofiliidade dos compostos e conseqüentemente uma diminuição do valor de log CP. Observou-se também que um aumento de dois carbonos na cadeia alquílica para porfirinas estruturalmente semelhantes conduziu a um aumento da sua hidrofobicidade.

Após metilação dos substituintes piridina das porfirinas neutras **2.2** e **2.8**, gerando porfirinas com azotos quaternários **2.12** e **2.13**, respectivamente, verificou-se apenas um aumento significativo no valor do coeficiente de partição octanol/água da porfirina **2.13**, que possui três substituintes alquílicos de 13 átomos de carbono nas posições *meso*. As diferenças observadas nos valores dos coeficientes de partição octanol/água para estes dois compostos catiónicos, que apenas diferem em dois átomos de carbono nas cadeias alquílicas das posições *meso*, estão em concordância com as grandes diferenças já observadas em estudos preliminares *in vitro* de actividade antibacteriana após irradiação com luz visível, onde o composto **2.12** revelou actividade e o **2.13** foi praticamente inactivo.

Relativamente às propriedades fotofísicas das porfirinas mistas sintetizadas pode concluir-se que o aumento do número de anéis de piridina das posições *meso* da porfirina provoca um diminuição tanto no coeficiente de absorvidade molar das respectivas bandas do espectro de absorção UV-visível, como no valor do rendimento quântico de fluorescência, com valores, deste último, compreendidos entre 0.12 e 0.073. Salienta-se ainda que os rendimento quânticos de fluorescência das porfirinas catiónicas **2.12** e **2.13** (0.012 e 0.018, respectivamente) estudadas foram da mesma ordem de grandeza dos obtidos para as correspondentes porfirinas neutras e que para a variação

do número de átomos de carbono das cadeias alquílicas (11 e 13 átomos de carbono) não conduziu a alterações significativas.

Uma vez que também era objectivo deste trabalho obter porfirinas com baixo ponto de fusão realizaram-se estudos térmicos para avaliar as características destes compostos. Os estudos térmicos das moléculas sintetizadas mostraram que as porfirinas neutras cujos substituintes nas posições *meso* são só cadeias alquílicas (2.1 e 2.7) ou três cadeias alquílicas e uma piridina (2.2 e 2.8) ou ainda duas cadeias alquílicas e duas piridinas em posições opostas (2.3 e 2.9) apresentavam pontos de fusão, não corrigidos, abaixo dos 100°C.

Comparando os valores dos pontos de fusão das porfirinas cujas cadeias alquílicas contêm 13 átomos de carbono (2.7-2.11) com os valores das moléculas análogas cujos substituintes alquílicos possuem apenas 11 átomos de carbono (2.1-2.5), podemos concluir que tanto nas porfiina neutras como nas catiónicas, um pequeno aumento do tamanho da cadeia alquílica (2 átomos de carbono) provoca uma diminuição da temperatura de fusão para compostos estruturalmente semelhantes.

De entre as porfirinas neutras sintetizadas, seleccionaram-se as que continham somente um anel piridínico (2.2 e 2.8), e estas foram estudadas por DSC de potência compensada e termomicroscopia. Estes estudos permitiram constatar que a temperatura de fusão obtida é similar à obtida por microscopia de capilar e que antes de ser atingida a temperatura de fusão ocorrem outras transições sólido-sólido.

Em conclusão, os estudos efectuados no decorrer do trabalho que conduziu à escrita desta dissertação, permitiram otimizar um método de síntese e purificação de porfirinas mistas neutras e catiónicas com pontos de fusão e coeficientes de partição octanol/água facilmente modeláveis por alteração do tamanho das cadeias alquílicas das posições *meso* ou, em trabalhos futuros, por variação do grupo alquilo ligado à piridina e/ou alteração do contra-íão das porfirinas catiónicas. Salienta-se ainda que as propriedades químicas e fotofísicas apresentadas pelos compostos sintetizados são um bom ponto de partida para o *design* de um sensibilizador com propriedades optimizadas para estudos complementares de aplicação em PDT na destruição de bactérias.

# CAPÍTULO 4

## 4. Experimental

### 4.1. Solventes e reagentes

Os reagentes foram adquiridos à *Sigma-Aldrich* e utilizados com a pureza descrita pelo fornecedor, enquanto os solventes foram fornecidos pelo *José M. G. da Silva*. Todos os solventes usados no decorrer deste trabalho foram purificados segundo descrito na literatura.<sup>1</sup>

### 4.2. Instrumentação e metodologia

#### I- Cromatografia de camada fina

O controlo das reacções, quando necessário, foi feito por cromatografia de camada fina (TLC) usando placas de sílica 60 (*Merck*), com indicador de fluorescência UV<sub>254</sub>. O eluente usado varia com a reacção em causa.

#### II- Cromatografia em placa

As fracções recolhidas da pré-coluna foram purificadas por cromatografia em gel de sílica G (*MN-Kieselgel G*) deposta em placas de vidro (20 cm x 20 cm), contendo indicador de fluorescência UV<sub>254</sub>. O eluente usado depende do composto em estudo e encontra-se descrito pormenorizado nas secções seguintes.

#### III- Cromatografia em coluna

Algumas das porfirinas sintetizadas foram purificadas por cromatografia de adsorção em coluna, usando gel de sílica 60 (*Merck*) como fase estacionária e o eluente apropriado, tal como apresentado posteriormente.

#### **IV- Ultra-sons**

Com o objectivo de facilitar a dissolução dos compostos estudados usou-se como sistema de ultra-sons um aparelho *Bandelin Sonorex TK52*.

#### **V- Centrifuga**

Na determinação dos coeficientes de partição para a separação das duas fases recorreu-se à *IEC Centra-3C centrifuge*.

#### **VI- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear**

Os espectros de ressonância magnética nuclear próton (RMN  $^1\text{H}$ ) e de RMN bidimensional homonuclear COSY foram obtidos num espectrómetro *Bruker Avance 400* MHz do Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade de Coimbra, usando o tetrametilsilano como padrão interno ( $\delta=0.00$  ppm). O solvente utilizado para os compostos estudados por esta técnica foi o clorofórmio deuterado.

#### **VII- Espectroscopia de massa**

Os espectros de massa ESI-TOF foram realizados na Unidade de Espectrometria de Massa da Universidade de Santiago de Compostela num espectrómetro *Brucker Microtof*.

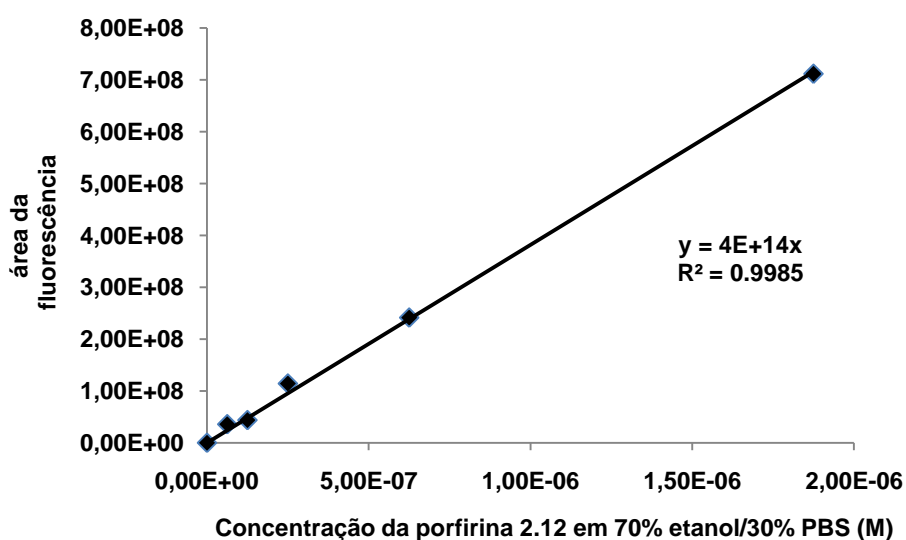
#### **VIII- Coeficientes de partição**

##### *i) Rectas de calibração*

Os coeficientes de partição foram determinados segundo pequenas alterações ao método previamente descrito por Pandey.<sup>2</sup>

A partir de uma solução-mãe da porfirina em estudo, utilizando como solvente etanol, realizaram-se 6 diluições para concentrações compreendidas entre  $10^{-8}$  e  $10^{-6}$  M, respeitando a percentagem final de solvente de 70% etanol/30% de solução tampão

fosfato, pH=7.4 (PBS, do inglês Posphate Buffer Saline). Também foram realizadas 6 diluições na mesma gama de concentrações mas, neste caso, perfazendo o solvente até no final obter 70% de etanol/30% de 1-octanol. Os espectros de fluorescência de cada amostra foram registados no *SPEX Fluoromax 3.22* com uma célula de quartzo de quatro faces e com 1 cm de percurso óptico. Em seguida traçaram-se as rectas de calibração da fluorescência em função da concentração. Os coeficientes de partição serão determinados a partir de rectas de calibração como a apresentada em abaixo para porfirina **2.12** e utilizada na determinação da quantidade desta em PBS.



ii) *Coefficiente de partição*

O composto ( $5 \times 10^{-2}$   $\mu\text{mol}$ ) é solubilizado em 5 mL de octanol num tubo de centrifuga e após 2 minutos de agitação vigorosa adiciona-se 5 mL de PBS. Agita-se a mistura bifásica vigorosamente durante 3 minutos, seguido da introdução num banho de ultra-sons (2 minutos). As fases são em seguida separadas por centrifugação (3000 rpm; 2 min). Retiram-se duas aliquotas de 1.5 mL de cada uma das fases e transferem-se para balões de diluição de 10 mL (fase octanol) e de 50 mL (fase PBS). Os balões foram aferidos, respeitando as percentagens de 70% etanol/30% de PBS ou 70% etanol/30% octanol. A concentração de composto em cada fase é medida através de espectroscopia de fluorescência (*SPEX Fluoromax 3.22*; células de quartzo de quatro faces com 1cm de percurso óptico). Através da fluorescência obtida e das rectas de calibração sabe-se a

concentração de composto em cada fase, calculando-se os coeficientes de partição a partir da seguinte expressão:

$$P = \frac{C_o}{C_w}$$

Onde  $C_o$  e  $C_w$  representam a concentração absoluta de composto nas fases orgânica (octanol) e aquosa (PBS), respectivamente. Todas as experiências foram efectuadas à temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ).

### **IX- Espectroscopia de absorção UV-Visível**

Os espectros de absorção UV-visível foram obtidos no espectrofotómetro *Hitachi U-2010* com células de quartzo de duas faces com 1 cm de percurso óptico e utilizando sempre como referência o solvente utilizado. Os coeficientes de absorção molar foram determinados após a preparação de soluções entre  $10^{-5}$  e  $10^{-7}$  M nos solventes apresentados no capítulo 2. Representou-se graficamente a absorção para o máximo da banda considerada em função da concentração das diferentes soluções, obtendo-se uma recta cujo valor do declive corresponde ao valor do coeficiente de absorvidade molar. Esta analogia é transmitida pela lei de Beer-Lambert,  $A = \epsilon bc$ , onde  $A$  é a absorvância,  $\epsilon$  é o coeficiente de absorvidade molar,  $b$  é o caminho óptico percorrido pela luz e  $c$  é a concentração da solução.

### **X- Espectroscopia de fluorescência**

. Os espectros de emissão de fluorescência foram realizados à temperatura ambiente utilizando um espectrofluorímetro *SPEX Fluoromax 3.22* equipado com uma lâmpada de Xenon de 450 W e um sistema de detecção de contagem monofotónica, usando células com um percurso óptico de 1 cm.

O cálculo do rendimento quântico de fluorescência foi efectuado segundo um método publicado na literatura.<sup>3</sup> A referência utilizada foi a TPP em tolueno, sendo o seu rendimento quântico de fluorescência de 0.11.<sup>4</sup> Foram preparadas soluções de TPP e das porfirinas cujo rendimento se quer determinar em tolueno de forma a apresentarem no espectro de absorção UV-visível uma absorvância de 0.2 a 419 nm (c.d.o. de excitação). Estas soluções foram diluídas num factor de 1/10, de modo a obter uma

absorvância de 0.02 no mesmo c.d.o.. Na determinação do rendimento quântico de fluorescência foram utilizadas células de quartzo de quatro faces de 1 cm de percurso óptico. As soluções foram desarejadas durante 20 minutos com N<sub>2</sub>, registrando-se de seguida os espectros de emissão de fluorescência. Comparou-se a integração da área do espectro de emissão da referência (TPP), com a área do espectro de emissão de cada porfirina sintetizada. Este cálculo foi obtido através da seguinte equação:<sup>5</sup>

$$\frac{\Phi F(\text{composto})}{\Phi F(\text{TPP})} = \frac{\text{área}(\text{composto})}{\text{área}(\text{TPP})} \times \frac{\text{Abs}(\text{TPP})}{\text{Abs}(\text{composto})} \times \frac{\eta^2(\text{composto})}{\eta^2(\text{TPP})}$$

onde  $\eta$  é o índice de refração do solvente no qual se encontra dissolvido o composto e a referência, Abs é absorvância medida no c.d.o. de excitação e a área corresponde à integração das bandas de emissão no espectro obtido.

Os quocientes referentes ao índice de refração e à absorvância tomam um valor unitário para todos os compostos estudados, uma vez que ambas as absorvâncias foram acertadas para o mesmo valor e os solventes usados foram os mesmos.

## XI- Pontos de fusão e DSC de potência compensada

Os pontos de fusão, não corrigidos, foram determinados num microscópio de capilar *Electrothermal-Melting Point Apparatus*. Já os estudos de DSC de potência compensada foram realizados utilizando um calorímetro do Departamento de Química, *Perkin-Elmer Pyris 1*, equipado com banho de refrigeração ajustado a -10 °C. Como gás de purga foi utilizado azoto, N50, com fluxo 20 mL/min. Para a realização dos estudos de DSC prepararam-se amostras em cápsulas de alumínio de 30  $\mu$ l hermeticamente fechadas, utilizando-se sempre como célula de referência uma cápsula vazia idêntica à usada para as amostras.

A calibração da temperatura e aparelho foi realizada utilizando como padrões o bifenilo (CRMLGC 2610),  $T_{\text{fus}} = 68.93$  °C e índio fornecido pela Perkin-Elmer, com pureza certificada 99.99%,  $T_{\text{fus}} = 156.6$  °C.<sup>6,7</sup> O índio foi também utilizado como padrão para calibração de entalpia,  $\Delta_{\text{fus}}H = (3286 \pm 13)$  J.mol<sup>-1</sup>.<sup>7</sup>



## XII- Termomicroscopia

Os estudos de Termomicroscopia foram realizados num equipamento constituído por uma placa de aquecimento *DSC600* da *Linkam systems*, um bloco central constituído por uma unidade *CI94* cuja função é controlar a temperatura nas etapas de aquecimento, uma unidade *LNP94/2* que controla a refrigeração através de uma corrente de azoto líquido que se encontra num *Dewar* ou corrente de ar, unidade *VTO232* de interface gráfica e um computador que controla todo o sistema. A célula é aquecida com um microforno sendo a temperatura controlada por sensores de Pt100.

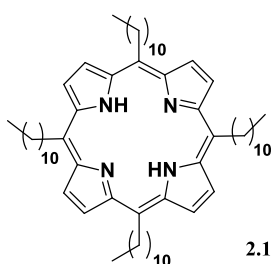
Para observação óptica, foi utilizado um microscópio *Leica DMRB*, uma câmara de vídeo Sony CCD-IRIS/RB modelo DXC-151 AP, um monitor Sony HR *Trinitron* modelo PVM-2053MD um DVDR 520H/00. A imagem foi analisada posteriormente, utilizando-se o *software* da *Linkam systems* com RTVMS. As amostras foram preparadas através de dispersão e colocadas numa célula, sendo esta coberta por uma tampa. A dispersão é realizada com o objectivo de poder estudar o comportamento de partículas isoladas, o que poderá ser útil no caso da amostra ter um comportamento heterogéneo. As imagens foram obtidas por utilização combinada de luz polarizada e de compensadores de onda.

### 4.3. Síntese de porfirinas mistas *meso*-substituídas

**Método geral A:** Na síntese das porfirinas utilizou-se o método do nitrobenzeno, com pequenas alterações.<sup>8</sup> Num balão de 500 mL colocou-se 105 mL ácido acético glacial, 53 mL de nitrobenzeno, 0.7 mL o 4-formil-piridina (7.35 mmol) e 22 mmol do aldeído linear pretendido. Aqueceu-se a mistura até 130°C e adicionou-se, lentamente, 29.4 mmol (2mL) de pirrol. A temperatura foi mantida durante três horas e após arrefecimento até temperatura ambiente, evaporou-se todo o solvente a pressão reduzida. O precipitado foi então redissolvido em diclorometano, realizando-se uma cromatografia em coluna de gel de sílica. Utilizou-se um gradiente de éter petróleo/diclorometano (2:1) até acetato de etilo/metanol (9:1). Durante o aumento gradual da polaridade do eluente recolheram-se 6 fracções semelhantes. Cada uma destas fracções foi posteriormente purificada por cromatografia de adsorção com placas preparativas recobertas de gel de sílica.

i) *Derivadas do Dodecanal*

Quando aldeído linear utilizado foi o dodecanal, a fracção mais apolar foi purificada por cromatografia em placas preparativas (diclorometano/*n*-hexano 2:1). O composto foi dissolvido em diclorometano, filtrado e após evaporação a pressão reduzida obteve-se:

**5,10,15,20-tetra(undecil)porfirina (2.1):**

**Rendimentos:** 0.46 % (30.4 mg)

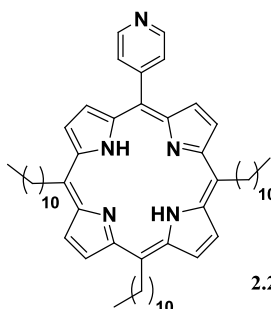
**Ponto de fusão:** 80-81°C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ,ppm: 9.44 (s, 8H, H<sub>d</sub>); 4.90 (t, *J*=8.0 Hz, 8H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>); 2.55-2.45 (m, 8H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>); 1.86-1.76 (m, 8H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>); 1.56-1.45 (m, 8H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>); 1.38-1.22 (m, 48H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>); 0.87 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H, CH<sub>3</sub>); -2.65 (s, 2H, NH). Os dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H e o ponto de fusão estão de acordo com os descritos na literatura.<sup>9</sup>

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 927.8115 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>58</sub>H<sub>84</sub>N<sub>5</sub> 927.8177

**UV-Visível** (ciclo-hexano), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 416 (2.1x10<sup>5</sup>); 520 (8.6x10<sup>3</sup>); 552 (6.7x10<sup>3</sup>); 602 (2.3x10<sup>3</sup>); 662 (3.6x10<sup>3</sup>)

A segunda fracção a ser recolhida foi purificada por cromatografia em placa preparativa, utilizando-se como eluente diclorometano. O composto foi dissolvido em diclorometano e filtrado, obtendo-se após evaporação a pressão reduzida:

**5-(4-piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina (2.2):**

**Rendimentos:** 1.18 % (71.9 mg)

**Ponto de fusão:** 83-86 °C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ,ppm: 9.51 (dd, *J* = 13.8, 4.7 Hz, 4H, H<sub>d</sub>), 9.40 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 8.93 (s, 2H, H<sub>o</sub>), 8.72 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.09 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, H<sub>m</sub>), 4.98 (t, *J*=8.0

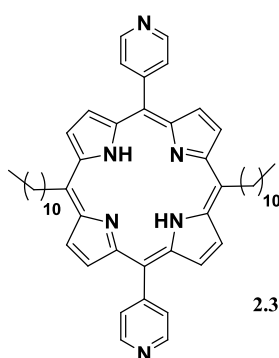
Hz, 6H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.60-2.45 (m, 6H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.88-1.74 (m, 6H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.60-1.47 (m, 6H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.40 – 1.18 (m, 36H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.88 (t, J=8Hz, 9H, CH<sub>3</sub>), -2.69 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z = 850.6721$  (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>58</sub>H<sub>84</sub>N<sub>5</sub> 850.6721

**UV-Visível** (ciclo-hexano),  $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$  ( $\epsilon/\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 416 ( $2.1 \times 10^5$ ); 517 ( $9.1 \times 10^3$ ); 550 ( $5.7 \times 10^3$ ); 597 ( $2.5 \times 10^3$ ); 657 ( $2.8 \times 10^3$ )

A terceira fracção mais apolar foi purificada por cromatografia em placa preparativa utilizando-se como eluente diclorometano:acetato de etilo (5:1). A mistura de sílica e composto obtido foi dissolvido em acetato de etilo, filtrado e após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se:

**5,15-di(4-piridil)-10,20-di(undecil)porfirina (2.3):**



**Rendimentos:** <0.01 % (0.1 mg)

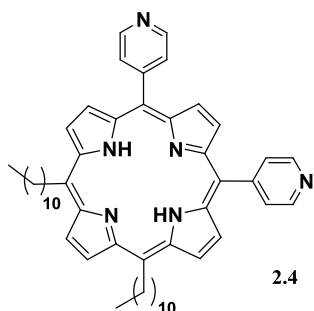
**Ponto de fusão:** 73-74°C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , ppm: 9.47 (d,  $J = 4.9$  Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 9.05 (d,  $J = 5.8$  Hz, 2H, H<sub>o</sub>), 8.80 (d,  $J = 4.9$  Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.18 (dd,  $J = 4.3, 1.6$  Hz, 2H, H<sub>m</sub>), 4.95 (t,  $J=8.0$  Hz, 4H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.55 – 2.46 (m, 4H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.82 – 1.73 (m, 4H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.54 – 1.46 (m, 4H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.39 – 1.18 (m, 24H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.88 (t,  $J=8.0$  Hz, 6H, CH<sub>3</sub>), -2,75 (s, 2H, NH)

**MS (ESI-TOF):** 773.5232 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>52</sub>H<sub>65</sub>N<sub>6</sub> 773.5265.

**UV-Visível** (ciclo-hexano),  $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$  ( $\epsilon/\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 415 ( $2.0 \times 10^5$ ); 514 ( $1.0 \times 10^4$ ); 547 ( $5.2 \times 10^3$ ); 594 ( $2.7 \times 10^3$ ); 653 ( $2.9 \times 10^3$ )

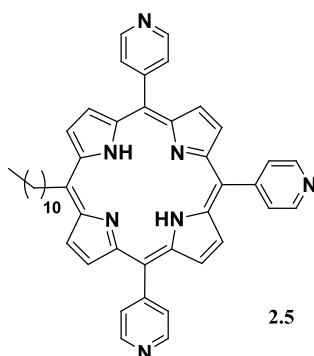
A quarta fracção mais apolar foi purificada por cromatografia em placa preparativa usando como eluente acetato de etilo. Após a eluição, o composto foi dissolvido em acetato de etilo e filtrado, seguindo-se a evaporação do solvente a pressão reduzida e obtendo-se assim:

**5,10-di(4-piridil)-15,20-di(undecil)porfirina (2.4):****Rendimentos:** 0.54 % (29.4 mg)**Ponto de fusão:** 153-156 °C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz),  $\delta$ , ppm: 9.60 (s, 2H, H<sub>d</sub>), 9.50 (d,  $J = 4.7$  Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 8.98 (s, 4H, H<sub>o</sub>), 8.80 (d,  $J = 4.4$  Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.71 (s, 2H, H<sub>a</sub>), 8.12 (d,  $J = 5.2$  Hz, 4H, H<sub>m</sub>), 5.02 (t,  $J = 8$  Hz, 4H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.62 – 2.52 (m, 4H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.85 – 1.80 (m, 4H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.60 – 1.48 (m, 4H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.40 – 1.18 (m, 24H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.85 (t,  $J = 8$  Hz, 6H, CH<sub>3</sub>), -2.74 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z = 773.5291$  (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>52</sub>H<sub>65</sub>N<sub>6</sub> 773.5265.**UV-Visível** (ciclo-hexano),  $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$  ( $\epsilon/\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 415 ( $1.7 \times 10^5$ ); 515 ( $8.6 \times 10^3$ ); 548 ( $4.7 \times 10^3$ ); 595 ( $2.7 \times 10^3$ ); 652 ( $2.2 \times 10^3$ )

A segunda fracção mais polar foi purificada em placa preparativa por acetato de etilo:metanol (18:1). O composto foi recolhido e dissolvido em acetato de etilo, filtrando-se a sílica existente na solução. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se:

**5,10,15-tri(4-piridil)-20-(undecil)porfirina (2.5):****Rendimentos:** 1.14 % (56.6 mg)**Ponto de fusão:** 153-156 °C (não corrigido)

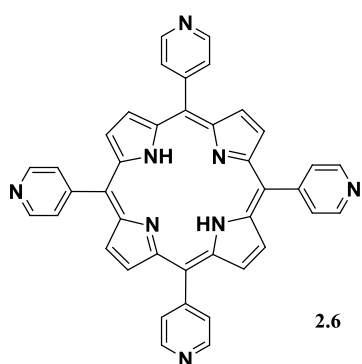
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , ppm: 9.56 (d,  $J = 4.7$  Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 9.01 (s, 6H, H<sub>o</sub>), 8.88 (d,  $J = 4.6$  Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.79 (s, 4H, H<sub>a</sub>), 8.13 (dd,  $J = 10.7, 5.1$  Hz, 4H, H<sub>m</sub>), 5.04 (t,  $J = 8$  Hz, 2H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.60-2.55 (m, 2H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.91-1.77 (m, 2H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.57-1.47 (m, 2H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.49 – 1.19 (m, 12H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.87 (t,  $J = 8$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), -2.83 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):**  $m/z = 696.3806$  (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>46</sub>H<sub>46</sub>N<sub>7</sub> 696.3809

**UV-Visível** (ciclo-hexano),  $\lambda_{\text{máx}}/\text{nm}$  ( $\epsilon/\text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 414 ( $1.1 \times 10^5$ ); 512 ( $5.9 \times 10^3$ ); 544 ( $2.5 \times 10^3$ ); 590 ( $1.8 \times 10^3$ ); 648 ( $1.0 \times 10^3$ )

A fracção mais polar foi purificada por cromatografia em placa preparativa utilizando-se como eluente acetato de etilo/metanol (9:1). O composto **2.6** foi obtido após dissolução em acetato de etilo, filtração e evaporação do solvente a pressão reduzida.

**5,10,15,20-tetra(4-piridil)porfirina (2.6):**



**Rendimentos:** 0.18% (8.1 mg)

**Ponto de fusão:** superior a 300°C (não corrigido)

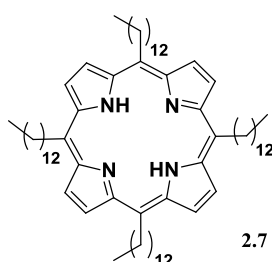
**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , ppm: 9.07 (d,  $J = 3.8$  Hz, 8H,  $\text{H}_o$ ), 8.87 (s, 8H,  $\text{H}_a$ ), 8.17 (d,  $J = 4.8$  Hz, 8H,  $\text{H}_m$ ), -2.92 (s, 2H, NH).

Estes dados estão de acordo com os da literatura.<sup>10</sup>

ii) *Derivadas do tetradecanal*

Quando a reacção de condensação de pirrol com a o 4-formil-piridina e utilizando como alquilaldeído o tetradecanal, após coluna cromatográfica, obtiveram-se 6 fracções que também foram purificadas por cromatografia de placa preparativa. A fracção mais apolar foi purificada utilizando-se clorofórmio:*n*-hexano (2:1) como eluente e dissolvida em seguida em diclorometano. Após filtração e evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se:

**5,10,15,20-tetra(tridecil)porfirina (2.7):**



**Rendimento:** 0.41% (4.1 mg)

**Ponto de fusão:** 72-74°C (não corrigido)

**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , ppm: 9.46 (s, 8H,  $\text{H}_d$ ), 4.97 (t,  $J=8.0$  Hz, 8H,  $\text{C}^1\text{-H}_2$ ), 2.59 – 2.41 (m, 8H,  $\text{C}^2\text{-H}_2$ ), 1.89 – 1.74

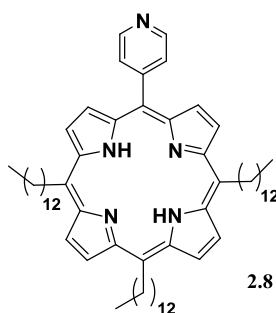
(m, 8H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.58-1.48 (m, 8H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.40-1.20 (m, 64H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.88 (t, *J* = 13.3 Hz, 12H), -2.63 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 1039.9407 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>46</sub>H<sub>46</sub>N<sub>7</sub> 1039.9429

**UV-Visível:** (ciclo-hexano), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 416 (2.9x10<sup>5</sup>); 520 (1.1x10<sup>4</sup>); 552 (9.2x10<sup>3</sup>); 602 (3.2x10<sup>3</sup>); 662 (4.9x10<sup>3</sup>).

A segunda fracção mais apolar foi purificada por placa preparativa utilizando-se como eluente clorofórmio. O sólido obtido foi dissolvido em diclorometano, filtrando-se de seguida a sílica. Após evaporação do solvente a pressão reduzida obteve-se:

**5-(4-piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina (2.8):**



**Rendimento:** 1.27% (85 mg)

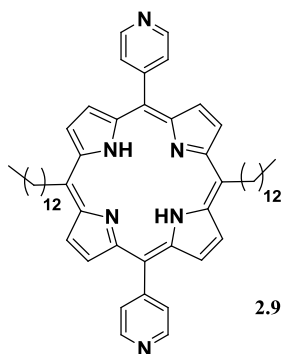
**Ponto de fusão:** 75-77 °C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ,ppm: 9.52 (dd, *J* = 13.8, 4.5 Hz, 4H, H<sub>d</sub>), 9.41 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 9.01 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, H<sub>o</sub>), 8.74 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.12 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H, H<sub>m</sub>), 4.96 (t, *J*=8 Hz, 6H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.62-2.42 (m, 6H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.88 – 1.74 (m, 6H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.60-1.46 (m, 6H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.43-1.19 (m, 48H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.87 (t, *J* = 5.8 Hz, 9H), -2.67 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 934.7676 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>64</sub>H<sub>96</sub>N<sub>5</sub> 934.7660

**UV-Visível** (ciclo-hexano), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 416 (3.9x10<sup>5</sup>); 517 (1.2x10<sup>4</sup>); 550 (7.0x10<sup>3</sup>); 601 (2.4x10<sup>3</sup>); 657 (3.5x10<sup>3</sup>).

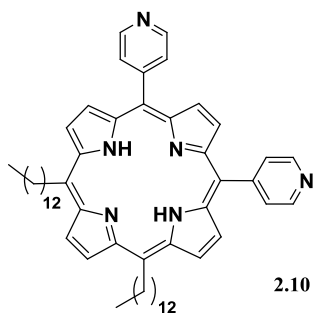
A terceira fracção mais apolar foi purificada por placa preparativa (clorofórmio/acetato de etilo 5:1) e dissolvida em acetato de etilo de seguida. Após filtração e evaporação do solvente a pressão reduzida obteve-se:

**5,15-di(4-piridil)-10,20-di(tridecil)porfirina (2.9):****Rendimento:** 0.42% (25 mg)**Ponto de fusão:** 72-73 °C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, ppm: 9.48 (d, *J* = 4.8 Hz, 4H, H<sub>c</sub>), 9.05 (d, *J* = 4.7 Hz, 4H, H<sub>o</sub>), 8.81 (d, *J* = 4.7 Hz, 4H, H<sub>b</sub>), 8.18 (d, *J* = 5.3 Hz, 4H, H<sub>m</sub>), 4.97 (t, *J*=8.0 Hz, 4H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.59 – 2.45 (m, 4H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.83-1.73 (m, 4H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.54-1.45 (m, 4H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.40-1.18 (m, 32H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.87 (t, *J*=8Hz, 6H, CH<sub>3</sub>), -2.75 (s, 6H).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 829.5915 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>56</sub>H<sub>73</sub>N<sub>6</sub> 829.5891.**UV-Visível** (ciclo-hexano), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 415 (1.2x10<sup>5</sup>); 514 (5.8x10<sup>3</sup>); 547 (2.8x10<sup>3</sup>); 594 (1.4x10<sup>3</sup>); 653 (1.3x10<sup>3</sup>).

A quarta fracção mais apolar foi purificada por placa preparativa utilizando como eluente clorofórmio:acetato de etilo (5:1). De seguida, dissolveu-se o sólido em acetato de etilo, filtrou-se a sílica e evaporou-se o solvente a pressão reduzida, obtendo-se:

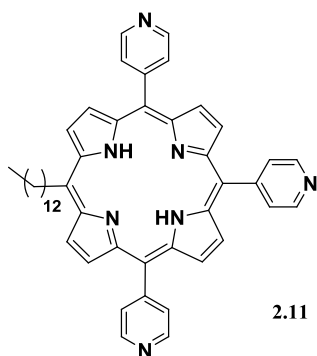
**5,10-di(4-piridil)-15,20-di(tridecil)porfirina (2.10):****Rendimento:** 1.12% (66.4 mg)**Ponto de fusão:** 141-143°C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, ppm: 9.57 (s, 2H, H<sub>d</sub>), 9.48 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 9.01 (d, *J* = 5.0 Hz, 4H, H<sub>o</sub>), 8.80 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.71 (s, 2H, H<sub>a</sub>), 8.12 (d, *J* = 5.4 Hz, 4H, H<sub>m</sub>), 4.98 (t, *J*=8.0 Hz, 4H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.60 – 2.49 (m, 4H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.87-1.75 (m, 4H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.58-1.48 (m, 4H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.43-1.18 (m, 32H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.87 (t, *J* = 6.5 Hz, 6H, CH<sub>3</sub>), -2.75 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 829.5858 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>56</sub>H<sub>73</sub>N<sub>6</sub> 829.5892.**UV-Visível** (ciclo-hexano), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 415 (2.1x10<sup>5</sup>); 515 (9.8x10<sup>3</sup>); 548 (5.1x10<sup>3</sup>); 594 (2.9x10<sup>3</sup>); 652 (2.1x10<sup>3</sup>)

A segunda fracção mais polar foi purificada por placa preparativa (acetato de etilo/metanol 18:1) e dissolvida em diclorometano. Após filtração da sílica, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e obteve-se:

**5,10,15-tri(4-piridil)-20-(tridecil)porfirina (2.11):**



**Rendimento:** 1.17% (60.6 mg)

**Ponto de fusão:** 249-251 °C (não corrigido)

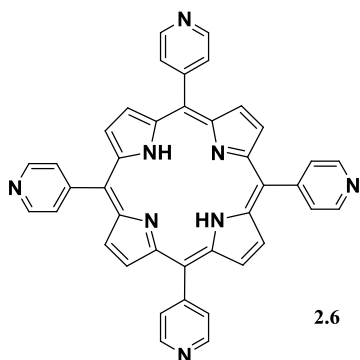
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ, ppm: 9.56 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, H<sub>c</sub>), 9.05 (t, *J*=6.5 Hz, 6H, H<sub>o</sub>), 8.88 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, H<sub>b</sub>), 8.80 (s, 4H, H<sub>a</sub>), 8.15 (dd, *J* = 10.4, 5.5 Hz, 6H, H<sub>m</sub>), 5.05 (dd, *J* = 14.8, 7.0 Hz, 2H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.60 – 2.48 (m, 2H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.88-1.70 (m, 2H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.59 – 1.45 (m, 2H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.32-1.18 (m, 16H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.86 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H), -2.82 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 724.4088 (M+H)<sup>+</sup> calc. para C<sub>48</sub>H<sub>50</sub>N<sub>7</sub> 724.4122.

**UV-Visível** (ciclo-hexano), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 414 (1.1x10<sup>5</sup>); 512 (6.3x10<sup>3</sup>); 544 (2.6x10<sup>3</sup>); 590 (1.9x10<sup>3</sup>); 648 (1.1x10<sup>3</sup>)

A fracção mais polar foi purificada por placa preparativa utilizando como eluente acetato de etilo:metanol (9:1). Após dissolução em acetato de etilo, filtrou-se a sílica e evaporou o solvente a pressão reduzida, obtendo-se:

**5,10,15,20-(4-piridil)porfirina (2.6):**



**Rendimento:** 0.05% (2.2 mg)

Os dados do ponto de fusão e RMN <sup>1</sup>H são apresentados anteriormente e estão de acordo com os da literatura.<sup>10</sup>



**Método geral B:** Utilizou-se o método do nitrobenzeno previamente descrito, com pequenas alterações.<sup>8</sup>

A estratégia seguida para este método foi igual à do método A, modificando-se apenas o número de equivalentes dos reagentes. Para este caso utilizou-se 7.35 mmol de o 4-formil-piridina, 29.4 mmol de aldeído linear e 29.4 mmol de pirrol. Para os restantes reagentes não houve nenhuma modificação, bem como no método de purificação.

*i) Derivadas do Dodecanal*

Quando o aldeído linear utilizado foi o dodecanal, seguiu-se o mesmo método de purificação anteriormente apresentado, obtendo-se **2.1**, 0.45% (30.9 mg), **2.2**, 3.93% (245.3 mg), **2.3**, 3.52% (199.5 mg), **2.4**, 2.02% (114.8 mg), **2.5**, 0.52% (26.5 mg) e **2.6**, com rendimento inferior a 0,01%. Os dados espectroscópicos estão de acordo com os previamente descritos.

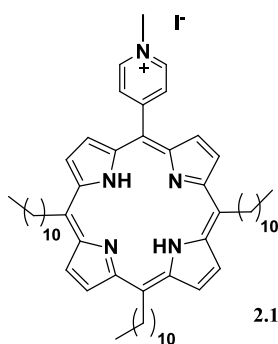
*ii) Derivadas do Tetradecanal*

Quando se utilizou o tetradecanal como aldeído linear, seguiu-se o mesmo método de purificação que no método A, obtendo-se **2.7**, 0.33% (24.9 mg), **2.8**, 5.83 % (401 mg), **2.9**, 3.05% (185.7 mg), **2.10**, 1.36% (83 mg), **2.11**, 0.82% (43 mg) e **2.6**, com rendimento inferior a 0.01%. Os dados espectroscópicos estão de acordo com os apresentados anteriormente.

#### **4.4. Síntese de porfirinas catiónicas**

**Iodeto de 5-(4-(metil)piridil)-10,15,20-(undecil)porfirina (2.12):**

Num balão de fundo redondo, adicionou-se 100 mg ( $1.18 \times 10^{-4}$  mol) de 5-(4-piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina e 0.8 mL de iodometano. A mistura permaneceu à temperatura ambiente, sob agitação, durante 24 horas. Após este tempo adicionou-se diclorometano à mistura reaccional e lavou-se 3 vezes com água destilada. Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente, obtendo-se 111 mg de iodeto de 5-(4-(metil)piridil)-10,15,20-tri(undecil)porfirina com rendimento de 95 %.



**Ponto de fusão:** 156-158 °C (não corrigido)

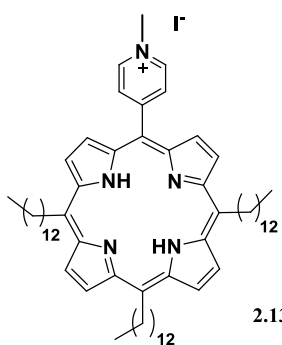
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ,ppm: 9.54 (s, 2H, H<sub>o</sub>), 9.44 (s, 2H, H<sub>d</sub>), 9.29 (s, 2H, H<sub>d</sub>), 9.24 (s, 2H, H<sub>c</sub>), 8.62 (s, 2H, H<sub>b</sub>), 8.56 (s, 2H, H<sub>m</sub>), 5.01 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4.03 (s, 6H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.52-2.42 (m, 6H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.75-1.64 (m, 6H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.62 – 1.52 (m, 6H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.38-1.20 (m, 36H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.87 (dt, *J* = 6.9, 4.1 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>), -3.70 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 864.6861 calc. para C<sub>59</sub>H<sub>86</sub>N<sub>5</sub> 864.6878.

**UV-Visível** (etanol), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 416 (1.2x10<sup>5</sup>); 521 (8.1x10<sup>3</sup>); 561 (6.4x10<sup>3</sup>); 596 (3.3x10<sup>3</sup>); 656 (4.4x10<sup>3</sup>).

**Iodeto de 5-(4-(metil)piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina (2.13):**

Num balão de fundo redondo colocou-se 50 mg (4.65x10<sup>-5</sup> mol) de 5-(4-piridina)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina e 0.5mL de iodometano. A reacção esteve sob agitação durante 23 horas à temperatura ambiente. Após o terminus da reacção, adicionou-se dclorometano, lavou-se 3 vezes com água e adicionou-se sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado e obtiveram-se 56 mg de iodeto de 5-(4-(metil)piridil)-10,15,20-tri(tridecil)porfirina com um rendimento de 98%.



**Ponto de fusão:** 152-154 °C (não corrigido)

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ,ppm: 9.39 (s, 2H, H<sub>o</sub>), 9.26 (s, 2H, H<sub>d</sub>), 9.02 (s, 2H, H<sub>d</sub>), 8.97 (s, 2H, H<sub>c</sub>), 8.56 (s, 2H, H<sub>b</sub>), 8.45 (s, 2H, H<sub>m</sub>), 4.93 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4.22 (s, 6H, C<sup>1</sup>H<sub>2</sub>), 2.56-2.40 (m, 6H, C<sup>2</sup>H<sub>2</sub>), 1.86-1.79 (m, 6H, C<sup>3</sup>H<sub>2</sub>), 1.62 – 1.50 (m, 6H, C<sup>4</sup>H<sub>2</sub>), 1.32-1.20 (m, 48H, C<sup>n</sup>H<sub>2</sub>), 0.88 (dt, *J* = 6.9, 4.1 Hz, 9H, CH<sub>3</sub>), -3.50 (s, 2H, NH).

**MS (ESI-TOF):** *m/z*= 948.7791 calc. para C<sub>65</sub>H<sub>98</sub>N<sub>5</sub> 948.7817.

**UV-Visível** (etanol), λ<sub>máx</sub>/nm (ε/mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>): 415 (1.3x10<sup>5</sup>); 520 (7.4x10<sup>3</sup>); 562 (5.7x10<sup>3</sup>); 596 (2.5x10<sup>3</sup>); 656 (3.7x10<sup>3</sup>)

## 4.5. Referências

- <sup>1</sup> H. D. Burrows, M. M. Pereira, *Química: Síntese e Estrutura- Uma abordagem prática*, Escolar Editora, **2006**.
- <sup>2</sup> C. J. P. Monteiro, M. M. Pereira, S. M. A. Pinto, A. V. C. Simões, G. F. F. Sá, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, S. Simões, M. F. Wyatt, *Tetrahedron*, 64 (**2008**) 5132.
- <sup>3</sup> M. Pineiro, A. L. Carvalho, M. M. Pereira, A. M. A. R. Gonsalves, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, *Chem. Eur. J.*, 4 (**1998**) 2299.
- <sup>4</sup> S. L. Murov, I. Carmichel, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*, Nova Iorque, **1993**.
- <sup>5</sup> T. Gensch, C. Viappiani, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2 (**2003**) 699.
- <sup>6</sup> G. D. Gatta, M. J. Richardson, S. M. Sarge, S. Stolen, *Pure Appl. Chem.*, 78 (**2006**) 1455.
- <sup>7</sup> R. Sabbah, X.W. An, J.S. Chickos, M.L.P. Leitao, M.V. Roux, L.A. Torres, *Thermochim. Acta*, 331 (**1999**) 93.
- <sup>8</sup> R.A.W. Johnstone, M.L.P.G. Nunes, M.M. Pereira, A.M.A.R. Gonsalves, A.C. Serra, *Heterocycles*, 43 (**1996**) 1423.
- <sup>9</sup> H. D. Burrows, A. M. Rocha Gonsalves, M. L. P. Leitão, M. da G. Miguel, M. M. Pereira, *Supramol. Sci.*, 4 (**1997**) 241.
- <sup>10</sup> J. A. Anton, P. A. Loach, *J. of Heterocyclic Chemistry*, 12 (**1975**) 573.