

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Estudos sobre Síntese de Novos Fotossensibilizadores a
partir de Produtos Naturais Porfirinóides**

Luna Schlittler dos Santos

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do título
de MESTRE EM QUÍMICA, área de
concentração: QUÍMICA ORGÂNICA.

Orientador: Prof. Dr. Kleber Thiago de Oliveira

Bolsista CNPQ

São Carlos - SP
2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S237es

Santos, Luna Schlittler dos.

Estudos sobre síntese de novos fotossensibilizadores a partir de produtos naturais porfirinóides / Luna Schlittler dos Santos. -- São Carlos : UFSCar, 2013.

144 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Produtos naturais. 2. Pigmentos naturais. 3. Bacterioclorinas. 4. Reações de cicloadições. 5. Fotossensibilizadores. I. Título.

CDD: 547.3 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Acadêmico da candidata **Luna Schlittler dos Santos**, realizada em 25 de março de 2013:*

Kleber Thiago de Oliveira

Prof. Dr. Kleber Thiago de Oliveira

Antonio Carlos Bender Burtoloso

Prof. Dr. Antonio Carlos Bender Burtoloso

Moacir Rossi Forim

Prof. Dr. Moacir Rossi Forim

Dedico este trabalho aos meus pais Belô e Cris que me deram a vida com muito amor.

A vida merece algo além do aumento da sua velocidade.

Mahatma Gandhi

Agradecimentos

Agradeço à minha família, pai, mãe e irmão, por sempre estar ao meu lado apesar da distância e pelo apoio a cada nova decisão tomada. Obrigada por todo o amor, carinho e dedicação.

Ao Professor Dr. Kleber T. de Oliveira, pela oportunidade que me foi dada de trabalhar em seu grupo de pesquisa, pela orientação, ajuda, e compreensão ao longo deste projeto.

Ao Professor Dr. Timothy J. Brocksom, pela colaboração neste trabalho.

Ao Grupo de RMN da UFSCar, em especial a Luciana Vizotto pelas análises de RMN.

Às grandes e verdadeiras amizades aqui construídas, aos amigos e colegas de laboratório, pelo companheirismo e por tornar o dia-dia mais alegre.

Algumas pessoas são tão especiais que é como se esse mundo não fosse suficiente para abrigar o carinho que sentimos por elas, transcende. Tais, Edney, Fabiane, Carla e Rui, obrigado por serem a minha família.

À Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade de desenvolver o mestrado.

Ao CNPQ pela bolsa concedida e pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a todos que estiveram comigo durante todo esse tempo e que hoje comemoram esta vitória comigo, obrigada a todos.

Lista de Abreviações

- ALA - ácido 5-aminolevulínico
- CCD - Cromatografia em camada delgada
- DEPT - 135 – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer – angle 135°
- DMAD - acetilenodicarboxilato
- EROs - espécies reativas de oxigênio
- ¹FS - Fotossensibilizador no estado singlete
- ¹FS* - Fotossensibilizador no estado singlete excitado
- ³FS* - Fotossensibilizador no estado triplete excitado
- gCOSY - Correlation Spectroscopy
- gHMBC - Heteronuclear Multiple–Bond Correlation
- gHSQC - Heteronuclear Simple–Quantum Correlation
- HOMO - Highest Occupied Molecular Orbital
- LUMO - Lowest Unoccupied Molecular Orbital
- NCS - *N*-clorosuccinimida
- NIR - Infravermelho Próximo
- ¹O₂ - Oxigênio no estado singlete
- ³O₂ - Oxigênio no estado triplete
- PDT - Terapia Fotodinâmica
- PBG - Porfobilinogênio
- R_f - Índice de retenção ou fator de retardamento
- RMN - Ressonância Magnética nuclear
- RMN de ¹³C - ressonância magnética nuclear de carbono 13
- RMN de ¹H - ressonância magnética nuclear de próton
- TCNE - Tetracianoetileno
- t-RNA - RNA de transferência
- TPP - Tetrafenilporfirina
- TPPF - Tetrafluorfenilporfirina
- UV-vis - Ultravioleta-visível

Lista de Figuras

Figura 1. Processo fotossintético observado em três etapas.....	4
Figura 2. Tipos de clorofilas.....	5
Figura 3. Derivados da clorofila a utilizados na PDT.	11
Figura 4. Estrutura da bacterioclorofila a.	12
Figura 5. Espectros de UV-vis típicos de heterocíclis.....	13
Figura 6. Exemplos de bacterioclorinas.....	14
Figura 7. Exemplo de uma estrutura sintetizada recentemente (raio-X).....	21
Figura 8. Esquema simplificado do processo de PDT.	26
Figura 9. Profundidade de penetração relativa luz de vários comprimentos de onda.	28
Figura 10. Estruturas dos fotossensibilizadores Acridina e Eosina.....	29
Figura 11. Hematoporfirina e Photofrin®.	29
Figura 12. Alguns fotossensibilizadores comerciais ou em fase de estudos.	31
Figura 13. Diagrama de Jablonski simplificado.....	33
Figura 14. Proposta estrutural por raios-X do composto metil-feoforbídeo a (2).	42
Figura 15. Deslocamento da banda Q na reação de hidrogenação.....	45
Figura 16. Deslocamento da banda Q na reação de metalação.....	51
Figura 17. Espectro de UV-vis do éster dimetílico da rodoporfina (81).....	54
Figura 18. Espectro obtido da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre 4 e 10	57
Figura 19. Deslocamento da banda Q na reação de cicloadição 1,3-dipolar da TPP com o composto 11	61
Figura 20. Espectro de UV-vis do éster trimetílico vic-7,8-dihidroximesoclorina e ₆	64
Figura 21. Produtos isolados da termólise do composto 12	66
Figura 22. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do composto 14	68
Figura 23. Espectro de absorção na região do UV–Vis em diclorometano da mistura reacional da reação de Diels–Alder entre os compostos 13 e 15	68
Figura 24. Interações π -stacking responsáveis pela agregação de porfirinas.	71
Figura 25. Estudo de agregação em diclorometano para a bacterioclorina 14	71
Figura 26. Exemplo de reação de fotodegradação em um derivado da clorofila a causado pelo oxigênio no estado singlete (¹ O ₂).	73
Figura 27. Fotodegradação da bacterioclorina 14 em diclorometano.	74

Figura 28. Porcentagem de absorvância de DPBF (410 nm) a 50 μ M na presença do composto 14	76
Figura 29. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 2	99
Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 2	100
Figura 31. Espectro de RMN de gCOSY – do Composto 2	101
Figura 32. Espectro de RMN de gHSQC – do Composto 2	102
Figura 33. Espectro de RMN de gHMBC – do Composto 2	103
Figura 34. Espectro de RMN de gNOESY – do Composto 2	104
Figura 35. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) - o Composto 3	108
Figura 36. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 3	109
Figura 37. Espectro de RMN de gCOSY – do Composto 3	110
Figura 38. Espectro de RMN de gHSQC – do Composto 3	111
Figura 39. Espectro de RMN de gHMBC – do Composto 3	112
Figura 40. Espectro de RMN de gNOESY – do Composto 3	113
Figura 41. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 4	117
Figura 42. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 4	118
Figura 43. Espectro de RMN de gCOSY – do Composto 4	119
Figura 44. Espectro de RMN de gHSQC – do Composto 4	120
Figura 45. Espectro de RMN de gHMBC – do Composto 4	121
Figura 46. Espectro de RMN de gNOESY – do Composto 4	122
Figura 47. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 78	126
Figura 48. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 81	127
Figura 49. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 77	128
Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 77	129
Figura 51. Espectro de RMN ^{13}C (DEPT–135) – do Composto 77	130
Figura 52. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 8	131
Figura 53. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 8	132
Figura 54. Espectro de RMN ^{13}C (DEPT–135) – do Composto 8	133
Figura 55. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 83	134
Figura 56. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 12	135
Figura 57. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 13	136
Figura 58. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 14	137

Lista de Esquemas

Esquema 1. Reações de funcionalização do pigmento natural clorofila <i>a</i> . i, ii, iii, iv, v, vi) extração/transformação “one-pot” do composto 2 da reação da alga <i>Spirulina maxima</i> desidratada na presença de MeOH/H ₂ SO ₄ 5% (v/v) por 24h, 0,8% . vii) MeONa/MeOH, t.a., 8h, 77%; viii) H ₂ , 1 atm, Pd/C, 80%.....	xiv
Esquema 2. Síntese de novas bacterioclorinas.....	xv
Esquema 3. Síntese de novas bacterioclorinas.....	xvi
Esquema 4. Esboço da biossíntese da clorofila <i>a</i>	7
Esquema 5. Síntese total da clorofila <i>a</i>	9
Esquema 6. Síntese total da clorofila <i>a</i>	10
Esquema 7. Estratégias para a síntese de bacterioclorinas.	15
Esquema 8. Síntese de bacterioclorinas via modificação estrutural da bacterioclorofila <i>a</i>	16
Esquema 9. Síntese de bacterioclorinas via redução de porfirinas com <i>p</i> -toluenosulfonil hidrazida.	16
Esquema 10. Síntese de bacterioclorinas via oxidação de porfirinas por OsO ₄	17
Esquema 11. Síntese de bacterioclorinas utilizando reações quelatrópicas.	17
Esquema 12. Síntese de bacterioclorinas utilizando reação de cicloadição 1,3-dipolar.....	18
Esquema 13. Síntese total de bacterioclorinas.....	18
Esquema 14. Síntese de vários derivados de clorina a partir da reação do éster dimetílico da protoporfirina-IX com TCNE e DMAD.....	20
Esquema 15. Síntese de novas clorinas de baixa agregação.	21
Esquema 16. Reação de porfirinas como 1,3-dipolo em reações de cicloadição 1,3-dipolar.....	22
Esquema 17. Reação de porfirinas como 1,3-dipolo em reações de cicloadição 1,3-dipolar.....	22
Esquema 18. Reação eletrocíclica na ílideo de azometino porfirina.....	23
Esquema 19. Porfirina como dienófilo em reações Diels-Alder.	23
Esquema 20. Porfirina como dipolarófilo em reações 1,3-dipolar.....	24
Esquema 21. Porfirina como dipolarófilo em reações 1,3-dipolar.....	24
Esquema 22. Algumas reações de moléculas biológicas na presença de oxigênio singlete (¹ O ₂).	34

Esquema 23. Reações de funcionalização do pigmento natural clorofila <i>a</i> . i, ii, iii, iv, v, vi) extração/transformação “one-pot” do composto 2 da reação da alga <i>Spirulina maxima</i> desidratada na presença de MeOH/H ₂ SO ₄ 5% (v/v). vii) MeONa/MeOH, t.a., 8h. viii) H ₂ , 1 atm, Pd/C.....	38
Esquema 24. Síntese de novos derivados porfirínicos de baixa agregação.....	39
Esquema 25. Segunda abordagem sintética para a síntese de bacterioclorinas de baixa agregação.....	39
Esquema 26. Extração e purificação do metil-feoforbídeo a (2)	42
Esquema 27. Síntese do éster trimetílico da clorina <i>e</i> ₆ (3)	43
Esquema 28. Mecanismo geral de uma reação de retro-Dieckmann.....	44
Esquema 29. Síntese do éster trimetílico da mesoclorina <i>e</i> ₆ (4)	44
Esquema 30. Metodologia para a síntese do composto 8	46
Esquema 31. Mecanismo de formação do composto 77	46
Esquema 32. Mecanismo de formação do composto 8	47
Esquema 33. Síntese de adutos e bis-adutos do tipo clorinas, bacterioclorinas e isobacterioclorinas.....	48
Esquema 34. Tentativa da reação 1,3-dipolar do composto 4 com o ílideo azometino benzílico.....	48
Esquema 35. Mecanismo proposto para a formação do 1,3-dipolo através da reação de 8 com TFA.....	49
Esquema 36. Reação de metalação do composto 4	50
Esquema 37. Tentativa da Reação de cicloadição 1,3-dipolar com o composto 78	51
Esquema 38. Geração do ílideo de azometino benzílico a partir de 9	52
Esquema 39. Mecanismo proposto para a geração do ílideo de azometino benzílico a partir da <i>N</i> -benzilglicina (9)	52
Esquema 40. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando a <i>N</i> -benzilglicina (9) como precursor do 1,3-dipolo.....	53
Esquema 41. Obtenção do éster dimetílico da rodoporfina (81)	53
Esquema 42. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto 78 com a <i>N</i> -benzilglicina (9)	55
Esquema 43. Geração do ílideo de azometino fenílico.....	55
Esquema 44. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando a <i>N</i> -fenilglicina como precursor do 1,3-dipolo.....	56
Esquema 45. Obtenção da proposta isobacterioclorina (6b ou 6c)	56

Esquema 46. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto 78 com a <i>N</i> -fenilglicina (10).....	58
Esquema 47. Síntese do composto 11	58
Esquema 48. Mecanismo proposto para a síntese da oxima 83	59
Esquema 49. Mecanismo proposto para a síntese da cloroxima 11	60
Esquema 50. Geração do óxido de nitrila.	60
Esquema 51. Reação de cicloadição 1,3-dipolar da TPP com o composto 11	61
Esquema 52. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto 4 com o composto 11	62
Esquema 53. Tentativa da Reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto 78 com o composto 11	63
Esquema 54. Reações de Diels Alder com derivados da clorofila <i>a</i>	63
Esquema 55. Reação de bis-hidroxilação do composto 4	64
Esquema 56. Mecanismo proposto para a reação de bis-hidroxilação.....	65
Esquema 57. Síntese do éster trimetílico da 8-vinilmesoclorina e_6 (13).	65
Esquema 58. Síntese da bacterioclorina 14	67
Esquema 59. Reação do DPBF com o 1O_2	75

Lista de Tabelas

Tabela 1. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3 dipolar gerando o dipolo com TFA.	49
Tabela 2. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3 dipolar gerando o dipolo com LiF.	50
Tabela 3. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3 dipolar gerando o dipolo através da <i>N</i> -benzilglicina.	53
Tabela 4. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3 dipolar gerando o dipolo através da <i>N</i> -fenilglicina.	56
Tabela 5. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3 dipolar do composto 4 com o composto 11	62
Tabela 6. Condições reacionais e rendimentos das bacterioclorinas obtidas pela reação de Diels–Alder entre os compostos 13 e 15	70
Tabela 7. Dados Espectroscópicos do Composto 2	105
Tabela 8. Dados Espectroscópicos do Composto 3	114
Tabela 9. Dados Espectroscópicos do Composto 4	123

Sumário

RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xiv
1. Introdução	2
1.1 Os Pigmentos Naturais.....	2
1.1.1 Fotossíntese	3
1.1.2 As Clorofilas.....	4
1.2 Bacterioclorinas	11
1.3 Porfirinas e Reações de cicloadição.....	19
1.4 Terapia Fotodinâmica.....	25
1.4.1 A Terapia Fotodinâmica – Mecanismos de Ação.....	32
2. Objetivos.....	36
3. Plano de Pesquisa.....	38
4. Resultados e Discussão	41
4.1 Reações de funcionalização da clorofila <i>a</i>	41
4.2 Abordagem sintética para a preparação dos materiais de partida (1,3-dipolos) e reações de cicloadição 1,3-dipolar.....	46
4.3 Abordagem sintética para a preparação de novas bacterioclorinas de baixa agregação.....	63
4.4 Caracterizações fotofísicas	70
4.4.1 Estudos de agregação	70
4.4.2 Estudos de fotodegradação (<i>photobleaching</i>)	72
5. Conclusões e Perspectivas Futuras	78
6. Parte Experimental	80
6.1 Generalidades	80
6.2 Índice de Reações.....	82
6.3 Procedimento Experimental	84
6.3.1. Extração e purificação do metil-feoforbídeo <i>a</i> (2)	84
6.3.2. Síntese do éster trimetílico da clorina <i>e</i> ₆ (3)	86
6.3.3. Sínteses do éster trimetílico da mesoclorina <i>e</i> ₆ (4).....	87
6.3.4. Síntese do Composto 78	88
6.3.5. Síntese da <i>N</i> -Benzil- <i>N</i> -[(trimetilsilil)metil]amina (77).....	89
6.3.6. Síntese da <i>N</i> -Benzil- <i>N</i> metoximetiltrimetilsililmetilamina (8)	90
6.3.7. Síntese da 2,6-diclorobenzaldeído oxima (83).....	91
6.3.8. Síntese da cloroxima (11)	92
6.3.9. Síntese da <i>N</i> -fenilmaleimida (15).....	93
6.3.10. Síntese do éster trimetílico da <i>vic</i> -7,8-dihidroximesoclorina <i>e</i> ₆ (12).....	94

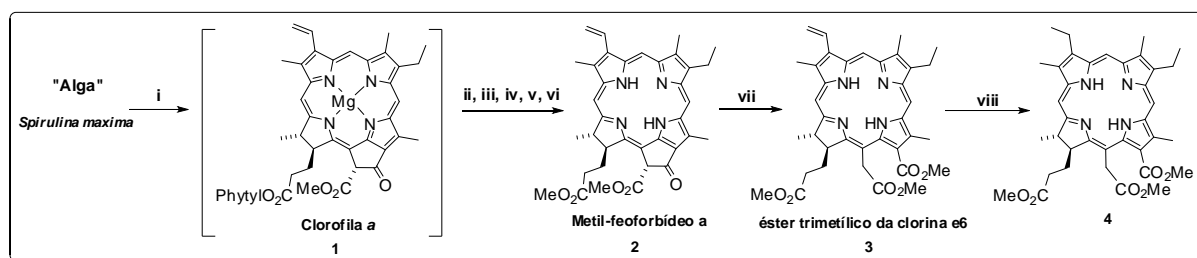
6.3.11. Síntese do éster trimetílico da 8-vinilmesoclorina e_6 (13)	95
6.3.12. Síntese do Composto 14	96
7. Espectros de RMN	98
8. Referências Bibliográficas	138

RESUMO

ESTUDOS SOBRE SÍNTESE DE NOVOS FOTOSSENSIBILIZADORES A PARTIR DE PRODUTOS NATURAIS PORFIRINÓIDES

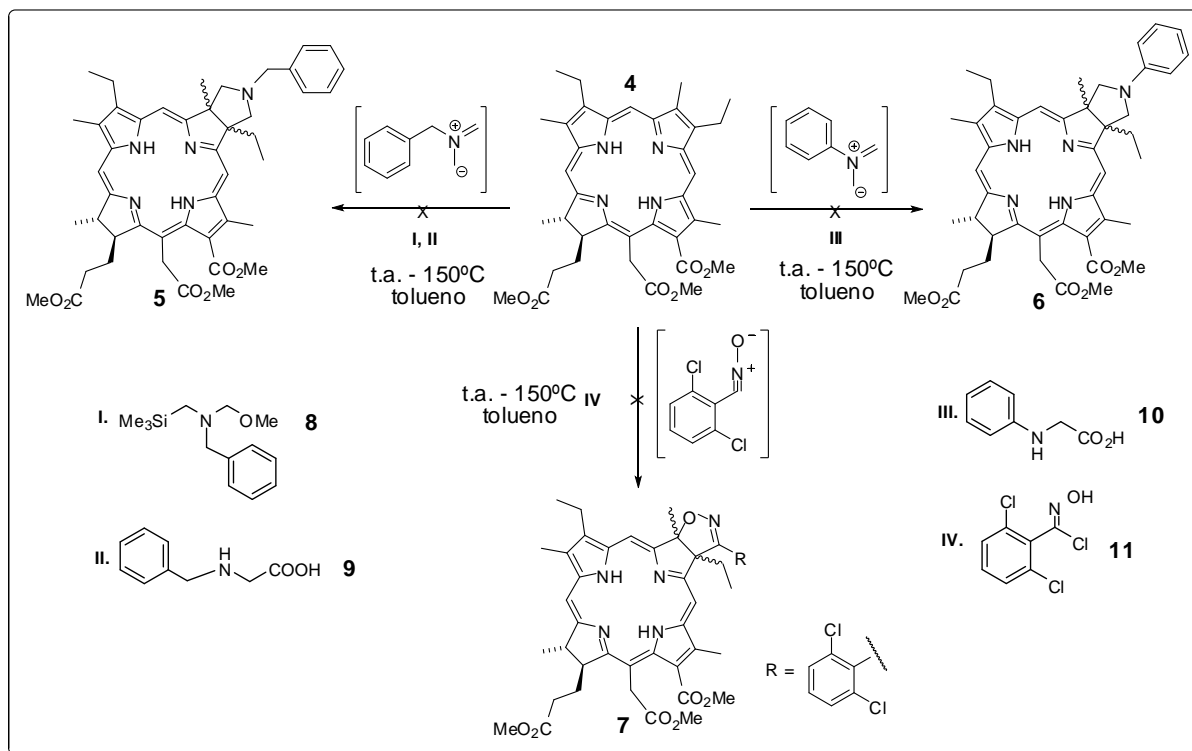
Neste trabalho foram realizados estudos de modificações estruturais no metil-feorbídeo **a** (**2**), um derivado da clorofila **a** (**1**) extraída da alga *Spirulina maxima*. O objetivo principal foi obter compostos de baixa agregação e com características fotofísicas adequadas para aplicações em Terapia Fotodinâmica (PDT), buscando, por exemplo, transformar os derivados do tipo clorina em bacterioclorinas a partir de reações de cicloadição.

O uso da clorofila **a** (**1**) foi motivado pela disponibilidade, baixo custo e por fazer parte de vários estudos de nosso grupo de pesquisa. Assim, inicialmente foi desenvolvido um método de extração/transformação da clorofila **a** fornecendo diretamente o composto **2** (Esquema 1). Neste processo foi empregada uma extração/transesterificação “one-pot” de **1**, em uma solução ácida de metanol. Os rendimentos deste processo estiveram em torno de 0,8% a partir da alga desidratada. Em seguida, o composto **2** foi transformado em **3** (77%) e posteriormente hidrogenado para fornecer **4** (80%). Após a preparação de **4** foram iniciados alguns estudos de cicloadição visando preparar um derivado do tipo bacterioclorina (Esquema 2).



Esquema 1. Reações de funcionalização do pigmento natural clorofila **a**. i, ii, iii, iv, v, vi) extração/transformação “one-pot” do composto **2** da reação da alga *Spirulina maxima* desidratada na presença de MeOH/H₂SO₄ 5% (v/v) por 24h, 0,8%. vii) MeONa/MeOH, t.a., 8h, 77%; viii) H₂, 1 atm, Pd/C, 80%.

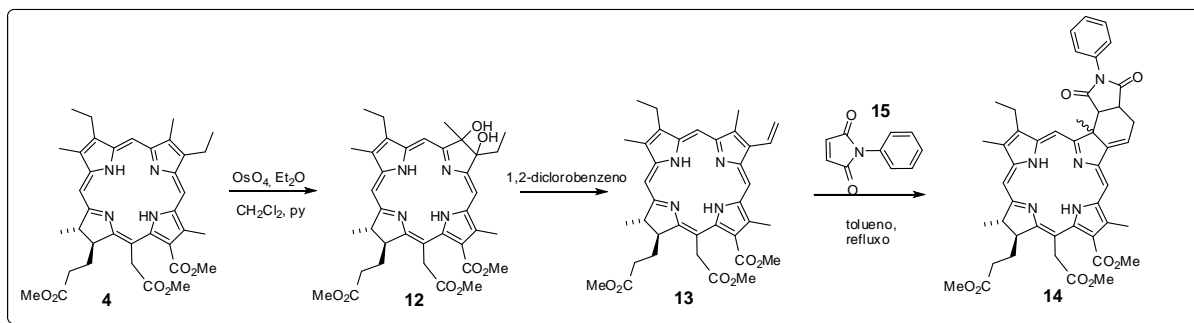
Para as reações de cicloadição 1,3-dipolar propostas, foram testados alguns dipolos do tipo azometino e óxido de nitrilo. Vários dos estudos realizados não forneceram os produtos de cicloadição desejados (bacterioclorina). Em algumas situações foram obtidos subprodutos de descarboxilação ou foi verificada degradação total/parcial do substrato **4**.



Esquema 2. Síntese de novas bacterioclorinas.

Uma segunda abordagem visando à síntese de bacterioclorinas a partir de cicloadições foi delineada partindo-se da vinil-clorina **13** realizando-se uma reação de Diels-Alder com a *N*-fenilmaleimida (**15**) (Esquema 3). A síntese do composto **13** foi realizada a partir do composto **4** pela reação de *bis*-hidroxilação com OsO_4 (67%) seguido da dupla desidratação em 1,2 diclorobenzeno (30%).

Os melhores resultados da reação de cicloadição entre **13** e **15**, apresentaram rendimentos na ordem de 47% (proporção aproximada de 75:25 dos diastereoisômeros determinada por RMN de ^1H).



Esquema 3. Síntese de novas bacterioclorinas.

Os compostos sintetizados neste trabalho foram caracterizados utilizando-se técnicas de espectroscopia de RMN 1D e 2D, espectroscopia na região do UV-vis, espectroscopia na região do infravermelho e espectrometria de massas.

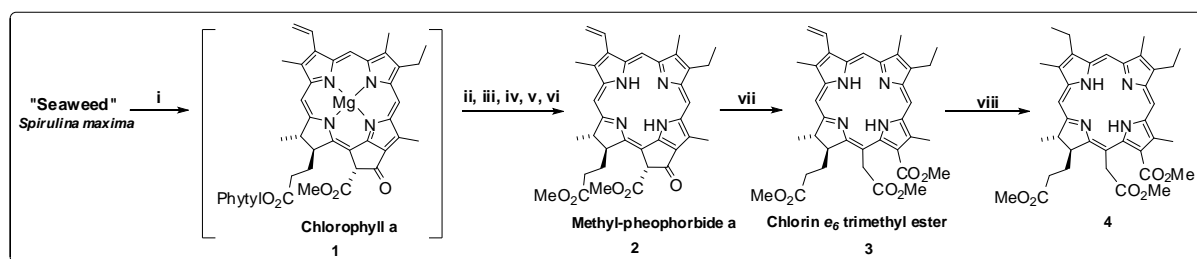
Ao longo das abordagens sintéticas foram realizados alguns estudos fotofísicos preliminares, como *photobleaching*, de modo a qualificar a bacterioclorina **14** enquanto potencial fotossensibilizador. Também foi realizado estudo de agregação por UV-vis no qual se confirmou a baixa agregação das bacterioclorinas obtidas.

ABSTRACT

STUDIES ON SYNTHESIS OF NEW PHOTSENSITIZERS FROM PORPHYRINOID NATURAL PRODUCTS

In this work, we studied the structural transformation of methylpheophorbide a (**2**), a derivative of chlorophyll a (**1**) that was extracted from seaweed *Spirulina maxima*. The main propose of the study was to obtain compounds with low aggregation and appropriate photophysical characteristics for applications in Photodynamic Therapy (PDT). In this way, we prompted to transform chlorin type derivatives into the corresponding bacteriochlorins using cycloaddition reaction approaches.

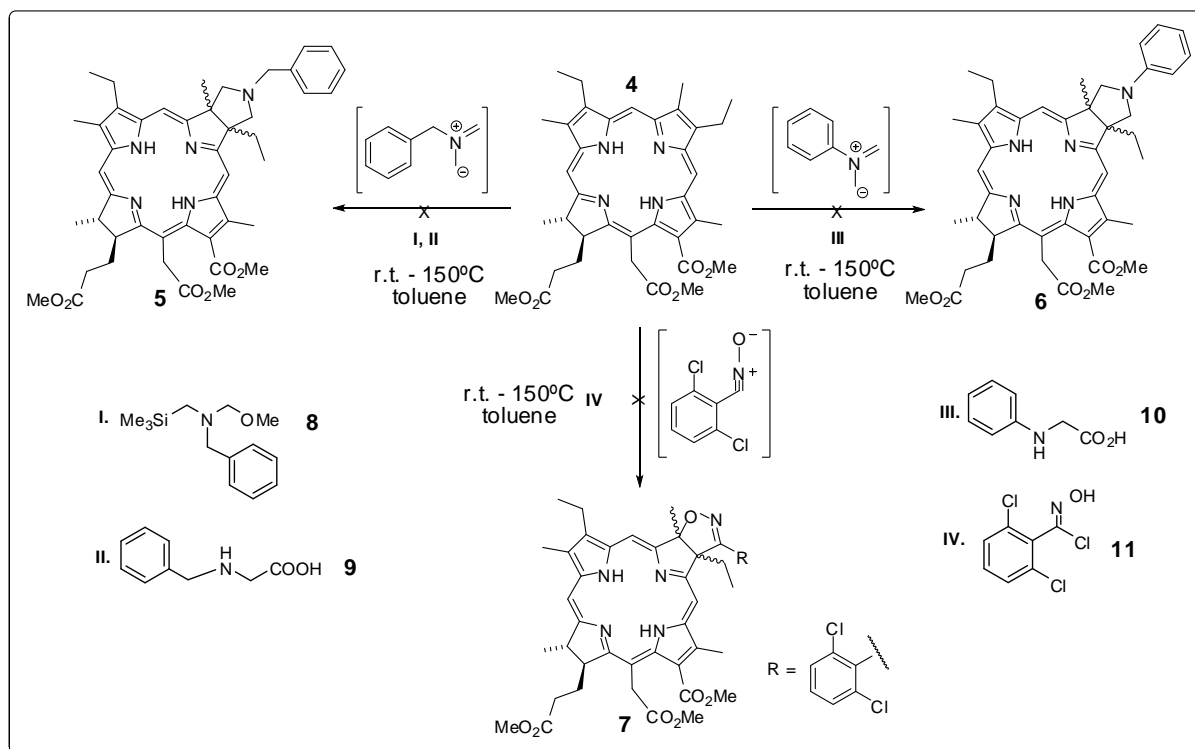
The use of chlorophyll a (**1**) was mainly motivated by its availability and low cost. In addition, this compound has been a focus of study in our research group. Therefore, it was initially developed a method of extracting/processing chlorophyll a which directly provided compound **2** (Scheme 1). In this process we used an extraction/transesterification one-pot method using an acid solution of methanol and chlorin **2** was obtained in 0.8% yield from dried seaweed. Compound **3** was obtained from **2** (77%) and then hydrogenated to give **4** (80%). The chlorophyll derivative **4** was used as starting material in order to prepare the desired bacteriochlorin *via* cycloaddition methodology (Scheme 2).



Scheme 1. Functionalization reactions of chlorophyll a. i, ii, iii, iv, v, vi) extracting/processing one-pot reaction of compound **2** from the seaweed *Spirulina maxima* dehydrated in the presence of MeOH/H₂SO₄ 5% (v/v) for 24h 0.8% . vii) MeONa / MeOH, r.t., 8h, 77%; viii) H₂, 1 atm, Pd/C, 80%.

Several azomethine and nitrile oxide dipoles were tested in the 1,3-dipolar cycloaddition reactions. Nevertheless, none of the studied conditions provided

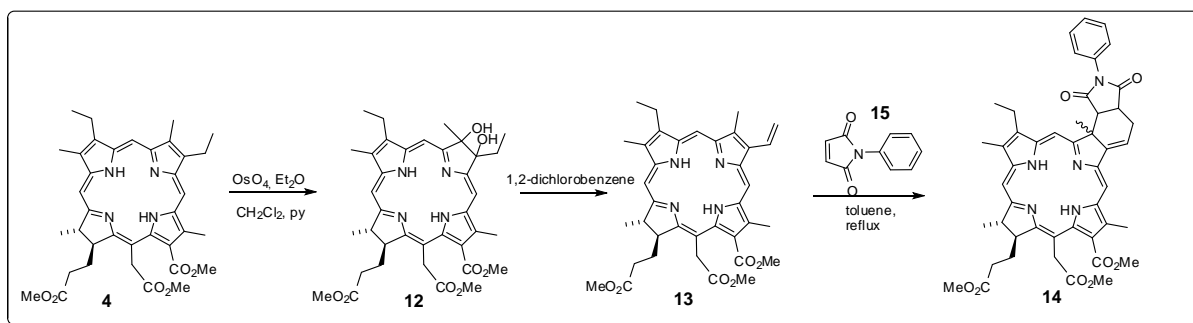
the desired cycloaddition adduct (bacteriochlorin). In some cases, decarboxylation by-products or total/partial substrate **4** degradation was observed.



Scheme 2. Synthesis of new bacteriochlorins.

An alternative method for the synthesis of bacteriochlorins using a cycloaddition approach was designed starting from the vinyl-chlorin **13** and N-phenylmaleimide (**15**) (Scheme 3). The synthesis of compound **13** was accomplished starting from compound **4** by dihydroxylation reaction with OsO_4 (67%) followed by double dehydration in 1,2-dichlorobenzene (30%).

The most promising results from cycloaddition reaction were obtained with **13** and **15** with yields around 47% (75:25 ratio of diastereoisomers determined by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy).



Scheme 3. Synthesis of new bacteriochlorins.

The synthesized compounds were characterized by 1D and 2D NMR and UV-vis spectroscopy, infra-red and mass spectrometry.

Some preliminary photophysical studies, such as photobleaching, were also conducted in order to qualify bacteriochlorin compound 14 as a potential photosensitizer. Moreover, aggregation studies by UV-vis were performed, which confirmed the low aggregation of the obtained bacteriochlorins.

Introdução

1. Introdução

As aplicações das porfirinas e seus derivados cobrem um extenso número de campos científicos, fato que está diretamente relacionado com suas propriedades únicas. Atualmente, vários grupos de pesquisa concentram esforços na busca de novos sistemas porfirínicos para utilização em catálise, sensores óticos, sistemas optoeletrônicos, semicondutores, supercondutores, ótica não linear, sistemas supramoleculares, células fotovoltaicas, na construção de modelos biomiméticos, marcadores fluorescentes de biodiesel, corantes alimentares, dentre outras aplicações.¹

Deve-se dar destaque para aplicações de sistemas porfirínicos em Terapia Fotodinâmica (PDT), já que estes compostos apresentam altas absorvidades na região da janela terapêutica (600-750 nm) e excelentes rendimentos quânticos na produção de oxigênio singlete. Desta maneira, muitos esforços têm sido concentrados no desenvolvimento de novos métodos para converter porfirinas em derivados que apresentem características fotofísicas adequadas para potencial aplicação em PDT. Esta técnica tem se destacado como uma das mais importantes técnicas médico-terapêuticas utilizadas no combate de doenças neoplásicas, degeneração macular da retina, psoríase, arteriosclerose, doenças virais (herpes), doenças bacterianas, micoses, alguns tratamentos dermatológicos (estéticos e infecciosos), procedimentos odontológicos, processos como descontaminação química e biológica de águas residuais.¹

1.1 Os Pigmentos Naturais

*“Os produtos naturais, as maiores fontes de inspiração para os químicos orgânicos sintéticos, constituem uma variedade tão extensa de estruturas que faz a natureza parecer, na perspectiva humana, uma fonte inesgotável de novos produtos”.*²

A busca por novos compostos com atividade biológica pode ser considerada como elemento crucial da indústria farmacêutica moderna e, a natureza, enquanto laboratório vivo tem servido de fonte direta de inspiração para o desenvolvimento de novas drogas nas últimas décadas. Atualmente, centenas de medicamentos em uso clínico são de origem natural ou foram quimicamente

inspirados em produtos naturais. Do ponto de vista evolutivo, as plantas e alguns animais marinhos são considerados excelentes fontes de novas substâncias, isto porque, em seu metabolismo secundário produzem compostos com objetivo de defesa contra predadores que podem desempenhar diversas atividades biológicas de interesse humano.³

Os pigmentos naturais, em particular, desempenham funções vitais na manutenção da vida no reino vegetal e, indiretamente, a quase toda forma de vida. Os principais deles, as clorofilas, estão intimamente relacionados com o processo de fotossíntese.⁴ Neste sentido, a própria natureza confere um dos exemplos mais bem sucedidos sobre o uso de reações fotocatalisadas em sistemas bastante complexos, dando-nos um indício positivo sobre a utilização de luz/fotossensibilizador nas transformações de compostos orgânicos, moléculas biológicas em geral e em algumas terapias.

1.1.1 Fotossíntese

A vida terrestre é extremamente dependente da energia proveniente do sol. A fotossíntese é o único processo de importância biológica que pode aproveitar essa energia. Pode-se ainda dizer que uma grande parte dos recursos energéticos do planeta resulta de atividades fotossintéticas recentes ou passadas.

O termo fotossíntese significa, literalmente, “síntese utilizando a luz”. Os organismos fotossintetizantes empregam a energia solar para sintetizar compostos de carbono que não poderiam ser obtidos sem um “*input*” de energia.

A luz é absorvida, principalmente pelos complexos antena, os quais são constituídos por clorofilas, pigmentos acessórios e proteínas, encontrados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos. Os pigmentos antena transferem a energia para um complexo clorofila-proteína especializado, conhecido como centro de reação, o qual contém complexos proteicos com centenas ou milhares de subunidades de clorofilas. Os centros de reação iniciam uma série de complexas reações químicas que capturam energia na forma de ligações químicas.⁵

O processo fotossintético pode ser dividido em três fases: 1) de absorção e aprisionamento de luz, até os centros de reação dos fotossistemas I e II; 2) o transporte de elétrons e prótons entre os cofatores redoxs através dos complexos proteicos de toda a cadeia fotossintética, permitindo, além disso, um

gradiente de prótons; 3) catálise redox multieletrônica gerando prótons e oxigênio nos sítios enzimáticos como “clusters” metálicos de hidrogenase com o complexo de evolução de oxigênio (centro de reação silencioso/ OEC) no fotossistema II (Figura 1)⁶

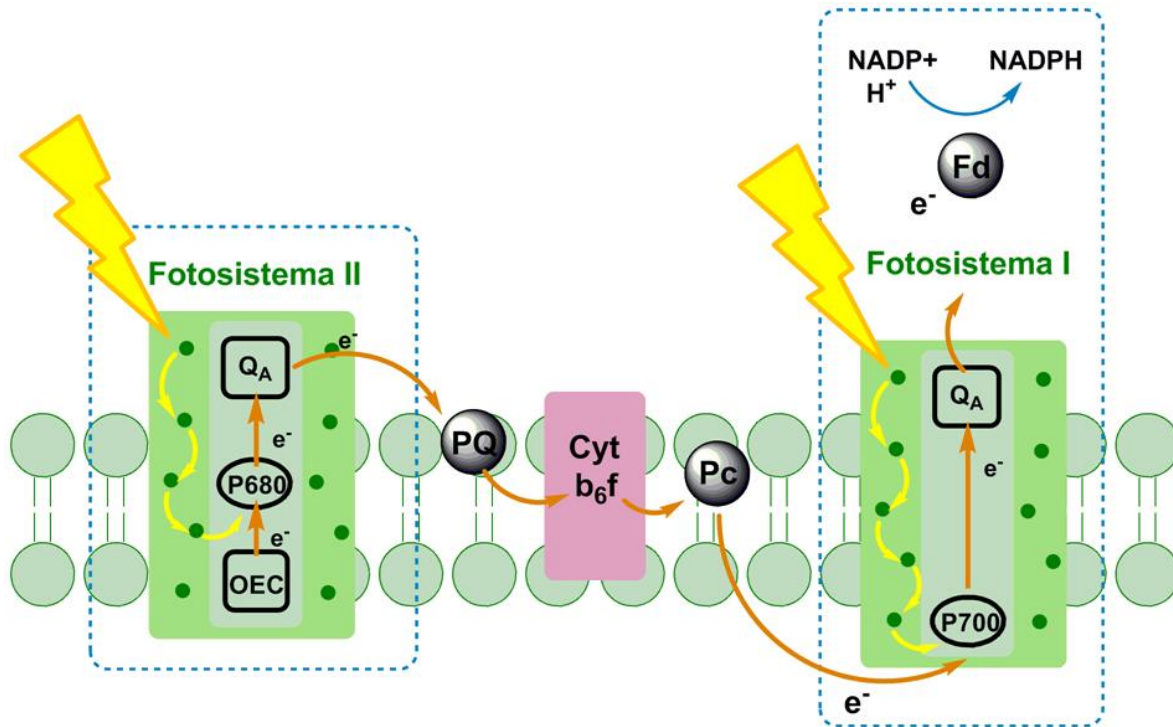


Figura 1. Processo fotossintético observado em três etapas.⁶

1.1.2 As Clorofilas

As clorofilas destacam-se dentre os mais conhecidos pigmentos vegetais sendo responsáveis pela captura de luz solar, produção de oxigênio e açúcares através da fotossíntese. A intensa cor verde das clorofilas deve-se a suas fortes absorções nas regiões do azul e vermelho do espectro eletromagnético, fazendo com que transmitam na região do verde. Presentes em quase todos os tipos de plantas, algas e algumas bactérias, estes pigmentos têm sido apontados como excelentes fotossensibilizadores, antioxidantes e como agentes terapêuticos no combate de diversas doenças.

Existem quatro tipos principais de clorofilas denominadas *a*, *b*, *c* e *d*, que se distinguem pela sua estrutura e padrão de absorção do espectro visível (Figura 2). As clorofilas *a* e *b* estão presentes em todas as plantas verdes. A

diferença estrutural entre as clorofilas *a* e *b* é pouca, apenas na composição de uma cadeia lateral, onde na clorofila *a* é uma metila e na *b* é um grupo aldeído. A clorofila *c* é encontrada nas algas pardas, e a ausência do grupo fitil a diferencia estruturalmente da clorofila *a*. A clorofila *d* é encontrada somente nas algas vermelhas, e a diferença estrutural para a clorofila *a* é o grupo aldeído substituindo o grupo vinil.⁷

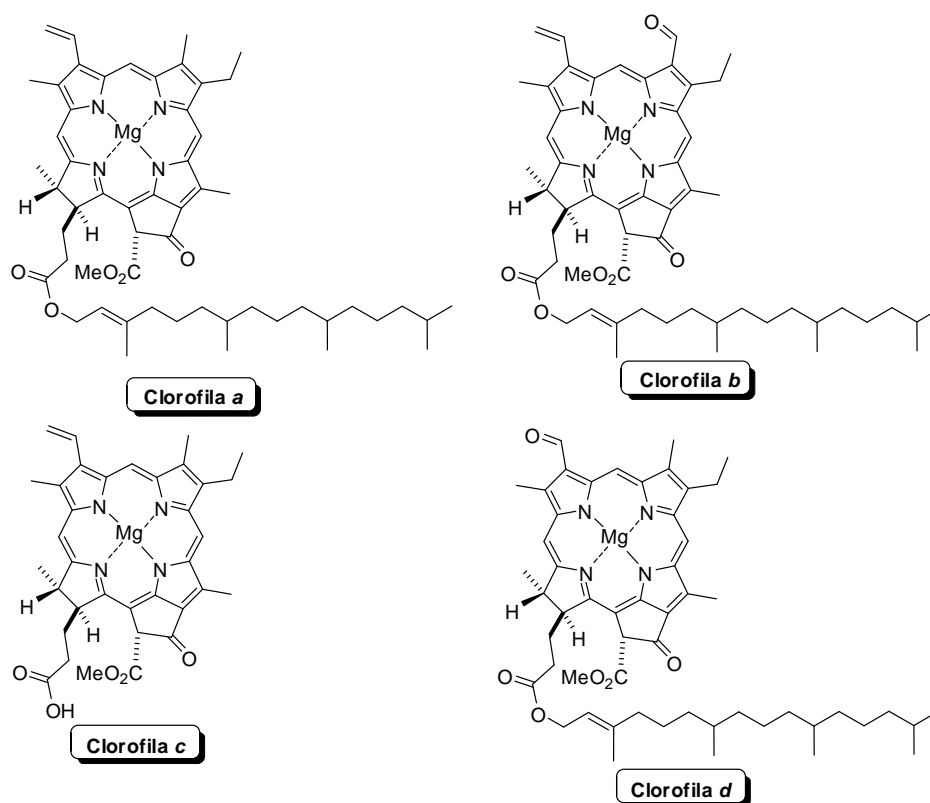
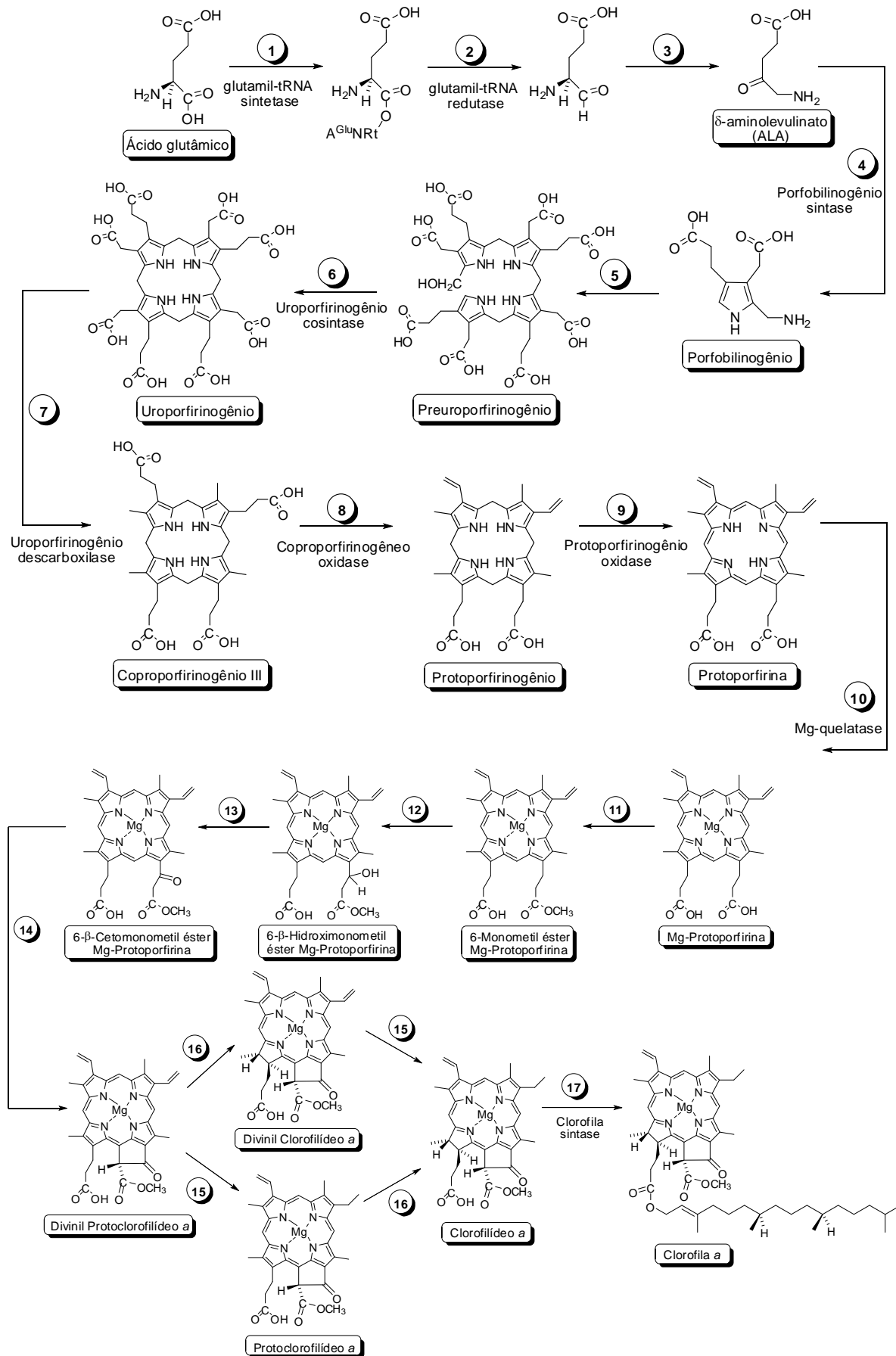


Figura 2. Tipos de clorofilas.

As clorofilas são moléculas complexas especialmente ajustadas para as funções de absorção de luz, transferência de energia e transferência de elétrons no processo da fotossíntese. Como outras moléculas biológicas, as clorofilas são biossintetizadas por uma rota de síntese em que se empregam moléculas simples para a montagem de moléculas complexas. Cada etapa da síntese é catalisada enzimaticamente.⁵

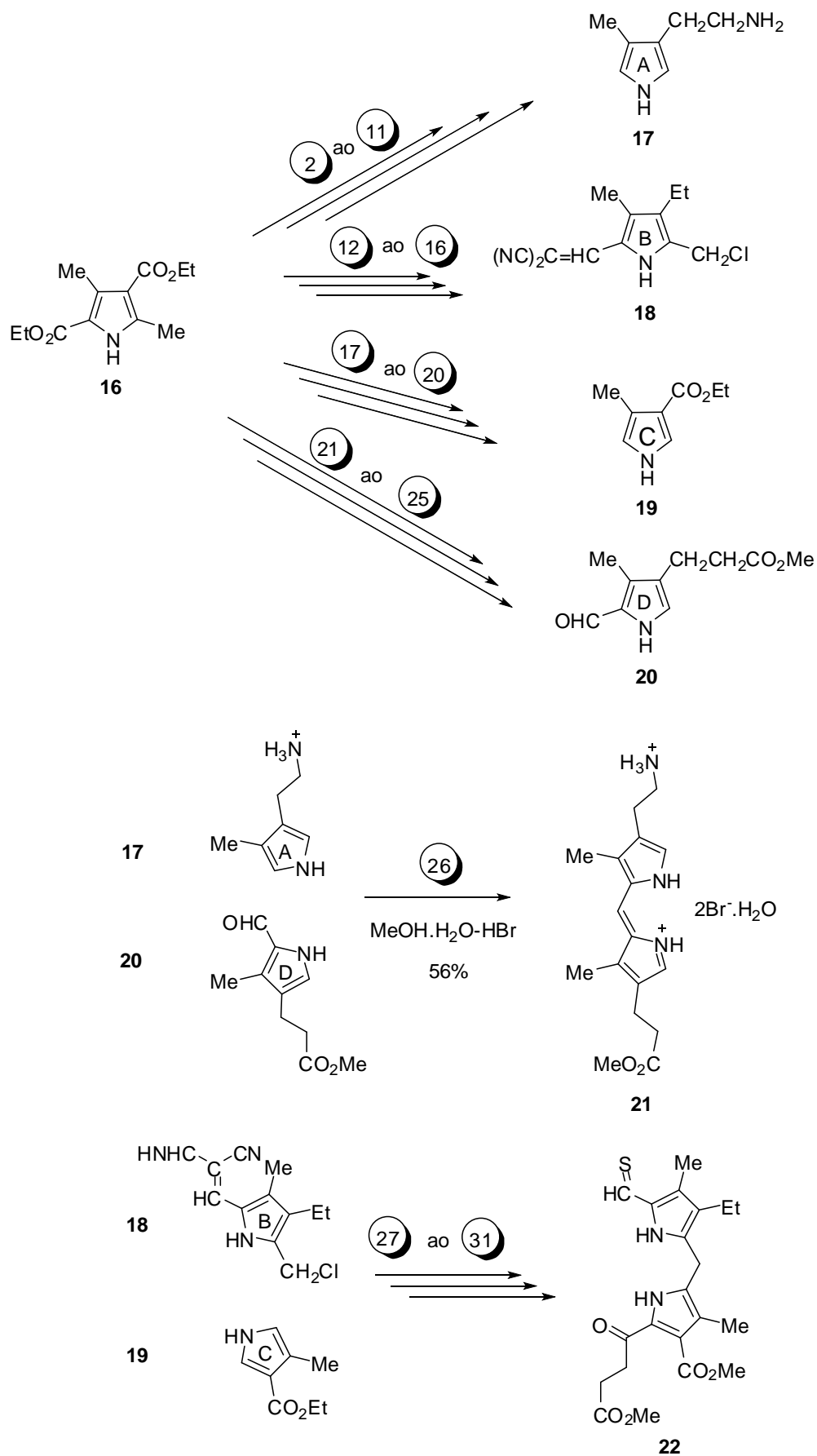
O esboço geral da biossíntese da clorofila *a* é mostrada no Esquema 4. Conceitualmente, o caminho pode ser dividido em várias partes, cada uma levando a um intermediário chave ou ponto de ramificação.

A via da biossíntese de clorofila *a* inicia-se com a conversão do ácido glutâmico em ácido 5-aminolevulínico (ALA) (etapas 1-3). Esta reação não é usual já que possui intermediário covalente, no qual o ácido glutâmico é ligado a uma molécula de RNA de transferência (t-RNA). Existe um número pequeno de exemplos em reações bioquímicas nos quais uma molécula de t-RNA é utilizada em outros processos que não a síntese de proteínas. Duas moléculas de ALA então são condensadas a fim de formar porfobilinogênio (PBG) (etapa 4). A etapa seguinte é a montagem de uma estrutura de porfirina a partir de quatro moléculas de PBG. Esta sequência consiste em seis etapas enzimáticas distintas, terminando com o produto protoporfirina IX (etapas 5-9). Em seguida, ocorre à inserção de Mg^{2+} na protoporfirina IX (passo 10). O anel exocíclico de cinco membros (anel E) é obtido por ciclização de uma das cadeias laterais do ácido propiônico (etapas 11-14). Ocorre ainda uma redução de um grupo vinil a um grupo etil (etapa 15), seguida ou precedida de redução do heterociclo para formar uma clorina (etapa 16). Finalmente, verifica-se a adição do grupo fitil ao heterociclo completando a estrutura da clorofila *a* (etapa 17).^{5,8}

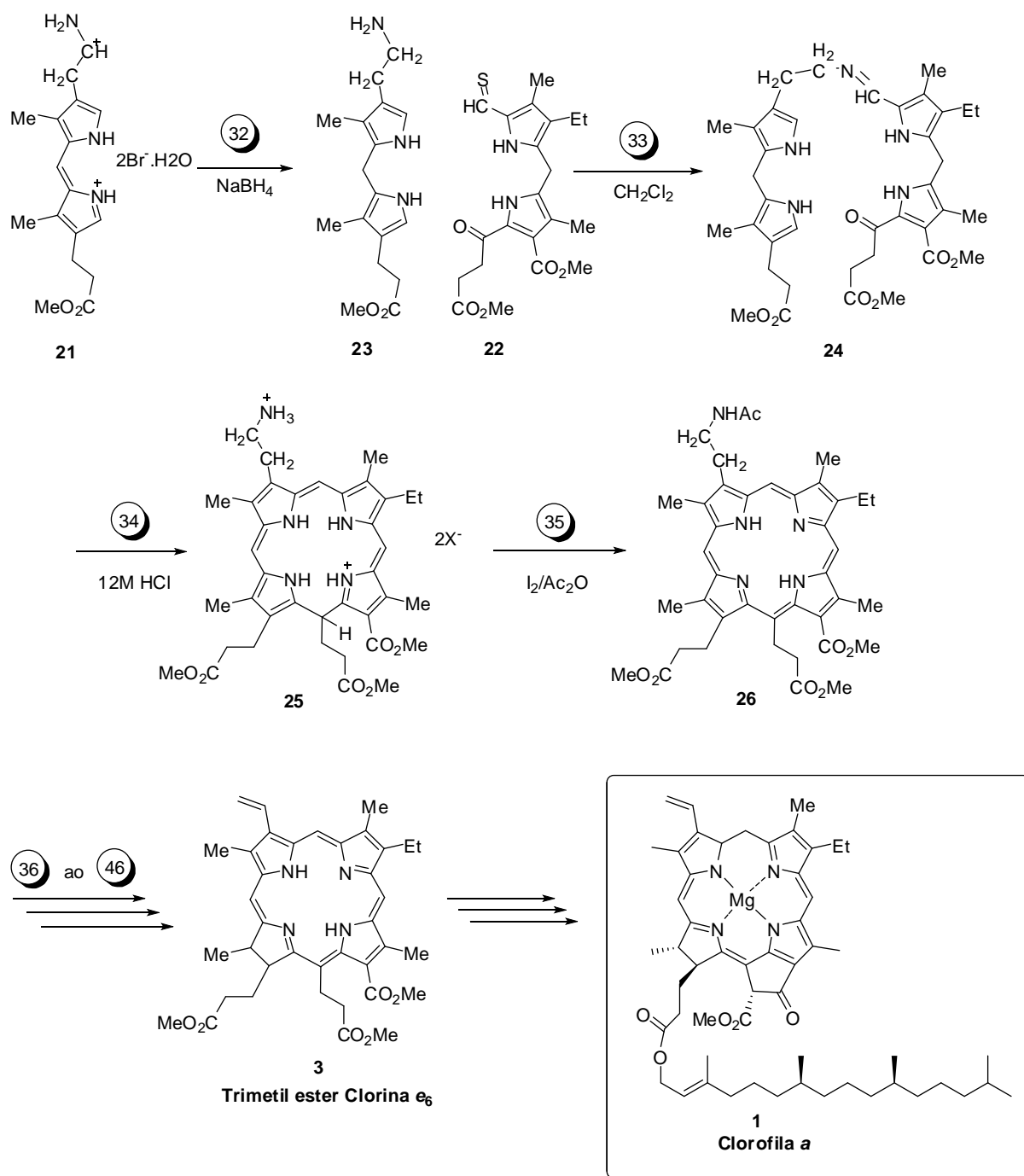


Esquema 4. Esboço da biossíntese da clorofila a.

A estrutura da clorofila *a* foi completamente elucidada em 1960, quando Woodward confirmou a estrutura proposta para este composto através da sua síntese total⁹. Pouco tempo depois Fleming¹⁰ determinou a configuração absoluta da clorofila *a* não deixando dúvidas quanto a quaisquer aspectos estereoquímicos e, ao mesmo tempo, contribuindo para uma série de estudos sobre este importante pigmento natural. A síntese total da clorofila *a* (Esquema 5 e Esquema 6) foi realizada a partir do pirrol **16**, na qual estão envolvidas quarenta e seis etapas para alcançar a molécula alvo, trimetil éster clorina e_6 (**3**), precursor para a preparação da clorofila *a* (**1**).⁹



Esquema 5. Síntese total da clorofila a.



Esquema 6. Síntese total da clorofila *a*.

A clorofila *a* pode ser considerada como o pigmento mais recorrente desta classe de compostos (75% dos pigmentos verdes presentes nas plantas), sendo empregada em várias composições farmacêuticas, como cosméticos, material de higiene bucal, em dietas, culinária e até mesmo em alguns detergentes.¹¹

Muitos dos seus derivados como a clorina e₆, o “pheophorbide” e o Photodithazine[®], ao lado de outros similares sintéticos, têm sido investigados como agentes fotossensibilizadores na PDT, em particular nos tratamentos de câncer de pele (Figura 3).

Particularmente nas algas *Spirulina pacifica* ou *S. maxima* encontra-se apenas a clorofila *a* com rendimento de até 2% do seu peso seco, sendo assim um pigmento acessível, funcionalizável e constituindo um excelente material de partida para o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores.¹¹ Apesar das potencialidades comprovadas de alguns derivados da clorofila *a* (1) – uso comercial de alguns derivados em PDT – há ainda diversos desafios e possibilidades de modificações sintéticas os quais ainda não foram explorados.

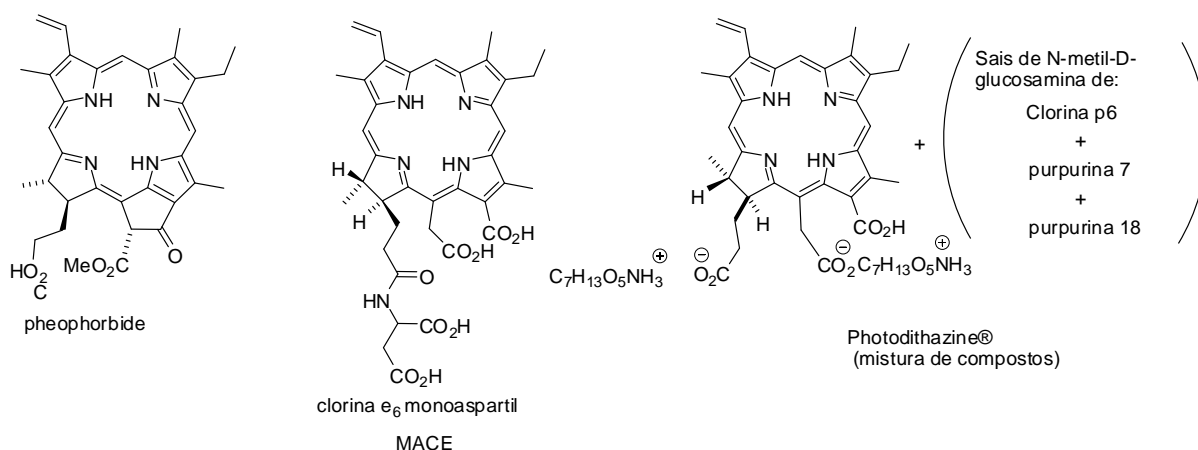


Figura 3. Derivados da clorofila *a* utilizados na PDT.

1.2 Bacterioclorinas

A importância das clorofilas no processo fotossintético das plantas está bem contemplada e levou a inúmeros estudos a cerca das propriedades espectroscópicas e fotofísicas das clorofilas e seus análogos sintéticos. Menos estudadas, mas igualmente importantes são as bacterioclorofilas, que são a base da fotossíntese bacteriana. A instabilidade presente nesses heterociclos naturais (incluindo a susceptibilidade para a oxidação acidental formando assim o correspondente clorina), assim como a limitação de transformações sintéticas devido ao grande número de substituintes na periferia do anel são os dois principais impedimentos para o estudo das bacterioclorofilas.¹² As bacterioclorinas são tetra-

hidroporfirinas encontradas naturalmente em bactérias púrpuras fototrópicas, heliobactérias e nas bactérias verdes sulfurosas. Nestes microrganismos estão presentes complexos de Mg^{2+} de bacterioclorinas, tais como bacterioclorofila a (**27**) (Figura 4), que os utilizam como cromóforos absorvedores de luz para a realização da fotossíntese em condições anaeróbicas.¹³

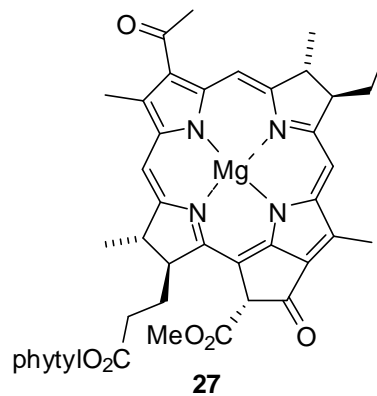


Figura 4. Estrutura da bacterioclorofila a.

Bacterioclorinas são derivados tetrapirrólicos naturais ou sintéticos que apresentam duas unidades pirrólicas reduzidas diagonalmente opostas. Apresentam intensas bandas de absorção nos maiores comprimento de onda localizado no infravermelho próximo (acima de 700 nm), essas bandas de absorção diferem das apresentadas pelas porfirinas, clorinas e isobacterioclorinas. No caso das bacterioclorinas a banda Q apresenta uma intensidade muito superior à das porfirinas, e mesmo das clorinas (Figura 5). Este fato permite a utilização dos comprimentos de onda na faixa da janela terapêutica ("lasers" de boa penetração) os quais são importantes para PDT.¹⁴

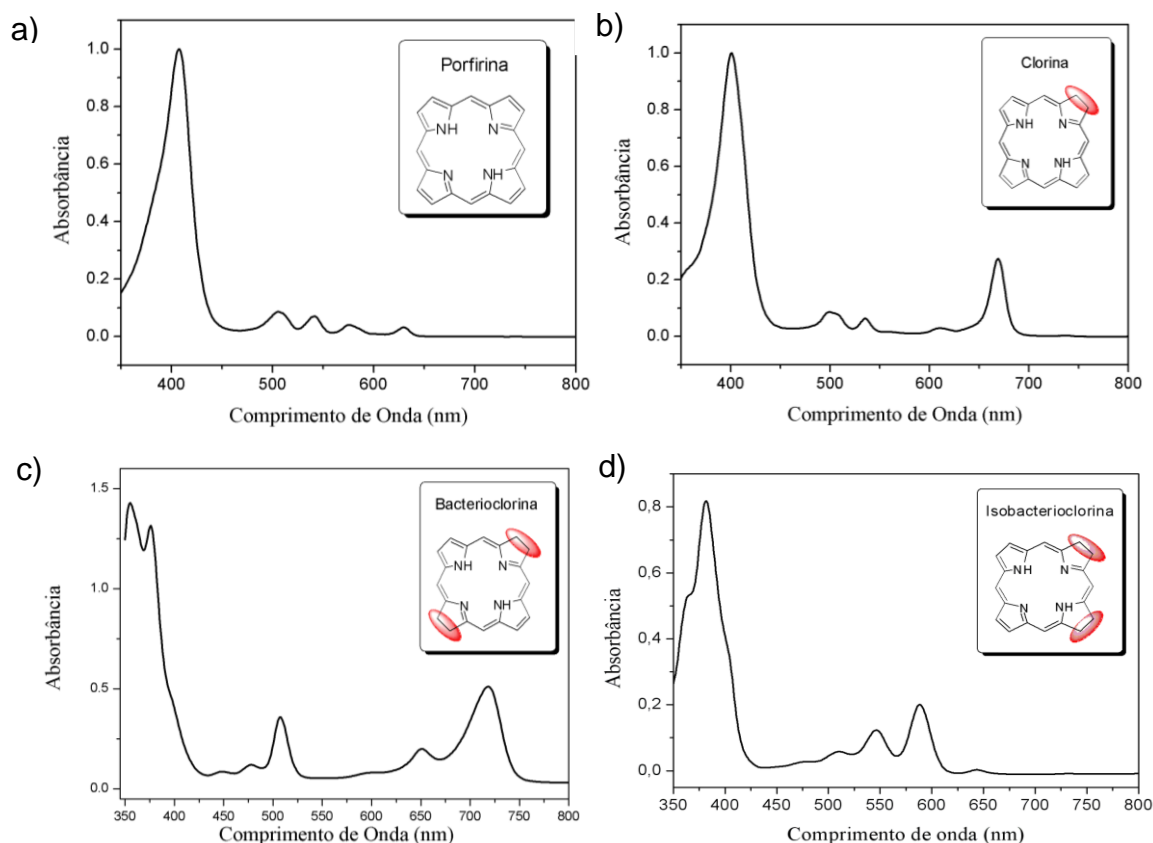


Figura 5. Espectros de UV-vis típicos de heterocícl

a) porfirinas b) clorinas c) bacterioclorinas d) isobacterioclorinas

Essa profunda mudança no sistema de absorção é devido à natureza do sistema π de elétrons encontradas nessas moléculas.¹⁴ O aumento da saturação do heterociclo conduz a forte absorção na região do infravermelho próximo (NIR). A utilização da região espectral no NIR é de grande interesse, pois está presente em abundância na radiação solar e, também, penetra mais profundamente nos tecidos animais que o visível ou ultravioleta.¹⁴

Como fotossensibilizadores que absorvem luz em comprimentos de onda muito longos, as bacterioclorinas podem eventualmente ser empregadas no tratamento de tumores altamente pigmentados, já que a melanina apresenta uma absorbância relativamente baixa.¹⁵ Devido ao fato de serem formas reduzidas das porfirinas, existe a possibilidade das bacterioclorinas se oxidarem no processo, razão pela qual normalmente apresentam substituintes volumosos ou anéis exocíclicos junto aos anéis reduzidos, de forma a evitar o processo oxidativo.¹⁶

Dentre as classes de compostos tetrapirrólicos, as bacterioclorinas são ainda pouco estudadas, entretanto, são alvos promissores, pois suas propriedades fotofísicas permitem que sejam aplicadas como fotossensibilizadores na medicina e também em pigmentos artificiais absorvedores de luz.¹⁷

Os esforços para sintetizar bacterioclorinas foram guiados por três observações: (i) os metais apropriados inseridos no anel tetrapirrólico aumentam o seu potencial de oxidação e estabilizam bacterioclorinas contra a oxidação, como acontece com as metalobacterioclorofilas, (ii) grupos dialquil geminais em cada anel pirrol impede a oxidação de bacterioclorinas (iii) anéis exocíclicas em clorinas dão estabilidade a oxidação.¹⁸

Além disso, uma estratégia sintética para tornar as bacterioclorinas mais estáveis é a introdução de grupos retiradores de elétrons e de substituintes volumosos, impedindo conformações reativas para a reação de oxidação (Figura 6).¹⁸

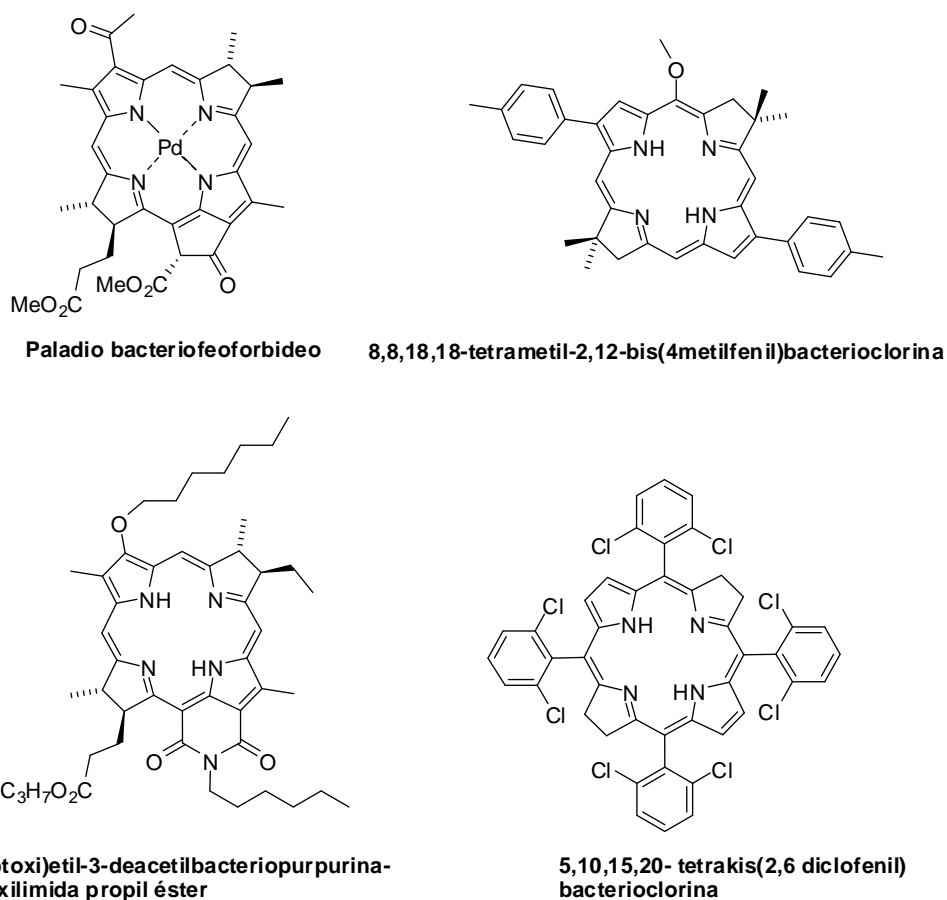
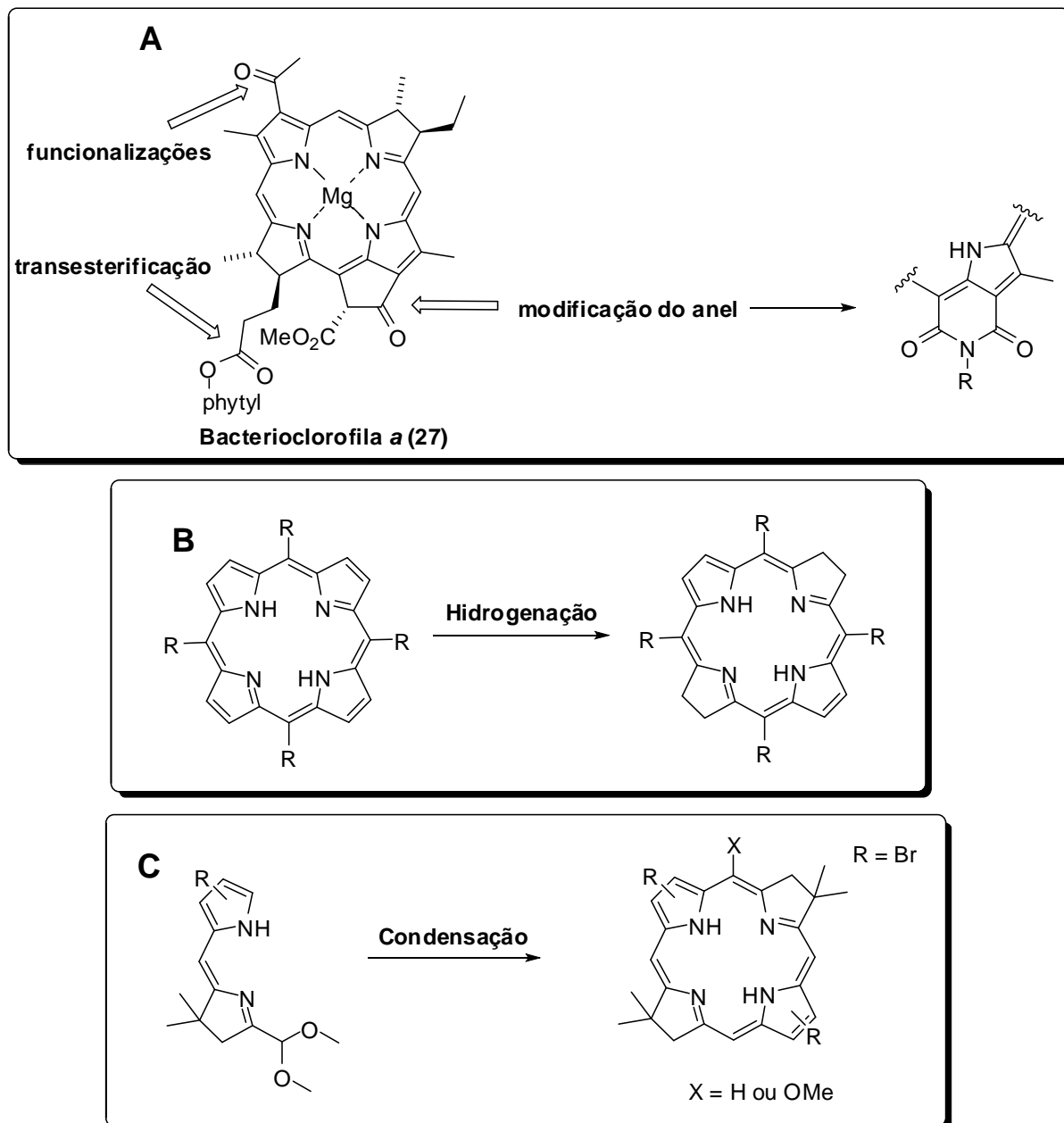


Figura 6. Exemplos de bacterioclorinas.

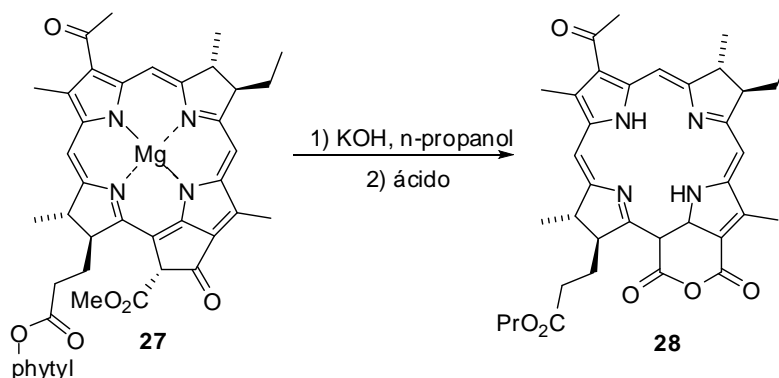
A síntese de bacterioclorinas é baseada em algumas estratégias como modificações estruturais em derivados de origem natural (A), redução ou derivatização de porfirinas sintéticas (B) e sínteses totais (C) (Esquema 7).¹⁹



Esquema 7. Estratégias para a síntese de bacterioclorinas.

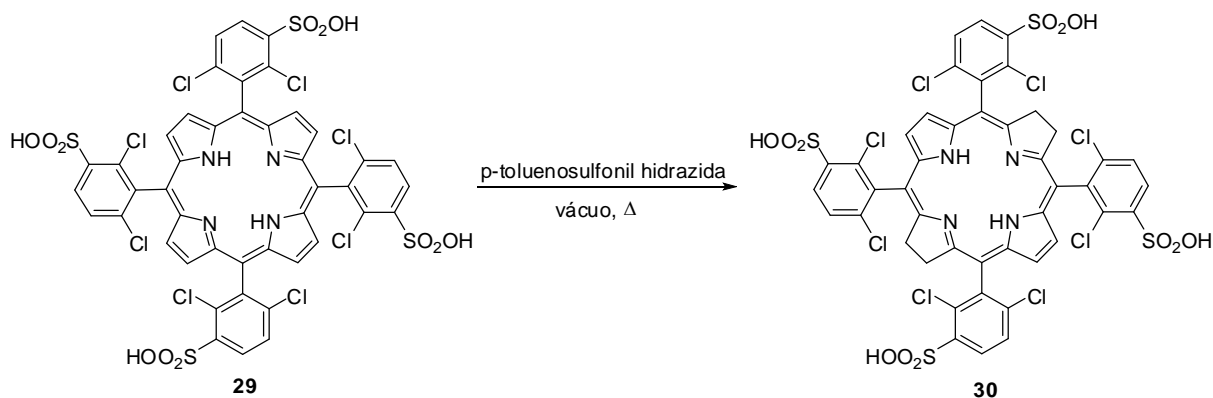
A abordagem sintética mais comum é a modificação estrutural de uma bacterioclorina de origem natural. Dentre essas modificações estruturais, podemos citar a desmetalização/metalação, transesterificação do grupo fitil, derivatização do

grupo 3-acetilo e ainda a transformação do anel exocíclico de 5 membros para um anel de seis membros do tipo anidrido (Esquema 8).^{17,20,21}

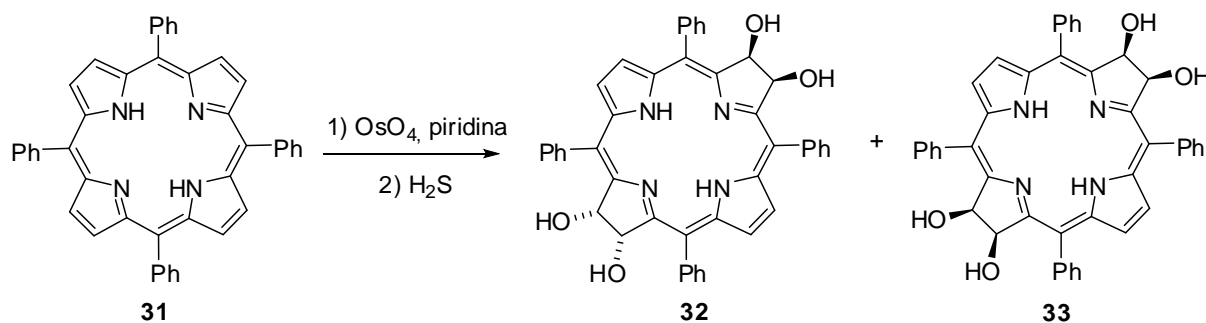


Esquema 8. Síntese de bacterioclorinas via modificação estrutural da bacterioclorofila *a*.

A redução de porfirinas é um dos mais antigos métodos disponíveis para a obtenção de bacterioclorinas. Para a síntese de tais compostos, algumas abordagens envolvendo a redução das posições β -pirrólicas já foram realizadas, tais como redução de porfirinas com *p*-toluenosulfonil hidrazida¹⁸ (Esquema 9) ou com OsO_4 para a preparação de dióis²² (Esquema 10).



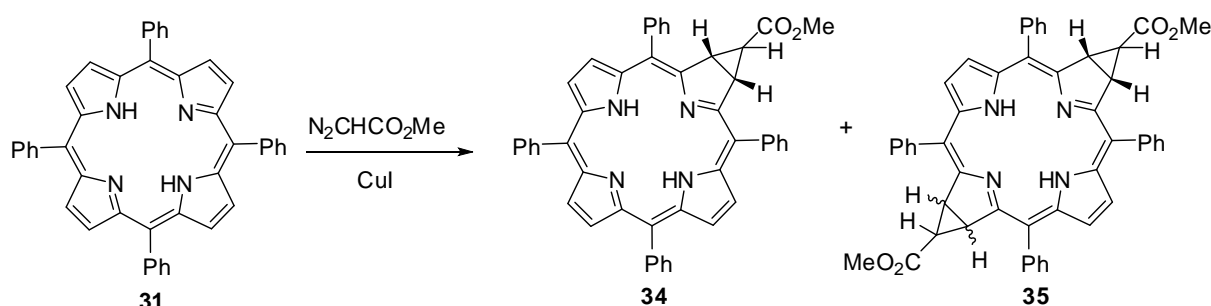
Esquema 9. Síntese de bacterioclorinas via redução de porfirinas com *p*-toluenosulfonil hidrazida.



Esquema 10. Síntese de bacterioclorinas *via* oxidação de porfirinas por OsO₄.

A hidrogenação de uma porfirina, tipicamente com di-imida, dá origem a bacterioclorina correspondente. Limitações desta abordagem incluem (i) formação de uma mistura de porfirina, clorina e bacterioclorina, o que pode provocar desafios na separação, (ii) a formação de regioisômeros dependendo do padrão de substituição do heterociclo, e (iii) susceptibilidade da bacterioclorina a desidrogenação acidental levando a derivados do tipo clorinas e porfirinas.¹⁷

Bacterioclorinas podem ser obtidas por reações quelatópicas de porfirinas com diazocompostos (Esquema 11).^{22,23}

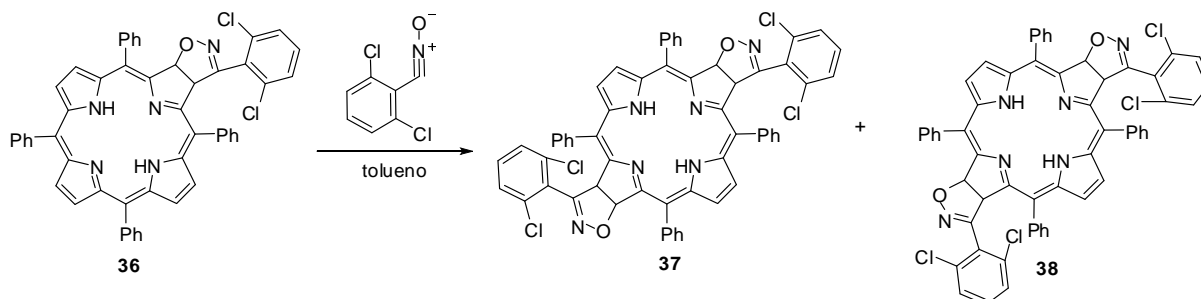


Esquema 11. Síntese de bacterioclorinas utilizando reações quelatópicas.

Reações de cicloadição de porfirinas já foram bastante estudadas, havendo na literatura muitos trabalhos sobre este tema.³³ Na prática, reações de cicloadição em porfirinas correspondem à uma redução.

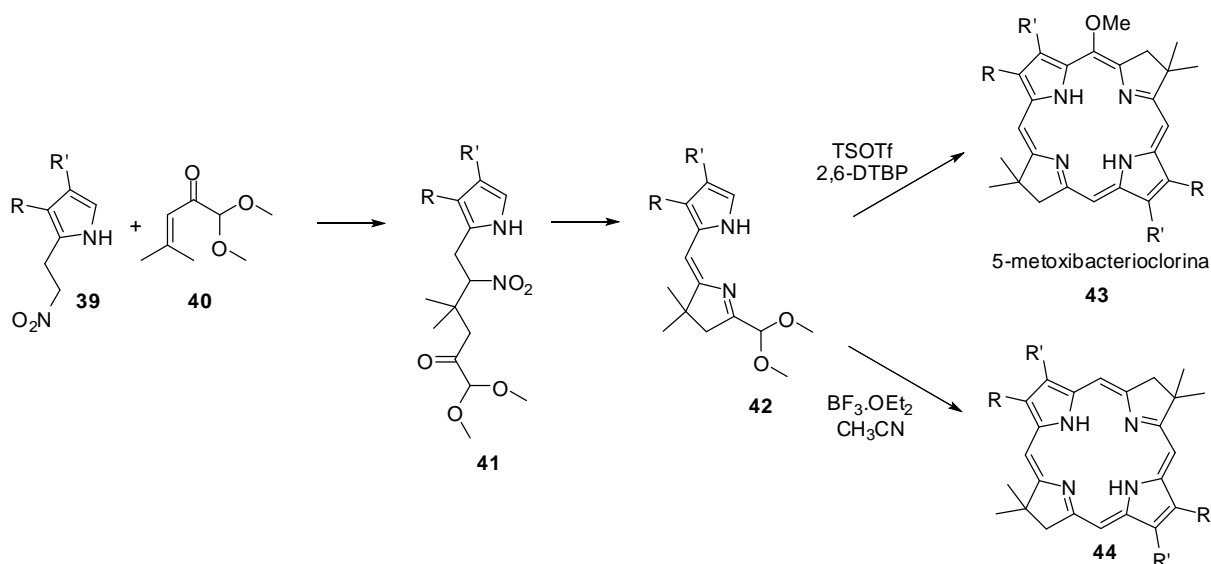
A reação de cicloadição 1,3-dipolar é uma importante e eficiente ferramenta para a construção, em uma etapa, de anéis heterocíclicos de cinco membros. Portanto, ela se torna uma via eficaz para a síntese de novos derivados porfirínicos.

A reação de clorinas como dipolarófilos em reações de cicloadição 1,3-dipolar, fornece derivados do tipo bacterioclorinas em ótimos rendimentos (Esquema 12).²⁴



Esquema 12. Síntese de bacterioclorinas utilizando reação de cicloadição 1,3-dipolar.

Uma recente abordagem sintética proporciona a síntese de novas bacterioclorinas em que um grupo dimetil geminal está presente em cada um dos anéis reduzidos. O grupo dimetil geminal confere uma grande estabilidade, pois diminui consideravelmente a possibilidade de oxidação das duplas β -pirrólicas (Esquema 13). Transformações subsequentes como, por exemplo, reações de acoplamento cruzado, condensações aldólicas e bromação regioseletiva, permitem um conjunto de diversas novas bacterioclorinas.^{17,23}

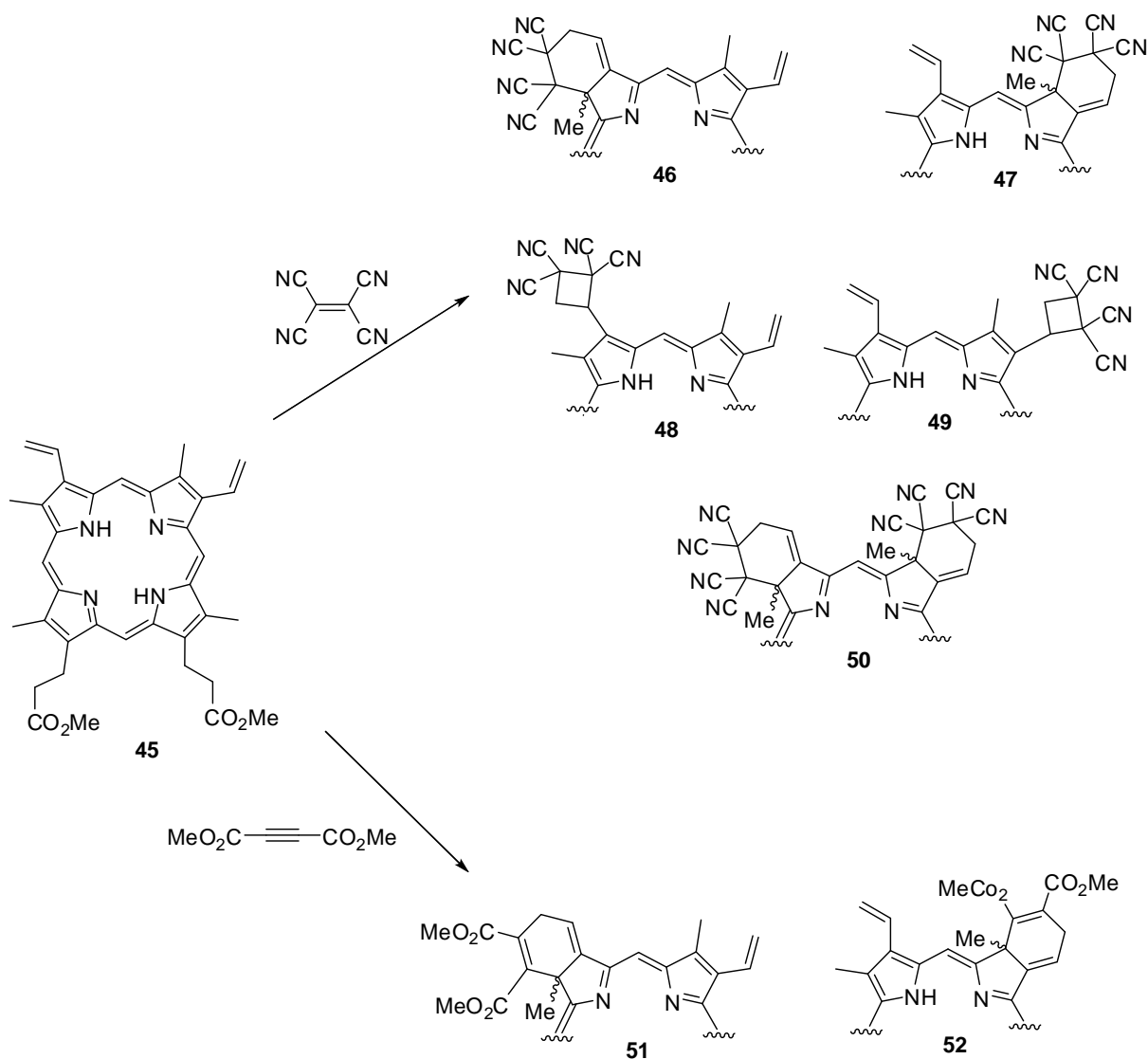


Esquema 13. Síntese total de bacterioclorinas.

1.3 Porfirinas e Reações de cicloadição

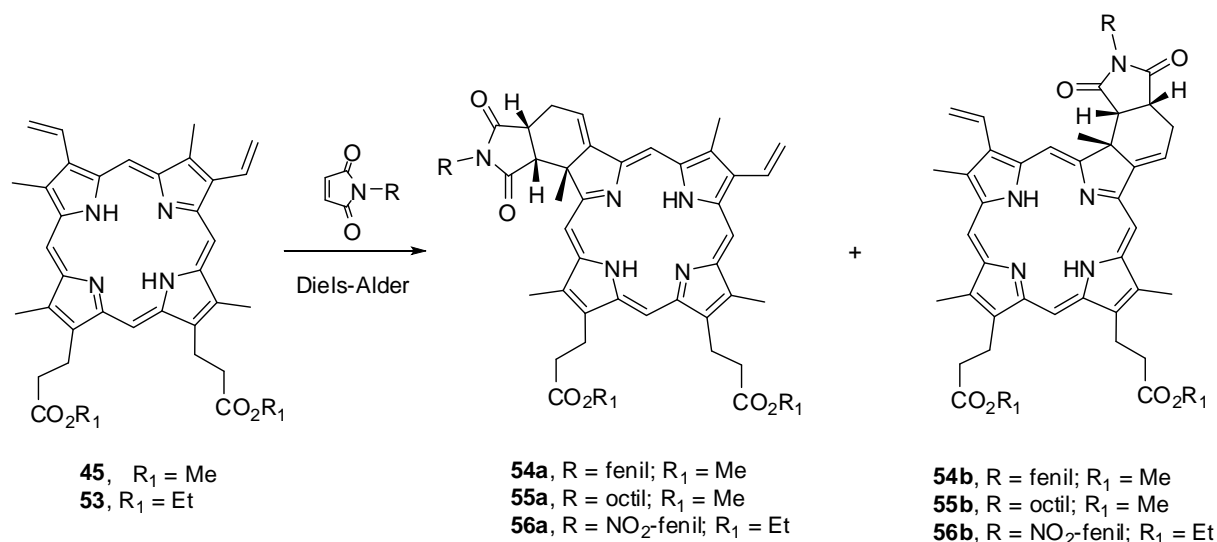
Nos últimos anos, as reações de cicloadição ganharam particular interesse na funcionalização de novos compostos porfirínicos e seus derivados. Porfirinas que possuem grupos substituintes adequados podem participar destas reações como dienos, dienófilos, dipolarófilos e ainda como 1,3-dipolos.²⁵ Adicionalmente, também podem participar de eletrociclicações e reações queletrópicas com carbenos.²⁵

Os primeiros estudos envolvendo cicloadições e porfirinas consideraram estes compostos como dienos ou como 1,3-dipolos.²⁸ Em 1980 foram publicados trabalhos usando uma vinil-porfirina, quando o éster dimetílico da protoporfirina-IX foi usado como dieno em reações de Diels-Alder com tetracianoetileno (TCNE) ou com acetilenoedicarboxilato (DMAD), originando vários produtos de cicloadição $[2\pi+2\pi]$ e $[4\pi+2\pi]$. Este foi o primeiro exemplo de transformação de porfirinas em clorinas através de reações de cicloadição (Esquema 14).²⁹



Esquema 14. Síntese de vários derivados de clorina a partir da reação do éster dimetílico da protoporfirina-IX com TCNE e DMAD

Em geral, o uso de dienófilos do tipo anidrido, imida e outros alcenos dicarbonilados parece adequado, pois não somente reagem com porfirinas diênicas, transformando-as em suas respectivas clorinas, mas também tem sido uma abordagem versátil para a preparação de clorinas anfífilas, impedidas de agregação.²⁶ Resultados recentes de pesquisas envolvendo a colaboração de nosso grupo mostram que clorinas sintetizadas a partir do éster dimetílico da protoporfirina IX (45) e maleimidas possuem excelente atividade fotodinâmica e são livres de agregação em solução (Esquema 15).²⁶



Esquema 15. Síntese de novas clorinas de baixa agregação.

Neste caso, o anel formado durante a cicloadição deixa o grupo funcional (do tipo maleimida) inserido em uma posição axial em relação ao plano do heterociclo tetrapirrólico (Figura 7) diminuindo consideravelmente a agregação destes compostos em solução.

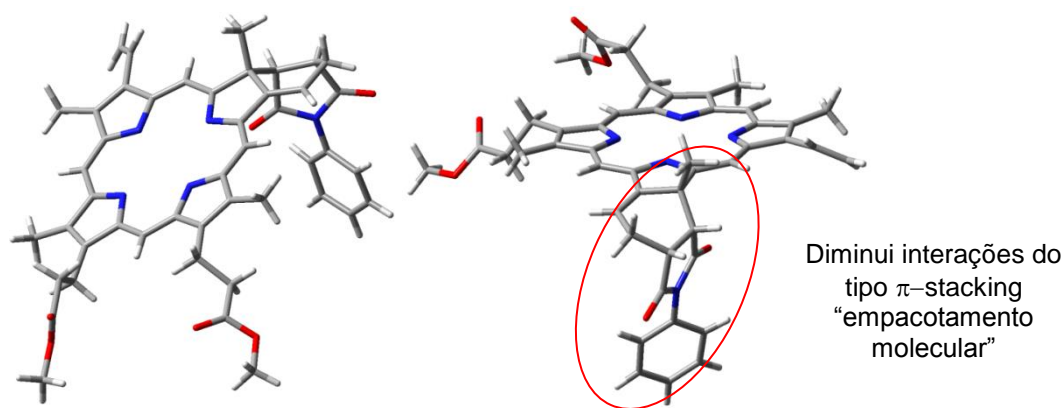
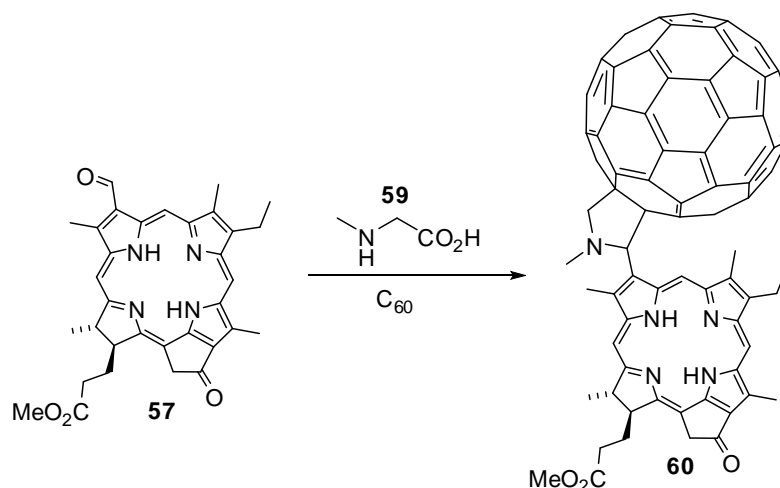


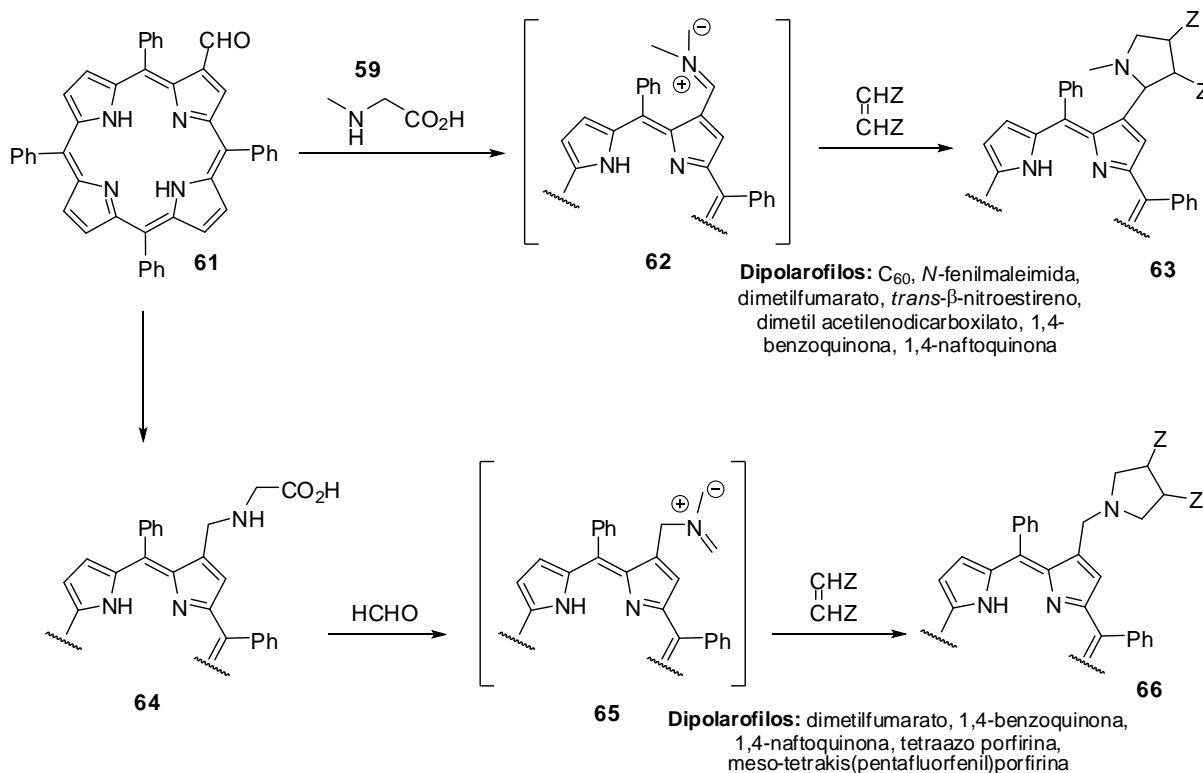
Figura 7. Exemplo de uma estrutura sintetizada recentemente (raio-X).²⁶

Em 1995, Boyd e colaboradores²⁷ sintetizaram uma porfirina de fulereno C_{60} por meio de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar, envolvendo uma ílideo de azometino porfirina. O ílideo foi gerado *in situ* a partir de β -formil-meso-tetrafenilporfirina (**57**) e *N*-metilglicina (**59**), fornecendo a C_{60} -porfirina (**60**) em bom rendimento (Esquema 16).



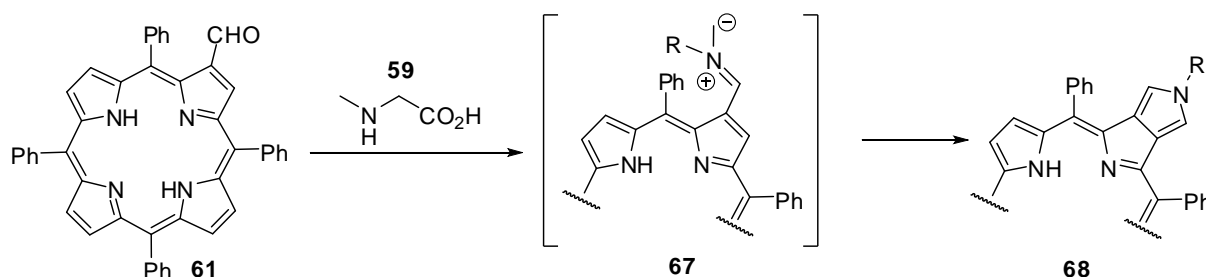
Esquema 16. Reação de porfirinas como 1,3-dipolo em reações de cicloadição 1,3-dipolar.

β -Formilporfirinas têm sido amplamente utilizadas como precursoras de ílideo de azometino, que reage com uma extensa variedade de dipolarófilos. Tipicamente os adutos correspondentes (ou seus derivados desidrogenados) são obtidos em bons rendimentos (Esquema 17).



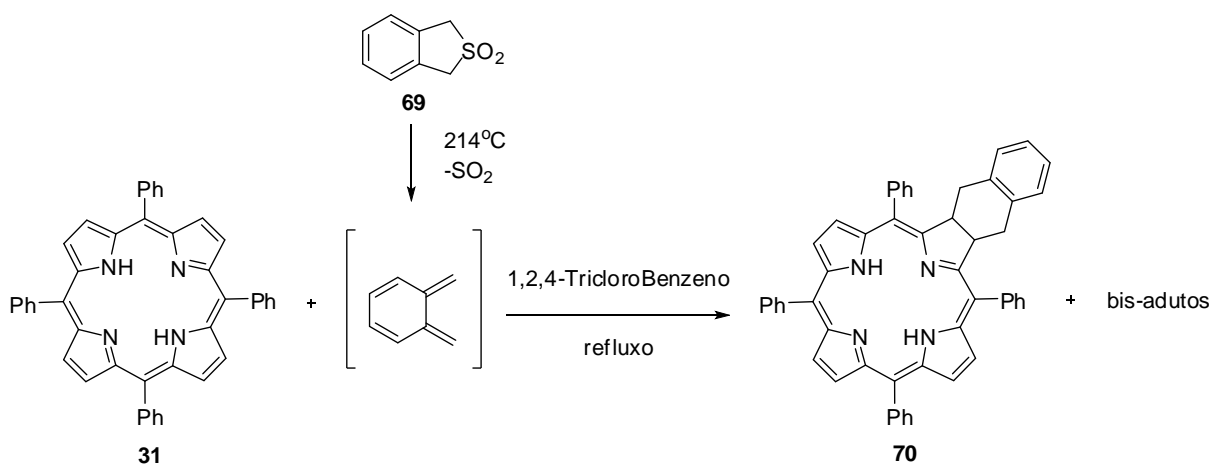
Esquema 17. Reação de porfirinas como 1,3-dipolo em reações de cicloadição 1,3-dipolar.

Na ausência de um dipolarófilo, íldeos de azometino podem reagir através de reações eletrocíclicas fornecendo pirroloporfirinas (**68**) (Esquema 18).

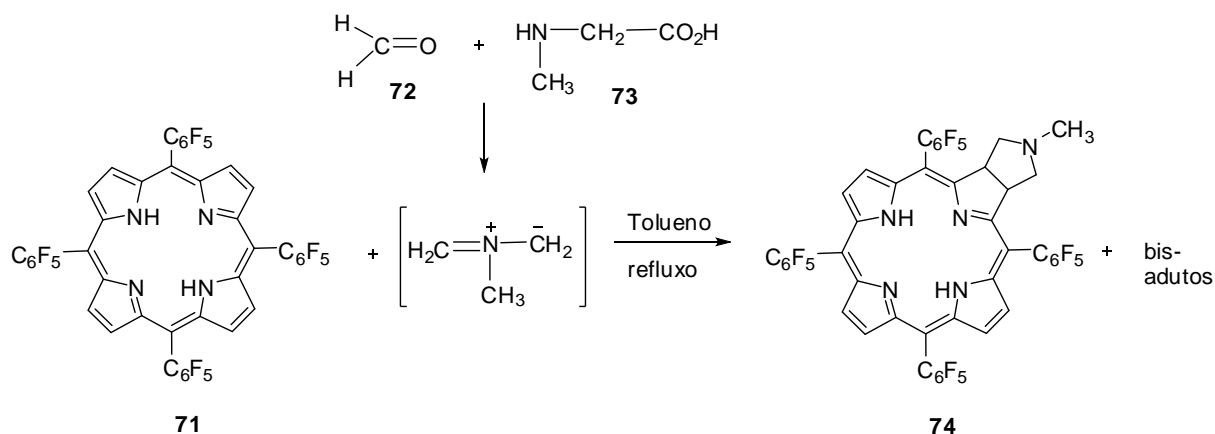


Esquema 18. Reação eletrocíclica na íldeo de azometino porfirina.

Entretanto, sabe-se que duas ligações duplas periféricas da porfirina (sistema contendo um total de 22 elétrons π) possuem reatividade similar aos alcenos uma vez que não são necessárias para manter a aromaticidade dos derivados porfirínicos (18 elétrons π). Devido a estas observações, na década de 90 foi investigado pela primeira vez que compostos do tipo porfirina podem participar como dienófilos em reações de Diels-Alder (Esquema 19),²⁸ ou como dipolarófilos em reações de cicloadição 1,3-dipolar (Esquema 20).²⁹

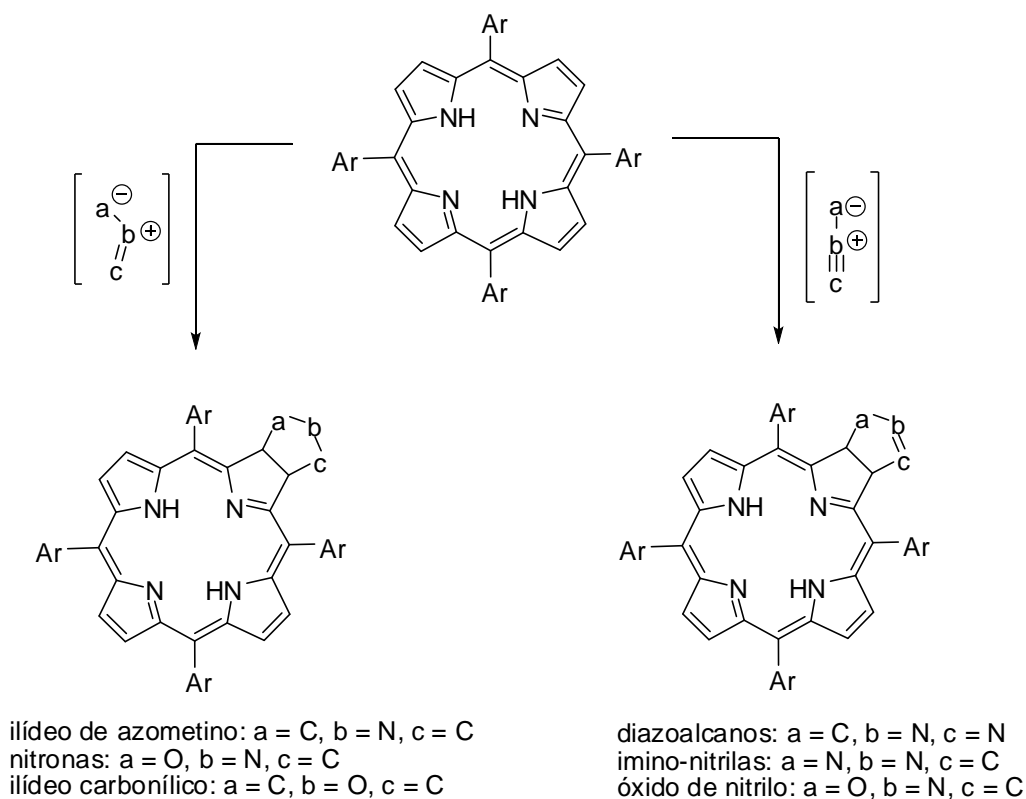


Esquema 19. Porfirina como dienófilo em reações Diels-Alder.



Esquema 20. Porfirina como dipolarófilo em reações 1,3-dipolar.

Porfirinas como dipolarófilos em reação de cicloadição 1,3 reagem com uma imensa variedade de 1,3-dipolos, tais como ílideo de azometino,^{29,30} diazoalcanos,³¹ nitronas,³² imino-nitrilas,³³ ílideo carbonílico³⁴ e óxido de nitrilo^{24,35,64} (Esquema 21).



Esquema 21. Porfirina como dipolarófilo em reações 1,3-dipolar.

1.4 Terapia Fotodinâmica

Nos dias atuais tem sido bastante frequente a busca por técnicas e tecnologias mais eficientes no que diz respeito ao tratamento de doenças as quais perturbam a humanidade.¹ Em especial, no último século foram descobertas diversas potencialidades sobre a interação da luz com a matéria e, desde então, várias investigações têm sido exploradas, demonstrando avanços significativos para as diversas áreas da ciência.

O emprego deste processo fotodinâmico em meios vivos deu-se o nome de Terapia Fotodinâmica (PDT) e, desde então, a PDT tem se destacado como uma das mais importantes técnicas médico-terapêuticas utilizadas no combate de doenças neoplásicas, tratamentos oftálmicos, psoríase, doenças virais (herpes), doenças bacterianas, micoses, alguns tratamentos dermatológicos (acne), tratamento de doenças cardiovasculares, dentre outras.¹

Baseada na combinação de um fotossensibilizador e luz, a PDT (Figura 8) constitui uma terapia quase inócua às células sadias e faz uso de drogas adequadas para produzir espécies químicas extremamente reativas utilizando radiações de baixa energia na região do visível e NIR (600–750 nm “janela terapêutica”). A primeira etapa desta terapia envolve a administração, geralmente intravenosa, do fotossensibilizador que se liga as lipoproteínas de baixa densidade da corrente sanguínea. Uma vez que as células tumorais possuem maior quantidade de lipoproteínas de baixa densidade do que as células normais e como, apesar da elevada irrigação sanguínea, a drenagem linfática é reduzida, o fotossensibilizador concentra-se nestes tecidos e apresenta eliminação mais lenta. O fotossensibilizador é então ativado com luz a um determinado comprimento de onda onde absorve extensamente comparado com os cromóforos endógenos. Quando ativado, o fotossensibilizador fornece energia para o oxigênio molecular (O_2) gerando espécies reativas de oxigênio (1O_2 , $\cdot O_2^-$, $\cdot OH$, H_2O_2) (EROs) que promovem a oxidação de lipídios, aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos induzindo a necrose/apoptose celular e conseqüente regressão do tumor. Além disso, as espécies reativas de oxigênio indiretamente estimulam a liberação de alguns mediadores inflamatórios contribuindo para o processo de morte celular.²²

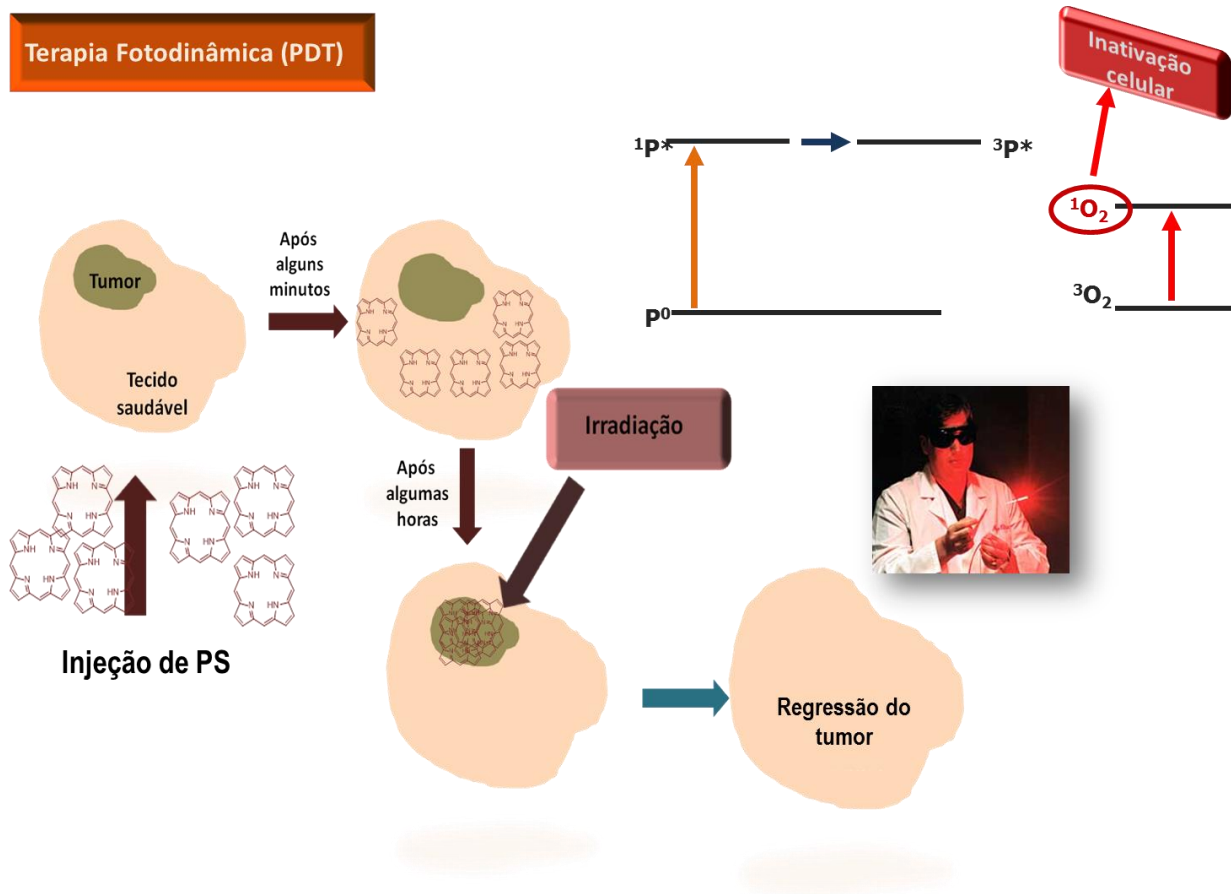


Figura 8. Esquema simplificado do processo de PDT.

O câncer é uma das doenças mais mortais do nosso tempo e em todo o mundo, bilhões de dólares são gastos anualmente em pesquisa a fim de curar ou melhorar os padrões de vida durante o seu tratamento. Os tratamentos tradicionais incluem cirurgia, radioterapia e quimioterapia. Estes tratamentos tradicionais possuem características invasivas, tempos de recuperação prolongados, são responsáveis por muitos efeitos colaterais que surgem no organismo do paciente (depressão do sistema imunológico, infertilidade, danos à superfície epitelial, náusea, vômito) e principalmente o transtorno social em função da desfiguração exibida frequentemente nas regiões das lesões. A PDT ainda não pode ser utilizada em substituição a todos procedimentos e tratamentos tradicionais, no entanto, possui diversas vantagens de uso, dentre os quais se destacam:³⁶

- Pode ser aplicada aos locais onde a cirurgia não pode ser realizadas;
- Os pacientes idosos e outros que são vulneráveis à quimioterapia, cirurgia ou radioterapia podem ser submetidos a este tratamento;

- Os tratamentos tradicionais como, por exemplo, a quimioterapia, muitas vezes pode levar a inúmeros efeitos colaterais, como náuseas e vômitos e, em alguns casos levando a deprimir o sistema imunitário que conduz a várias desordens imunológicas. Do mesmo modo, a radioterapia também tem efeitos secundários, como graves danos às superfícies epiteliais, infertilidade, inchaço dos tecidos moles, e outros efeitos nocivos. Por outro lado, os fotossensibilizadores utilizados sozinhos, sem a combinação adequada com a luz, não fazem mal ao organismo, podendo ficar dias ou meses nos rins ou fígado sem causar efeitos colaterais a estes órgãos;
- É relativamente um tratamento não invasivo;
- Pode ser utilizado tanto como um tratamento primário ou coadjuvante para cânceres na bexiga, esôfago, cabeça e pescoço, cérebro, pulmão, próstata, cavidade intraperitoneal, mama, próstata e pele.
- As substâncias ativas ou pró-ativas tendem a se acumular mais rapidamente nas células doentes e no endotélio de vasos sanguíneos mais jovens, uma vez que a divisão das células tumorais é bem mais acelerada que a das células saudáveis. Com isso, a razão entre a concentração do fotossensibilizador nas células tumorais em relação às células normais, passa a ser substancialmente maior, possibilitando, no caso da PDT, irradiar pontualmente as lesões e produzir o menor dano possível para os tecidos saudáveis.

A utilização de radiações na região da janela terapêutica (600-750 nm) é estratégica, já que nessa região a transparência do tecido biológico é elevada e a absorção desta irradiação por moléculas endógenas do sistema biológico é praticamente nula, ou seja, inofensiva aos tecidos vivos.^{37,44} Além disso, estas radiações propiciam um efeito terapêutico adequado devido a maior penetração (em torno de 5-20 mm) para atingir o interior de tumores que incorporaram o fotossensibilizador (Figura 9).³⁸

Radiações Ideais – UV/Vis (especialmente na região do Vermelho)

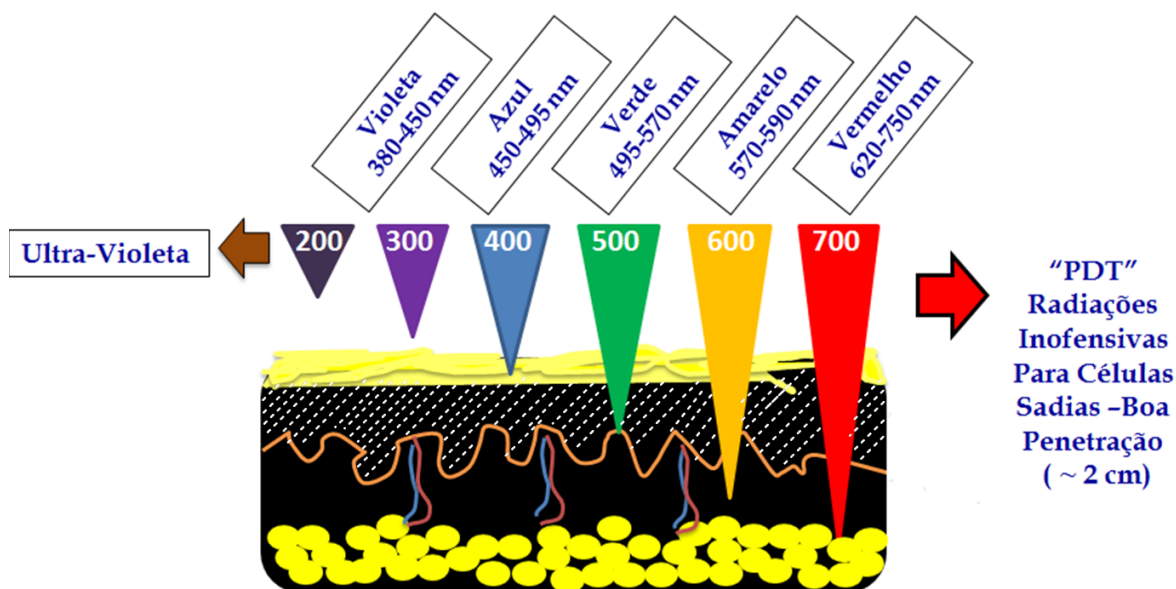


Figura 9. Profundidade de penetração relativa luz de vários comprimentos de onda.

A utilização da luz como agente modulador da resposta biológica dos organismos vivos é conhecida há muito tempo. Seu uso como agente terapêutico data de 3000 a.C., quando os egípcios deram início a esse terapia através da ingestão de plantas (contendo os psoralenos, furo[3,2-g]-cumarina ou ácido 6-hidroxi-5-benzofuranoacrílico δ -lactona) e luz solar, para tratar doenças como o vitiligo. O sucesso do tratamento se baseava no desenvolvimento de uma reação fotoquímica mediada pelos psoralenos presentes nas plantas.³⁹ No entanto, a técnica começou a ser empregada com sistemática científica apenas atualmente. Historicamente, o primeiro trabalho científico utilizando a PDT foi apresentado por Raab em 1900,⁴⁰ descrevendo a morte de *Paramecia*, um microrganismo unicelular pela ação de acridina em presença de luz (Figura 10). Finsen, em 1901, apontou que a radiação solar poderia ser utilizada na cura de *Lupus vulgaris*. Em 1903, Tappeiner⁴¹ demonstrou a importância do oxigênio neste processo utilizando a aplicação tópica de eosina (Figura 10) e luz no tratamento de câncer em células basais. Ainda no início do século XX⁴² foram relatadas as primeiras utilizações de sistemas porfirínicos neste tipo de terapia e, desde então, o uso destas estruturas é cada vez mais crescente.

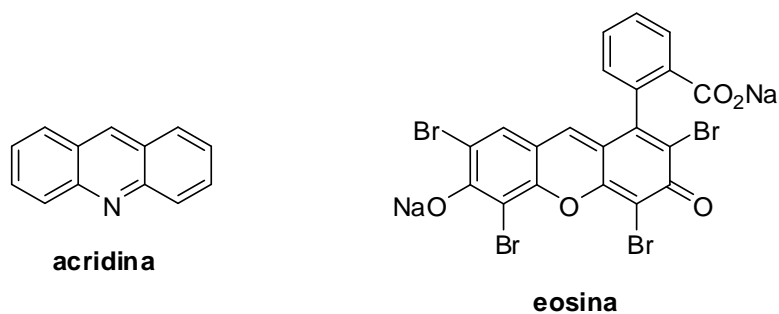


Figura 10. Estruturas dos fotossensibilizadores Acridina e Eosina.

Vários fármacos fotossensibilizadores têm sido desenvolvidos para aplicações em PDT nas últimas décadas. A respeito das aplicações de porfirinas e seus derivados, destaca-se uma das drogas mais utilizadas desde a consolidação deste tipo de terapia, o Photofrin[®], constituído de oligômeros da hematoporfirina (Figura 11). As porfirinas não possuem absorções relativamente intensas na região da janela terapêutica, porém alguns destes compostos têm demonstrado elevada eficiência enquanto fotossensibilizador em PDT.⁴³

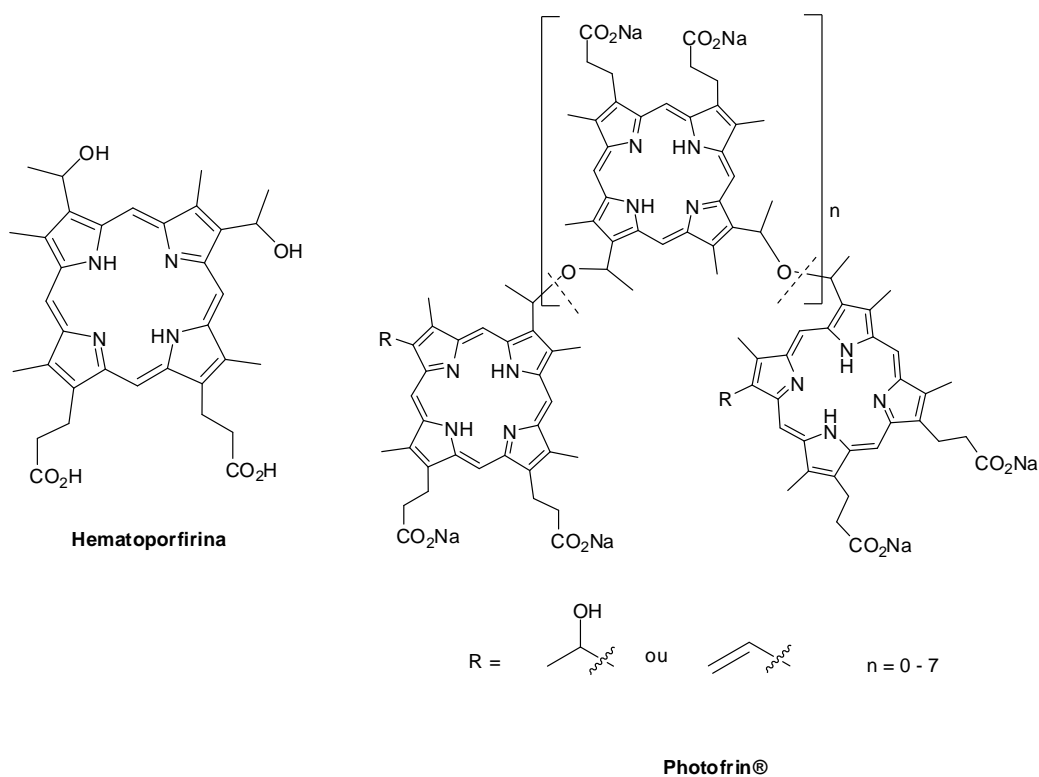


Figura 11. Hematoporfirina e Photofrin[®].

O Photofrin[®] (Figura 11) foi um dos primeiros fotossensibilizadores a ser sistematicamente estudado em PDT.⁴³ Seu espectro de absorção apresenta uma pequena banda de absorção entre 625-630 nm, comprimento de onda que permite uma penetração limitada da luz, entre 5-10 mm. Além disso, este composto possui uma limitação em seu perfil farmacocinético, pois sua acumulação na pele torna o paciente fotossensível com efeitos de até seis semanas.⁴⁴ Este problema, embora pequeno em comparação com as reações colaterais provocadas pelo tratamento com quimioterapia, limita a sua aplicação terapêutica.

Os fotossensibilizadores de 1ª geração, como o Photofrin[®], apesar de serem amplamente utilizados no tratamento de inúmeras variedades de cânceres ou de condições pré-cancerígenas, demonstraram algumas desvantagens. Destaca-se a fotossensibilidade cutânea prolongada, a baixa seletividade pelo tecido tumoral e ao fato de que a banda de absorção onde o fotossensibilizador é fotoativado ser fraca, não se encontrando na região ideal do espectro (janela terapêutica). Ao mesmo tempo, a maioria dos fotossensibilizadores de 1ª geração são misturas de composição variável, não tendo sido possível isolar nem caracterizar a principal substância ativa.⁴⁴

Na tentativa de superar as desvantagens dos fotossensibilizadores de 1ª geração, foram desenvolvidas novas moléculas cuja ação seletiva e a atividade fotodinâmica se mostraram melhores do que as que já se encontravam em comercialização. Surgem, então, os fotossensibilizadores de 2ª e 3ª geração. Estas moléculas apresentam algumas diferenças quando comparadas com as primeiras, quer nos intervalos que intercalam entre a administração do fotossensibilizador e a irradiação do tecido neoplásico, quer no que se refere à dose de fotossensibilizador administrada e luz requerida para desencadear a regressão tumoral. Os coeficientes de absorção e rendimentos quânticos são bem altos, comparados com os dos compostos de 1ª geração, possuem também farmacocinética favorável e fotossensibilidade não prolongada.

Alguns fotossensibilizadores de 2ª geração do tipo clorina já foram aprovados para uso clínico (Foscan[®], Visudyne[®]) enquanto outros se encontram em fase de estudos (Figura 12). Existem estudos que comprovam a superioridade, em tratamentos *in vitro* e *in vivo*, das clorinas MACE e DACE (Figura 12) comparado com o Photofrin[®] e com outros fotossensibilizadores de 1ª geração comerciais.⁴⁵

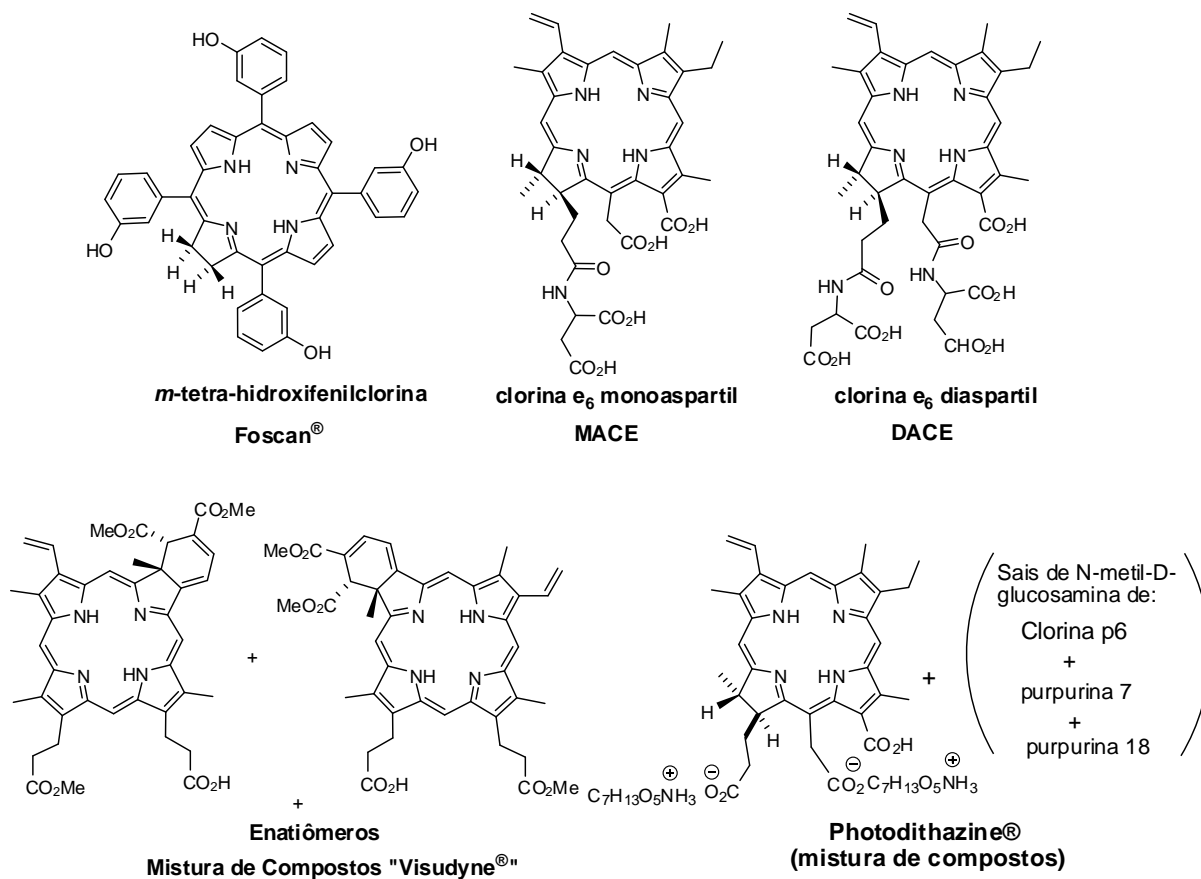


Figura 12. Alguns fotossensibilizadores comerciais ou em fase de estudos.

A síntese de um fotossensibilizador ideal ainda é um grande desafio. Dentre as características ideais desejadas para um fármaco fotossensibilizador, destacam-se:^{45,46}

- Características fotofísicas favoráveis
- Absorção na região do vermelho (“janela terapêutica”), permitindo deste modo maior penetração da luz para atingir tumores mais profundos;
- Baixa toxicidade no escuro;
- Não sofrer *photobleaching*, ou seja, não sofrer degradação pela luz;
- Não possuir efeito citotóxico prolongado, ou seja, rápida eliminação do corpo (farmacocinética favorável);
- Excelentes rendimentos quânticos na produção de oxigênio singlete;
- Fotossensibilidade não prolongada;
- Alta afinidade e penetração no tecido doente em detrimento do tecido saudável (seletividade)

- Ser solúvel em água, bem como em outros solventes injetáveis;
- Quimicamente puro e possuir uma rota sintética curta e de alto rendimento.
- Facilidade de obtenção em escala industrial a custos reduzidos,
- Formulação simples do fármaco, e que permita atribuir ao medicamento formulado um longo prazo de validade.

1.4.1 A Terapia Fotodinâmica – Mecanismos de Ação.

O processo de fotossensibilização é iniciado com a absorção de um fóton pelo fotossensibilizador. O fármaco fotossensível após absorver a luz, inicialmente no estado fundamental (^1FS) passa a popular um estado singlete excitado ($^1\text{FS}^*$). Após alguns nanossegundos o fotossensibilizador volta ao estado fundamental (^1FS), este retorno pode ocorrer por três maneiras distintas: *Decaimento não radiativo*, onde a energia absorvida é dissipada na forma de energia térmica (vibracional, translacional ou rotacional), *Decaimento radiativo por emissão de luz* (fluorescência), e assim retorna ao estado fundamental com λ superior à luz absorvida e por meio do *Processo de interconversão ou cruzamento intersistema*, o fármaco fotossensível decai do estado $^1\text{FS}^*$ para o excitado triplete de menor energia ($^3\text{FS}^*$).^{47,48,49} A substância fotossensível no estado triplete excitado ($^3\text{FS}^*$), apresenta um tempo de vida maior do que no estado singlete excitado ($^1\text{FS}^*$).^{50,51,52} Este decaimento energético é fundamental para a terapia fotodinâmica. Após, realizado o cruzamento intersistemas o fotossensibilizador pode sofrer um decaimento para o estado fundamental (^1FS) por via radioativa e com emissão por fosforescência. Este último processo implicará em uma nova inversão de spin. O decaimento do fotossensibilizador para o estado fundamental (^1FS) pode ocorrer também por via não radioativa onde a energia liberada poderá causar modificações químicas em moléculas (no caso oxigênio) ou mesmo substratos biológicos (mecanismo tipo I e mecanismo tipo II).

No diagrama de Jablonski modificado (Figura 13), estão representados os processos fotofísicos e fotoquímicos que um FS pode sofrer após a absorção de radiação visível.

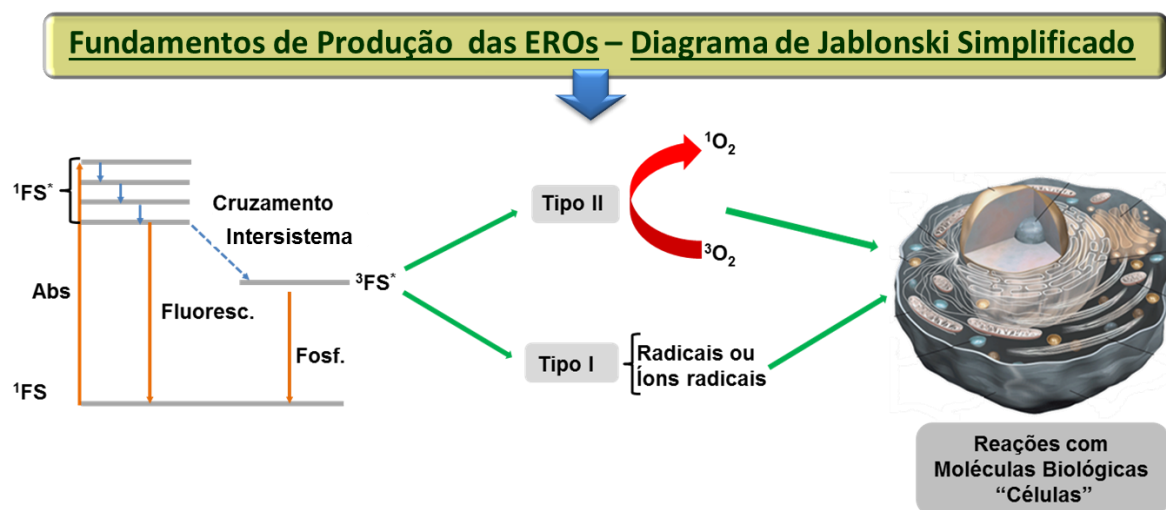
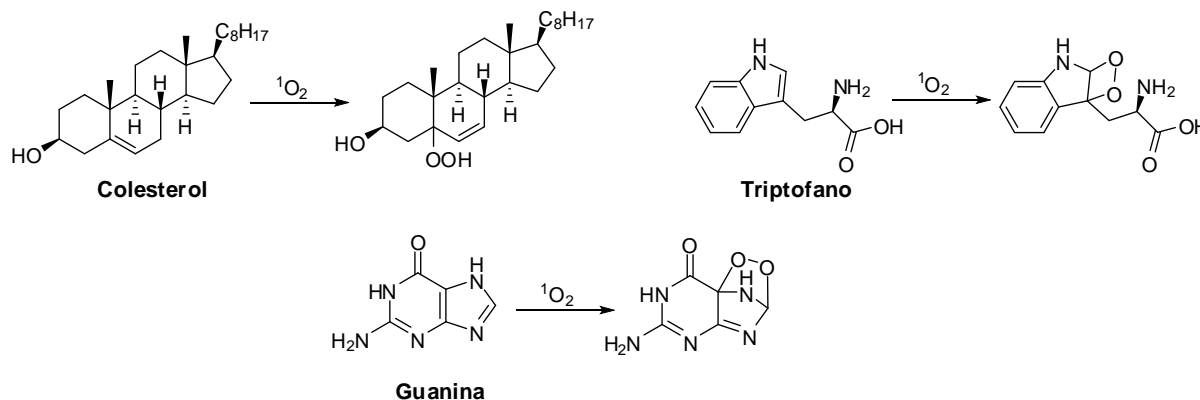


Figura 13. Diagrama de Jablonski simplificado.

Os processos de fotossensibilização podem ser explicados através de dois mecanismos distintos:^{53,48}

O mecanismo tipo I, envolve reações de transferência de elétrons e/ou extração de átomos de hidrogênio entre o fotossensibilizador e um substrato (biológico, solvente ou outro fotossensibilizador) e produzir assim radicais e/ou íons radicais. Estas espécies radicalares por serem altamente reativas, podem causar destruições dos tecidos irradiados, mas também, podem interagir facilmente com o oxigênio molecular e gerar espécies reativas de oxigênio como ânion superóxido ou hidroxila os quais também são citotóxicos.⁵⁴

No mecanismo tipo II, ocorre à transferência de energia para o oxigênio molecular triplete com formação do oxigênio singleto (1O_2). O oxigênio singleto é uma espécie altamente reativa que oxida vários substratos biológicos. Acredita-se que o oxigênio singleto, seja o principal mediador dos danos fotodinâmicos nos sistemas biológicos, pois reage rapidamente e indiscriminadamente com os mais variados materiais biológicos eletrofílicos como: lipídios insaturados, proteínas, ácidos nucleicos, membranas celulares, mitocôndrias, lisossomos, núcleos, entre outros, sendo apontado como o principal responsável pela inativação da célula tumoral (Esquema 22).⁵⁵ Após a irradiação do tumor ocorre uma cascata de respostas biológicas, tais como a acumulação de macrófagos, plaquetas, liberação de citocinas e prostaglandinas, as quais são responsáveis por dar início ao processo de necrose das células tumorais.^{56,22}



Esquema 22. Algumas reações de moléculas biológicas na presença de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$).

A incorporação do fotossensibilizador pelas células está fortemente relacionada a propriedades como a polaridade, visto que tem sido observada uma incorporação maior para moléculas com caráter anfifílico mais acentuado.^{57,58} Entretanto, além da incorporação, outro ponto para o qual se deve atentar é o transporte do fármaco pelo organismo. Compostos anfifílicos são mais facilmente administrados, uma vez que é possível preparar soluções dos mesmos em solventes polares compatíveis com meios biológicos como a água. Compostos hidrofóbicos, por sua vez, podem ser administrados por meio de lipossomas fosfolipídicas, cujo transporte é feito com a ajuda de lipoproteínas do plasma, ou em emulsão de base de óleo.⁴³

Quando introduzidas em um meio incompatível com seu caráter hidrofílico/hidrofóbico, as moléculas do fotossensibilizador tendem a se unir umas às outras, formando estruturas de empacotamento conhecidas como agregados. Isto ocorre para maximizar as interações favoráveis entre as moléculas e minimizar as interações com o meio externo. A formação de agregados diminui a eficiência fotodinâmica do sensibilizador, já que parte de suas propriedades fotofísicas são modificadas. Os principais efeitos causados pela agregação são a redução do tempo de meia vida do estado triplete e do rendimento quântico de oxigênio singlete.^{45,59}

Objetivos

2. Objetivos

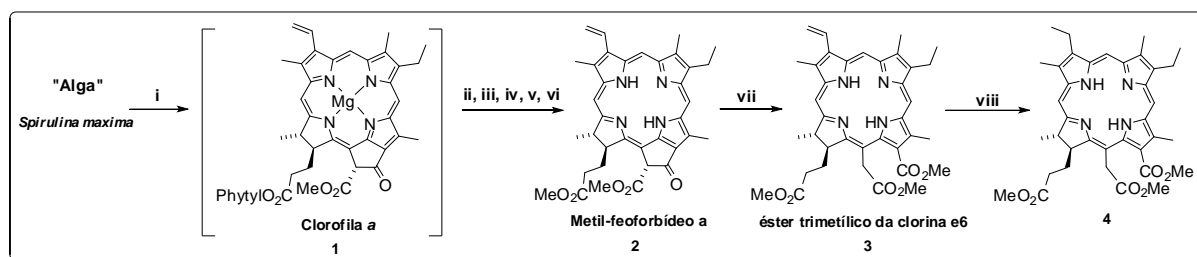
Os objetivos deste projeto estão focados na síntese de novos fotossensibilizadores através de reações de funcionalização da clorofila a (1), visando à obtenção de bacterioclorinas de baixa agregação, assim como nos estudos de caracterizações estruturais, e nas avaliações fotofísicas preliminares a fim de verificar o potencial dos compostos sintetizados enquanto fotossensibilizadores para o uso na Terapia Fotodinâmica.

Plano de Pesquisa

3. Plano de Pesquisa

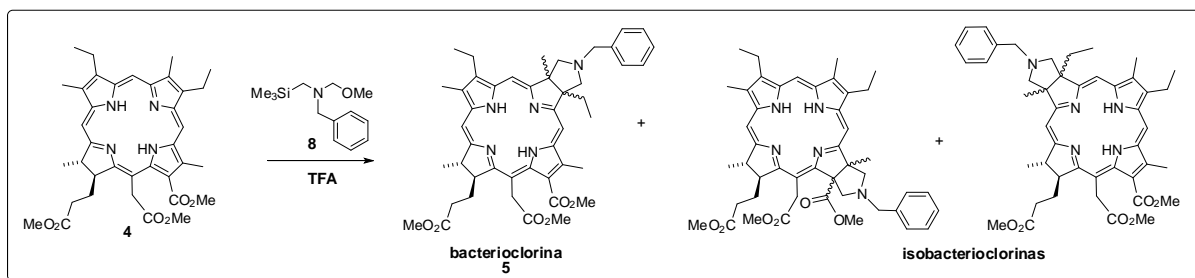
Os pigmentos naturais desempenham funções vitais na manutenção da vida. Os principais deles, derivados do tipo clorofilas, estão relacionados ao metabolismo primário das plantas, a fotossíntese. Neste sentido, a própria natureza confere um dos exemplos mais bem sucedidos sobre o uso de reações fotocatalisadas, dando-nos um indício positivo sobre a utilização de luz/fotossensibilizador nas transformações de compostos orgânicos e em algumas terapias, como a PDT. Desta forma, este trabalho envolveu alguns estudos sobre a síntese de novos fotossensibilizadores do tipo bacterioclorinas, através de funcionalizações do pigmento clorofila *a*, seguido da utilização de reações de cicloadição 1,3-dipolar e reações de Diels-Alder.

Nossa proposta sintética inicia-se pelo procedimento de extração/transformação “one-pot” obtendo-se o derivado do tipo metil-feoforbídeo **2** diretamente da reação da alga *Spirulina maxima* desidratada na presença de metanol/H₂SO₄ 5% (v/v). Na etapa subsequente foi proposta uma reação de retro Dieckman para a abertura do anel exocíclico de **2**. Em seguida, foi proposta a redução da dupla exocíclica do composto **3** sob catálise por paládio em carbono, fornecendo **4**, que é o material de partida para os estudos de cicloadição 1,3-dipolar (Esquema 23).



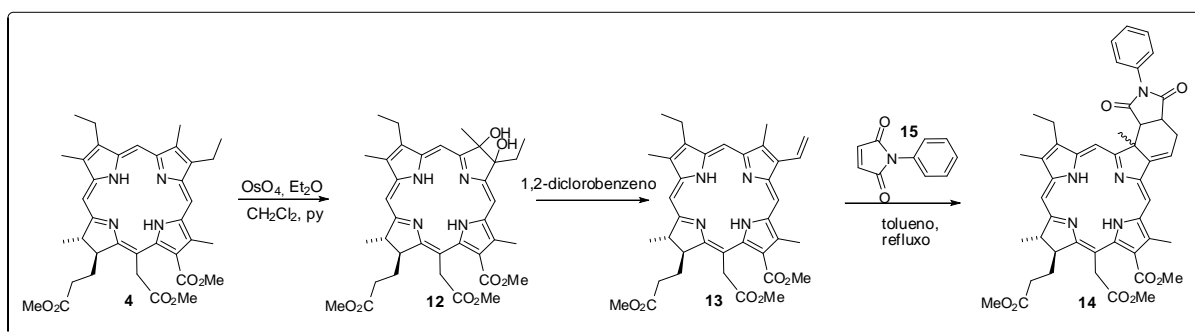
Esquema 23. Reações de funcionalização do pigmento natural clorofila *a*. i, ii, iii, iv, v, vi) extração/transformação “one-pot” do composto **2** da reação da alga *Spirulina maxima* desidratada na presença de MeOH/H₂SO₄ 5% (v/v). vii) MeONa/MeOH, t.a., 8h. viii) H₂, 1 atm, Pd/C.

Então foram propostos alguns estudos sobre a reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando o composto **8** o qual gera *in situ* um dipolo do tipo ílideo de azometino pela reação com ácido trifluoracético (TFA) (Esquema 24).



Esquema 24. Síntese de novos derivados porfirínicos de baixa agregação.

Por fim, propusemos uma abordagem sintética alternativa envolvendo a preparação do composto **14** (Esquema 25). Através de uma reação de *bis*-hidroxilação em **4** seria produzido **12**, que após desidratação forneceria a vinil clorina **13**, material de partida para a reação de Diels-Alder com a *N*-fenilmaleimida (**15**). O composto **14** possuiria de forma similar as características desejadas dentro do objetivo geral deste trabalho – síntese de bacteriochlorinas de baixa agregação.



Esquema 25. Segunda abordagem sintética para a síntese de bacteriochlorinas de baixa agregação.

Deve-se destacar que no projeto de pesquisa original foram sugeridos ainda alguns estudos fotofísicos e de agregação.

Resultados e Discussão

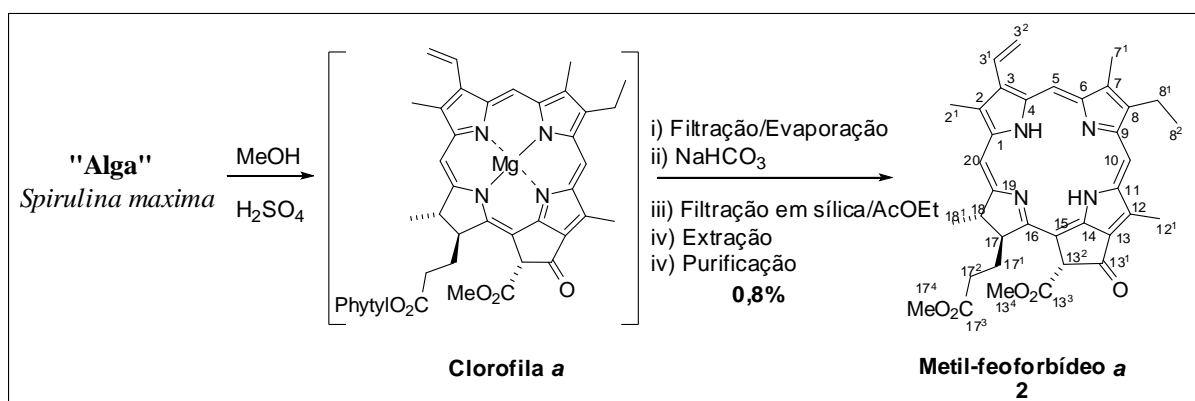
4. Resultados e Discussão

4.1 Reações de funcionalização da clorofila a

Como mencionado no Esquema 1, nossa abordagem sintética iniciou-se pelo procedimento de extração de **1**, que já se encontrava relatado na literatura.⁶⁰ Também, estão relatados procedimentos de extração/transformação “one-pot” obtendo-se o derivado do tipo metil-feoforbídeo a (**2**) diretamente da reação da alga desidratada com solução de metanol/H₂SO₄ 5% (v/v). Entretanto, os procedimentos de isolamento e purificação descritos não se mostraram eficientes, devido à formação de emulsões, contaminação com resíduos de alga, dentre outros problemas.

Algumas modificações foram propostas a fim de se obter o composto **2** em melhores rendimentos e com um maior grau de pureza (Esquema 26). Assim, o procedimento de extração foi realizado na presença de metanol e H₂SO₄ a 5% v/v durante períodos que variaram entre 24-48h. Neste procedimento ocorrem simultaneamente duas transformações que são a desmetalção e a transesterificação do grupo fitil. O processo de isolamento foi o que sofreu as maiores modificações em relação ao descrito na literatura. Para tanto, o meio reacional foi filtrado em funil de placa porosa com o objetivo de separar a alga do extrato, então, o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida. Depois de concentrado adicionou-se gelo ao mesmo e, em seguida, neutralizou-se com bicarbonato de sódio. O extrato neutralizado foi filtrado utilizando um funil de placa porosa com uma camada de sílica gel “flash”. O composto **2**, nesta etapa, encontra-se precipitado, portanto, fica retido na sílica enquanto as impurezas solúveis são filtradas, e lavadas com água. Esta etapa foi fundamental para remover diversos resíduos de alga, peptídeos e demais impurezas hidrossolúveis que contribuíam fortemente para a formação de emulsões. A extração do material orgânico fotossensibilizador foi então realizada com acetato de etila. A purificação do extrato foi realizada por cromatografia de coluna “flash”, obtendo-se o composto **2** com um excelente grau de pureza e rendimentos da ordem 0,5-0,8% considerando a massa bruta de alga. As análises de RMN de ¹H (1D e 2D) confirmam a estrutura do produto obtido.

Os espectros de clorinas em geral mostram que o efeito anisotrópico devido à corrente eletrônica do anel desprotege os hidrogênios *meso*. Para o composto **2** os sinais dos hidrogênios *meso* 10, 5, 20 (Esquema 26) apresentam um deslocamento químico de 9,44, 9,29, 8,54 ppm, respectivamente. Além dos sinais característicos de clorinas, os hidrogênios *meso* e os hidrogênios dos nitrogênios centrais, os sinais significativos neste processo de elucidação estrutural são aqueles que demonstram a presença do anel exocíclico e do β -cetoéster. Para o composto **2** um sinal característico é o hidrogênio 13² que aparece com um deslocamento químico de 6,25ppm. Além das caracterizações por RMN de ¹H e ¹³C foi obtida ainda uma análise por raios-x (Figura 14) confirmando inequivocamente a estrutura **2**.



Esquema 26. Extração e purificação do metil-feoforbídeo a (**2**).

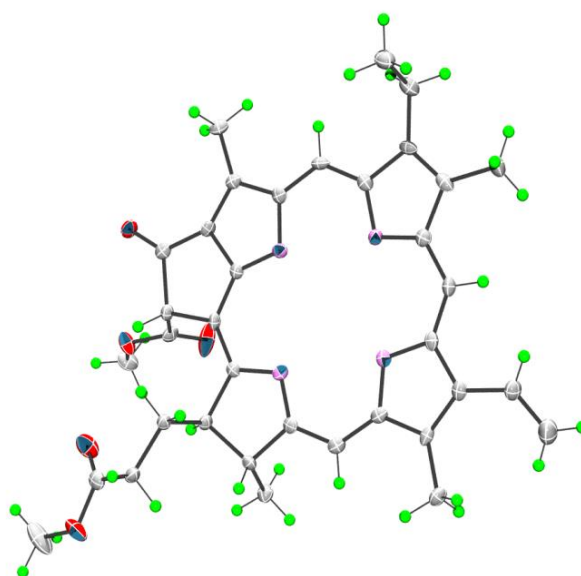
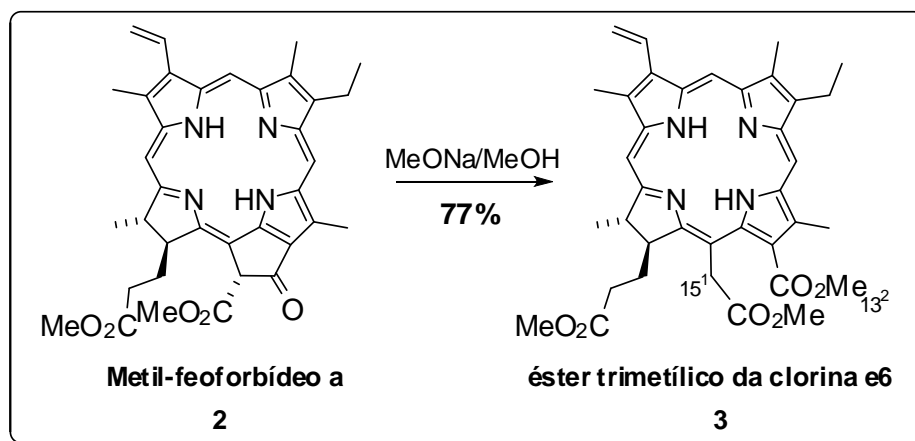


Figura 14. Proposta estrutural por raios-X do composto metil-feoforbídeo a (**2**).

O composto **2** foi preparado na escala de alguns gramas, afim de permitir os estudos propostos.

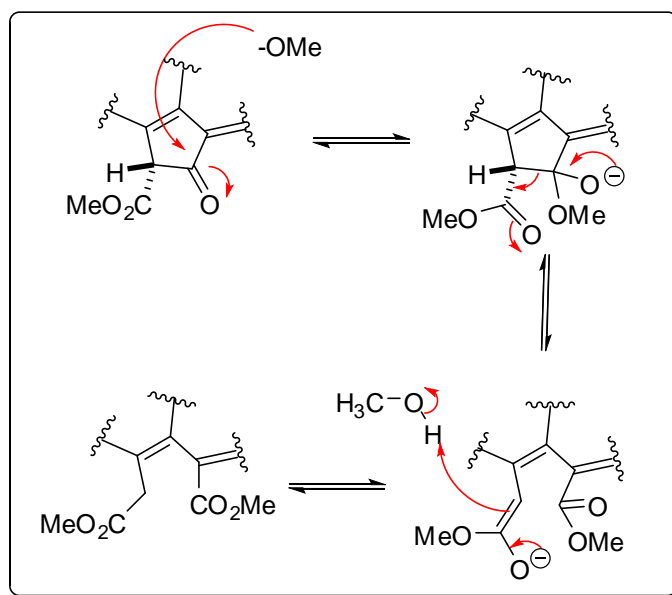
A etapa seguinte consistiu na abertura do anel exocíclico de **2** (reação na porção do tipo β -cetoéster) - uma reação de retro Dieckmann (Esquema 27).



Esquema 27. Síntese do éster trimetílico da clorina e₆ (**3**).

A reação de Dieckmann é uma reação de condensação de Claisen intramolecular que forma um anel de cinco membros, β -cetoéster. Na condensação de Dieckmann existe um equilíbrio entre o material de partida e o produto, então, um excesso de base favorece o produto de condensação. Desta forma, a reação de retro Dieckmann é favorecida por uma menor quantidade de equivalentes de base.

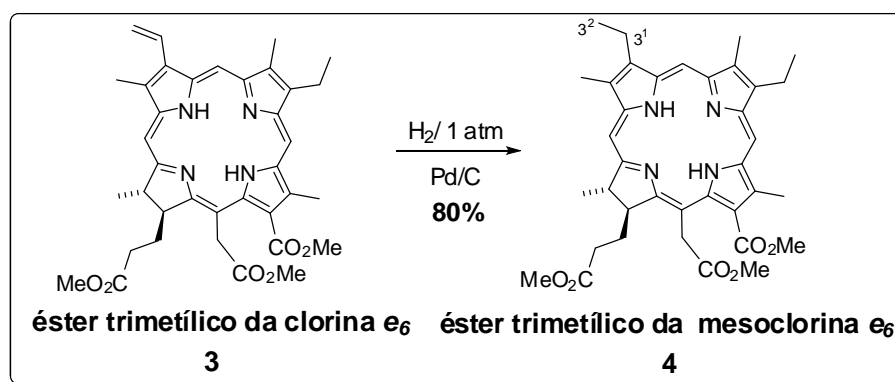
O mecanismo da reação de retro Dieckmann é demonstrado a seguir, Esquema 28:



Esquema 28. Mecanismo geral de uma reação de retro-Dieckmann.

Após a purificação, o composto **3**, foi obtido com rendimento de 77% e caracterizado por análise de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e bidimensional heteronuclear, incluindo g-HMBC, g-HSQC, g-COSY e g-NOESY). Os sinais significativos no processo de elucidação estrutural deste composto são os que demonstram a abertura do anel β -cetoéster. Observamos o aparecimento de dois dubletos relativos aos dois hidrogênio 15^1 com deslocamento químico em 5,23 e 5,34 ppm e o aparecimento de um sinal em 4,40 ppm relativo aos hidrogênios da metoxila 13^2 .

Após a preparação do composto **3**, partiu-se para a próxima etapa, uma redução da dupla exocíclica utilizando uma reação de hidrogenação catalisada por paládio em carbono (Esquema 29).



Esquema 29. Síntese do éster trimetílico da mesoclorina e_6 (**4**).

A reação pôde ser acompanhada apenas por análise de UV-vis observando-se o deslocamento da banda Q de $\lambda_{\text{máx}}$ em 666 nm para 651 nm (Figura 15), já que o material de partida e o produto possuem os mesmos R_{fs} por CCD.

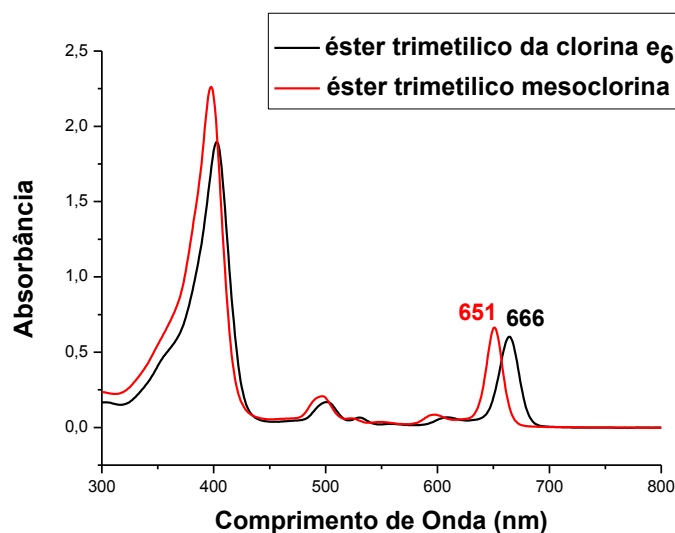
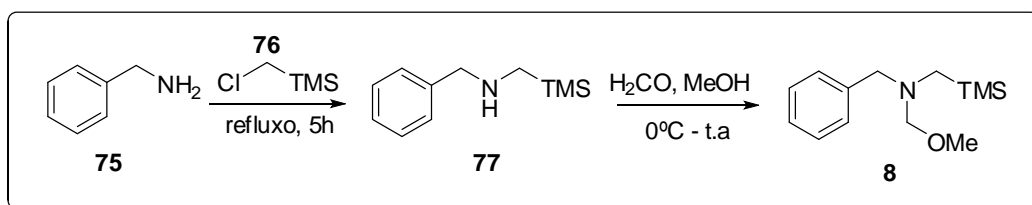


Figura 15. Deslocamento da banda Q na reação de hidrogenação.

Ao final da reação, o meio reacional foi filtrado num funil de placa porosa com uma camada de celite e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi cristalizado com diclorometano e hexano (rendimento de 80%). O composto **4** foi caracterizado por análise de RMN de ^1H e ^{13}C . No espectro de hidrogênio deste composto podemos observar a ausência do duplo dubleto em 8,05 ppm sinal característico do hidrogênio 3^1 , a ausência deste sinal confirma a redução da dupla. O surgimento de mais um grupo etil (quadrupeto em 3,86 ppm e multipeto em 1,68 - 1,76 ppm) também foi determinante para atribuir esta estrutura. Os demais sinais esperados foram todos observados e atribuídos conforme apresentado na sessão de espectros.

4.2 Abordagem sintética para a preparação dos materiais de partida (1,3-dipolos) e reações de cicloadição 1,3-dipolar

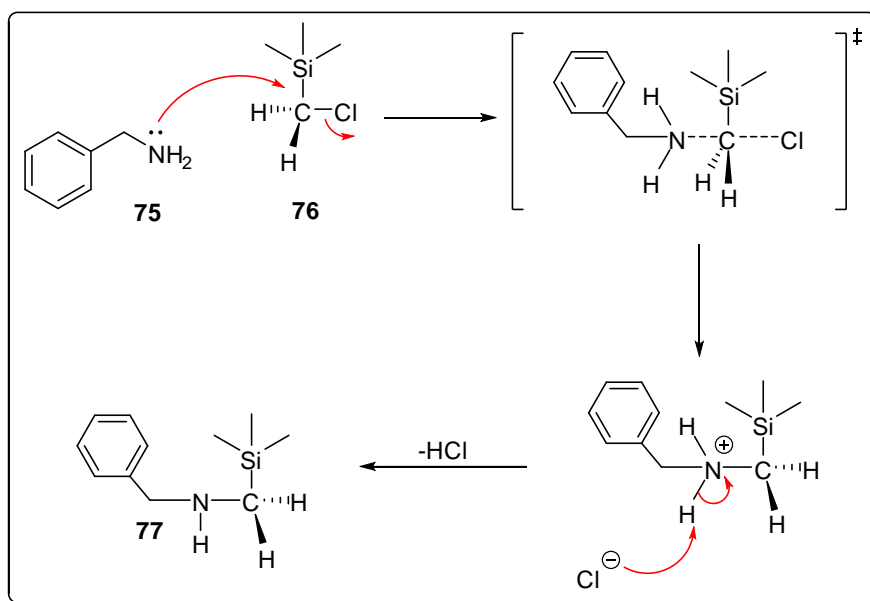
Após a obtenção do composto **4** partimos para a síntese do precursor do 1,3-dipolo, o composto **8**. A metodologia sintética utilizada encontra-se no Esquema 30.



Esquema 30. Metodologia para a síntese do composto **8**.

Na primeira etapa fez-se reagir clorometiltrimetilsilano (**76**) e benzilamina (**75**) (

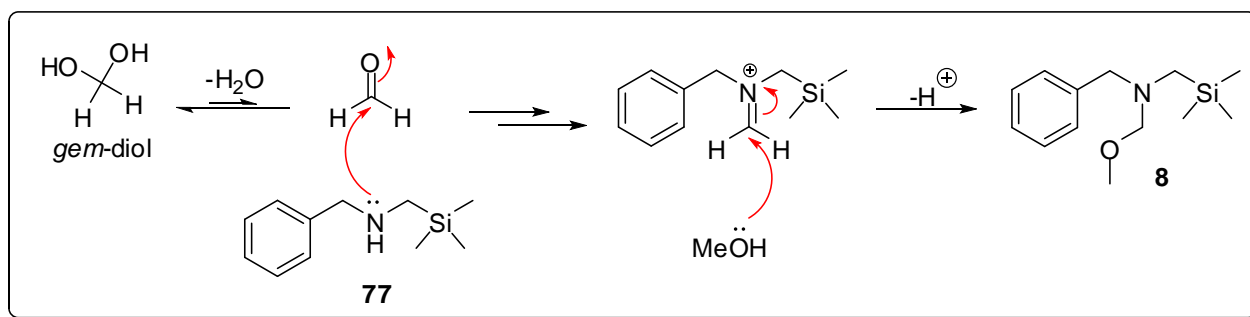
Esquema 31) a 150°C durante 5 h em atmosfera inerte. Terminou-se a reação com a adição de H_2O e extraiu-se com hexano. A purificação da mistura reacional foi efetuada por destilação sob pressão reduzida, obtendo-se a amina **77** com um rendimento de 80%.



Esquema 31. Mecanismo de formação do composto **77**.

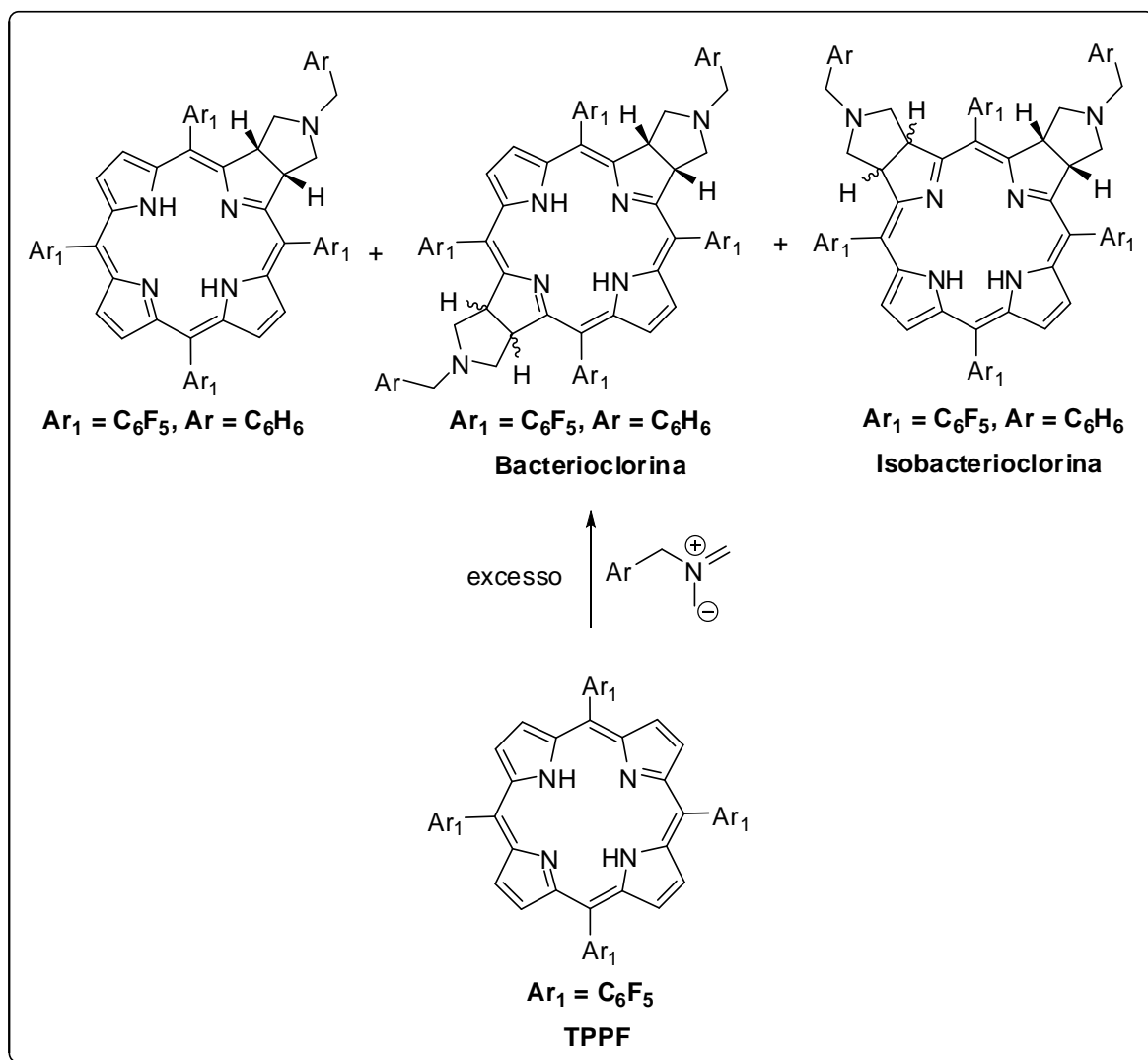
A etapa seguinte consistiu na obtenção do composto **8**. A uma solução contendo formaldeído aquoso 37% (v/v) e metanol à 0°C, foi adicionado o composto **77** gota a gota durante um período de 30 min. Após a adição, a reação foi deixada à temperatura ambiente por mais 4h. Ao fim deste período a mistura reacional foi extraída com diclorometano e, por fim, o composto **8** foi purificado por destilação sob pressão reduzida, sendo obtido com um rendimento de 69%.

O mecanismo desta reação é mostrado no Esquema 32. Nesta etapa reacional, o formaldeído encontra-se em equilíbrio com o seu respectivo gem-diol. A amina **77**, por sua vez, deve reagir com o aldeído formando o íon imínio que, após reação com o metanol e perda de um próton, deve levar à formação do precursor do dipolo **8**.



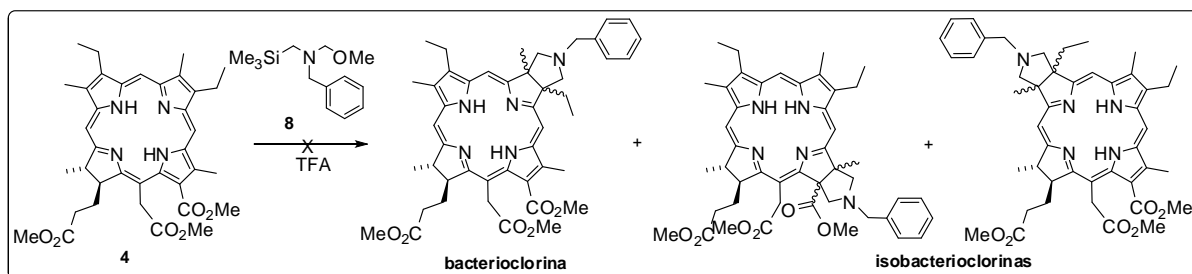
Esquema 32. Mecanismo de formação do composto **8**.

Após a síntese do composto **8** decidimos testar a formação e reatividade do dipolo e, para tanto, foi utilizada a tetrapentafluorfenilporfirina (TPPF) como modelo, uma porfirina conhecida por reagir com dipolos de demanda normal em reações de cicloadição 1,3-dipolar. A reação do ílideo de azometino benzílico com a TPPF em diclorometano anidro ocorreu à 0°C mediante catálise ácida de TFA rendendo uma mistura de clorinas e derivados, conforme mostrado no Esquema 33. Esse resultado demonstrou claramente a eficiência de geração do ílideo em solução e sua grande reatividade.



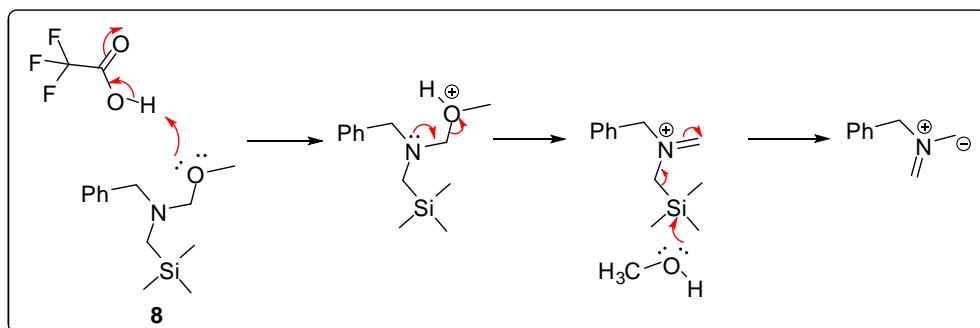
Esquema 33. Síntese de adutos e bis-adutos do tipo clorinas, bacterioclorinas e isobacterioclorinas.

Com o resultado positivo da reação do ílideo de azometino benzílico com a TPPF, partimos para os testes com o composto **4**, Esquema 34.



Esquema 34. Tentativa da reação 1,3-dipolar do composto **4** com o ílideo azometino benzílico.

Como testado no modelo reacional, a geração do 1,3-dipolo foi realizada na presença de TFA. O mecanismo proposto para essa reação é mostrado no Esquema 35.



Esquema 35. Mecanismo proposto para a formação do 1,3-dipolo através da reação de **8** com TFA.

As condições reacionais testadas são apresentadas na Tabela 1. Variou-se o número de equivalentes do precursor do 1,3-dipolo, a temperatura, o solvente, o tempo reacional e até mesmo o número de equivalentes de TFA. Apesar das diversas condições reacionais testadas não foi observada reação alguma, recuperando-se o material de partida.

Tabela 1. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3-dipolar gerando o dipolo com TFA.

Temperatura (°C)	Equiv. de 8	Tempo Reacional (h)	Concentração de Clorina 4 (mg/mL)	Solvente	Equiv. de TFA	Rendimento (%)
t.a.	1,15	48	10	Diclorometano	Cat.	-
100	3,15	72	10	Tolueno	Cat.	-
70 ^a	2	72	10	Diclorometano	Cat.	-
70	2	72	10	Tolueno	Cat.	-
80	4	72	10	Tolueno	Cat.	-
80 ^a	4	72	10	Diclorometano	Cat.	-
80 ^a	12	120	10	Diclorometano	Cat.	-
80 ^a	5	55	10	Diclorometano	1,2	-

^a – reação realizada em tubo selado.

Diante destes insucessos resolveu-se testar a geração do ílideo de azometino benzílico *in situ* a partir do composto **8** utilizando-se fluoreto de lítio, LiF, em acetonitrila, Tabela 2. Novamente não foi observada a ocorrência da reação de cicloadição recuperando-se o material de partida.

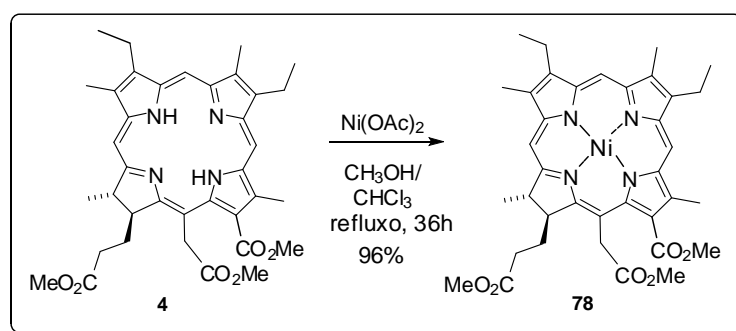
Tabela 2. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3-dipolar gerando o dipolo com LiF.

Temperatura (°C)	Equiv. de 8	Tempo Reacional (h)	Concentração de Clorina 4 (mg/mL)	Solvente	Equiv. de LiF	Rendimento (%)
t.a.	1	48	10	Acetonitrila	1,25	-
t.a.	2	48	10	Acetonitrila	3,75	-
100 ^a	4	24	10	Acetonitrila	3,75	-
200 ^a	8	24	10	Acetonitrila	3,75	-

^a – reação realizada em tubo selado.

Após investigar várias condições reacionais e a literatura sobre estas reações, verificamos que o dipolo formado *in situ* não é estável a altas temperaturas, provavelmente sofrendo polimerizações durante o processo. Constatamos ainda que dipolos do tipo ilídeo de azometino são utilizados para reagir com duplas elétron-deficientes. Neste ponto, não era possível prever exatamente o efeito do grupo carboxiéster na reatividade do sistema conjugado do composto **4**; acreditou-se no início que seria suficiente, entretanto, os resultados obtidos evidenciaram o contrário.

Decidimos então fazer a metalação do composto **4** com Ni²⁺, já que é conhecido que a complexação com este metal deve reduzir a densidade eletrônica na periferia do anel.⁶¹ A reação de metalação do composto **4** foi realizada com acetato de níquel e uma mistura de clorofórmio/metanol como solvente. A reação foi realizada em refluxo e o produto foi obtido em um rendimento de 96% (Esquema 36). Observou-se por análise de UV-vis o deslocamento da banda Q de $\lambda_{\text{máx}}$. 661 nm para 625 nm (Figura 16).

**Esquema 36.** Reação de metalação do composto **4**.

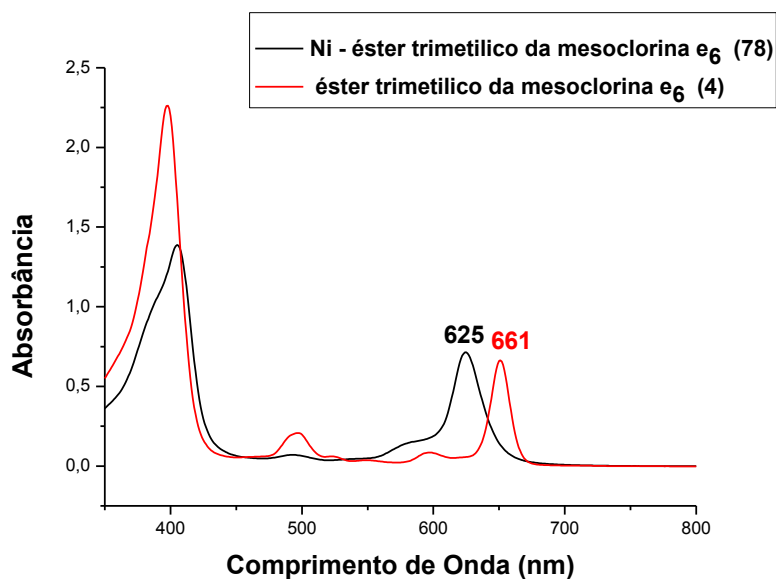
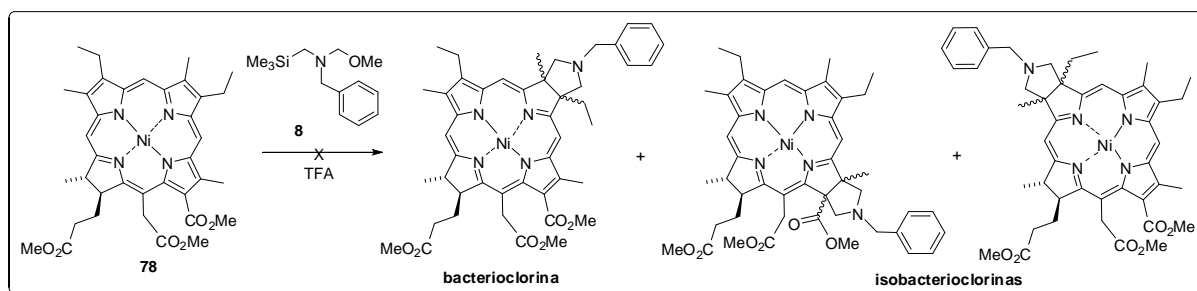


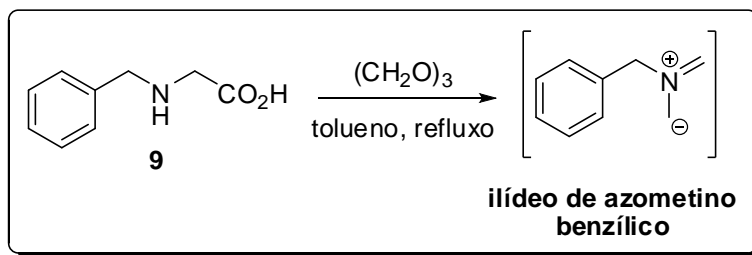
Figura 16. Deslocamento da banda Q na reação de metalação.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar da clorina metalada **78** (Esquema 37) foi testada fazendo-se reagir a clorina **78** com 30 equivalentes do composto **8**, utilizando diclorometano anidro à 55°C, empregando-se TFA catalítico para a geração do dipolo, em um tempo reacional de 120 h. A reação foi realizada em tubo de vidro selado com tampa de teflon (sistema “Sealed tube Aldrich®), purgado com argônio e sob a proteção da luz. Novamente não foi observado nenhum produto de reação de cicloadição e o material de partida **78** foi recuperado.



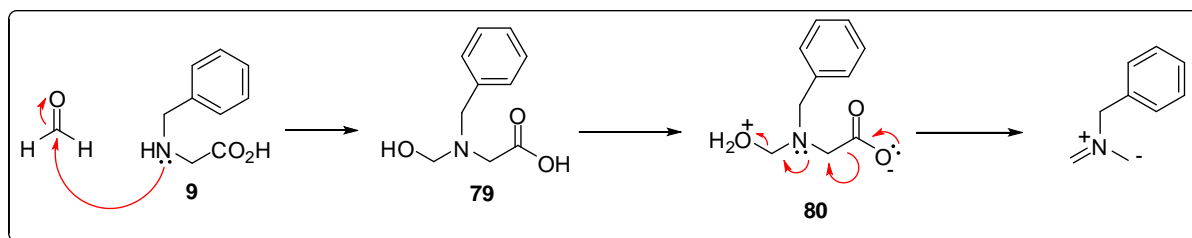
Esquema 37. Tentativa da Reação de cicloadição 1,3-dipolar com o composto **78**.

Então, propusemos uma nova abordagem sintética para a geração do ílideo de azometino benzílico, desta vez a geração seria realizada via processo de descarboxilação em altas temperaturas, e baixas concentrações (lentamente) a partir da *N*-benzilglicina (**9**), Esquema 38.



Esquema 38. Geração do ílideo de azometino benzílico a partir de **9**.

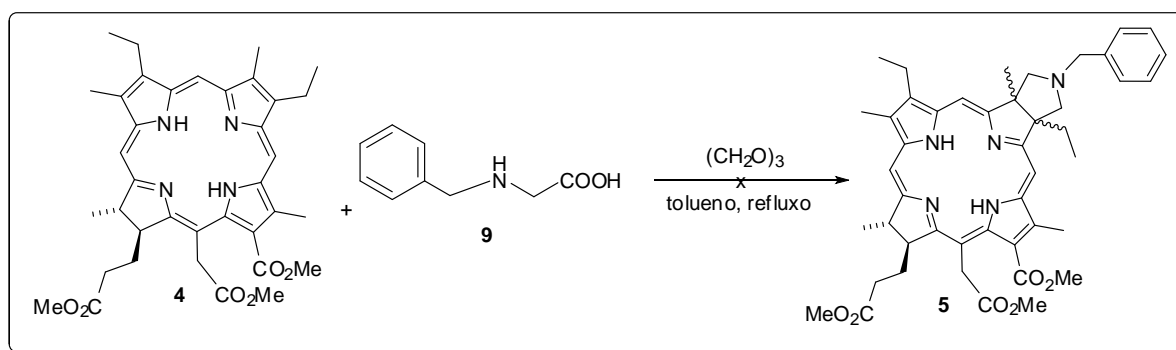
O mecanismo proposto para a geração do ílideo de azometino benzílico a partir de **9** é apresentado no Esquema 39.



Esquema 39. Mecanismo proposto para a geração do ílideo de azometino benzílico a partir da *N*-benzilglicina (**9**).

Inicialmente ocorre uma adição nucleofílica do composto **9** ao formaldeído formando o composto intermediário **79**, que dá origem ao composto **80** após uma migração de próton, o composto **80** sofre então uma descarboxilação seguida por perda de uma molécula de água gerando o ílideo de azometino benzílico.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando o composto **9** como precursor do ílideo de azometino benzílico (Esquema 40) foi testada em algumas condições reacionais, como detalhado na Tabela 3.

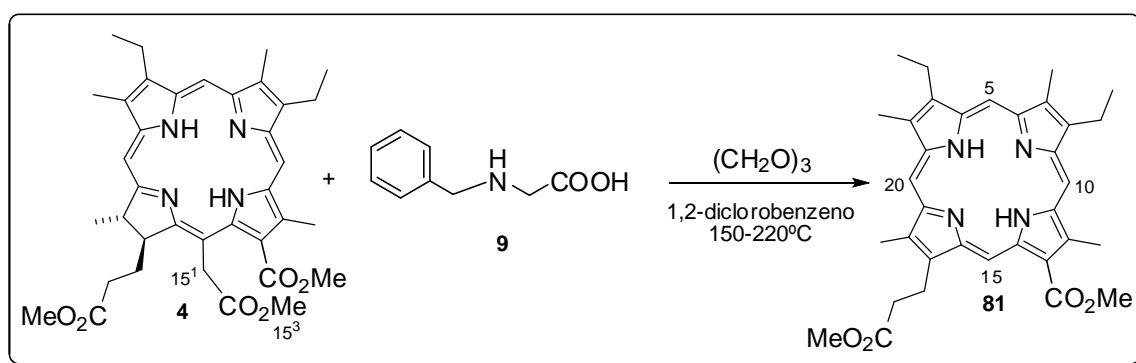


Esquema 40. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando a *N*-benzilglicina (**9**) como precursor do 1,3-dipolo.

Tabela 3. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3-dipolar gerando o dipolo através da *N*-benzilglicina.

Temperatura (°C)	Equiv. de 9	Tempo Reacional (h)	Concentração de Clorina 4 (mg /mL)	Solvente	Equiv. de 1,3,5 trioxano	Rendimento (%)
110	30	48	10	Tolueno	30	-
220	15	24	10	1,2-diclorobenzeno	15	58
150-180	50	24	10	1,2-diclorobenzeno	50	61

À temperatura de 110°C não foi observada reação, porém, quando a temperatura foi elevada gradualmente até 220°C foi observada a formação de um produto de coloração rosa, com R_f maior do que o do material de partida. O espectro de UV-vis (Figura 17) se mostrou característico de porfirina. Após a análise de RMN de ^1H foi constatado que o produto obtido era o éster dimetílico da rodoporfina (**81**),⁶² conforme apresentado no Esquema 41.



Esquema 41. Obtenção do éster dimetílico da rodoporfina (**81**).

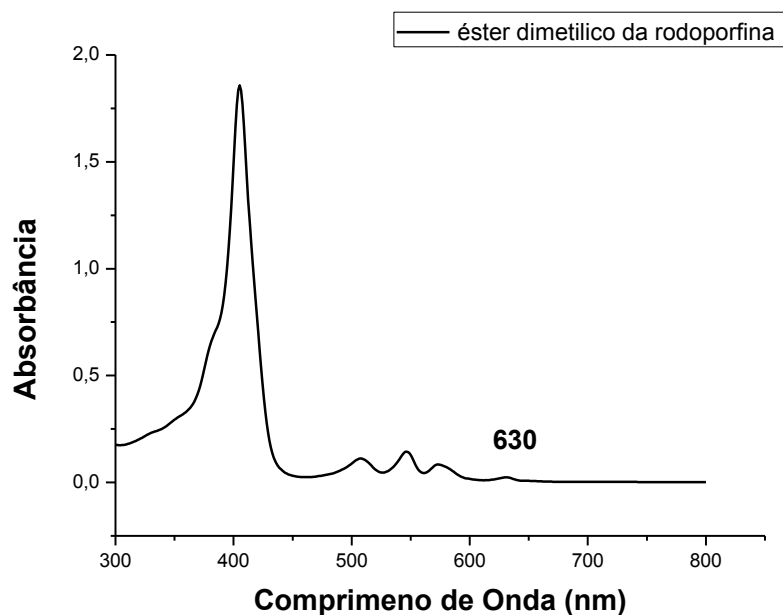
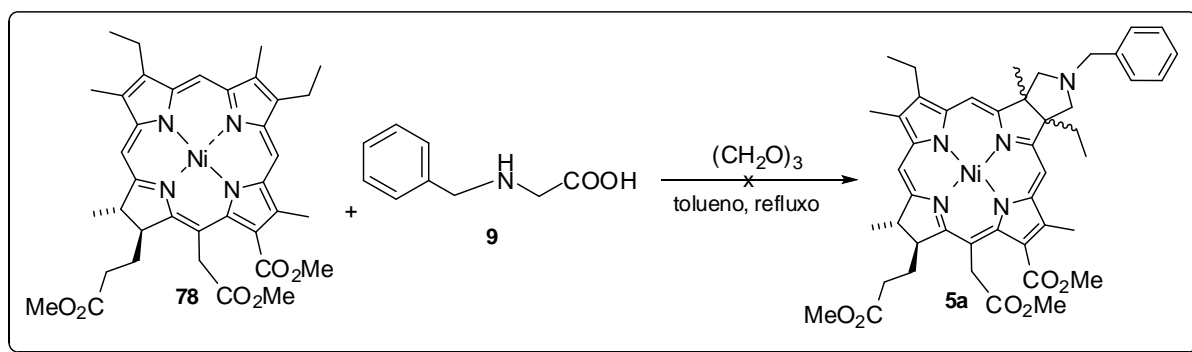


Figura 17. Espectro de UV-vis do éster dimetilico da rodoporfina (**81**).

Os sinais significativos no processo de elucidação estrutural deste composto são a ausência de sinais característicos dos hidrogênios β -pirrólicos que demonstram a oxidação da clorina para uma porfirina do tipo **81**, e os sinais relativos aos quatro hidrogênios *meso*. Os espectros de porfirinas em geral mostram o efeito anisotrópico devido à corrente eletrônica do anel que desprotege os hidrogênios *meso*, esse efeito é maior nas porfirinas do que nas clorinas. Para o éster dimetilico da rodoporfina os sinais dos hidrogênios *meso* 5, 10, 15, 20 surgem com um deslocamento químico de 11,07 (1H), 10,19 (1H), 9,97 (2H) ppm. Não foram observados os sinais relativos aos hidrogênios 15¹ e 15³ da clorina. Os demais sinais esperados foram todos observados e comparados com os da literatura.⁶²

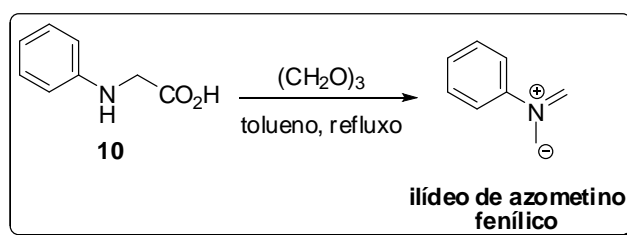
Decidimos por testar a reatividade da clorina metalada **78** na reação de cicloadição 1,3-dipolar com a *N*-benzilglicina (**9**). Assim a reação foi realizada entre a clorina metalada **78** e 20 equivalentes de **9** (Esquema 42), a 150°C com tolueno anidro como solvente, 1,3,5 trioxano, em um tempo reacional de 30h porém não se observou reação.



Esquema 42. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto **78** com a *N*-benzilglicina (**9**).

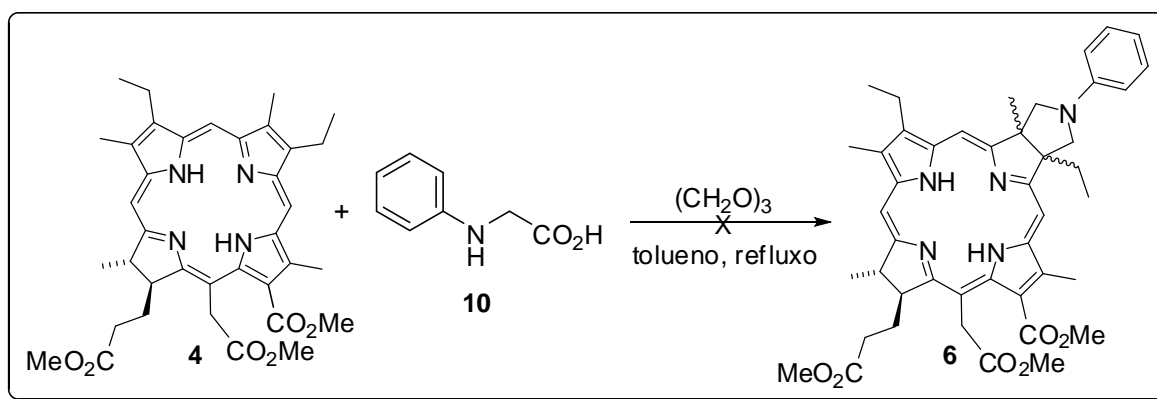
De uma maneira geral, concluímos por estes resultados que a reação de cicloadição de **4** com íldeos de azometino benzílicos gerados a partir de diferentes condições reacionais não forneceram os produtos de cicloadição esperados. Ainda, na última condição testada (alta temperatura) um outro produto reacional foi formado deixando claro que mesmo em condições drásticas estas cicloadições não eram favorecidas ou possíveis.

Diante deste cenário, resolvemos realizar alguns cálculos teóricos das energias de HOMO e LUMO dos dipolos sugeridos neste trabalho, chegamos à conclusão de que um íldeo de azometino fenílico (maior energia de HOMO) seria mais reativo que um benzílico, então, foi proposta a geração deste íldeo fenílico através da *N*-fenilglicina (**10**), Esquema 43.



Esquema 43. Geração do íldeo de azometino fenílico.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando como precursor do 1,3-dipolo a *N*-fenilglicina com o composto **4** (Esquema 44) foi testada em variadas condições reacionais (Tabela 4).



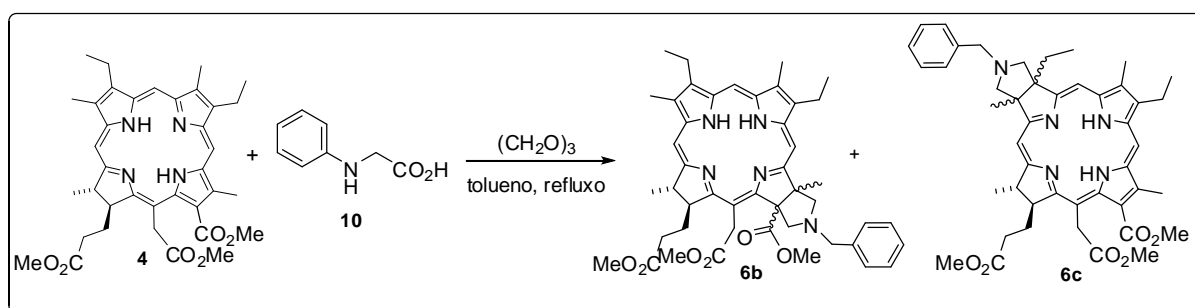
Esquema 44. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando a *N*-fenilglicina como precursor do 1,3-dipolo.

Tabela 4. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3-dipolar gerando o dipolo através da *N*-fenilglicina.

Temperatura (°C)	Equiv. de 10	Tempo Reacional (h)	Concentração de Clorina 4 (mg/mL)	Solvente	Equiv. de 1,3,5 trioxano	Rendimento (%)
110	15	5	10	Tolueno	15	*
110	20	11	10	Tolueno	20	*
220	15	24	10	1,2 diclorobenzeno	15	35
150-180	50	48	10	1,2 diclorobenzeno	50	37

*produto obtido muito instável, não foi possível isolar o mesmo.

À temperatura de 110°C houve o consumo total do material de partida **4**, e formação de um produto de coloração diferente do material de partida e de R_f menor (Esquema 45).



Esquema 45. Obtenção da proposta isobacterioclorina (**6b** ou **6c**).

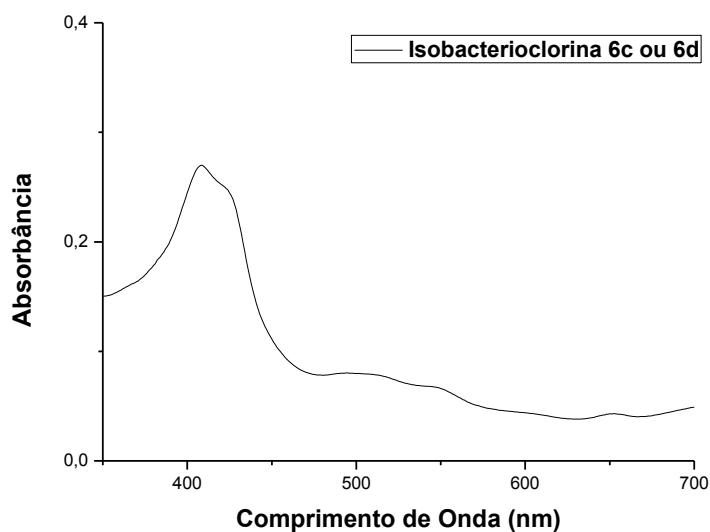
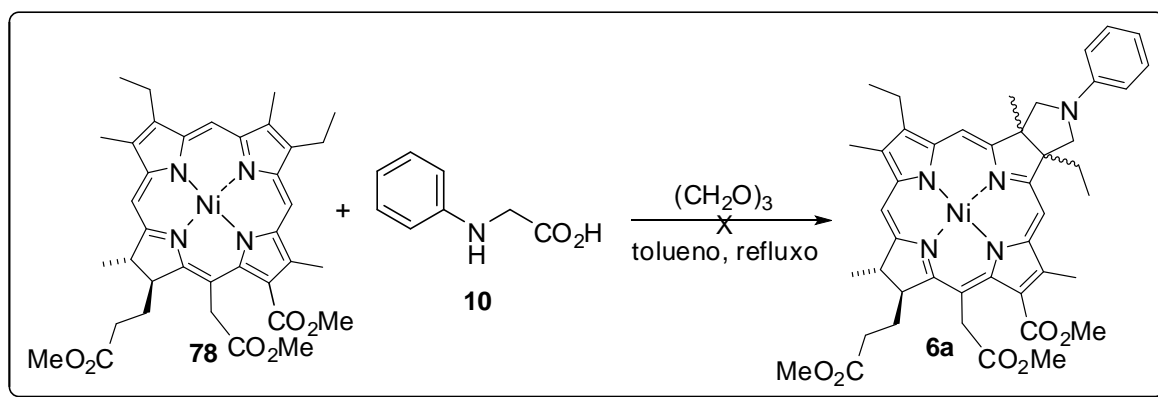


Figura 18. Espectro obtido da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre **4** e **10**.

O espectro de UV-vis obtido para o produto desta reação é típico de isobacterioclorina (Figura 18). No entanto, o produto obtido se mostrou bastante instável não sendo possível seu isolamento por métodos cromatográficos ou mesmo por cristalizações. Esta instabilidade tirou inclusive qualquer expectativa de isolar e caracterizar a possível estrutura de cicloadição obtida. Nossa dúvida a partir deste ponto era se a degradação do produto formado, suposta isobacterioclorina (**6b** e/ou **6c**) era devido ao dipolo que foi utilizado (algum tipo de reversibilidade da cicloadição) ou se o produto, a própria isobacterioclorina, sofria fotodegradação. Uma solução para esta dúvida seria a tentativa de obtenção, por outra rota sintética, de um composto semelhante de cicloadição (isobacterioclorina ou bacterioclorina).

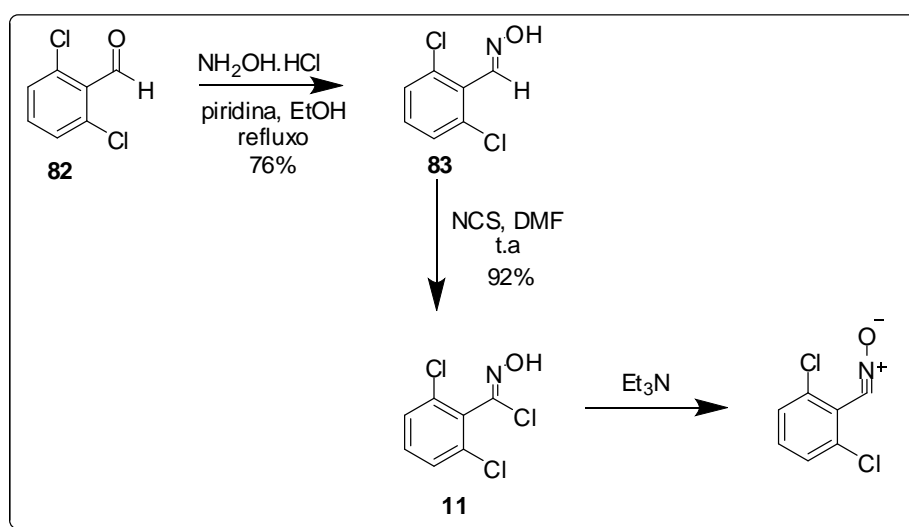
Com o aumento da temperatura a 220°C, observou-se o consumo total do material de partida e a formação do composto **81**.

Decidimos também avaliar a reatividade da clorina metalada **78** diante da reação de 1,3-dipolar com a *N*-fenilglicina (**10**) (Esquema 46). A reação foi realizada com 20 equivalente de **10**, em tolueno anidro à 150°C, observou-se o consumo total da clorina metalada **78** e a formação do produto éster dimetílico da rodoporfina (**81**).



Esquema 46. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto **78** com a *N*-fenilglicina (**10**).

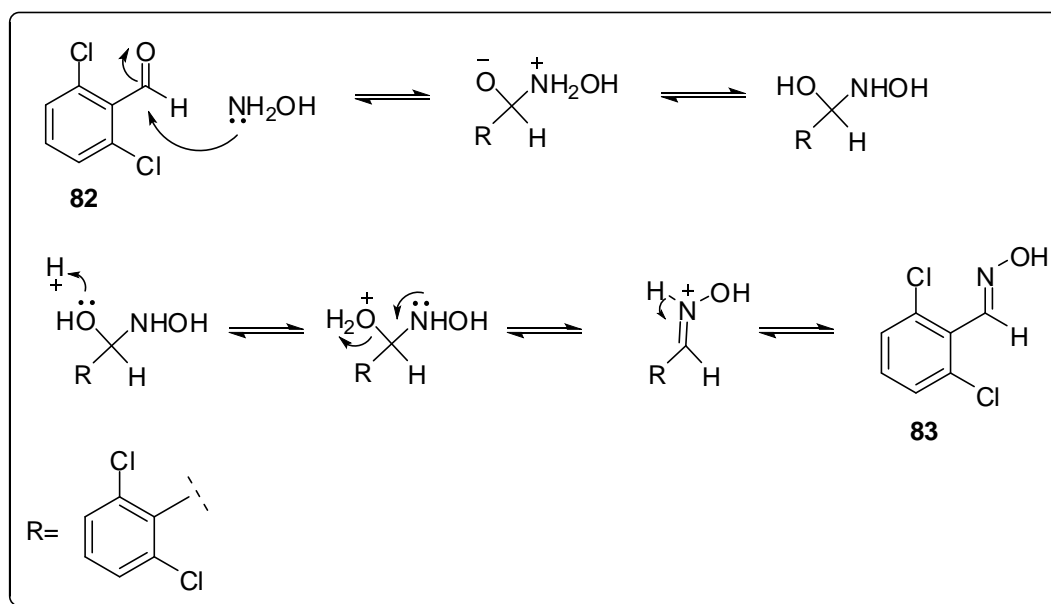
Os dipolos testados até então em regra, reagem por demanda normal de elétrons, assim, planejamos uma nova abordagem sintética utilizando dipolos de demanda inversa. O dipolo escolhido foi do tipo óxido de nitrilo. A estratégia sintética para a obtenção do composto **11** está especificada no Esquema 47.



Esquema 47. Síntese do composto **11**.

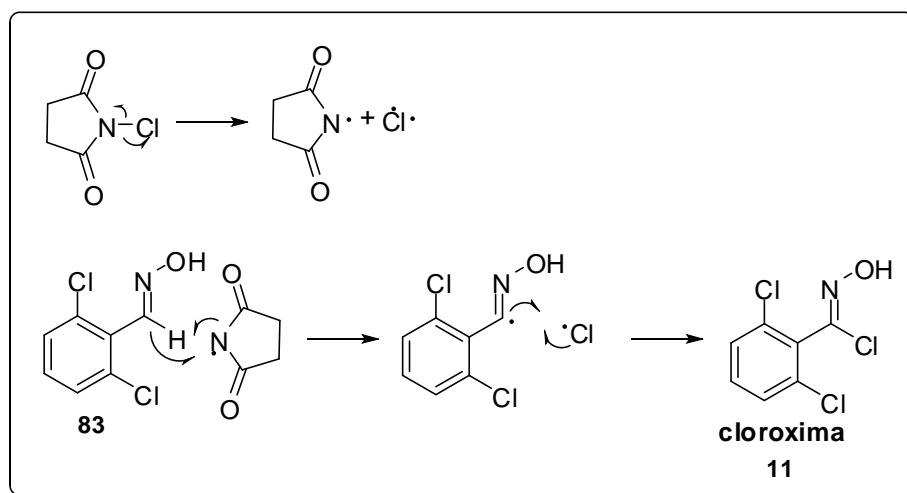
A primeira etapa da síntese proposta é a preparação da oxima **11**, o material de partida para esta síntese é o 2,6-diclorobenzaldeído (**82**), a reação foi sob refluxo de etanol, e ao composto **82** é adicionado o cloridrato de hidroxilamina (Esquema 47). O mecanismo proposto é apresentado no Esquema 48. A etapa inicial é a adição nucleofílica da hidroxilamina no aldeído, seguida por migração de um próton. A segunda etapa consiste inicialmente na protonação da hidroxila

seguida por eliminação de água e posteriormente a desprotonação do nitrogênio levando a formação da oxima.



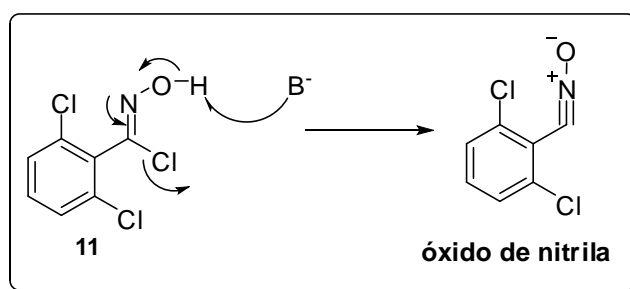
Esquema 48. Mecanismo proposto para a síntese da oxima **83**.

Com o composto **83** sintetizado, passamos para a segunda etapa, a cloração utilizando o *N*-clorosuccinimida (NCS), sendo que o composto **11** foi obtido em rendimento global de 70%. Um possível mecanismo radicalar é proposto para a formação da cloroxima **11** (Esquema 49). Na primeira etapa do mecanismo proposto ocorre a cisão homolítica da *N*-clorosuccinimida gerando os radicais cloro e succinimida. Na segunda etapa o hidrogênio imínico da oxima é removido homoliticamente pelo radical succinimida, gerando um radical oxima que irá reagir com o radical cloro formando a cloroxima.⁶³



Esquema 49. Mecanismo proposto para a síntese da cloroxima 11.

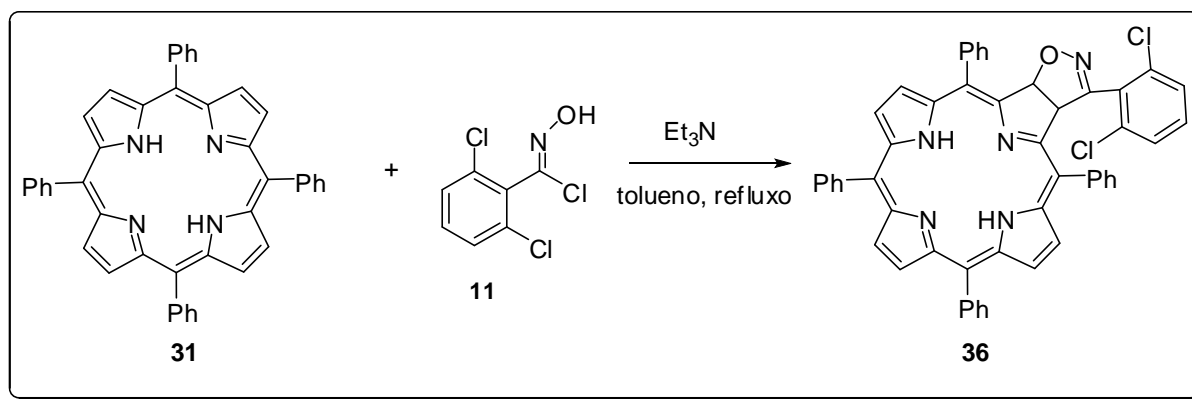
A cloroxima **11** é utilizada como material de partida para a formação do 1,3-dipolo do tipo óxido de nitrilo (Esquema 50). A base desprotona a hidroxila induzindo a eliminação do halogênio levando a formação do óxido de nitrilo.



Esquema 50. Geração do óxido de nitrila.

Com o composto **11** sintetizado, decidiu-se testar a reatividade do dipolo utilizando-se a tetrafenilporfirina (TPP) como modelo, uma porfirina conhecida por reagir com dipolos de demanda inversa em reações de cicloadição 1,3-dipolar.²⁴

A reação do óxido de nitrilo com a TPP (Esquema 51) foi feita em refluxo de tolueno, com 20 equivalentes do precursor do dipolo (**11**), em tempo reacional de 30 h, o produto obtido foi do tipo clorina e o rendimento obtido foi de 37%, semelhante ao descrito na literatura.^{24,64} A reação pode ser monitorada por análise de UV-vis, observando-se o deslocamento da banda Q de 583 nm para 644 nm (Figura 19).



Esquema 51. Reação de cicloadição 1,3-dipolar da TPP com o composto **11**

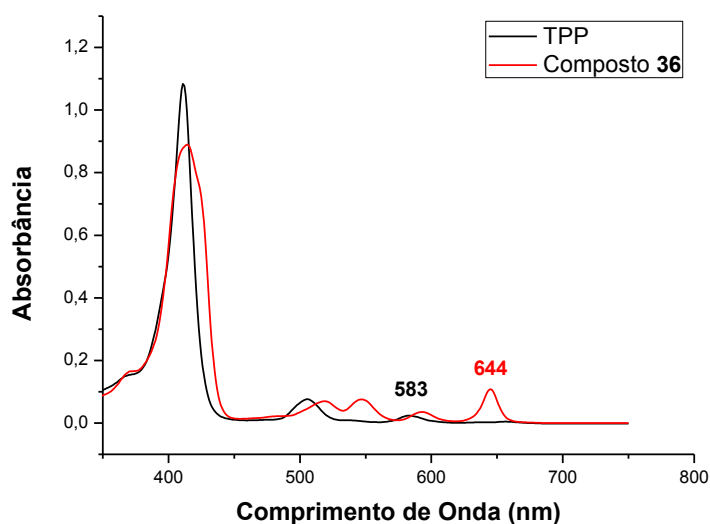
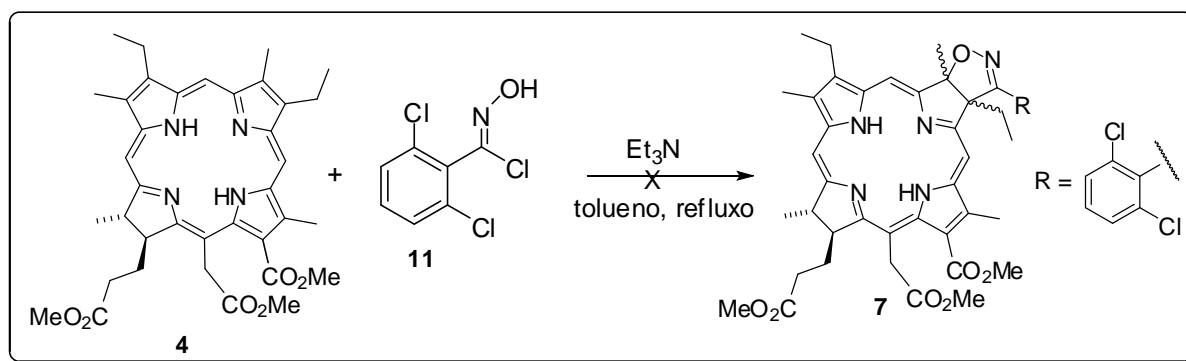


Figura 19. Deslocamento da banda Q na reação de cicloadição 1,3-dipolar da TPP com o composto **11**.

Com o resultado positivo da reação do composto **11** com a TPP, partimos para os testes com a nossa clorina, composto **4** (Esquema 52).



Esquema 52. Tentativa da reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto **4** com o composto **11**.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto **11** com o composto **4**, foi testada nas condições reacionais descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Condições reacionais testadas na reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto **4** com o composto **11**.

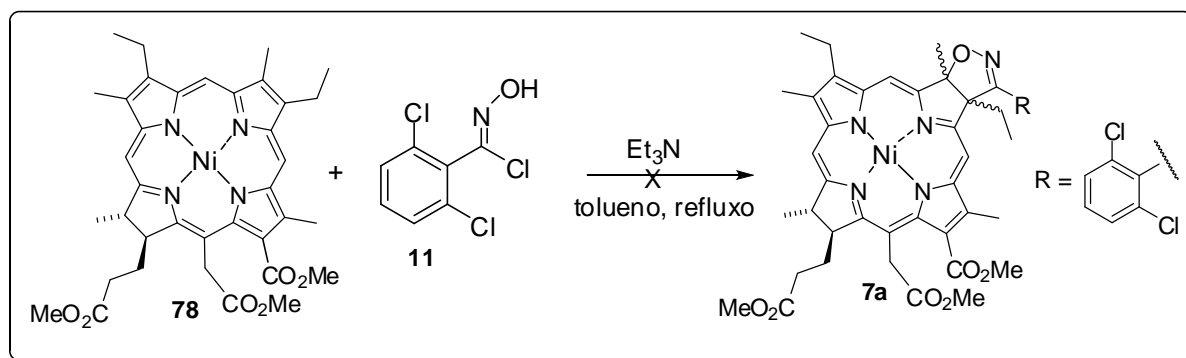
Temperatura (°C)	Equiv. de 11	Tempo Reacional (h)	Concentração de Clorina 4 (mg/mL)	Solvente	Equiv. de trietilamina	Rendimento (%)
110	15	30	10	tolueno	20	-
220	15	24	10	1,2-diclorobenzeno	20	84

A 110°C não foi observada reação, porém quando aumentamos gradualmente a temperatura até 220°C observamos o consumo total do material de partida e a formação do éster dimetílico da rodoporfina (**81**).

De forma similar ao que foi testado para os outros dipolos e metodologias resolveu-se testar também a reação do ilídeo do tipo óxido de nitrilo com o composto metalado **78**. Neste ponto, sabíamos que a densidade eletrônica de **78** é diminuída em função do metal, entretanto, trabalhos relatados na literatura de reações 1,3-dipolares mostram claramente não haver uma rigidez entre a demanda normal e inversa de elétrons, podendo uma reação se processar por uma ou por outra via eletrônica.⁶⁵ Também o dipolo do tipo óxido nitrilo apresenta reatividade ampla podendo reagir por demanda inversa ou por demanda normal.³⁵

A reação foi então testada colocando-se para reagir o composto **78** e **11** (Esquema 53), em tolueno com aumento gradual de temperatura. Ao atingir

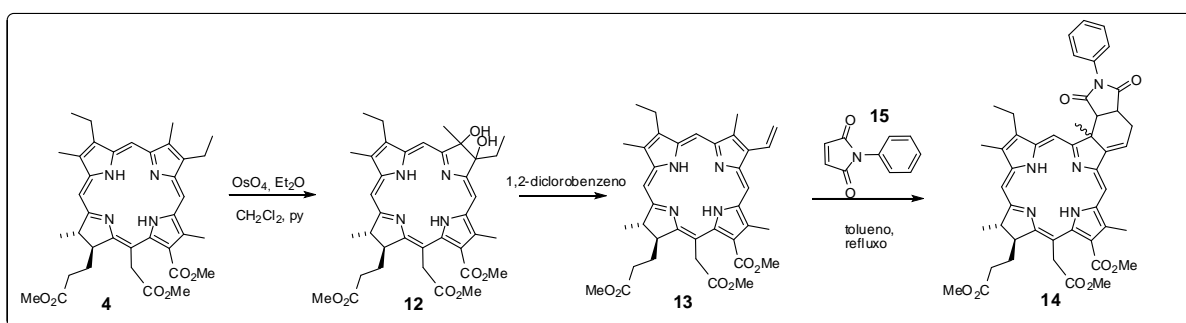
150°C, observou-se o consumo total do material de partida e a formação do produto de descarboxilação **81**.



Esquema 53. Tentativa da Reação de cicloadição 1,3-dipolar do composto **78** com o composto **11**.

4.3 Abordagem sintética para a preparação de novas bacterioclorinas de baixa agregação

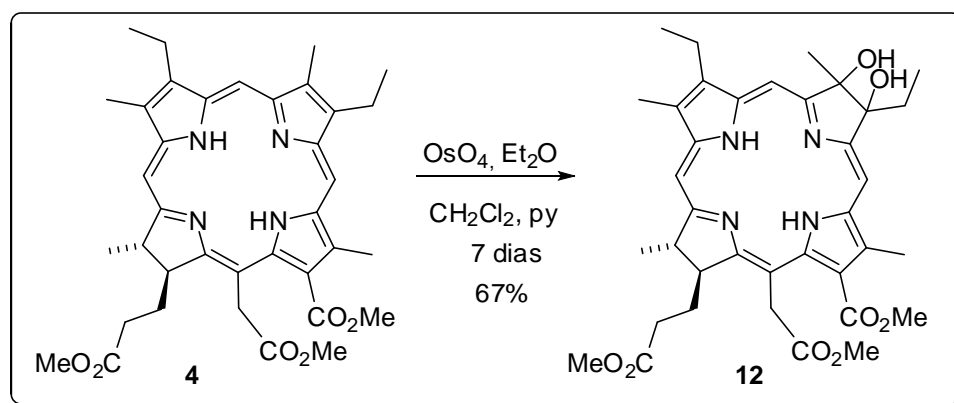
Devido aos insucessos obtidos nas tentativas de síntese de bacterioclorinas através do uso da reação de cicloadição 1,3-dipolar, decidimos iniciar uma nova abordagem sintética conforme sugerido no plano de pesquisa. Nessa nova abordagem utilizaremos a reação de Diels-Alder para sintetizar bacterioclorinas de baixa agregação (Esquema 54).



Esquema 54. Reações de Diels Alder com derivados da clorofila *a*.

Partindo novamente do composto **4**, a primeira etapa realizada foi uma *bis*-hidroxilação utilizando tetróxido de ósmio, OsO₄ (Esquema 55). A reação mostrou ser quimiosseletiva e o composto **12** foi obtido com 67% de rendimento

após purificação em coluna de sílica. O produto **12** foi caracterizado por RMN de ^1H consistindo de uma mistura diastereoisomérica visto que dois centros quirais do composto já estavam definidos pela rota biossintética das clorofilas. O espectro de UV-vis observado para o composto **12** é característico de bacterioclorina, com uma alta absorção em 719 nm (Figura 20).



Esquema 55. Reação de *bis*-hidroxilação do composto **4**.

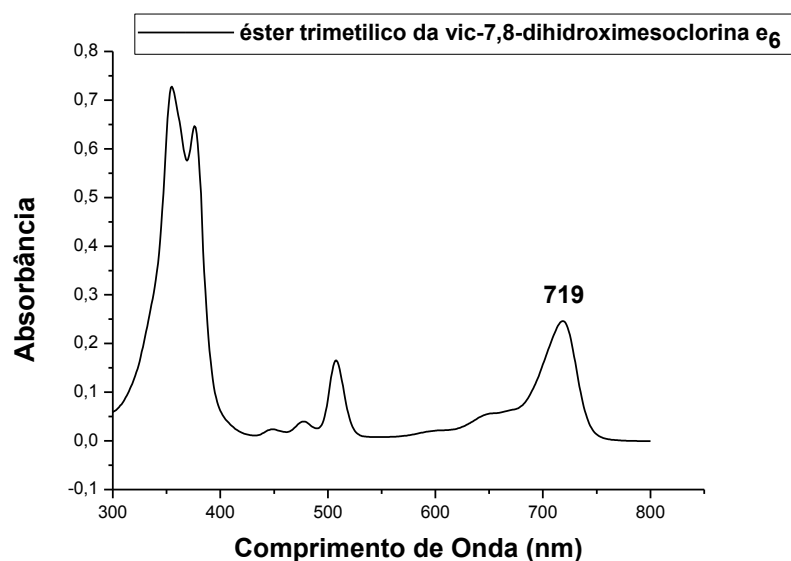
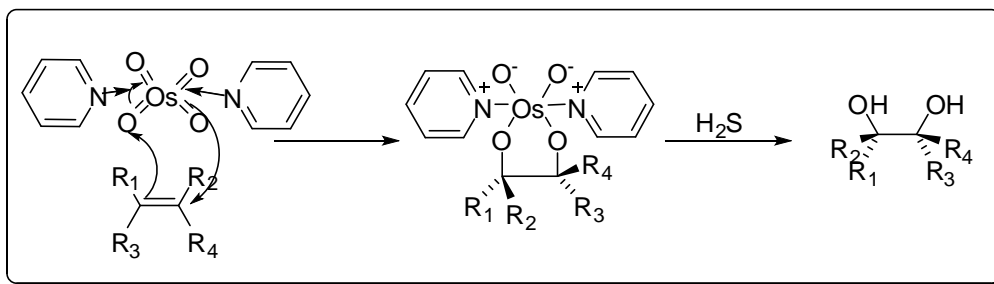


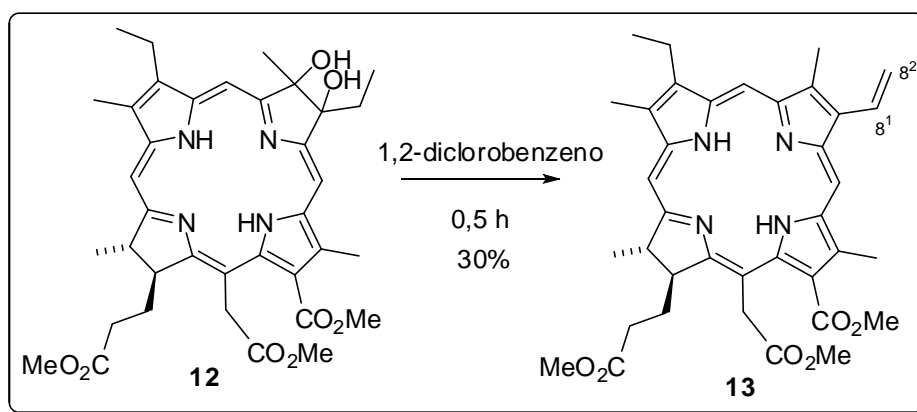
Figura 20. Espectro de UV-vis do éster trimetílico vic-7,8-dihidroximesoclorina e_6 .

Em termos de mecanismo, OsO_4 adiciona-se de maneira SIN à dupla, proporcionando a formação de um éster osmato cíclico, os quais sofrem hidrólise resultando o diol vicinal e liberando um óxido de ósmio reduzido (Esquema 56):



Esquema 56. Mecanismo proposto para a reação de *bis*-hidroxilação.

Com a obtenção do composto **12** partiu-se para a segunda etapa que foi uma reação de eliminação de duas moléculas de água, empregando refluxo em 1,2-diclorobenzeno (Esquema 57), a fim de se obter a vinil clorina **13**, que é material de partida (dieno) para as reações de Diels Alder com a *N*-fenilmaleimida (**15**). A clorina **13** foi obtida em rendimento de 30%.



Esquema 57. Síntese do éster trimetilico da 8-vinilmesoclorina e_6 (**13**).

O produto foi isolado e caracterizado por análise de RMN de ^1H . A análise do espectro de hidrogênio deste composto pôde observar a presença do duplo dubleto em 8,00 ppm, atribuído ao hidrogênio 8^1 . A presença dos dois duplos dubletos em 5,98 e 6,12 ppm relativos aos hidrogênios 8^2 também foi determinante para atribuir esta estrutura.

Esta reação apresentou um rendimento baixo, sendo obtida uma mistura complexa de outros produtos além do desejado. Após pesquisa na literatura⁶⁶ verificou-se que uma série de outros compostos podem se formar nesta reação como, por exemplo, produtos provenientes de rearranjo pinacol-pinacolona e produtos provenientes de dimerização simétrica e não simétrica (Figura 21).

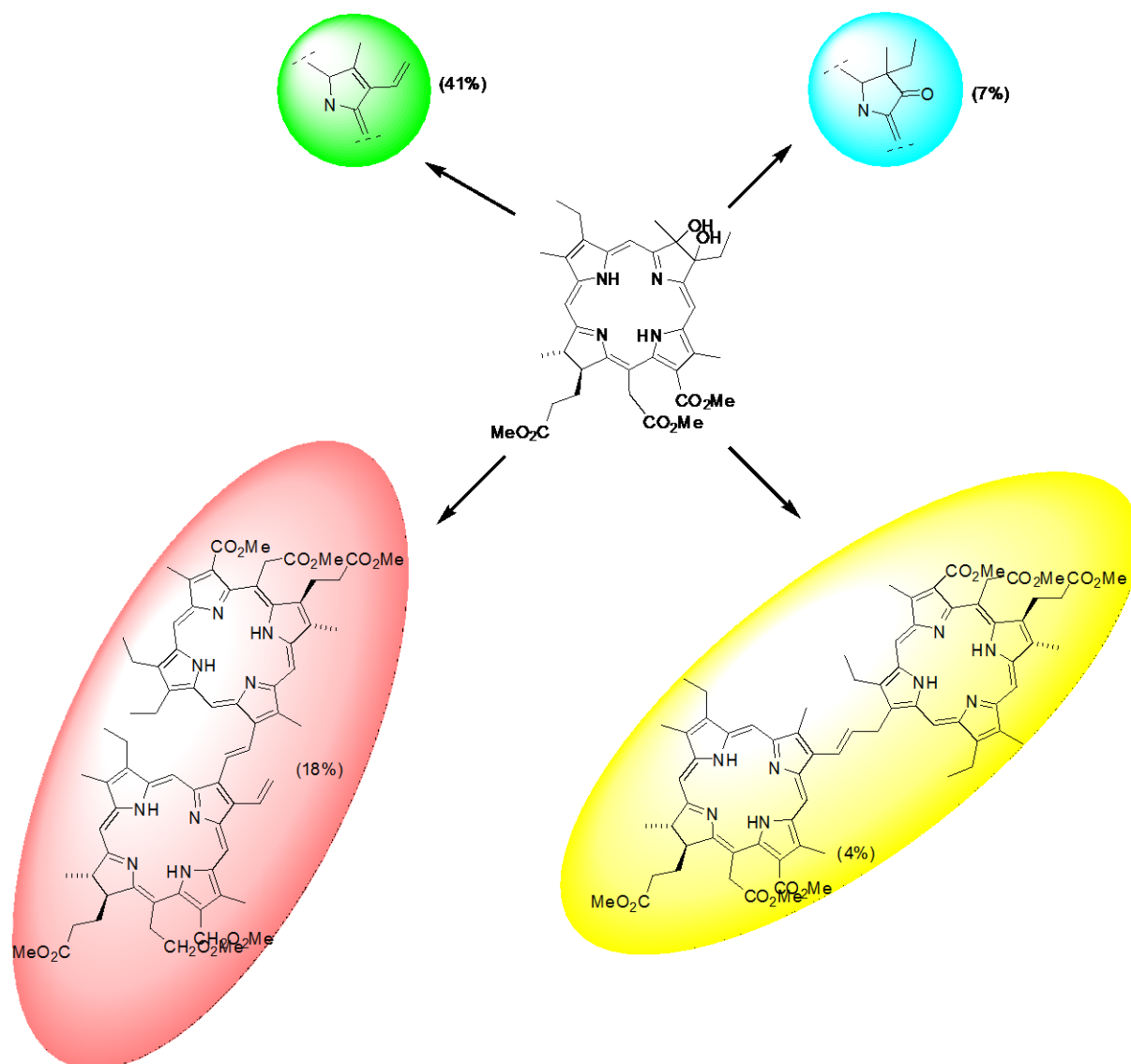
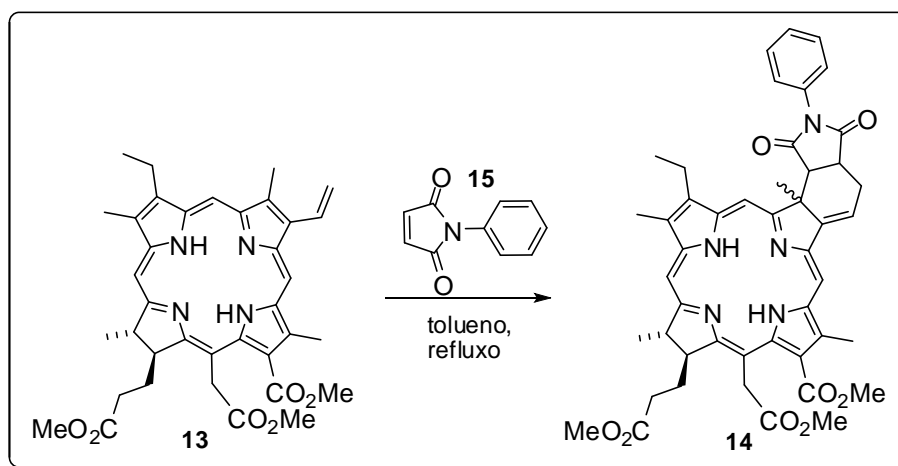


Figura 21. Produtos isolados da termólise do composto **12**.

Após a obtenção do material de partida para a síntese da bacterioclorina **14** desejada, foram iniciados os testes racionais visando o estudo das melhores condições para a reação de Diels-Alder entre **13** e **15** (Esquema 58).



Esquema 58. Síntese da bacterioclorina **14**.

Foi realizado um teste exploratório fazendo-se reagir o composto **13** e a *N*-fenilmaleimida (**15**), empregando-se tolueno anidro/desoxigenado como solvente e sob refluxo. Para o teste inicial foi utilizado 0,02 mmol da clorina **13** e inicialmente 0,2 mmol do composto **15**, os quais foram dissolvidos em 3,0 mL de tolueno anidro/desoxigenado. Todo o procedimento foi realizado em tubo de vidro selado com tampa de teflon (sistema “Sealed tube Aldrich®), purgado com argônio e sob a proteção da luz. O monitoramento da reação foi realizado por CCD e UV–Vis em períodos regulares (retiradas de pequenas alíquotas via tubo capilar).

Iniciou-se a reação à 110°C e, após 7h de reação (refluxo), não foi possível observar sinais da formação de bacterioclorinas (tanto por CCD quanto por UV–Vis). Então, adicionou-se um excesso de 0,8 mmols (40 equivalentes) do composto **15** e a mistura reacional foi mantida e monitorada nestas condições por 24h. Nestas condições foi obtida uma mistura diastereoisomérica que apresentou um espectro na região do UV-vis típico de bacterioclorinas (Figura 23). A proporção diastereoisomérica encontrada foi de aproximadamente 75:25, já que a sequência de pulso utilizada no experimento de RMN de ¹H não é a adequada para análise quantitativa (Figura 22).

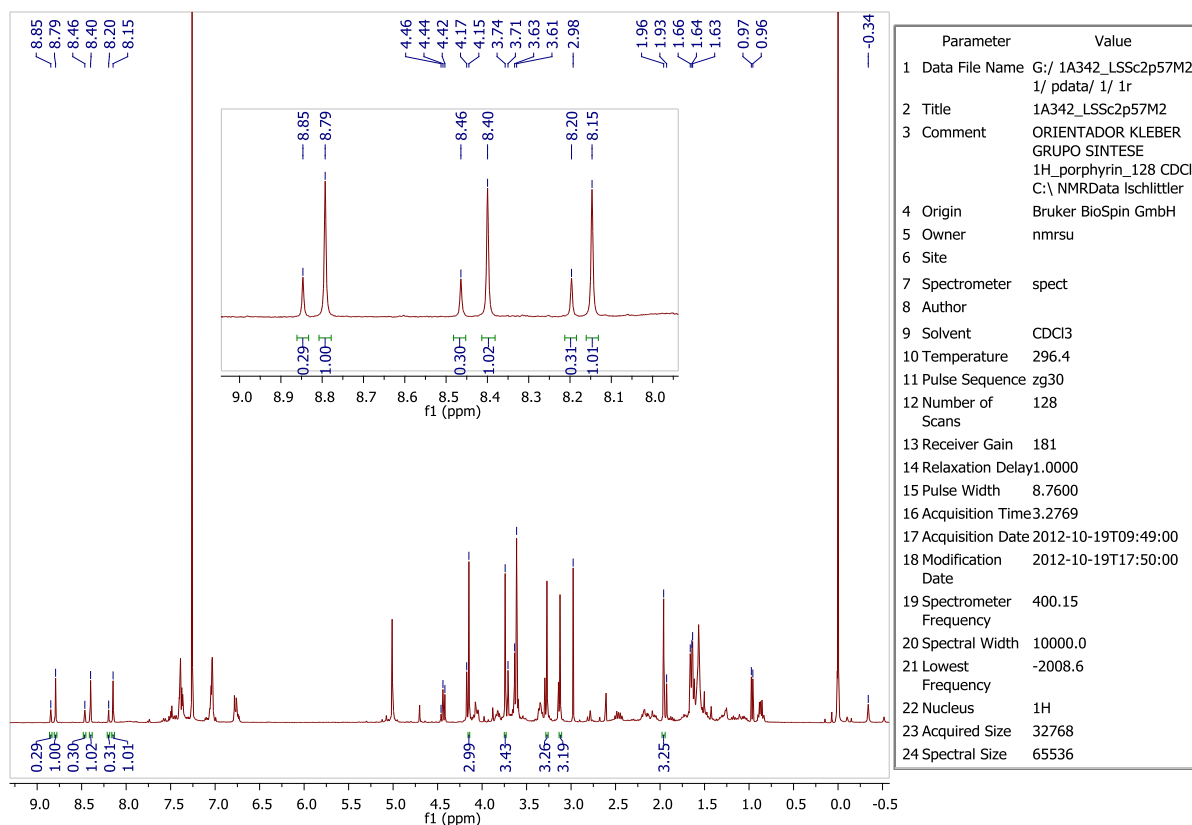


Figura 22. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **14**.

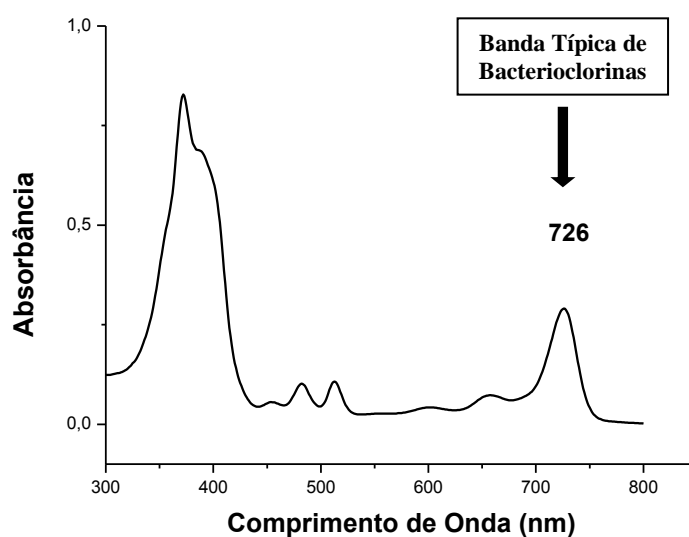


Figura 23. Espectro de absorção na região do UV–Vis em diclorometano da mistura reacional da reação de Diels–Alder entre os compostos **13** e **15**.

Entretanto, observou-se que a reação se processava lentamente, bem como ainda apresentava material de partida **13** remanescente. Após este primeiro

teste optou-se por isolar a mistura diastereoisomérica por cromatografia em coluna, constatando-se por RMN de ^1H ser a bacterioclorina **14** com rendimento de 28% (proporção aproximada de 75:25 dos diastereoisômeros determinada por RMN de ^1H). Evidentemente que as atribuições inequívocas dos sinais de RMN ^1H , bem como outras caracterizações e elucidação dos vários aspectos estereoquímicos destes compostos ainda seriam necessárias.

A experiência prévia com compostos semelhantes ao composto **13** mostrava que temperaturas muito acima de 140°C eram inadequadas para reações envolvendo o mesmo. Desta forma, antes de investir na separação dos diastereoisômeros de **14**, resolveu-se investigar a reação fixando a temperatura em 135°C . Além disso, a reação exploratória em somatório com a experiência do grupo em reações de Diels Alder com derivados porfirínicos, nos levou a fixar o número de equivalente da *N*-fenilmaleimida em 50 equivalentes. Sendo assim, a fim de otimizar a melhor condição reacional, decidiu-se variar a concentração e o tempo reacional.

Para esta segunda condição experimental, manteve-se a temperatura controlada à 135°C e utilizou-se 0,04 mmol da clorina **13** e 2,0 mmol do composto **15** (50 equivalentes), os quais foram dissolvidos em 2,0 mL de tolueno anidro/desoxigenado, em tubo de vidro selado, com atmosfera inerte de argônio e sob a proteção da luz. O monitoramento da reação também foi realizado por CCD e UV-Vis em períodos regulares, deixando-se reagir por 10h, até que a relação entre a absorbância da banda Q/banda Soret atingisse uma relação de 0,29. Nesta condição reacional praticamente todo o composto **13** foi consumido. Então, isolou-se a mistura diastereoisomérica formada por cromatografia em coluna, com rendimento de 42%.

Para a condição seguinte, optou-se por um aumento na concentração relativa de **13** no meio reacional, mantendo-se 135°C e 50 equivalentes da *N*-fenilmaleimida (**15**) com a relação à clorina **13**. Com o aumento da concentração observou-se uma diminuição no tempo reacional para 8h e uma pequena melhora nos rendimentos globais (47%), sempre mantendo a proporção dos diastereoisômeros de 75:25. Nas condições testadas anteriormente ainda foi possível recuperar uma pequena fração do material de partida, entretanto, manter a reação por períodos maiores não resultou em aumento dos rendimentos de modo que selecionamos como condição ótima: concentração de **13** em 2,5 mM, 50 equivalentes de **15**, 135°C e 8h de reação.

Tabela 6. Condições reacionais e rendimentos das bacterioclorinas obtidas pela reação de Diels–Alder entre os compostos **13** e **15**.

Temperatura (°C)	Equiv. de 15	Tempo Reacional (h)	Concentração de Clorina 13 (mg/mL)	Solvente	Rendimento (%)
110-135	50	32	2	Tolueno	28
135	50	10	10	Tolueno	42
135	50	8	15	Tolueno	47
135	50	10	15	Tolueno	43

Após o término dos estudos para definir as melhores condições reacionais envolvendo a preparação da bacterioclorina **14**, prosseguiu-se para a próxima etapa proposta que é a separação da mistura diastereoisomérica.

A separação diastereoisomérica não foi possível de ser realizada por meio de cromatografia em coluna utilizando sílica gel “flash”, mesmo após inúmeras tentativas de misturas de solventes. Tentativas de separação por HPLC estão em andamento, entretanto, ainda não foi obtida nenhuma condição que promovesse a separação destes diastereoisômeros.

4.4 Caracterizações fotofísicas

4.4.1 Estudos de agregação

A agregação normalmente é descrita como uma associação coplanar de anéis, progredindo de monômeros para dímeros ou complexos de maior ordem.

A agregação de compostos porfirínicos em solução é um fenômeno indesejável, pois diminui a eficiência de produção de oxigênio singlete dos fotossensibilizadores em solução já que parte de suas propriedades fotofísicas são modificadas. Também é responsável pela baixa solubilidade de porfirinas e derivados, quando não substituídas. A geometria destas moléculas favorece as interações entre o sistema aromático π , ocorrendo um empacotamento molecular favorecido por interações do tipo π -stacking (Figura 24).⁶⁷

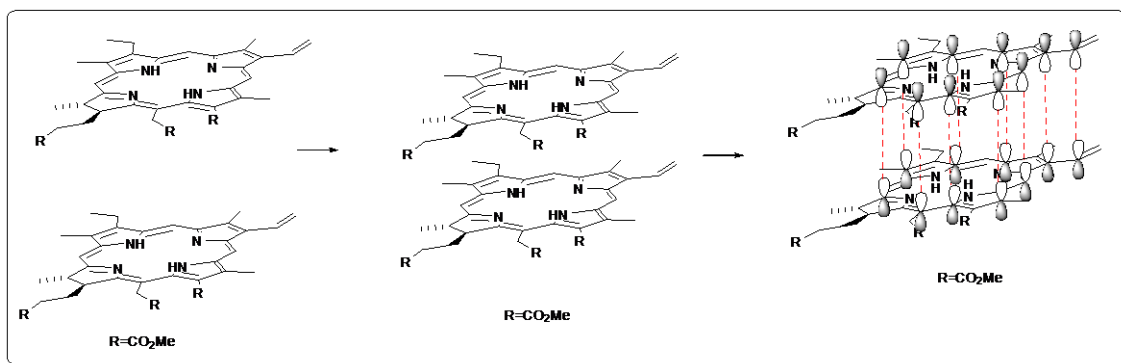


Figura 24. Interações π -stacking responsáveis pela agregação de porfirinas.

Para realização deste experimento, soluções com diferentes concentrações do composto **14** foram preparadas e as absorvâncias foram medidas. Os estudos foram realizados em diclorometano.

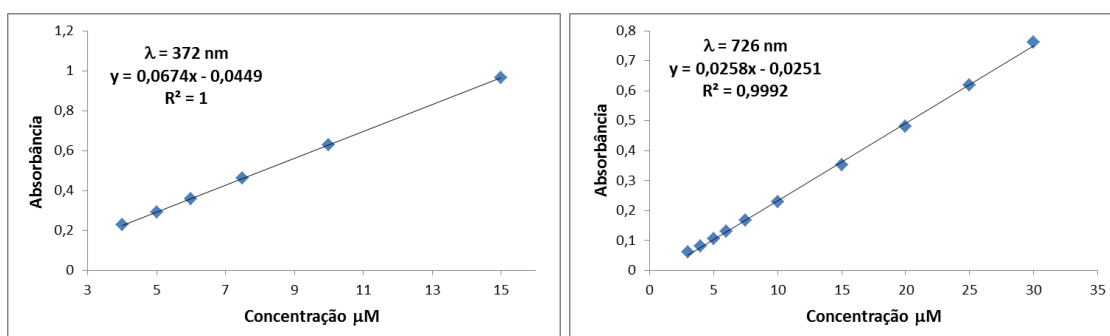
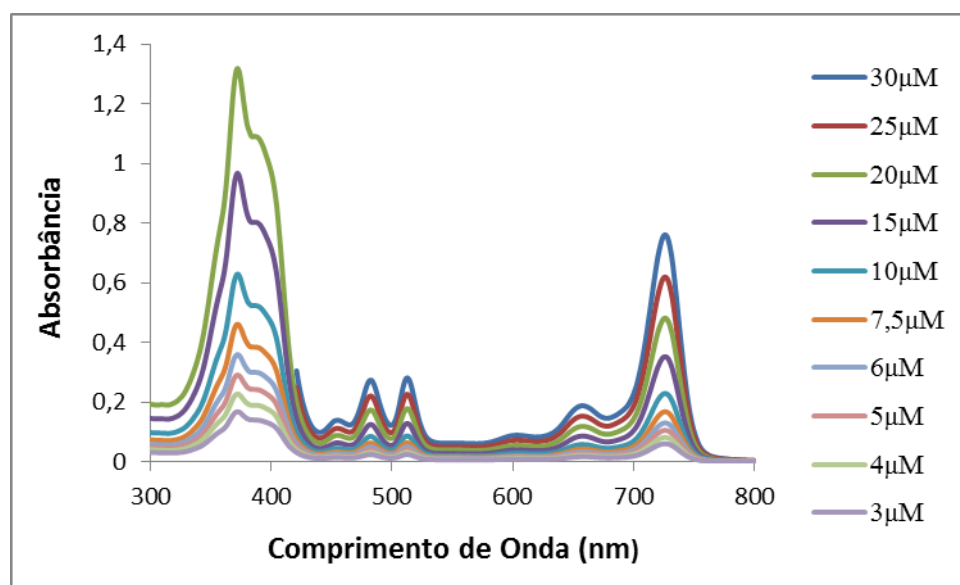


Figura 25. Estudo de agregação em diclorometano para a bacterioclorina **14**.

Como pode ser observado pelos espectros da região do visível apresentados na Figura 25, no intervalo de concentrações em que o experimento foi realizado, fica demonstrado que não ocorre agregação para o composto **14**. A ausência desse fenômeno é constatada, pelo fato de não ter se observado deslocamentos de bandas do espectro com a variação das concentrações.

Portanto, conclui-se que a inserção de grupos volumosos como a *N*-fenilmaleimida na posição β , através da reação de Diels Alder, foi eficiente para evitar o fenômeno de agregação neste intervalo de concentração. É válido ressaltar que os intervalos de concentração estão dentro daqueles utilizados em tratamentos por PDT.

4.4.2 Estudos de fotodegradação (*photobleaching*)

A fotodegradação consiste na degradação fotoinduzida do fotossensibilizador, levando a diminuição da concentração da molécula fotoativa o que comprometem os processos envolvidos na oxidação de biomoléculas.

Um dos principais mecanismos da fotodegradação é a reação entre o fotossensibilizador e o oxigênio singlete produzido (Figura 26).⁶⁸

As reações de fotodegradação são evidenciadas pelo decréscimo da intensidade de absorção no espectro eletrônico sem ocorrer deslocamento de seus máximos ou pela formação de novas bandas na região do visível (característico de processos que envolvam alguma fototransformação). Essas reações reduzem conseqüentemente a capacidade de absorção de fótons (processo primário a PDT), comprometendo a geração de oxigênio singlete ou de outras espécies reativas de oxigênio.⁶⁹

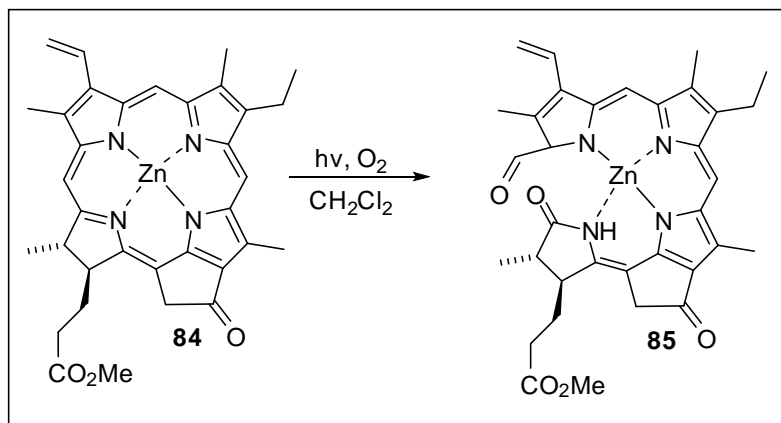


Figura 26. Exemplo de reação de fotodegradação em um derivado da clorofila a causado pelo oxigênio no estado singlete (¹O₂).

Neste trabalho, o estudo de fotodegradação foi realizado em diclorometano. No experimento, uma solução do fotossensibilizador no solvente é preparada de forma que a absorção da banda mais intensa (no caso a banda Soret) fique entre 1-1,2. Com a solução preparada, a absorbância inicial foi absorvida, e em seguida, irradiou-se a cubeta de quartzo contendo a solução (*laser* a 661 nm, 50 mW de potência) em intervalos regulares de 1 min., sendo a absorbância medida ao término de cada irradiação. O experimento foi realizado em um ambiente com ausência de fontes externas de luz.

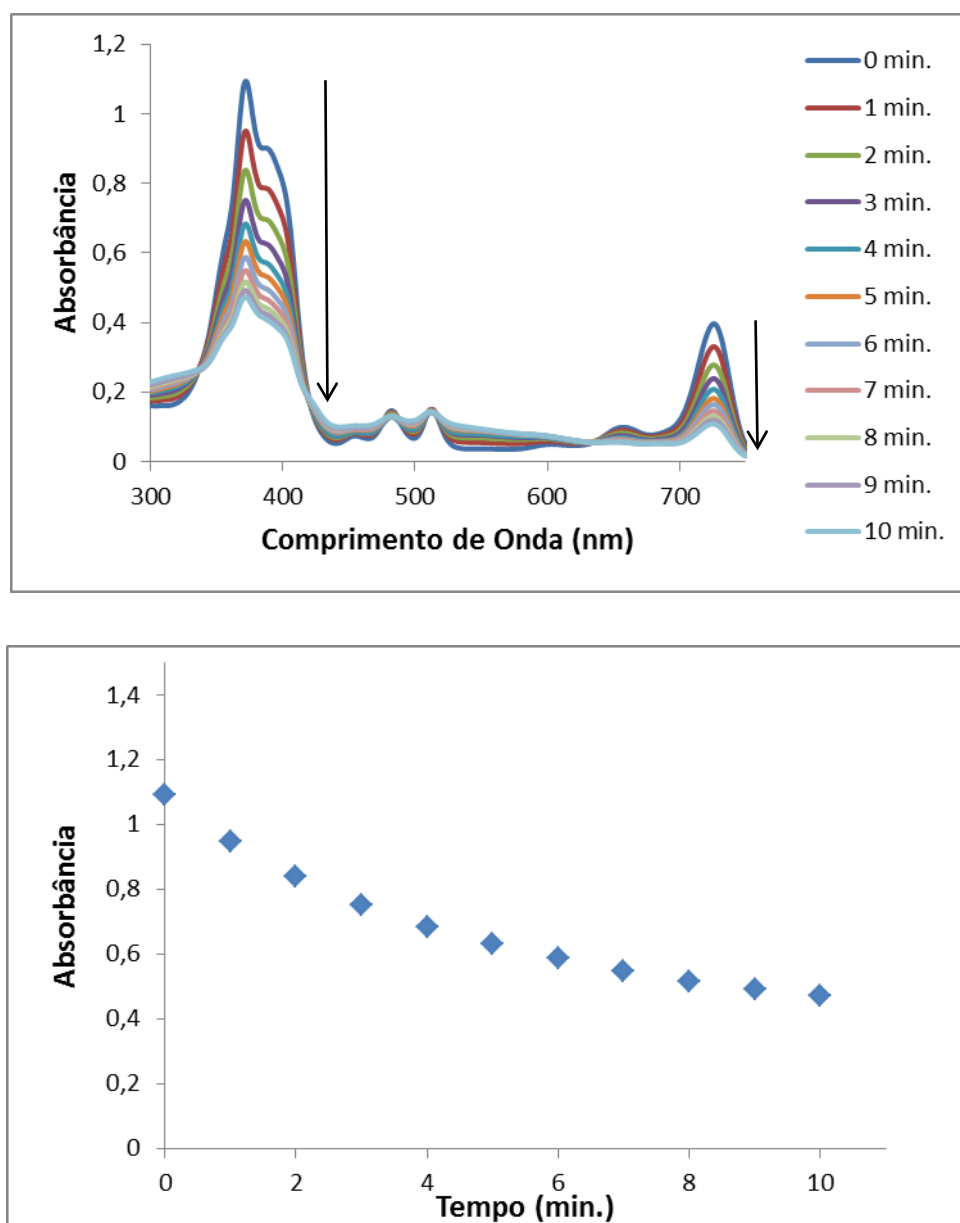
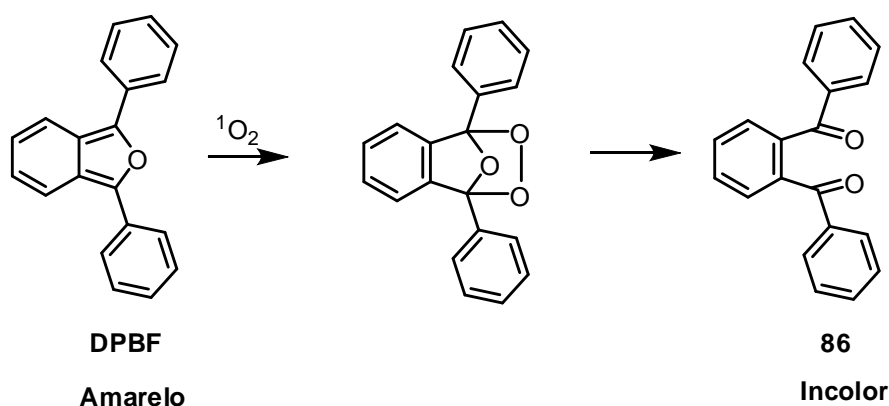


Figura 27. Fotodegradação da bacterioclorina **14** em diclorometano.

Como pode ser observado pela Figura 27, ocorre intensa reação de fotodegradação do composto **14**. Tomando-se o espectro inicial como referência, calculam-se cerca de 60% de perda do composto **14** para um tempo total de 10 minutos de irradiação.

4.4.3 Geração relativa de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$)

Na terapia fotodinâmica o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), é considerado a principal espécie citotóxica, sendo assim a geração de $^1\text{O}_2$ adquire fundamental importância na presença ou não de atividade biológica. Nesse contexto, realizou-se uma análise preliminar da produção relativa de $^1\text{O}_2$. Para tal, empregou-se a reação entre as espécies de oxigênio singlete com o 1,3-difenil-isobenzofurano (**DPBF**) (Esquema 59).



Esquema 59. Reação do DPBF com o $^1\text{O}_2$.

Em nossos estudos, a geração relativa de $^1\text{O}_2$ foi medida por método indireto, que consiste no monitoramento do decréscimo da banda de absorvância do DPBF em 410 nm,⁷⁰ um conhecido supressor químico de oxigênio singlete, através de procedimentos descritos na literatura. O decréscimo da absorvância do DPBF é devido reação de fotodegradação ocorrida pelas espécies de oxigênio singlete gerada pela irradiação do fotossensibilizador (Esquema 59).⁷¹ Isso isolará o sistema π do DPBF, formando o o-dibenzoilbenzeno (**86**) que não absorve na região do visível.

Neste trabalho, o estudo da geração relativa de $^1\text{O}_2$ foi realizado em tolueno. Em uma cubeta de quartzo, 1,5 mL de uma solução do composto 14 em tolueno, fixando a banda Q em aproximadamente 0,4 de absorvância é diluída para 3 mL com uma solução do DPBF (1,38 mg, 5,10 mmol, em 50 mL de THF, 100 mM). A concentração final do supressor químico é importante para evitar reações secundárias induzidas pelo DPBF com a geração de oxigênio singlete. Depois da diluição, a absorvância inicial é medida. Então, a cubeta contendo a solução foi

irradiada com um laser (em 661 nm e 50 mW de potência), em intervalos de 3 segundos, e o espectro de absorbância medido após cada irradiação. Os experimentos foram realizados em uma sala escura.⁷⁰

Os resultados obtidos foram organizados na forma de gráfico onde a absorbância de **DPBF** foi apresentada em função do tempo de irradiação. Para tornar possível a comparação dos dados coletados, a análise dos resultados obtidos relacionou os valores em termos de porcentagem de absorbância de **DPBF** durante 40 segundos de irradiação, sendo o declive da reta obtida, o indicador da quantidade relativa de geração de $^1\text{O}_2$. Pela análise preliminar podemos observar que os FS são bons geradores de $^1\text{O}_2$ (Figura 28).

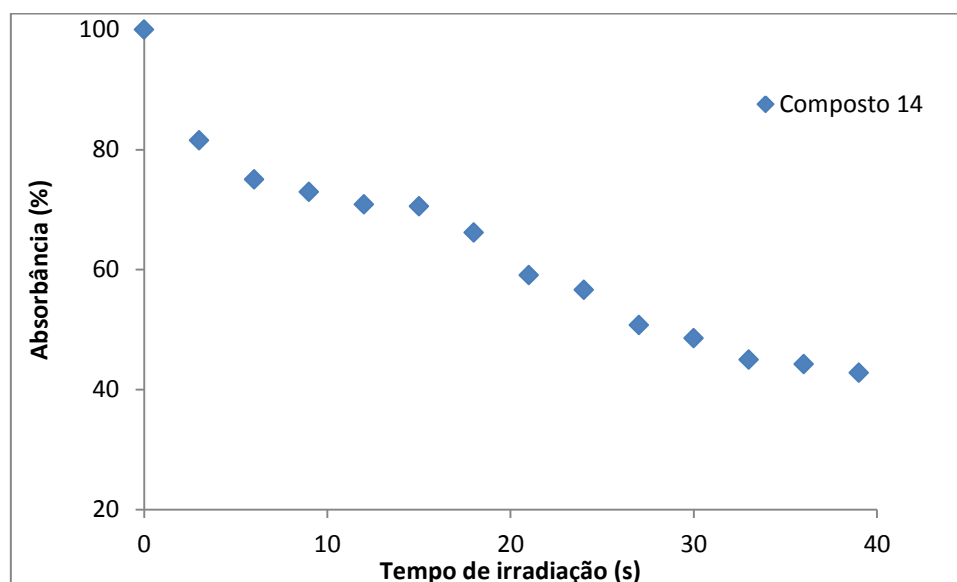


Figura 28. Porcentagem de absorbância de DPBF (410 nm) a 50 μM na presença do composto **14**.

Conclusões e Perspectivas Futuras

5. Conclusões e Perspectivas Futuras

Ao longo das abordagens sintéticas desenvolvidas, foram encontradas muitas dificuldades para as transformações estruturais inicialmente propostas. No entanto, vários dos problemas encontrados foram cuidadosamente estudados objetivando sempre abordagens alternativas. Todos os compostos sintetizados tiveram seus rendimentos otimizados tanto quanto possível e de forma sistemática. As reações de cicloadição 1,3-dipolar propostas para a síntese de bacterioclorinas de baixa agregação se mostraram inviáveis.

A uma segunda abordagem sintética iniciada se mostrou eficiente e a síntese da bacterioclorina de baixa agregação **14** foi realizada cumprindo com o objetivo principal deste trabalho. Foram realizados estudos sistemáticos objetivando as melhores condições reacionais para obtenção das bacterioclorinas desejadas. Estudos sobre a separação dos diastereoisômeros de **14** estão em andamento.

Os estudos de agregação realizados por UV-vis da mistura diastereoisomérica de **14** evidenciaram que a arquitetura molecular destes novos compostos do tipo bacterioclorina permite boa solubilidade em meios orgânicos e baixa agregação. Os testes fotoquímicos preliminares apresentaram resultados esperados para compostos derivados porfirínicos. Contudo, os estudos fotobiológicos ainda deverão ser realizados e, em conjunto com os dados de fotodegradação e da produção de oxigênio singlete, poderemos inferir sobre o potencial do composto **14** enquanto fotossensibilizador.

Parte Experimental

6. Parte Experimental

6.1 Generalidades

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados num espectrômetro do tipo Bruker Avance 400 a 400,15 MHz, e 100,04 MHz, respectivamente. Os deslocamentos químicos estão apresentados em partes por milhão, δ (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Os deslocamentos químicos (δ) estão relatados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno, colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = singleto, s.l. = singleto largo, d = dubleto, t = tripleto, q = quadrupeto, d.d = duplo dubleto, m = multipeto.), a constante de acoplamento (J) em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.

As análises de espectroscopia de correlação ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$) (RMN-2D) foram realizadas no espectrômetro tipo Bruker Avance 400, de acordo com a necessidade durante a atribuição dos compostos. Foram utilizadas técnicas como $^1\text{H}-^1\text{H}$ gCOSY, $^1\text{H}-^1\text{H}$ gNOESY, $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ gHSQC, $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ gHMBC.

Os espectros de massas de baixa resolução e os cromatogramas foram realizados em um equipamento GCMS QP5000 Shimadzu[®]. Coluna capilar: GC OPTIMA[®] 5 (5% fenil, 95% dimetilpolisiloxano), diâmetro interno 0,25 mm, espessura do filme 0,25 μm , comprimento de 30 metros – MACHEREY-NAGEL[®]. Espectrômetro de Massas: ionização por impacto.

As cromatografias em sílica gel “flash” foram realizadas utilizando sílica gel Merck (230–400 mesh) e as cromatografias preparativas em camada fina foram realizadas em placas 20 \times 20 cm impregnadas com sílica gel Merck 60 (1 mm) contendo indicador de fluorescência F₂₅₄.

Todos os solventes utilizados foram purificados de acordo com as necessidades seguindo procedimentos descritos na literatura.²⁶ Os reagentes foram utilizados na sua maioria da forma como foram adquiridos diretamente da Aldrich[®].

Os espectros de absorção no infravermelho foram registrados em um espectrofotômetro BOMEM Hartmann & Braun MB Series, em celas de KBr para líquidos (filme) e pastilhas de KBr para sólidos.

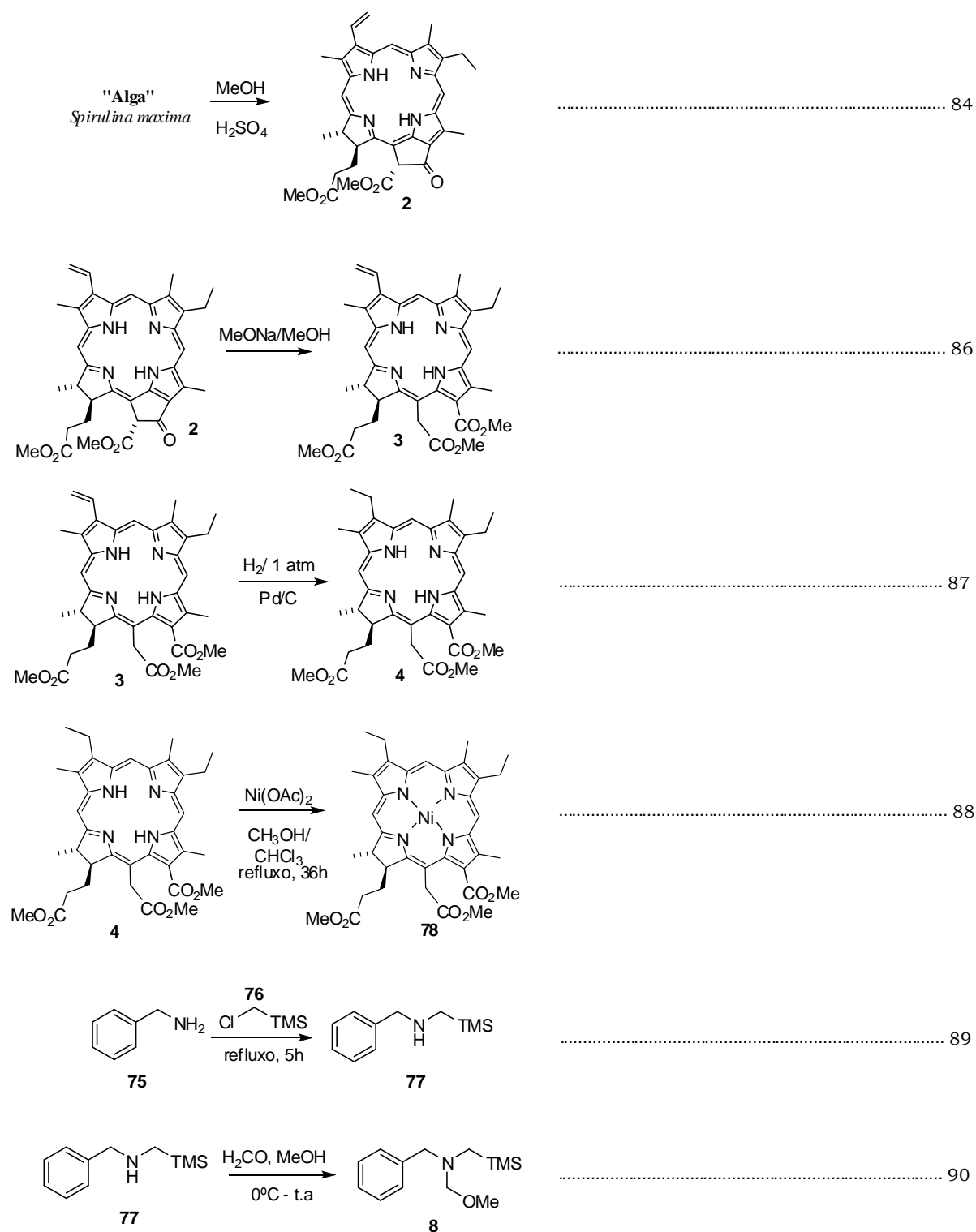
Os pontos de fusão foram determinados em uma placa de aquecimento segundo Klofer com um termômetro não aferido, instalada em um microscópio modelo Bristoline.

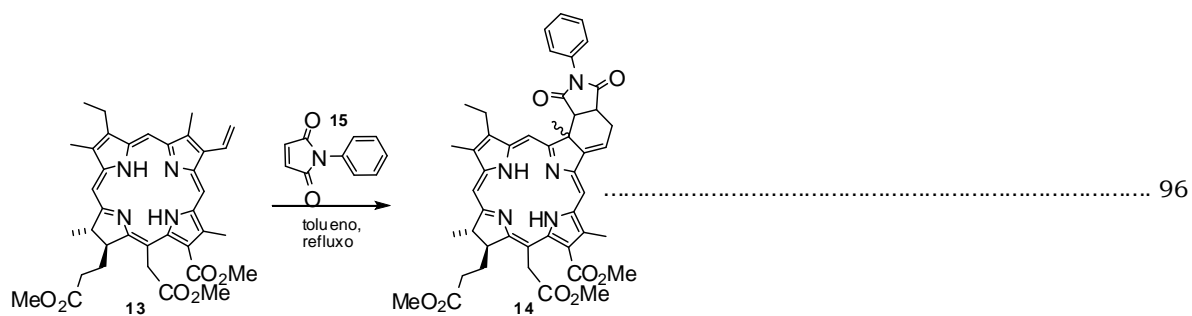
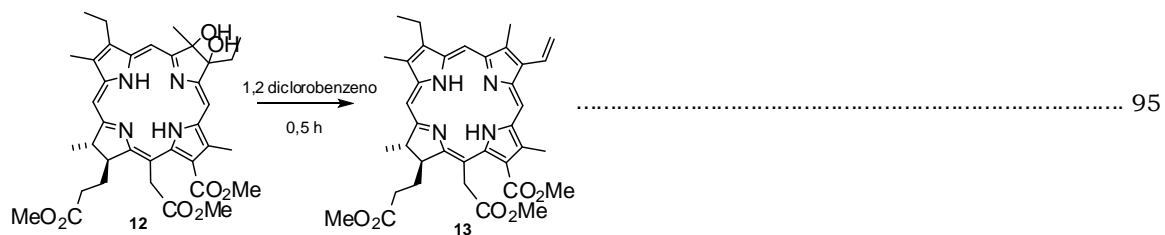
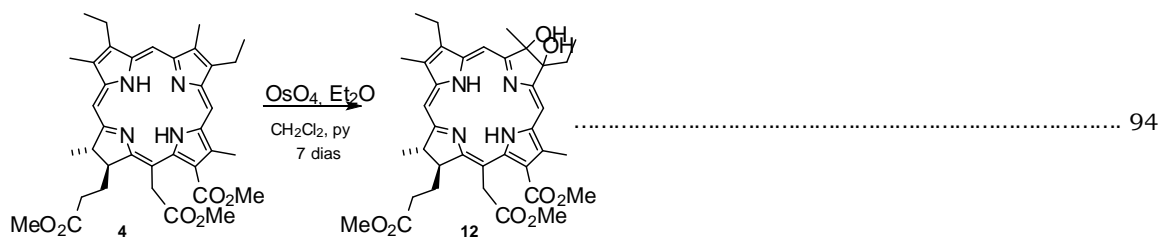
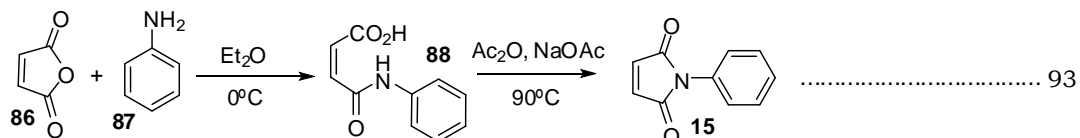
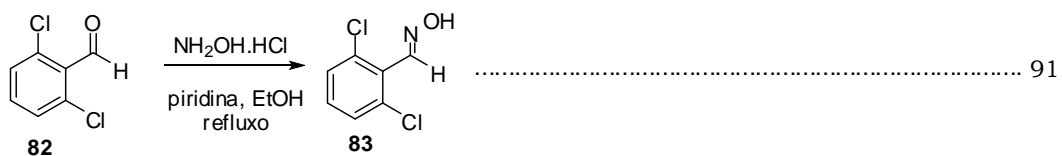
As medidas de UV-Vis foram realizadas em um espectrofotômetro de feixe duplo da *Perkin-Elmer* Lambda 25. Foram utilizadas cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico com 2 faces polidas.

As irradiações feitas para cálculo de rendimento quântico de oxigênio singlete e *photobleaching* foram realizadas em um laser em 661 nm de comprimento de onda em um aparelho tipo OPTO[®] LASER DE DIODO 810 nm FTC em modo PDT/iPDT da OPTO Eletrônica S/A.

Nesta seção, os compostos foram nomeados conforme recomendações oficiais da International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) para nomenclatura de compostos orgânicos.

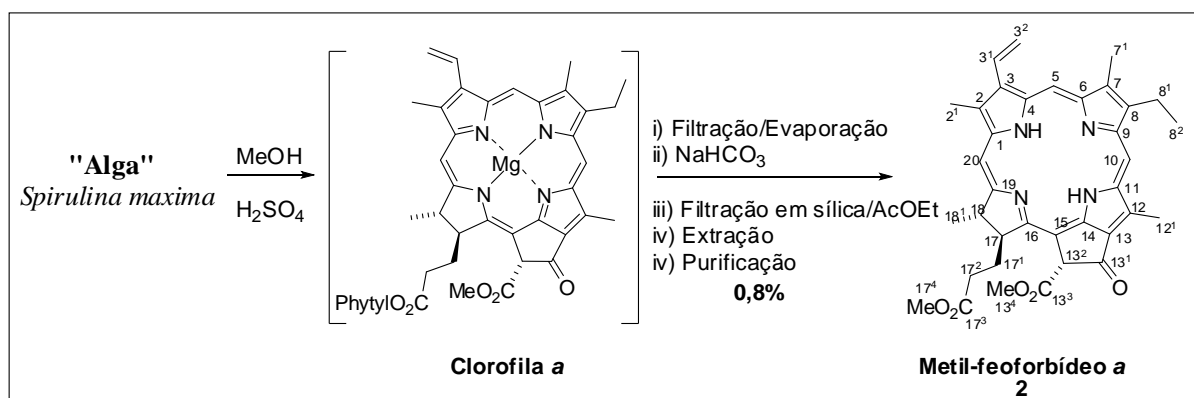
6.2 Índice de Reações





6.3 Procedimento Experimental

6.3.1. Extração e purificação do metil-feoforbídeo a (2)



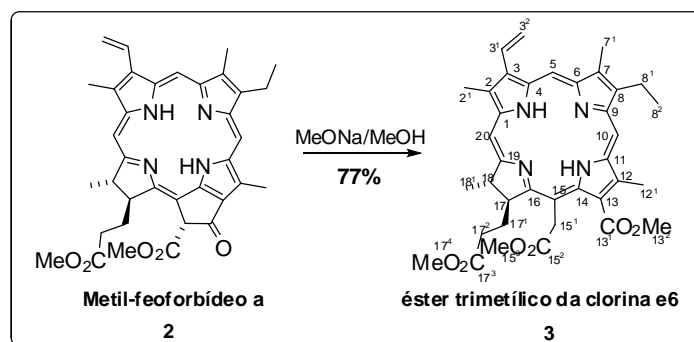
À alga *Spirulina maxima* (100 g) desidratada foi adicionada uma solução de metanol/H₂SO₄ 5% (v/v) (500 mL). A mistura reacional foi mantida sobre agitação por 24 h a temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Após este período a mistura foi filtrada em um funil de placa porosa, lavando-se o extrato de alga com metanol (3 x 100 mL) e com acetato de etila (100 mL), então, o filtrado foi concentrado à pressão reduzida e neutralizado com bicarbonato de sódio. Após a neutralização, a mistura foi filtrada em um funil de placa porosa com sílica, lavando-se a sílica com água, e depois com acetato de etila, o filtrado então foi então extraído com água novamente. A fase orgânica contendo o metilfeoforbídeo a (**2**) foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente removido sob pressão reduzida. A purificação foi realizada por cromatografia em coluna com sílica gel (“flash”) e o eluente utilizado foi uma mistura tolueno:acetato de etila (9:1). O composto **2** foi obtido em um rendimento de 0,8% (800 mg, 1,32 mmol) após cristalização seletiva com CH₂Cl₂ e metanol.

RMN-¹H (CDCl₃, 400,15MHz), δ(ppm): 9.44 (s, 1H, H-10), 9.29 (s, 1H, H-5), 8.54 (s, 1H, H-20), 7.92 (dd, $J_{3^1,3^{2\alpha}} = 11,6$; $J_{3^1,3^{2\beta}} = 17,8$ Hz, 1H, H-3¹), 6.25 (s, 3H, H-13²), 6.24 (dd, $J_{3^{2\alpha},3^{2\beta}} = 1,5$; $J_{3^{2\beta},3^1} = 17,8$ Hz, 1H, H-3^{2 β}), 6.14 (dd, $J_{3^{2\alpha},3^{2\beta}} = 1,5$; $J_{3^{2\beta},3^1} = 17,8$ Hz, 1H, H-3^{2 α}), 4.48-4.42 (m, 1H, H-18), 4.21-4.18 (m, 1H, H-17), 3.88 (s, 3H, H-13⁴), 3.66 (s, 3H, H-12¹), 3.60 (q, $J_{8^1,8^2} = 7,7$ Hz, 2H, H-8¹), 3.57 (s, 3H, H-17⁴), 3.37 (s, 3H, H-2¹), 3.15 (s, 3H, H-7¹), 2.70 – 2.58 (m, 2H, H-17¹), 2.58-2.46 (m, 2H, H-17²), 1.81 (d, $J = 7.3$ Hz, 3H, H-8¹), 1.65 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H, H-8²), 0.50 (s, 1H, H-21), -1.68 (s, 1H, H-23).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,04 MHz) δ(ppm): 189.8 (C-13¹), 173.5 (C-17³), 172.3 (C-19), 169.7 (C-13³), 161.3 (C-16), 155.7 (C-6), 151.1 (C-9), 149.8 (C-14, C-15), 145.3 (C-8), 142.2 (C-1), 138.1 (C-11)*, 136.6 (C-4), 136.4 (C-7), 136,3 (C-3) 132.0 (C-2), 129.2 (C-12)*, 122.9 (C-3²), 105.3 (C-13), 104.5 (C-10), 97.6 (C-5), 93.2 (C-20), 64.8 (C-13²), 53.0 (C-13⁴), 51.8 (C-17⁴), 51.2 (C-17), 50.2 (C-18), 31.2 (C-17²), 30.0 (C-17¹), 23.2 (C-18¹), 19.5 (C-8¹), 17.5 (C-8²), 12.2 (C-12¹, C-2¹), 11.3 (C-7¹).

Análise Elementar: C₃₆H₃₈N₄O₅ - teórico % (experimental %) N: 9.23 (9.25) C: 71.27 (71.42), H: 6.31 (6.42).

6.3.2. Síntese do éster trimetílico da clorina e₆ (3)

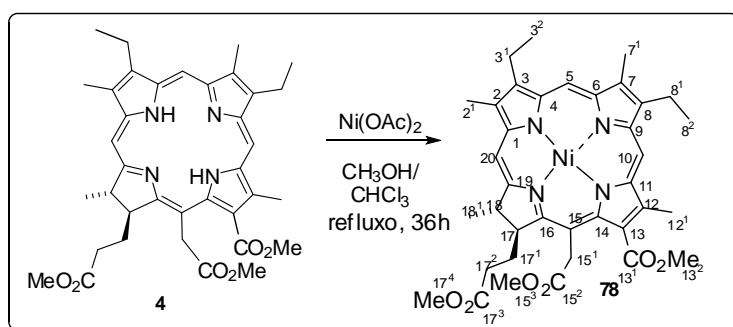


Ao metil feoforbídeo a (**2**) (500 mg, 0,8 mmol), adicionou-se 8 mL de metanol seco e 8 mL de THF seco. Então, 1,2 mL de uma solução 1M de metóxido de sódio foi adicionada gota a gota a 0°C. A solução foi agitada a 0°C por 1 h e depois por mais 4h a temperatura ambiente. Após o término da reação, transferiu-se o meio reacional para um funil de separação e a extração foi feita com água e acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, e o solvente removido sob pressão reduzida. A purificação foi feita através de coluna de sílica gel (“flash”) e o eluente utilizado foi uma mistura de diclorometano: acetato (99:1). Após a cristalização com diclorometano/hexano obteve-se os cristais com um rendimento de 77% (393,5 mg, 0,62 mmol).

RMN-¹H (CDCl₃, 400,15MHz), δ(ppm): 9.68 (s, 1H, H-10), 9.55 (s, 1H, H-5), 8.73 (s, 1H, H-20), 8.05 (dd, J = 17.7, 11.4 Hz, 1H, H-3¹), 6.34 (dd, J = 17.9, 1.3 Hz, 1H, H-3^{2B}), 6.13 (dd, J = 11.5, 1.4 Hz, 1H, H-3^{2A}), 5,34 (d, J= 19.0 Hz, 1H, H-15¹), 5,23 (d, J= 19.0 Hz, 1H, H-15¹), 4.42 (m, 2H, H-17, H-18), 4.25 (s, 3H, H-13²), 3.78 (q, 2H, H-8¹), 3.76 (s, 3H, H-15³), 3.62 (s, 3H, H-17⁴), 3.57 (s, 3H, H-12¹), 3.46 (s, 3H, H-2¹), 3.29 (s, 3H, H-7¹), 2.60 – 2.51 (m, 1H, H-17¹), 2.23 – 2.14 (m, 2H, H-17¹, H-17²), 1.78 – 1.69 (m, 7H, H-18¹, H-8², H-17²), -1.30 e -1.47 (sl, 2H, H-21 e H-23)

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,04MHz) δ(ppm): 173.7 (C-17³), 173.2 (C-15²), 169.7 (C-13¹), 169.6 (C-19), 167.0 (C-16), 155.0 (C-6), 149.1 (C-9), 145.2 (C-8), 139.6 (C-1), 136.6 (C-11)*, 136.1 (C-4, C-7), 135.5 (C-14, C-15), 134.9 (C-3), 130.7 (C-2), 129.5 (C-3¹), 129.5 (C-12)*, 123.5 (C-13), 121.9 (C-3²), 102.3 (C-10), 98.8 (C-5), 93.7 (C-20), 53.1 (C-17), 53.2 (C-13²), 52.2 (C-15³), 51.8(C-17⁴), 49.5 (C-18), 38.7 (C-15¹), 31.2 (C-17²), 29.7 (C-17¹), 23.1 (C-18¹), 19.8 (C-8¹), 17.8 (C-8²), 12.5 (C-12¹), 12.3 (C-2¹), 11.5 (C-7¹).

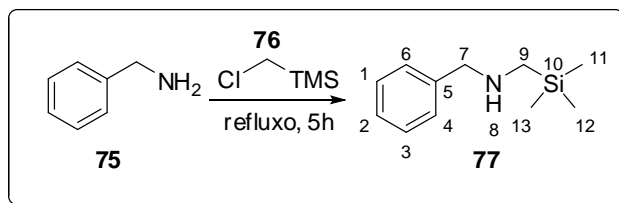
6.3.4. Síntese do Composto 78



A uma solução de 80 mg de éster trimetílico da mesoclorina e_6 (**4**) (0,13 mmol) em 90mL de $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1), adiciona-se 290,0 mg de acetato de níquel II (0,95 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a 100°C por 36 h. Em seguida a reação foi evaporada sob pressão reduzida. A purificação foi realizada em coluna de sílica gel “flash”, eluente diclorometano/acetato de etila (99:1) O produto **78** foi obtido com um rendimento de 96% (83,5 mg, 0,12 mmol).

RMN- ^1H (CDCl_3 , 400,15MHz), δ (ppm): 9.03 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 4.69 (d, $J = 18.6$ Hz, 1H), 4.49 (d, $J = 18.6$ Hz, 1H), 4.12 (s, 3H), 4.09 – 3.99 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.60 – 3.46 (m, 4H), 3.22 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 2.97 (s, 3H), 2.43 (m, 1H), 2.36 – 2.28 (m, 1H), 1.71 (m, 1H), 1.62 – 1.57 (m, 5H), 1.55 – 1.49 (m, 5H).

6.3.5. Síntese da *N*-Benzil-*N*-[(trimetilsilil)metil]amina (77)



A mistura de clorometiltrimetilsilano (13,35 g, 110 mmol) e benzilamina (34,13 g, 210 mmol) sob agitação e refluxo por 5 h. A mistura reacional então foi resfriada a temperatura ambiente, e então dissolvida em água (100 mL) e extraída com hexano (2 x 100 mL). As porções orgânicas foram combinadas, lavadas com água (2 x 100 mL), secas (Na_2SO_4) e concentradas sob pressão reduzida. A mistura reacional foi purificada por destilação fracionada utilizando-se um sistema do tipo “*short path*” coletando-se a fração na temperatura de 90°C de um líquido incolor (17,0 g, 88 mmol). Rendimento de 80%.

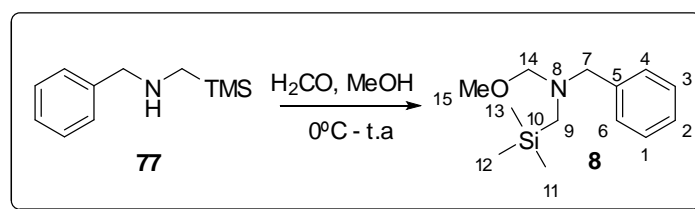
RMN- ^1H (CDCl_3 , 400,15 MHz) δ (ppm): 7.28 (m, 5H), 3.80 (s, 2H), 2.05 (s, 2H), 0.04 (s, 9H).

RMN – ^{13}C (CDCl_3 , 100,04 MHz) δ (ppm): 140.8, 128.4, 128.2, 126.88, 58.2, 39.6, -2.4.

I.R (ν_{max} , KBr, cm^{-1}): 3066, 3026, 2953, 2780, 1454, 1247, 1104, 1029, 859, 697.

MS m/z (intensidade relativa): 91 (100%), 102 (40%), 107 (75%), 73 (71%), 45 (18%), 65 (14%), 100(13%).

6.3.6. Síntese da *N*-Benzil-*N* metoximetiltrimetilsililmetilamina (8)

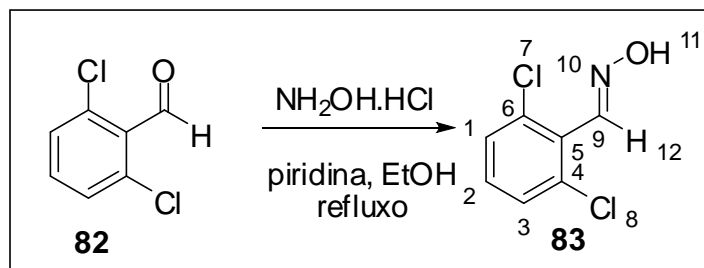


N-Benzil-*N*-[(trimetilsilil)metil]amina (12,0 g, 62 mmol) foi adicionado gota a gota durante 30 min sob agitação a 0°C a uma solução de formaldeído aquoso (37%, 6,2 mL) e metanol (3,8 mL). A solução resultante foi deixada a temperatura ambiente sob agitação por 4 h e, posteriormente saturada com K₂CO₃ e extraída com diclorometano (3 x 80 mL). As porções orgânicas foram combinadas, secas (Na₂SO₄) e concentradas sob pressão reduzida. A mistura reacional foi purificada por destilação fracionada utilizando-se um sistema do tipo “*short path*” coletando-se a fração na temperatura de 110°C de um líquido claro (10,17 g, 43 mmol). Rendimento de 69%.

RMN-¹H (CDCl₃, 400,15 MHz) δ (ppm): 7.32 (s, 5H), 4.01 (s, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.24 (s, 3H), 2.19 (s, 2H), 0.05 (s, 9H).

RMN – ¹³C (CDCl₃, 100,04 MHz) δ (ppm): 139.9, 128.9, 128.3, 127.0, 88.5, 59.7, 55.5, 43.0, -1.3.

I.R (ν_{max.}, KBr, cm⁻¹): 3031, 2953, 2800, 1494, 1453, 1362, 1248, 1072, 854, 738, 697.

6.3.7. Síntese da 2,6-diclorobenzaldeído oxima (**83**)

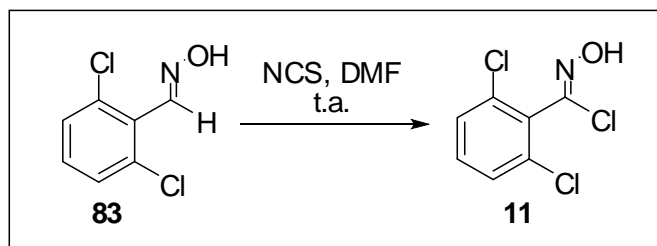
1,0 g de 2,6-diclorobenzaldeído (**82**) (5,2 mmol) foi dissolvido em etanol (8 mL), seguida pela adição de cloridrato de hidroxilamina (794,14 mg, 0,114 mol, 2 equiv.) e piridina (1,38 mL, 17 mmol, 3 equiv.). A mistura reacional foi refluxada por 1 h e monitorada por CCD. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e ao resíduo foi adicionada água (50 mL) e extraído com acetato de etila (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram combinadas, lavadas com solução saturada de cloreto de sódio, secas com sulfato de sódio e evaporadas sob pressão reduzida. Por fim, lavou-se o produto com hexano gelado. O produto **83** foi obtido com um rendimento de 73% (789,98 mg, 4,2 mmol).

RMN-¹H (CDCl_3 , 400,15 MHz) δ (ppm): 8.80 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.36 (t, J = 7.4 Hz, 3H).

I.R (ν_{max} , KBr, cm^{-1}): 1582, 1559, 1465, 1438, 1299, 1188, 1094, 986, 878, 780, 718.

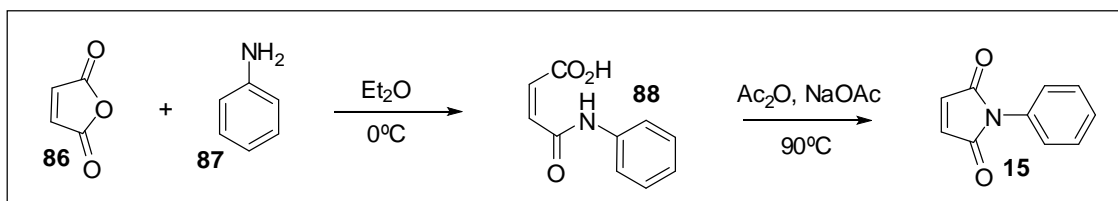
MS m/z (intensidade relativa): 45 (100%), 44 (30%), 43 (25%), 73 (22%), 89 (20%), 154 (13%).

6.3.8. Síntese da cloroxima (11)



250,0 mg de 2,6-diclorobenzeno oxima (**83**) (1,31 mmol) foram dissolvidos em 3,0 mL de DMF. A solução foi posta em agitação a temperatura ambiente e então adicionou-se 176,0 mg de NCS (1,31 mmol, 1 equiv.) ao meio reacional. A reação foi mantida sob agitação por 2 h e monitorada por CCD. Em seguida adicionou-se a mistura reacional água (50 mL) e extraiu-se com éter etílico (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram combinadas, lavadas com água e em seguida com solução saturada de cloreto de sódio, secas com sulfato de sódio e evaporadas sob pressão reduzida. O produto **11** foi obtido com um rendimento de 92% (272,2 mg, 1,2 mmol).

6.3.9. Síntese da *N*-fenilmaleimida (15)



A uma solução de 7,65 g (78 mmols) de anidrido maleico em 156 mL de éter etílico a 0°C adicionou-se 7,1 mL de anilina (7,26 g, 78 mmols). A mistura reacional foi agitada a 0°C por 15 minutos. O sólido amarelo claro obtido foi filtrado e lavado com éter etílico (2 x 100 mL). O intermediário X foi posto para reagir com 3,6 g de acetato de sódio anidro em 360 mL de anidrido acético destilado recentemente. A mistura reacional foi agitada a 90°C por 2 horas. Após este período, a reação foi finalizada adicionando-se gelo à mistura reacional (300 mL) e então a mesma foi extraída com diclorometano (3 x 100 mL). As fases orgânicas foram lavadas com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, secas com sulfato de sódio anidro e rotaevaporadas. O produto **15** foi obtido na forma de cristais agulhas amarelos com 74% de rendimento global.

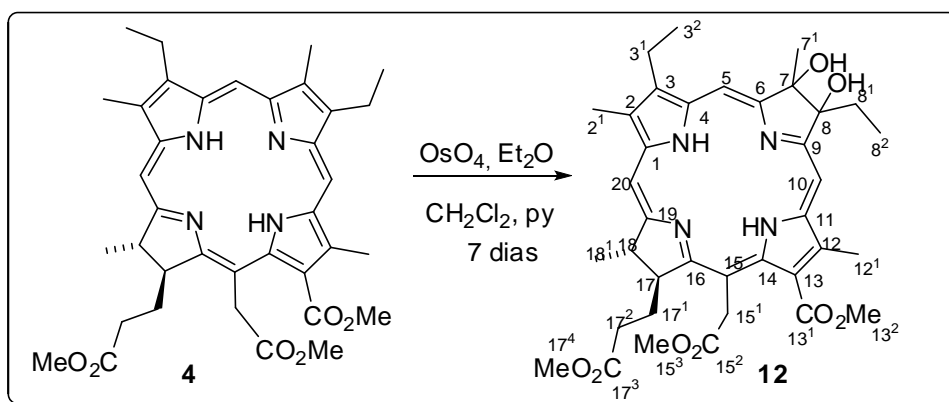
RMN-¹H (CDCl₃, 400,15MHz), δ(ppm): 6.85 (br s, 2H, H-2 e H-3); 7.33-7.39 (m, H-7, H-8 e H-9); 7.45-7.49 (m, H-6 e H-10).

RMN-¹³C (CDCl₃, 100,04MHz) δ(ppm): 126.0 (2C, C-6 e C-10); 127.9 (C-8); 129.1 (2C, C-7 e C-9); 131.2 (C-5); 134.2 (2C, C-2 e C-3); e 169.5 (2C, C-1 e C-4).

I.R (ν_{max.}, KBr, cm⁻¹): 1707, 1507, 1453, 1145, 1071, 831, 756, 696.

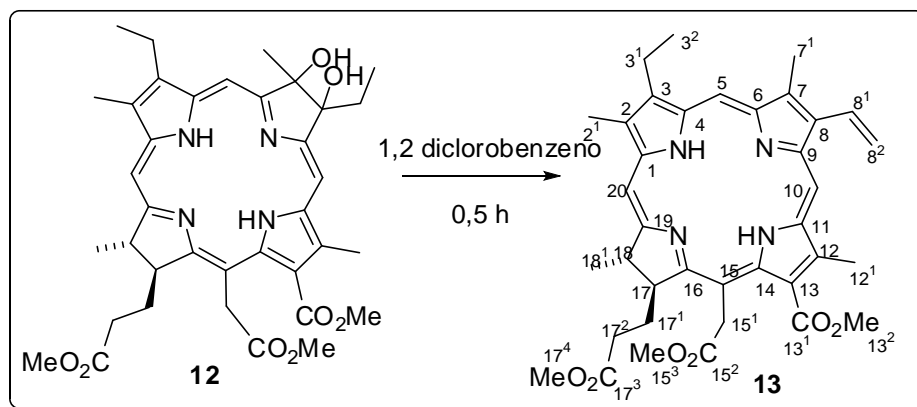
MS *m/z* (intensidade relativa): 173 (100%), 54 (70%), 129 (36%), 103 (27%), 64 (25%).

6.3.10. Síntese do éster trimetílico da *vic*-7,8-dihidroximesoclorina **e**₆ (**12**)



Piridina (1 mL) e uma solução de tetróxido de ósmio (1,0 g, 4,0 mmol) em éter etílico (10 mL) foram sucessivamente adicionadas a uma solução de éster trimetílico da mesoclorina **e**₆ (**4**) (1,234 g, 1,93 mmol) diclorometano seco (120 mL). A mistura foi agitada a temperatura ambiente por 72 h. Em seguida, ácido sulfídrico foi borbulhado na reação por 5 min afim de decompor o tetróxido de ósmio que não remanescente. e então, deixou-se o sistema sob agitação para remoção do ácido sulfídrico. A mistura foi filtrada em celite e o filtrado foi concentrado à pressão reduzida. A purificação foi feita em coluna de sílica gel utilizando-se uma mistura diclorometano: metanol (98:2) o eluente. Após cristalização com dicloro/hexano obteve-se os cristais com 40% de rendimento (521 mg, 0,77 mmol).

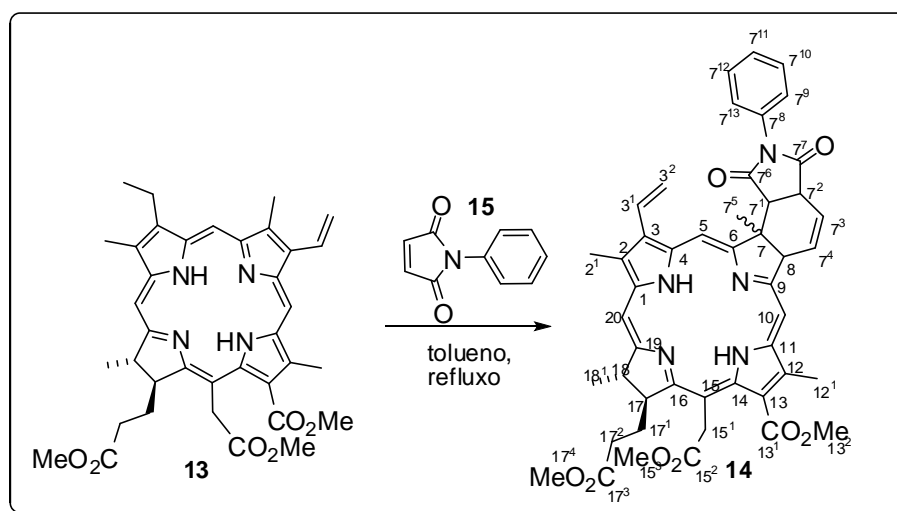
RMN-¹H (CDCl₃, 400,15MHz), δ(ppm): 8.67 (s, 1H), 8.56 (d, J = 4.2 Hz, 2H), 8.48 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.65 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 5.12 (d, J = 18.7 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 18.7 Hz, 1H), 4.18 (s, 3H), 4.14 – 4,09 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.67 (m, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.31 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 2.44 (m, 4H), 2.07 (s, 3H), 1.66 – 1.60 (m, 5H), 1.20 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.96 (t, J = 7.3 Hz, 3H), -0.37 (s, 1H), -0.66 (s, 1H).

6.3.11. Síntese do éster trimetílico da 8-vinilmesoclorina e_6 (**13**)

O éster trimetílico da *vic*-7,8-dihidroximesoclorina e_6 (**12**) (75 mg, 0,11 mmols) foi dissolvida em 1,2-diclorobenzeno (15 mL) seco e desoxigenado. O sistema foi mantido ao abrigo de luz e em atmosfera inerte sob refluxo por 0,5 h. A purificação foi feita em coluna de sílica gel utilizando-se hexano como eluente para remover o 1,2-diclorobenzeno. Em seguida, utilizou-se como eluente uma mistura dicloro:metanol (97:3) para a eluição do produto. A cristalização foi feita com diclorometano e hexano, e o composto foi obtido com um rendimento de 30% (21,1 mg, 0,033 mmol).

RMN- ^1H (CDCl_3 , 400,15MHz), δ (ppm): 9.82 (s, 1H), 9.41 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.03 (dd, $J = 18.0, 11.5$ Hz, 1H), 6.12 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 5.99 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 5.27 (d, $J = 18.0$ Hz, 2H), 4.39 (m, 2H), 3.89 – 3.81 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 2.57 – 2.53 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.19 (m, 2H), 1.74 (s, 7H), -1.34 (sl, 2H).

6.3.12. Síntese do Composto 14



Foram misturados 30,0 mg (0,05 mmol) do composto **13**, em 2,0 mL de tolueno anidro/desoxigenado e 432,9 mg (2,5 mmol) do composto **15**. A mistura reacional foi purgada com argônio e aquecida a 135° C sob agitação em tubo selado (sistema Sealed tube Aldrich®) durante 8h. Após este período a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica “flash”, utilizando-se como eluente uma mistura de Tolueno/Acetato de etila (8,5:1,5). A mistura diastereoisomérica foi obtida em um rendimento de 47% (19,1 mg, 0,024 mmol).

Espectros de Ressonância Magnética Nuclear

7. Espectros de RMN

Nesta seção serão apresentados os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos deste trabalho. Também serão incluídas algumas tabelas de atribuição contendo dados obtidos pelas técnicas de correlação gCOSY, gNOESY, gHSQC, gHMBC .

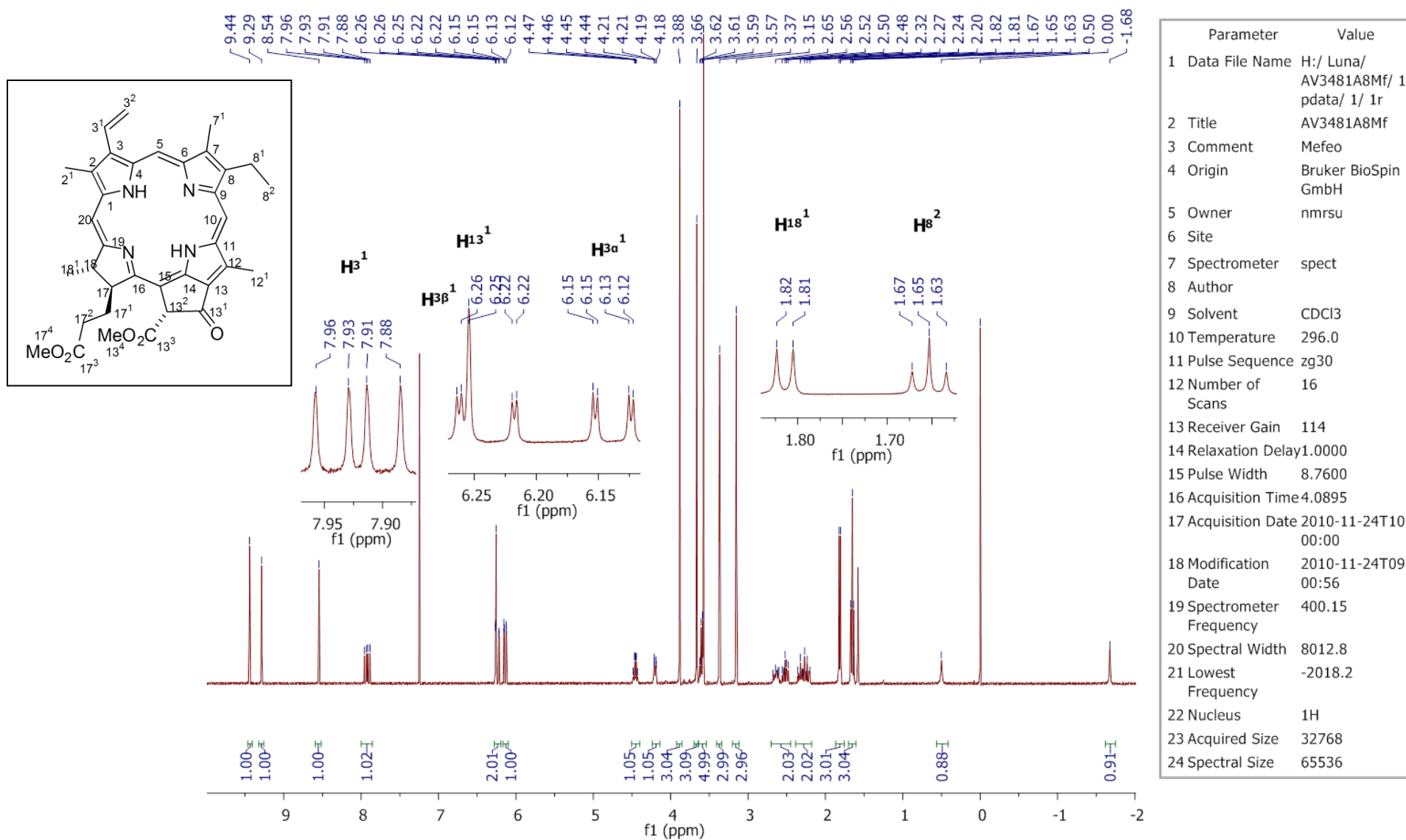


Figura 29. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto 2

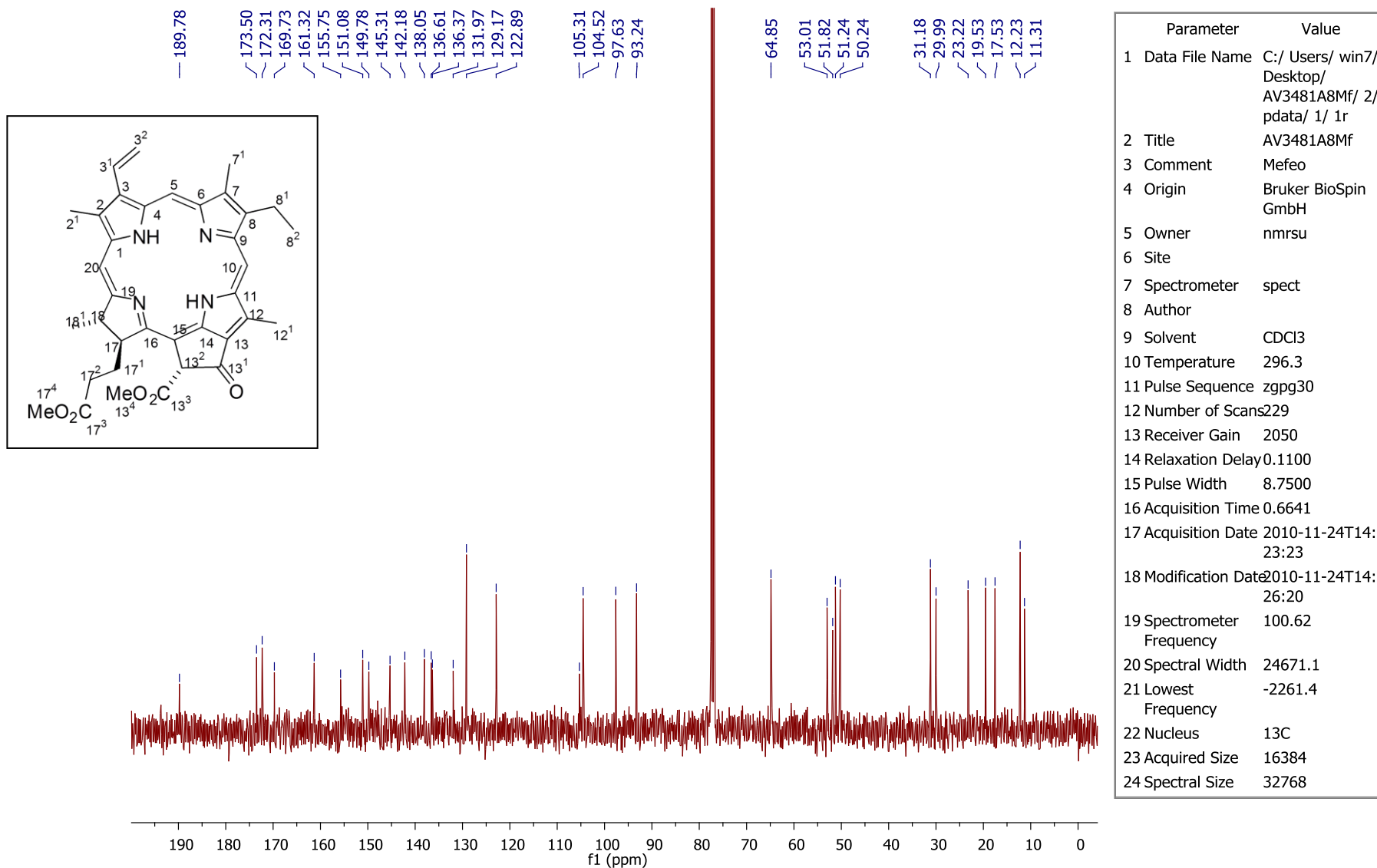


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 2

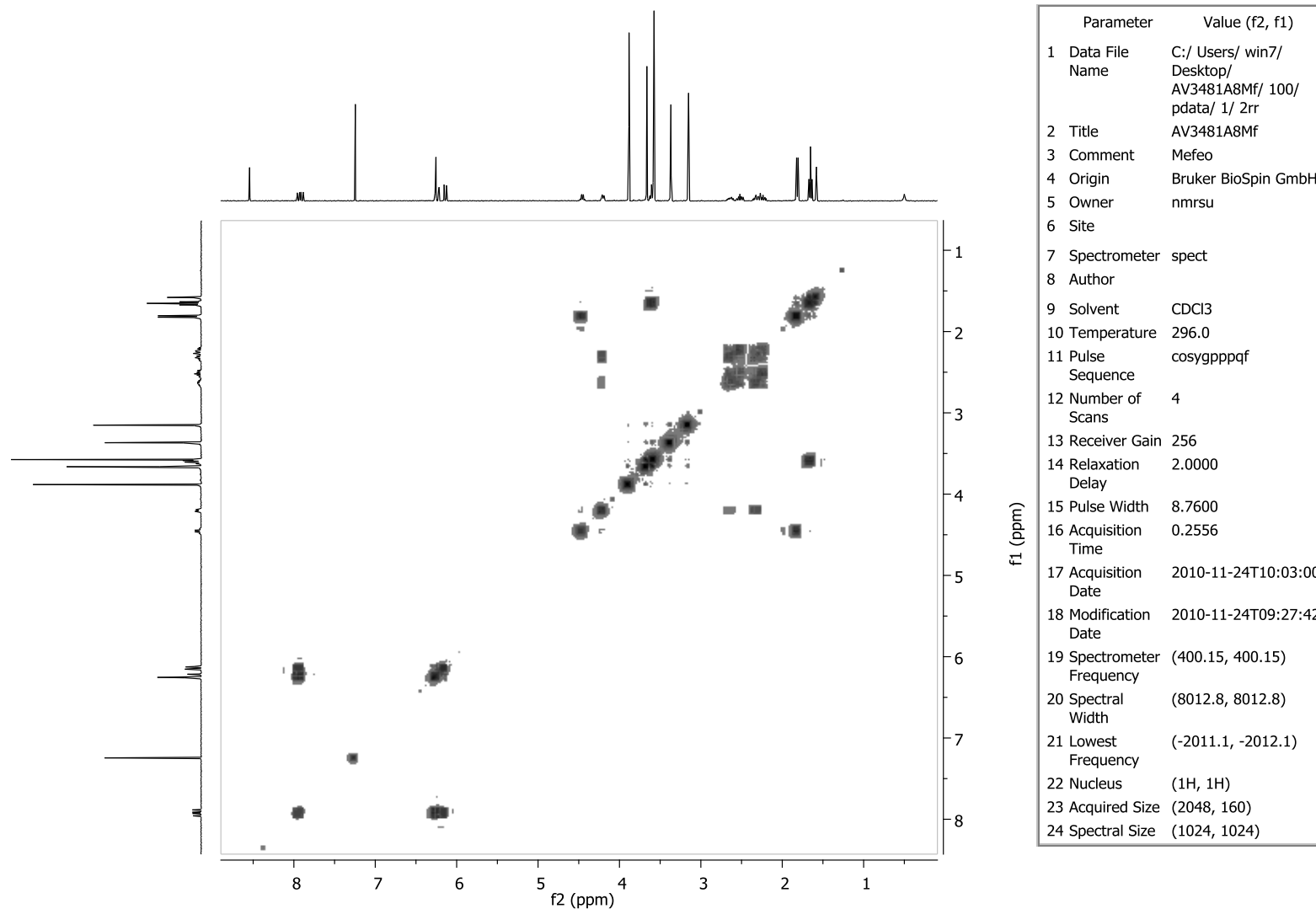


Figura 31. Espectro de RMN de gCOSY – do Composto 2.

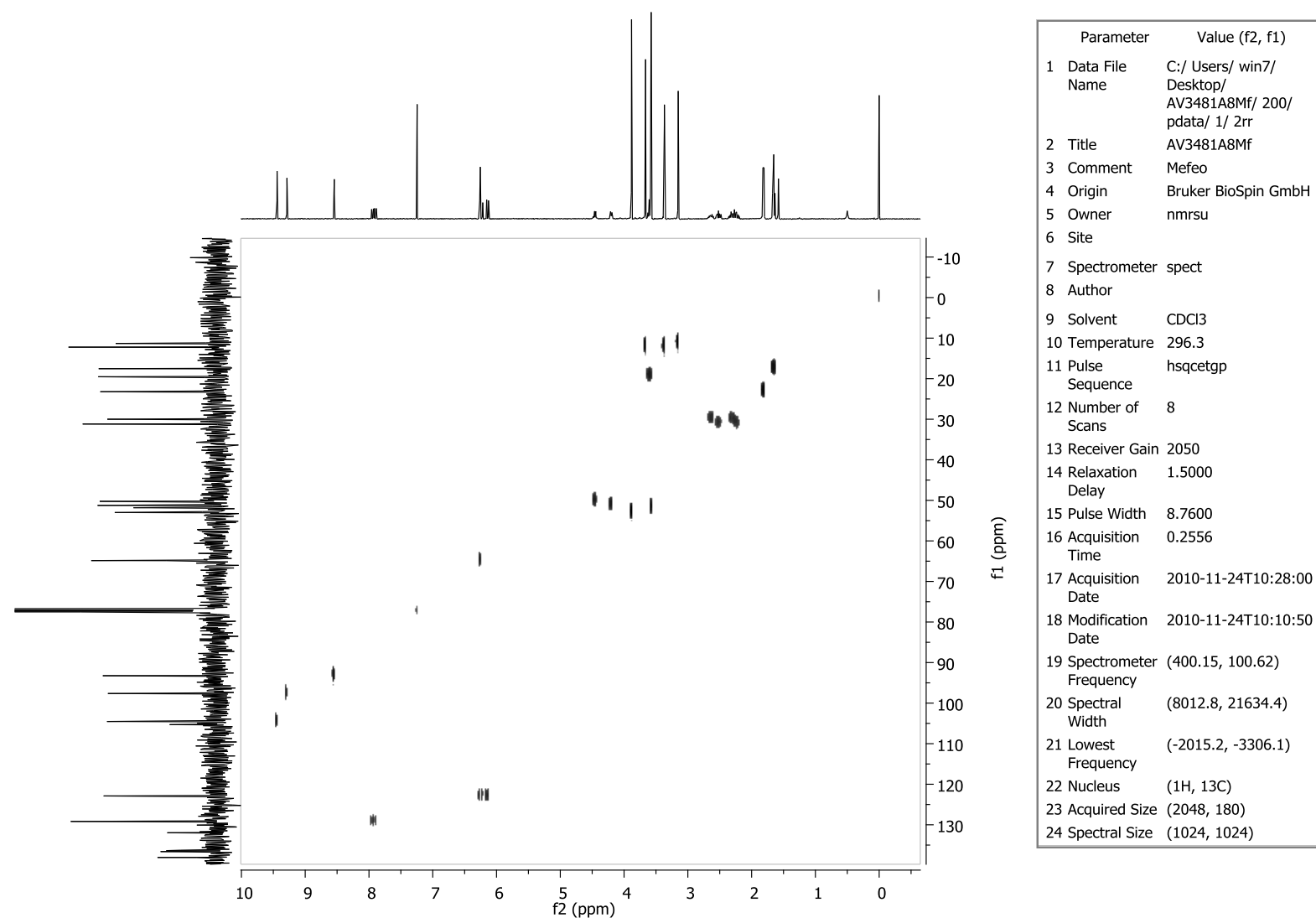


Figura 32. Espectro de RMN de gHSQC – do Composto 2.

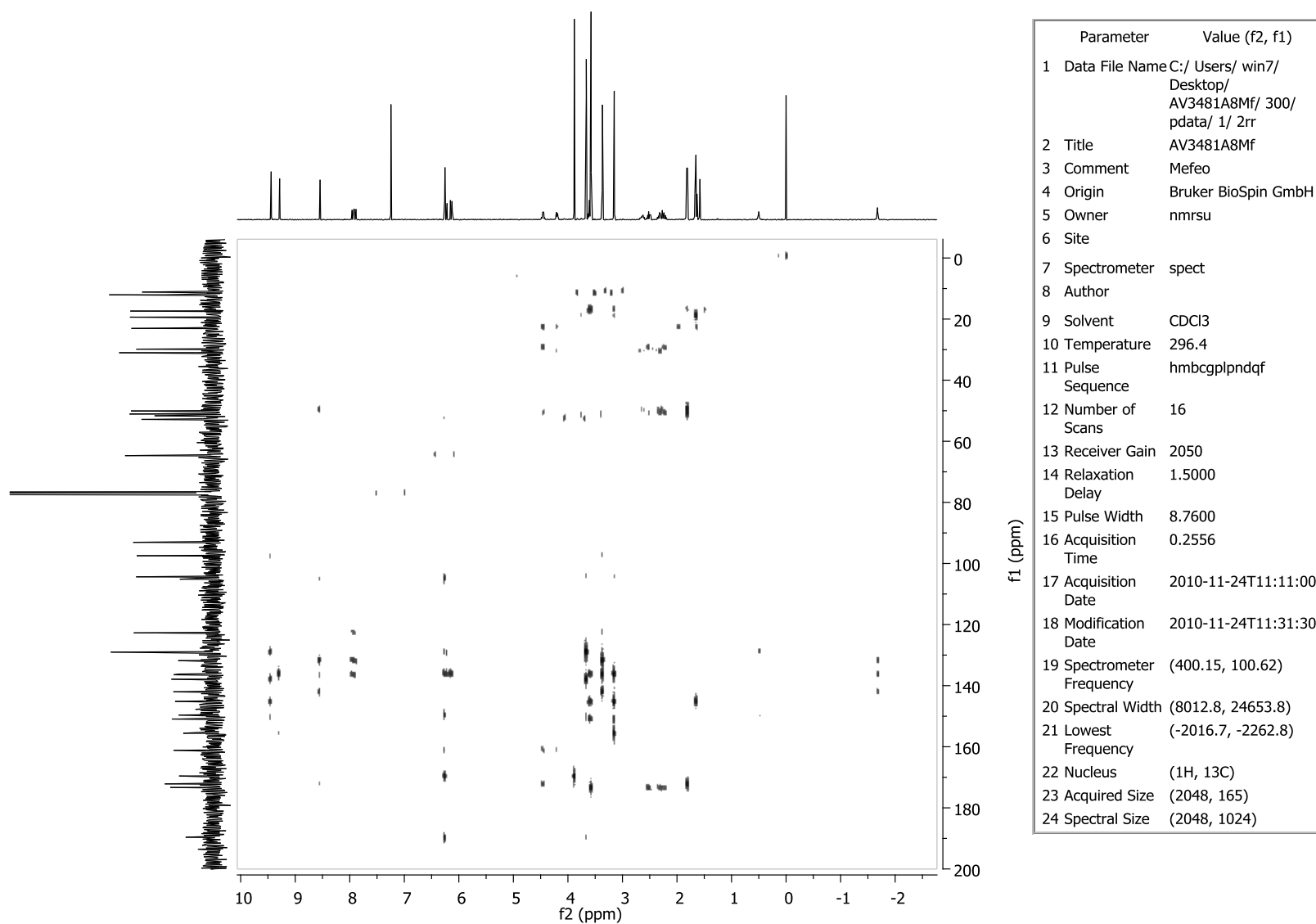


Figura 33. Espectro de RMN de gHMBC – do Composto 2.

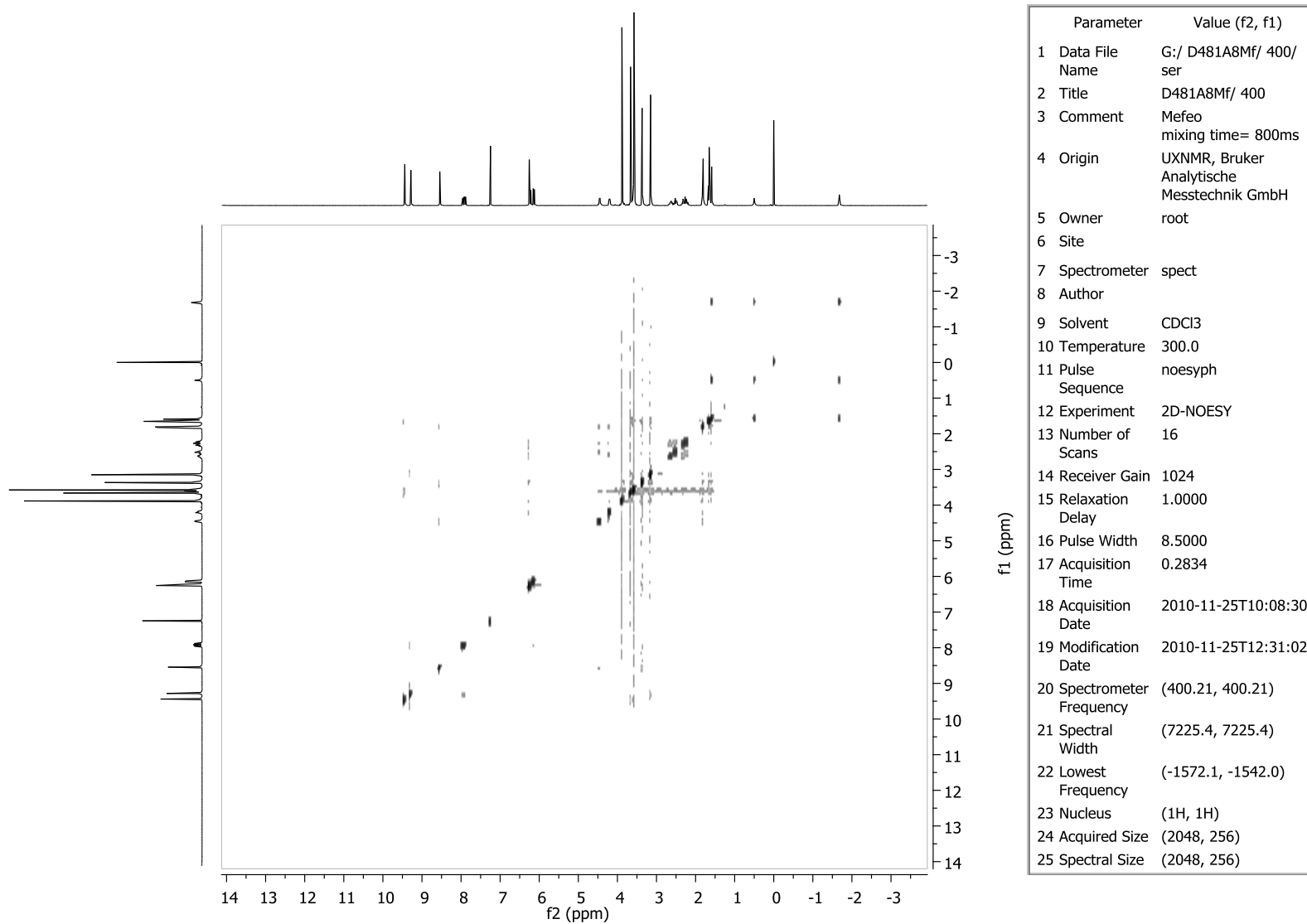


Figura 34. Espectro de RMN de gNOESY – do Composto 2.

. Tabela 7. Dados Espectroscópicos do Composto 2.

C	□C(ppm)	□H(ppm)	Integral Relativa	Multiplicidade	Constantes de Acoplamento (Hz)	gCOSY	gHMBC	gHSQC
1	142,2	–	–	–	–	–	H ₂ ¹ , H ₂₀	–
2	132,0	–	–	–	–	–	H ₂₀ , H ₂ ¹ , H ₃ ¹	–
2 ¹	12,2	3,37	3H	s	–	–	–	H ₂ ¹
3	136,6	–	–	–	–	–	H ₃ ² , H ₂ ¹	–
3 ¹	129,2	7,92	1H	dd	J _{3¹,3^{2α}} = 11,6; J _{3¹,3^{2β}} = 17,8	H ₃ ^{2α} , H ₃ ^{2β}	H ₃ ²	H ₃ ¹
3 ^{2α}	122,9	6,14	1H	dd	J _{3^{2α},3^{2β}} = 1,5; J _{3^{2α},3¹} = 11,6	H ₃ ¹	H ₃ ¹	H ₃ ^{2α}
3 ^{2β}	122,9	6,24	1H	dd	J _{3^{2α},3^{2β}} = 1,5; J _{3^{2β},3¹} = 17,8	H ₃ ¹	H ₃ ¹	H ₃ ^{2β}
4	136,6	–	–	–	–	–	H ₃ ¹	–
5	97,6	9,29	1H	s	–	–	–	H ₅
6	155,7	–	–	–	–	–	H ₅ , H ₇ ¹	–
7	136,4	–	–	–	–	–	H ₅ , H ₈ ¹ , H ₇ ¹	–
7 ¹	11,3	3,15	3H	s	–	–	–	H ₇ ¹
8	145,3	–	–	–	–	–	H ₁₀ , H ₈ ¹ , H ₇ ¹ , H ₈ ²	–
8 ¹	19,5	3,60	2H	q	J _{8¹,8²} = 7,7	H ₈ ²	H ₈ ²	H ₈ ¹
8 ²	17,5	1,65	3H	t	J _{8²,8¹} = 7,7	H ₈ ¹	H ₈ ¹	H ₈ ²
9	151,1	–	–	–	–	–	H ₈ ¹ , H ₇ ¹	–
10	104,5	9,44	1H	s	–	–	H ₁₂ ¹	H ₁₀
11	138,0	–	–	–	–	–	H ₁₀ , H ₁₂ ¹	–
12	129,2	–	–	–	–	–	H ₁₀ , H ₁₂ ¹	–
12 ¹	12,2	3,66	3H	s	–	–	–	H ₁₂ ¹
13	105,3	–	–	–	–	–	H ₁₃ ²	–

13 ¹	189,8	–	–	–	–	–	H ₁₃ ²	H ₁₃ ¹
13 ²	64,8	6,25	3H	s	–	–	–	H ₁₃ ²
13 ³	169,7	–	–	–	–	–	H ₁₃ ² , H ₁₃ ⁴	–
13 ⁴	53,0	3,88	3H	s	–	–	–	H ₁₃ ⁴
14	149,8	–	–	–	–	–	H ₁₃ ²	–
15	149,8	–	–	–	–	–	H ₁₃ ²	–
16	161,3	–	–	–	–	–	H ₁₃ ² , H ₁₈ , H ₁₇	–
17	51,2	4,18–4,21	1H	m	–	H ₁₇ ¹ , H ₁₇ ² , H ₁₈	H ₁₇ ² , H ₁₈	H ₁₇
17 ¹	30,0	2,27–2,32, 2,58–2,70	1H	m	–	H ₁₇ , H ₁₇ ²	H ₁₈	H ₁₇ ¹
17 ²	31,2	2,18–2,27, 2,46–5,58	1H	m	–	H ₁₇ , H ₁₇ ¹	H ₁₇	H ₁₇ ²
17 ³	173,5	–	–	–	–	–	H ₁₇ ⁴ , H ₁₇ ¹ , H ₁₇ ²	–
17 ⁴	51,8	3,57	3H	s	–	–	–	H ₁₇ ⁴
18	50,2	4,42–4,48	1H	m	–	H ₁₇ , H ₁₈ ¹	H ₂₀ , H ₁₈ ¹ , H ₁₇ ¹	H ₁₈
18 ¹	23,2	1,81	3H	d	J _{18¹,18} = 7,3	H ₁₈	H ₁₈ , H ₁₇	H ₁₈ ¹
19	172,3	–	–	–	–	–	H ₂₀ , H ₁₈ ¹ , H ₁₈	–
20	93,2	8,54	1H	s	–	–	–	H ₂₀
N21	–	–1,67	1H	sl	–	–	–	–
N23	–	0,50	1H	sl	–	–	–	–

Hidrogênios Irradiados	Hidrogênios com efeito NOE
H ₃ ¹	H ₅
H ₃ ^{2β}	H ₂ ¹
H ₅	H ₃ ¹ ; H ₇ ¹
H ₁₀	H ₈ ¹ ; H ₈ ² ; H ₁₂ ¹
H ₁₃ ²	H ₁₇ ¹ ; H ₁₇ ² ; H ₁₇
H ₁₂ ¹	H ₁₀ ; H ₈ ²
H ₂₀	H ₁₈ ¹ ; H ₂ ¹ ; H ₁₈

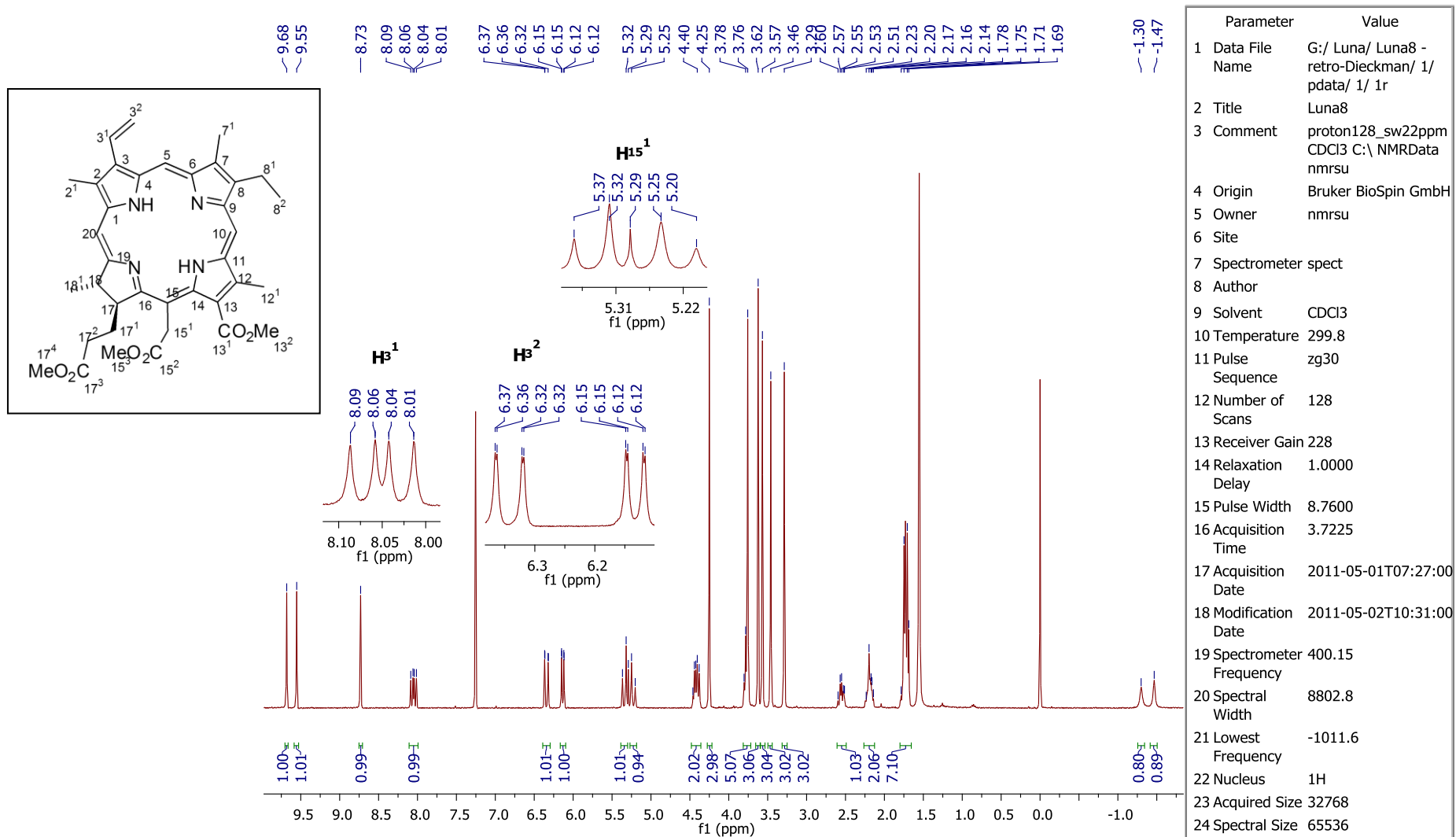


Figura 35. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) - o Composto 3

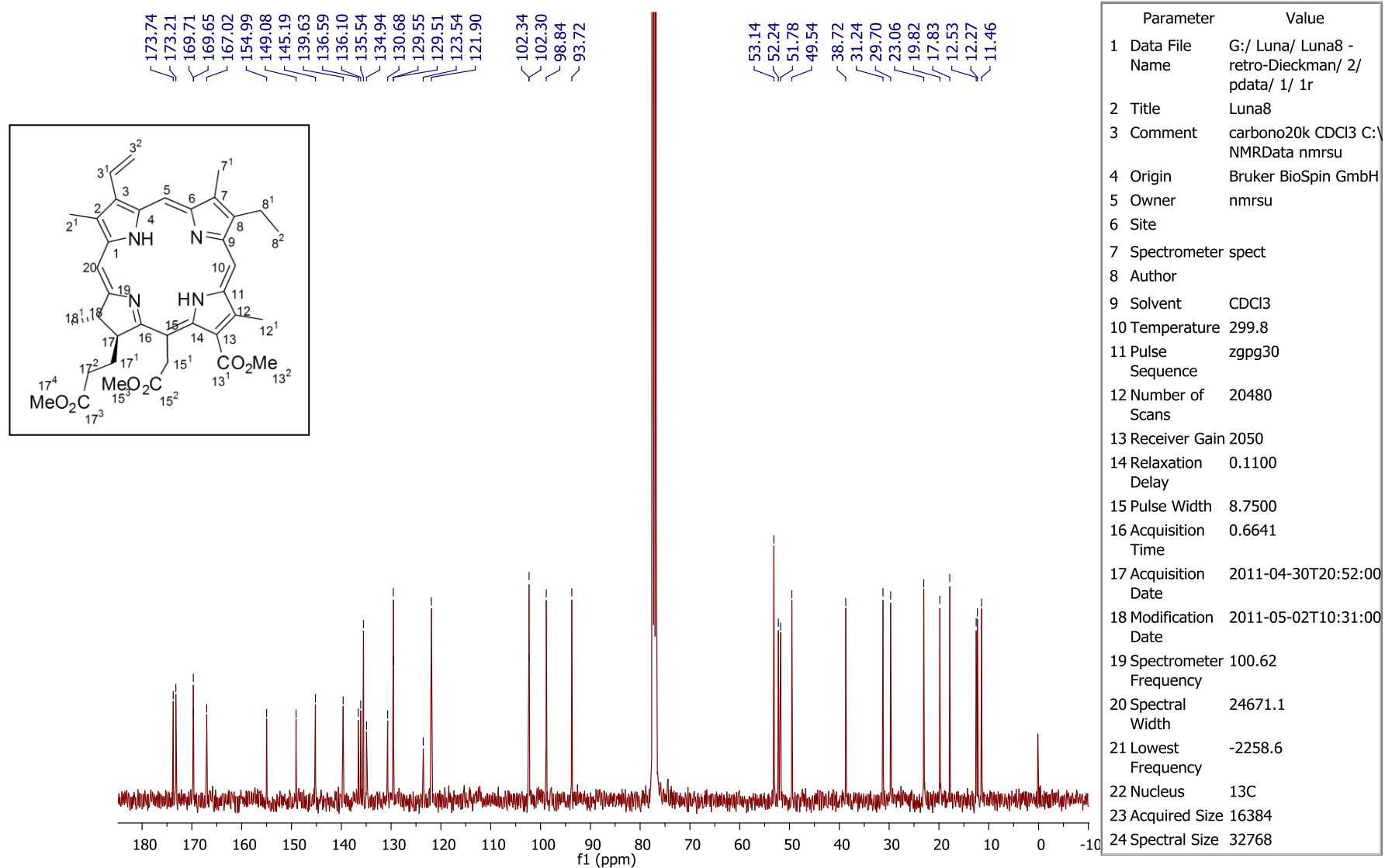


Figura 36. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 3

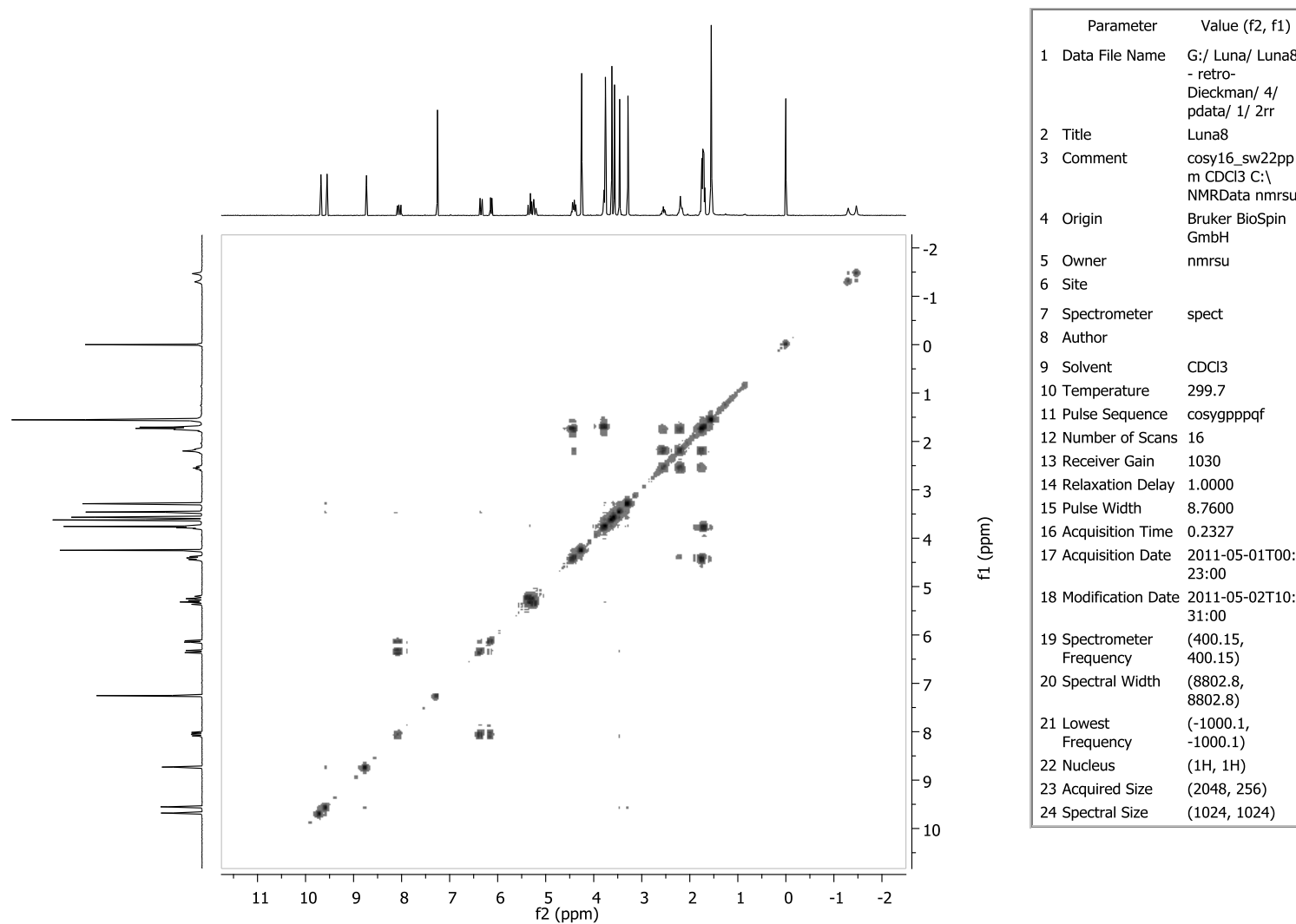


Figura 37. Espectro de RMN de gCOSY – do Composto 3.

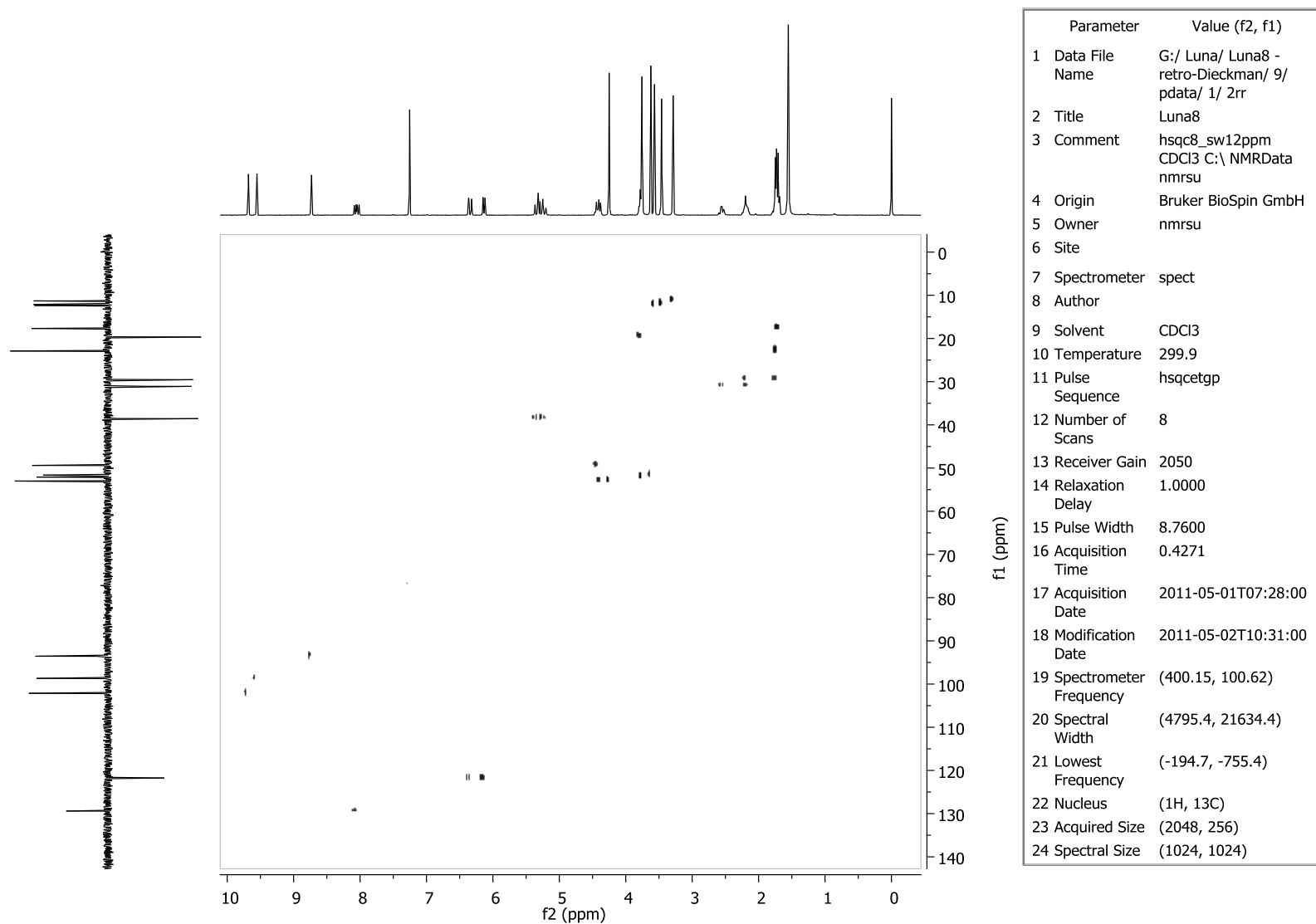


Figura 38. Espectro de RMN de gHSQC – do Composto 3.

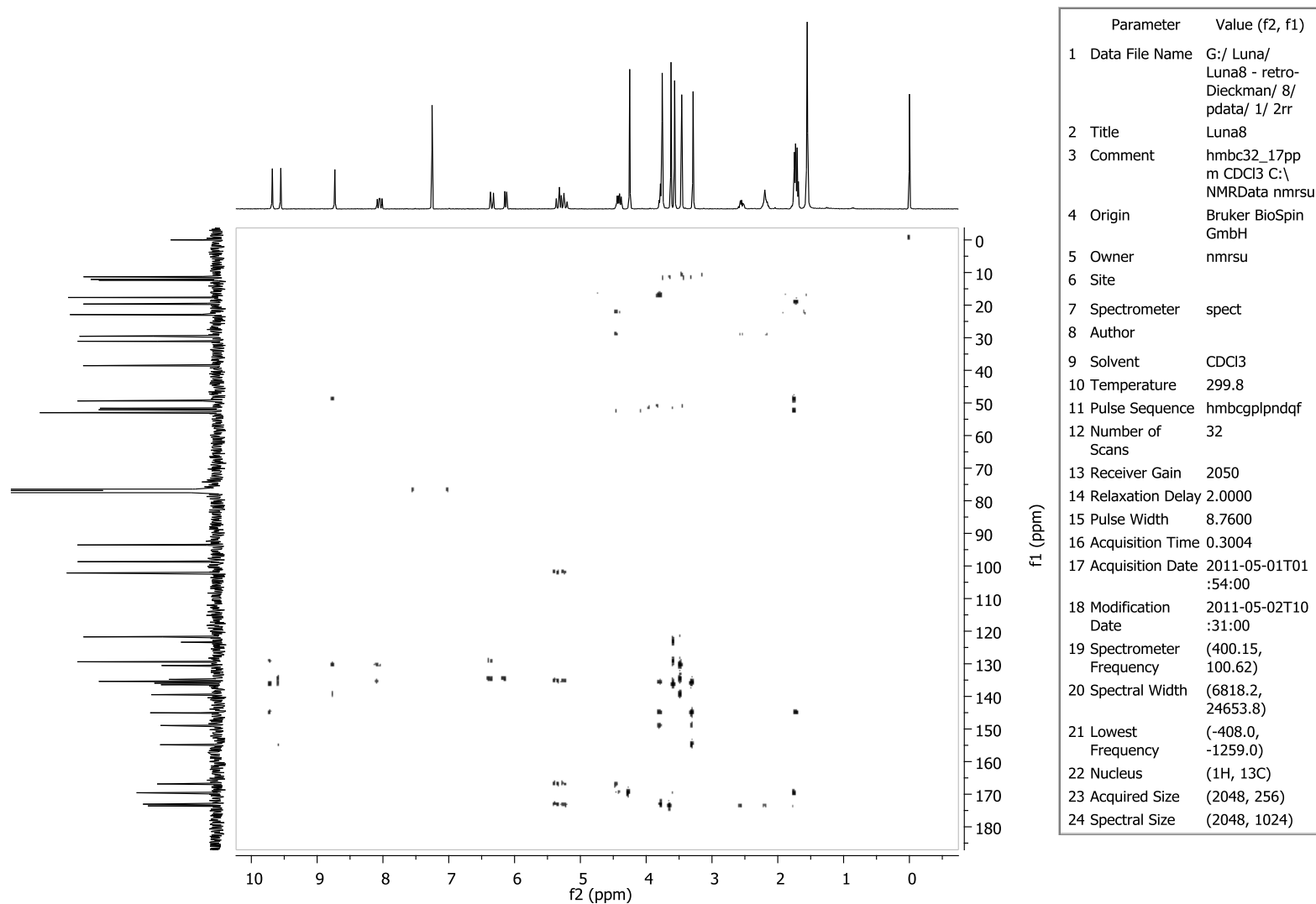


Figura 39. Espectro de RMN de gHMBC – do Composto 3.

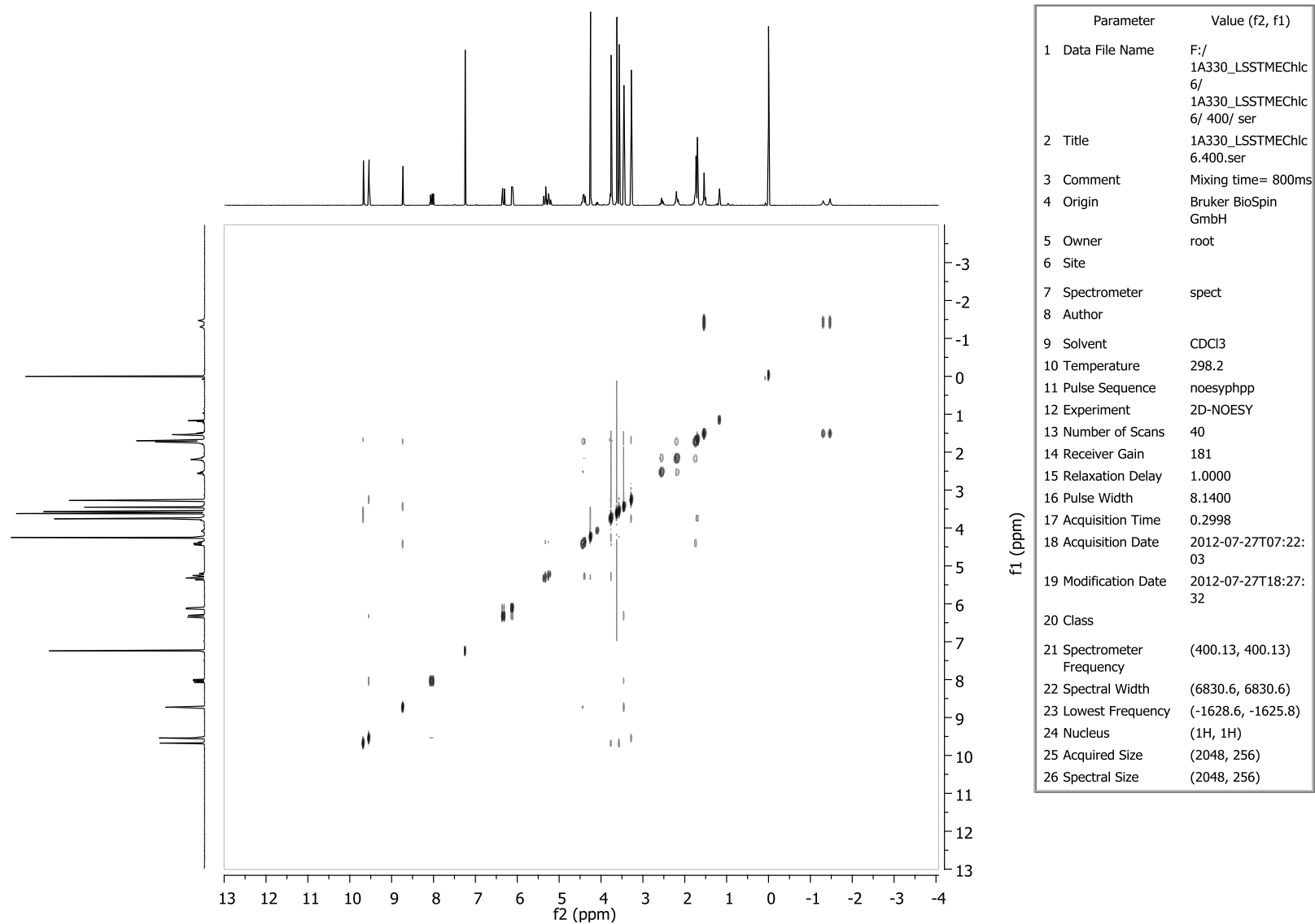


Figura 40. Espectro de RMN de gNOESY – do Composto **3**.

Tabela 8. Dados Espectroscópicos do Composto 3.

C	δ C(ppm)	δ H(ppm)	Integral Relativa	Multiplicidade	Constantes de Acoplamento (Hz)	gCOSY	gHMBC	gHSQC
1	139,6	–	–	–	–	–	H ₂ ¹ , H ₂₀	–
2	130,7	–	–	–	–	–	H ₂₀ , H ₂ ¹ , H ₃ ¹	–
2 ¹	12,3	3,46	3H	s	–	–	–	H ₂ ¹
3	134,9	–	–	–	–	–	H ₅ , H ₃ ² , H ₂ ¹	–
3 ¹	129,5	8,05	1H	dd	J _{3¹,3^{2α}} = 11,6; J _{3¹,3^{2β}} = 17,8	H ₃ ^{2α} , H ₃ ^{2β}	H ₃ ²	H ₃ ¹
3 ^{2α}	121,9	6,13	1H	dd	J _{3^{2α},3^{2β}} = 1,5; J _{3^{2α},3¹} = 11,6	H ₃ ¹	–	H ₃ ^{2α}
3 ^{2β}	121,9	6,34	1H	dd	J _{3^{2α},3^{2β}} = 1,5; J _{3^{2β},3¹} = 17,8	H ₃ ¹	–	H ₃ ^{2β}
4	136,1	–	–	–	–	–	H ₅ , H ₃ ¹	–
5	98,8	9,55	1H	s	–	–	–	H ₅
6	155,0	–	–	–	–	–	H ₅ , H ₇ ¹	–
7	136,1	–	–	–	–	–	H ₅ , H ₈ ¹ , H ₇ ¹	–
7 ¹	11,5	3,29	3H	s	–	–	–	H ₇ ¹
8	145,2	–	–	–	–	–	H ₁₀ , H ₈ ¹ , H ₇ ¹ , H ₈ ²	–
8 ¹	19,8	3,78	2H	q	J _{8¹,8²} = 8,1	H ₈ ²	H ₈ ²	H ₈ ¹
8 ²	17,8	1,69-1,78	3H	m	–	H ₈ ¹	H ₈ ¹	H ₈ ²
9	149,1	–	–	–	–	–	H ₈ ¹ , H ₇ ¹	–
10	102,3	9,68	1H	s	–	–	–	H ₁₀
11	136,6	–	–	–	–	–	H ₁₀ , H ₁₂ ¹	–
12	129,5	–	–	–	–	–	H ₁₀ , H ₁₂ ¹	–
12 ¹	12,5	3,57	3H	s	–	–	–	H ₁₂ ¹
13	123,5	–	–	–	–	–	H ₁₂ ¹	–

13 ¹	169,7	–	–	–	–	–	H ₁₂ ¹ , H ₁₃ ²	H ₁₃ ¹
13 ²	53,2	4,40	3H	s	–	–	–	H ₁₃ ²
14	135,5	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹	–
15	135,5	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹	–
15 ¹	38,7	5,23; 5,34	2H	d, d	J _{15¹,15¹} = 18,8; J _{15¹,15^{1'}} = 18,8	–	–	H ₁₅ ¹
15 ²	173,2	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹ , H ₁₅ ³	–
15 ³	52,2	3,76	3H	s	–	–	–	–
16	167,0	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹ , H ₁₈	–
17	53,1	4,38–4,46	1H	m	–	H ₁₇ ¹ , H ₁₇ ² , H ₁₈	H ₁₈ , H ₁₈ ¹	H ₁₇
17 ¹	29,7	2,14–2,23, 2,51–2,60	2H	m	–	H ₁₇ , H ₁₇ ²	H ₁₈	H ₁₇ ¹
17 ²	31,2	2,14–2,23, 1,69–1,78	2H	m	–	H ₁₇ , H ₁₇ ¹	–	H ₁₇ ²
17 ³	173,7	–	–	–	–	–	H ₁₇ ⁴ , H ₁₇ ¹ , H ₁₇ ²	–
17 ⁴	51,8	3,62	3H	s	–	–	–	H ₁₇ ⁴
18	49,5	4,38–4,46	1H	m	–	H ₁₇ , H ₁₈ ¹	H ₂₀ , H ₁₈ ¹	H ₁₈
18 ¹	23,1	1,69–1,78	3H	d	J _{18¹,18} = 7,3	H ₁₈	H ₁₈	H ₁₈ ¹
19	169,6	–	–	–	–	–	H ₁₈ ¹ , H ₁₈	–
20	93,7	8,73	1H	s	–	–	–	H ₂₀
N21	–	–1,47	1H	sl	–	–	–	–
N23	–	–1,30	1H	sl	–	–	–	–

Hidrogênios Irradiados	Hidrogênios com efeito NOE
$H_3^{2\alpha}$	$H_3^{2\beta}$
H_5	$H_3^1; H_7^1$
H_{10}	$H_8^1; H_8^2; H_{12}^1$
H_8^2	H_8^1
H_{15}^1	$H_{13}^2; H_{17}$
H_{17}^1	H_{17}^2
H_{18}^1	H_{18}
H_{20}	$H_{18}^1; H_2^1; H_{18}$

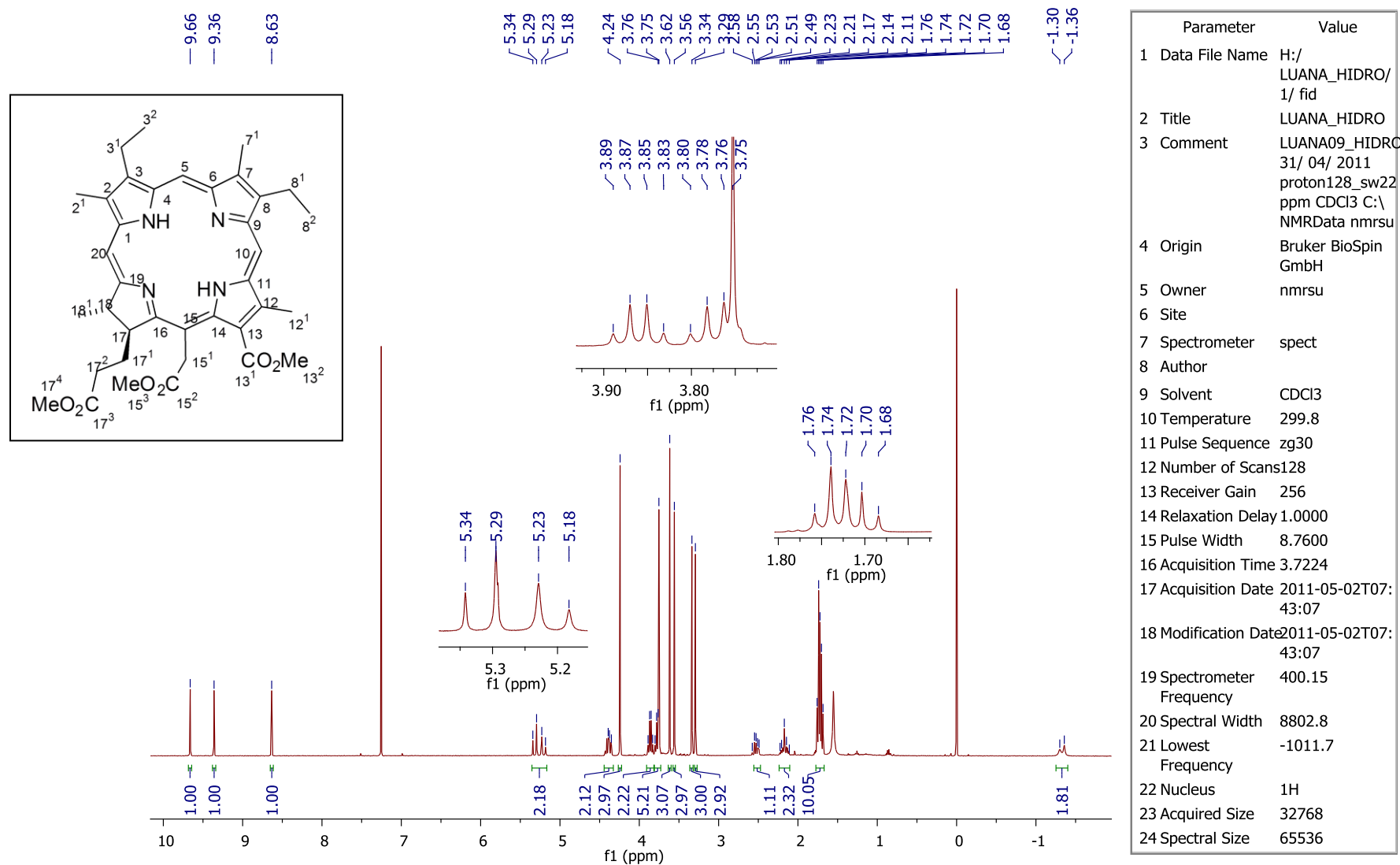


Figura 41. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 4.

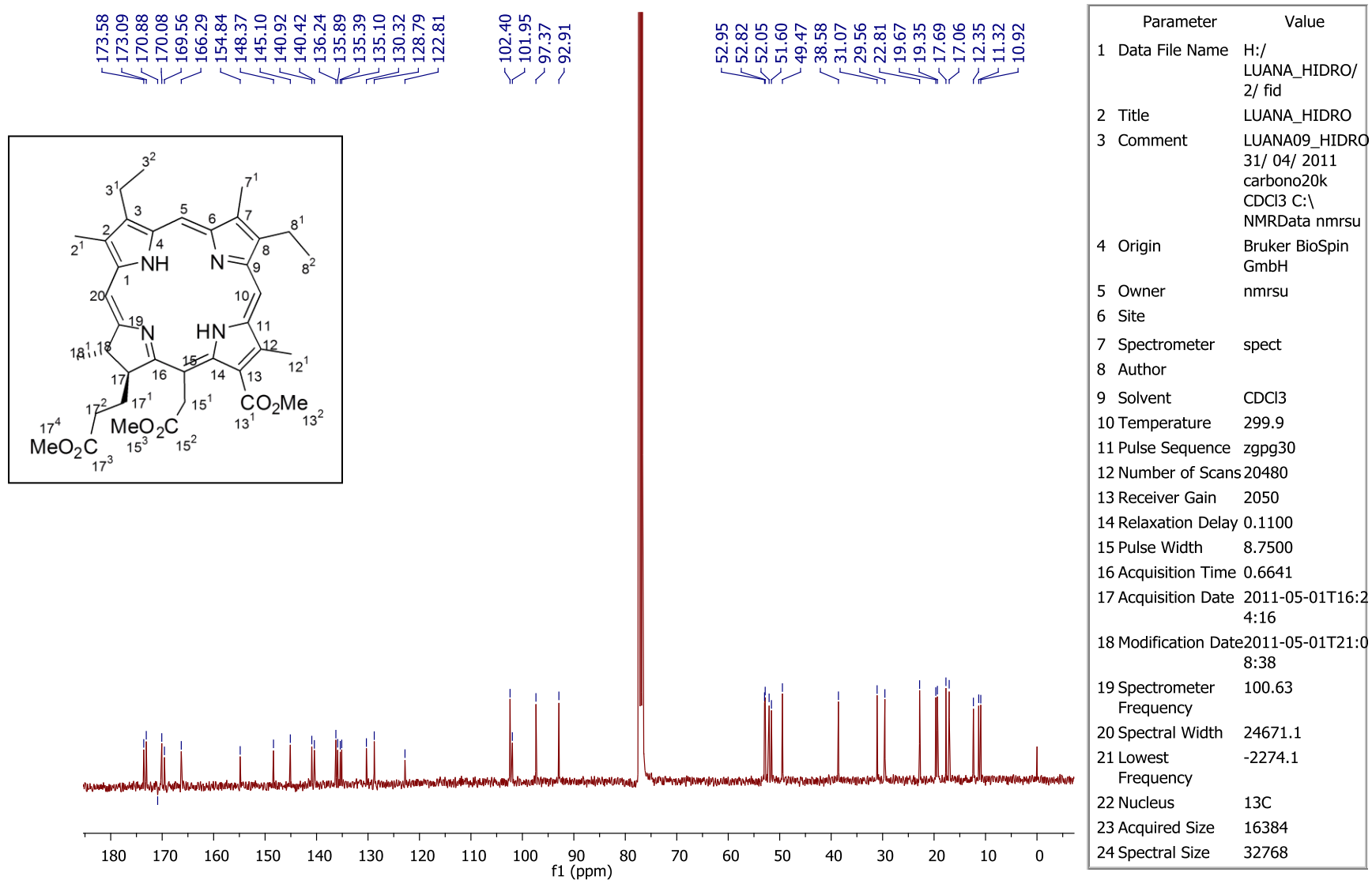


Figura 42. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 4.

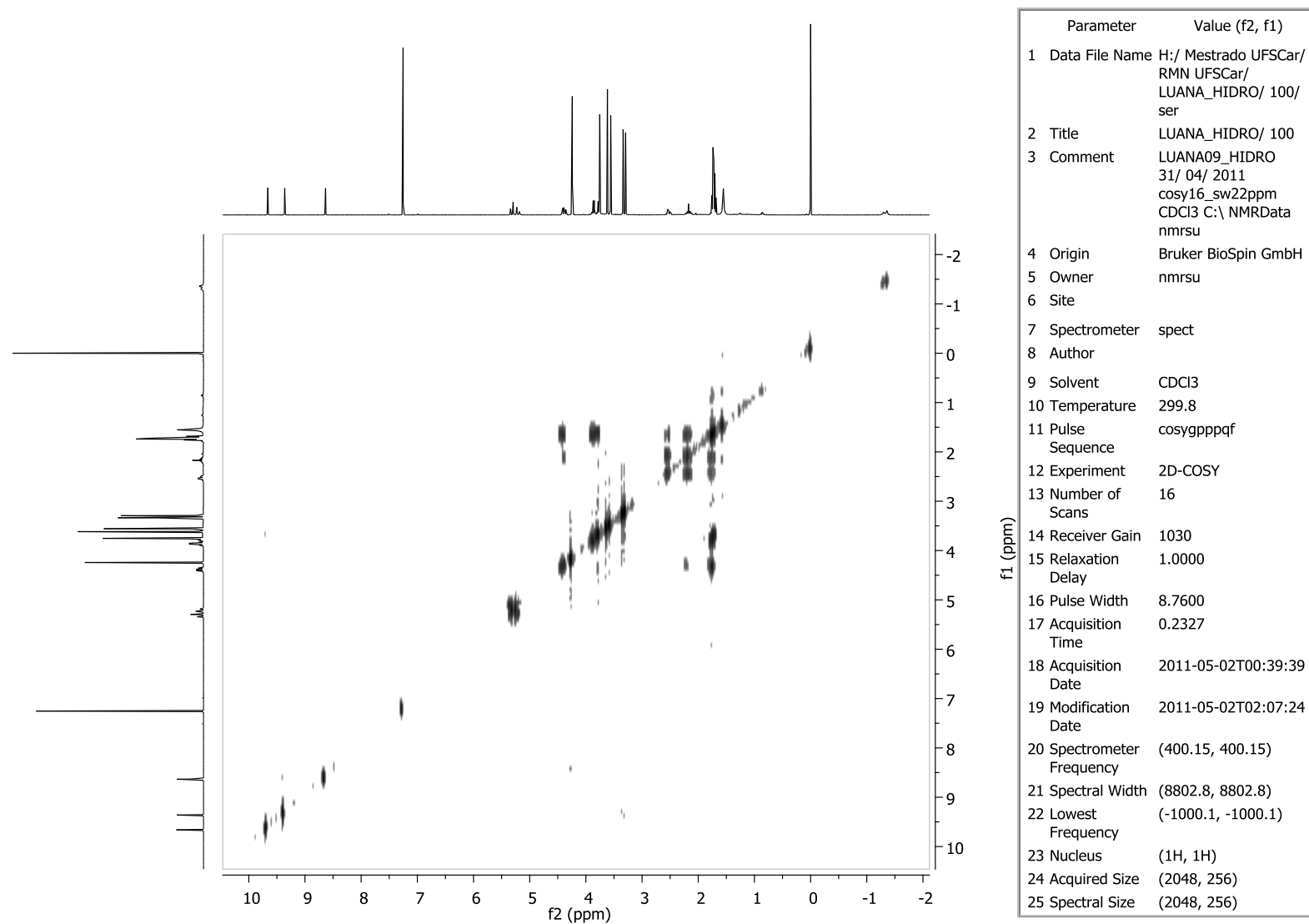


Figura 43. Espectro de RMN de gCOSY – do Composto 4.

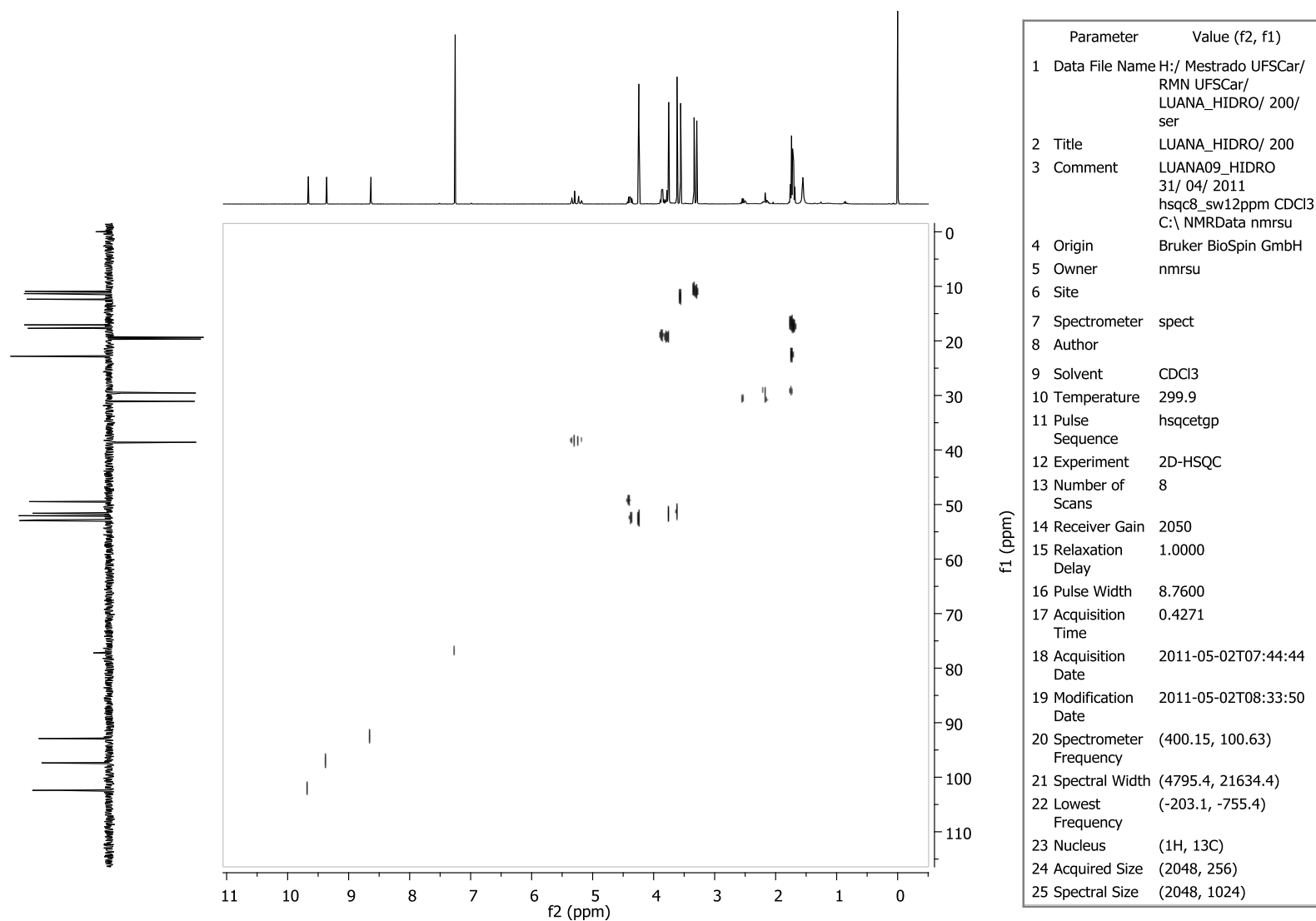


Figura 44. Espectro de RMN de gHSQC – do Composto 4.

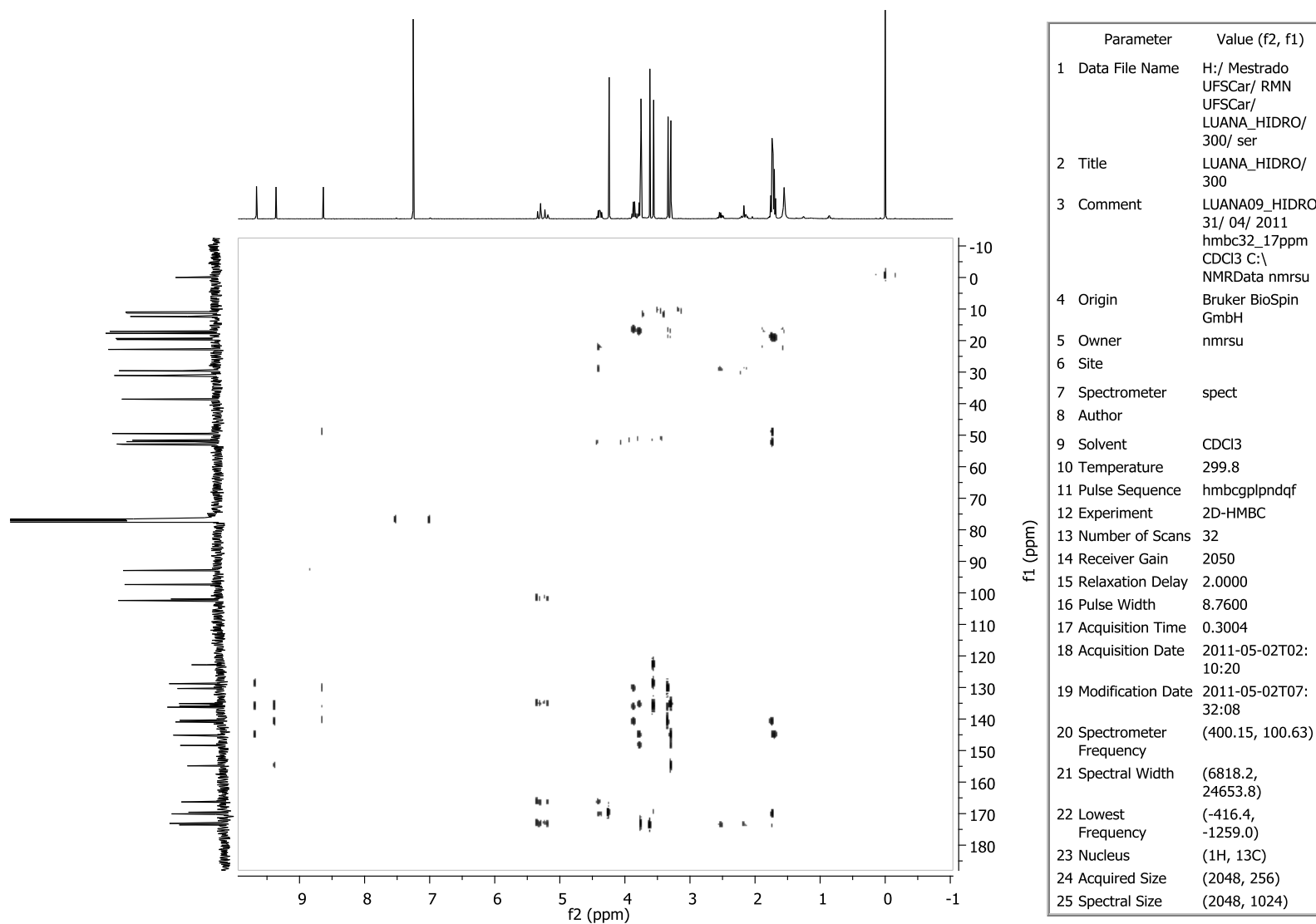


Figura 45. Espectro de RMN de gHMBC – do Composto 4.

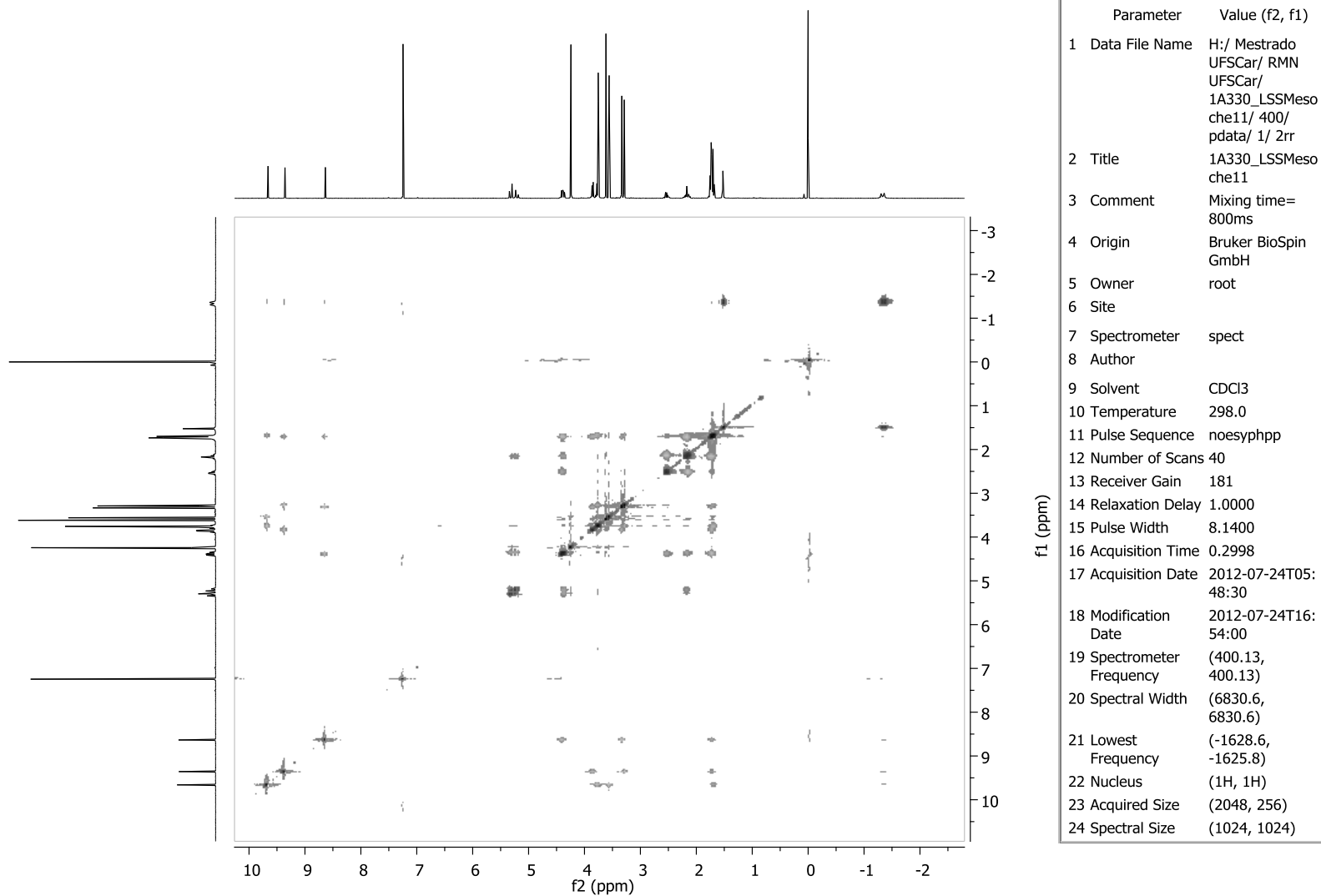


Figura 46. Espectro de RMN de gNOESY – do Composto 4.

Tabela 9. Dados Espectroscópicos do Composto 4.

C	$\delta C(\text{ppm})$	$\delta H(\text{ppm})$	Integral Relativa	Multiplicidade	Constantes de Acoplamento (Hz)	gCOSY	gHMBC	gHSQC
1	140,4	–	–	–	–	–	H_2^1, H_{20}, H_3^2	–
2	130,3	–	–	–	–	–	H_{20}, H_2^1, H_3^1	–
2 ¹	10,9	3,34	3H	s	–	–	–	H_2^1
3	140,9	–	–	–	–	–	H_5, H_3^2, H_2^1, H_3^1	–
3 ¹	19,4	3,86	2H	q	$J_{3^1,3^2} = 11,6; J_{3^1,3^1} = 17,8$	$H_3^{2\alpha}, H_3^{2\beta}$	H_3^2	H_3^1
3 ²	17,1	1,68-1,76	3H	m	–	H_3^1	H_3^1	H_3^2
4	136,2	–	–	–	–	–	H_2^1, H_3^1	–
5	97,4	9,36	1H	s	–	–	–	H_5
6	154,8	–	–	–	–	–	H_5, H_7^1	–
7	135,1	–	–	–	–	–	H_5, H_8^1, H_7^1	–
7 ¹	11,3	3,29	3H	s	–	–	–	H_7^1
8	145,1	–	–	–	–	–	$H_{10}, H_8^1, H_7^1, H_8^2$	–
8 ¹	19,7	3,77	2H	q	$J_{8^1,8^2} = 7,7$	H_8^2	H_8^2	H_8^1
8 ²	17,7	1,68-1,76	3H	m	–	H_8^1	H_8^1	H_8^2
9	148,4	–	–	–	–	–	H_8^1, H_7^1	–
10	102,4	9,66	1H	s	–	–	–	H_{10}
11	135,9	–	–	–	–	–	H_{10}, H_{12}^1	–
12	128,8	–	–	–	–	–	H_{10}, H_{12}^1	–
12 ¹	12,4	3,56	3H	s	–	–	–	H_{12}^1
13	122,8	–	–	–	–	–	H_{12}^1	–
13 ¹	169,6	–	–	–	–	–	H_{12}^1, H_{13}^2	H_{13}^1
13 ²	52,8	4,24	3H	s	–	–	–	H_{13}^2

14	135,4	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹	–
15	135,4	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹	–
15 ¹	38,6	5,21, 5,32	2H	d, d	J _{15¹,15¹} = 18,8; J _{15¹,15^{1'}} = 18,8	–	–	H ₁₅ ¹
15 ²	173,1	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹ , H ₁₅ ³	–
15 ³	52,1	3,75	3H				–	H ₁₅ ³
16	166,3	–	–	–	–	–	H ₁₅ ¹ , H ₁₈ , H ₁₇ ¹	–
17	53,0	4,35-4,43	1H	m	–	H ₁₇ ¹ , H ₁₇ ² , H ₁₈	H ₁₇ ¹	H ₁₇
17 ¹	29,6	2,11-2,23 1,68-1,76	2H	m	–	H ₁₇ , H ₁₇ ²	H ₁₈	H ₁₇ ¹
17 ²	31,1	2,11-2,23 2,49-2,58	2H	m	–	H ₁₇ , H ₁₇ ¹	–	H ₁₇ ²
17 ³	173,6	–	–	–	–	–	H ₁₇ ¹	–
17 ⁴	51,6	3,62	3H	s	–	–	–	H ₁₇ ⁴
18	49,5	4,35-4,43	1H	m	–	H ₁₇ , H ₁₈ ¹	H ₁₉ , H ₁₈ ¹	H ₁₈
18 ¹	22,8	1,68-1,76	3H	d	J _{18¹,18} = 7,3	H ₁₈	H ₁₈	H ₁₈ ¹
19	170,1	–	–	–	–	–	H ₁₈ ¹ , H ₁₈	–
20	92,9	8,63	1H	s	–	–	–	H ₂₀
N21	–	-1,36	1H	sl	–	–	–	–
N23	–	-1,30	1H	sl	–	–	–	–

Hidrogênios Irradiados	Hidrogênios com efeito NOE
H ₂ ¹	H ₂₀ , H ₃ ¹
H ₃ ¹	H ₅ , H ₃ ² , H ₂ ¹
H ₃ ²	H ₅
H ₅	H ₃ ¹ , H ₃ ² , H ₇ ¹
H ₇ ¹	H ₅
H ₈ ¹	H ₁₀ , H ₈ ² , H ₇ ¹
H ₈ ²	H ₁₀
H ₁₀	H ₁₈ ¹ , H ₁₂ ¹ , H ₈ ¹
H ₁₂ ¹	H ₁₀
H ₁₃ ²	H ₁₅ ¹ , H ₁₂ ¹
H ₁₅ ¹	H ₁₇ ; H ₁₃ ² , H ₁₅ ³ , H ₁₇ ¹
H ₁₇	H ₁₅ ¹ , H ₁₇ ¹
H ₁₇ ¹	H ₁₅ ¹
H ₁₇ ²	H ₁₇ ¹ , H ₁₇
H ₁₈	H ₂₀ , H ₁₇ ²
H ₁₈ ¹	H ₂₀
H ₂₀	H ₁₈ ¹ , H ₂ ¹ , H ₁₈

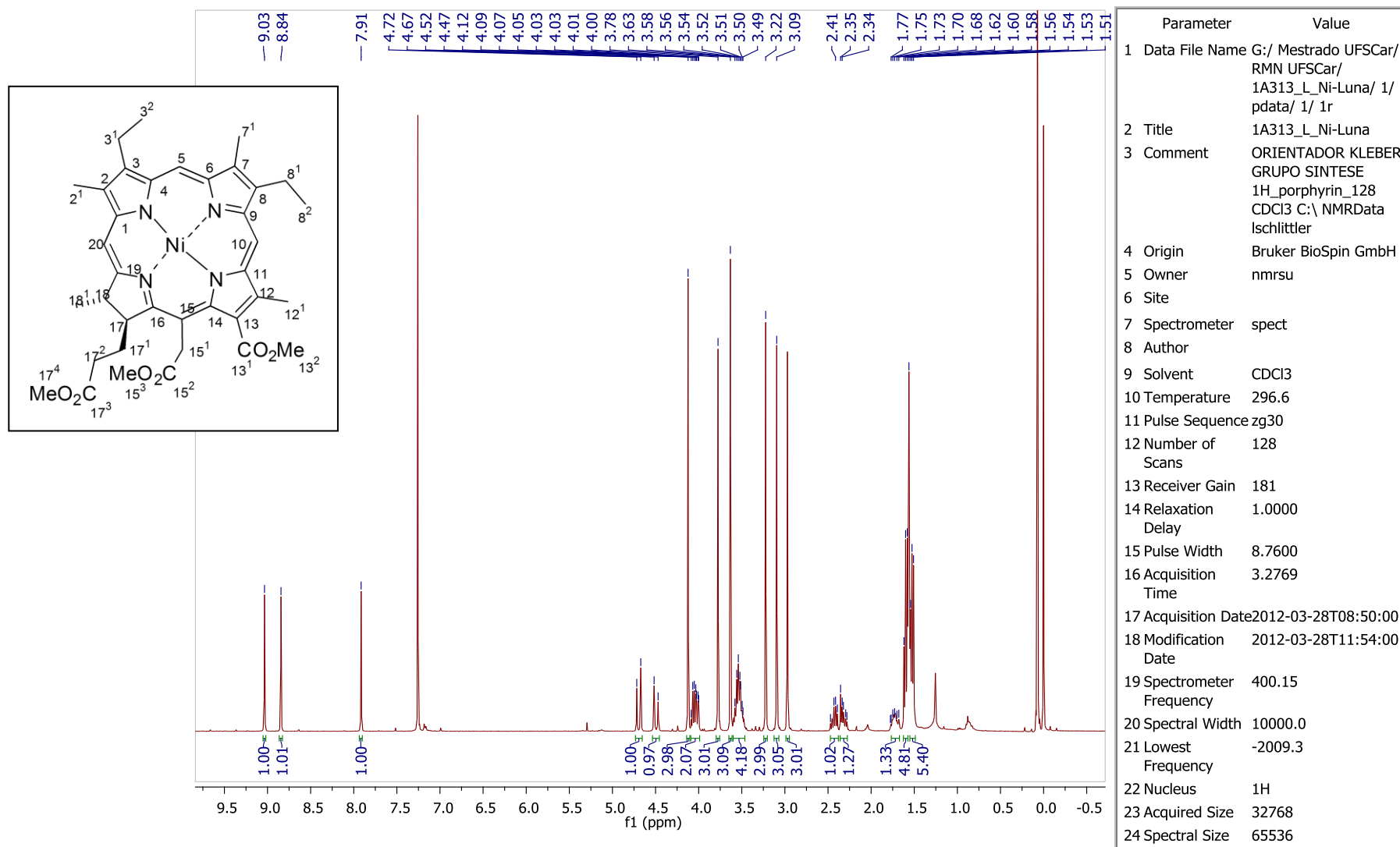


Figura 47. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto 78.

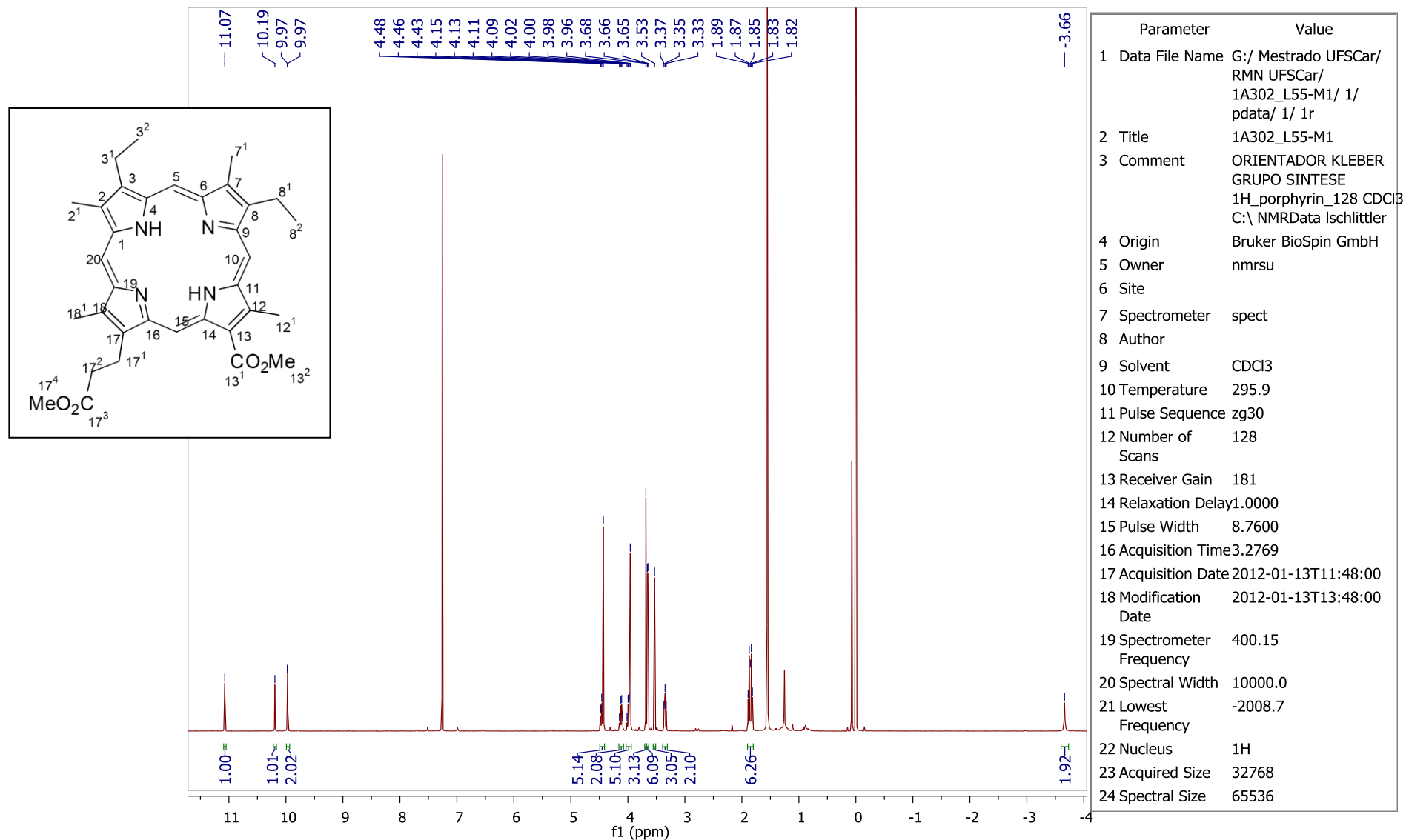


Figura 48. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto 81.

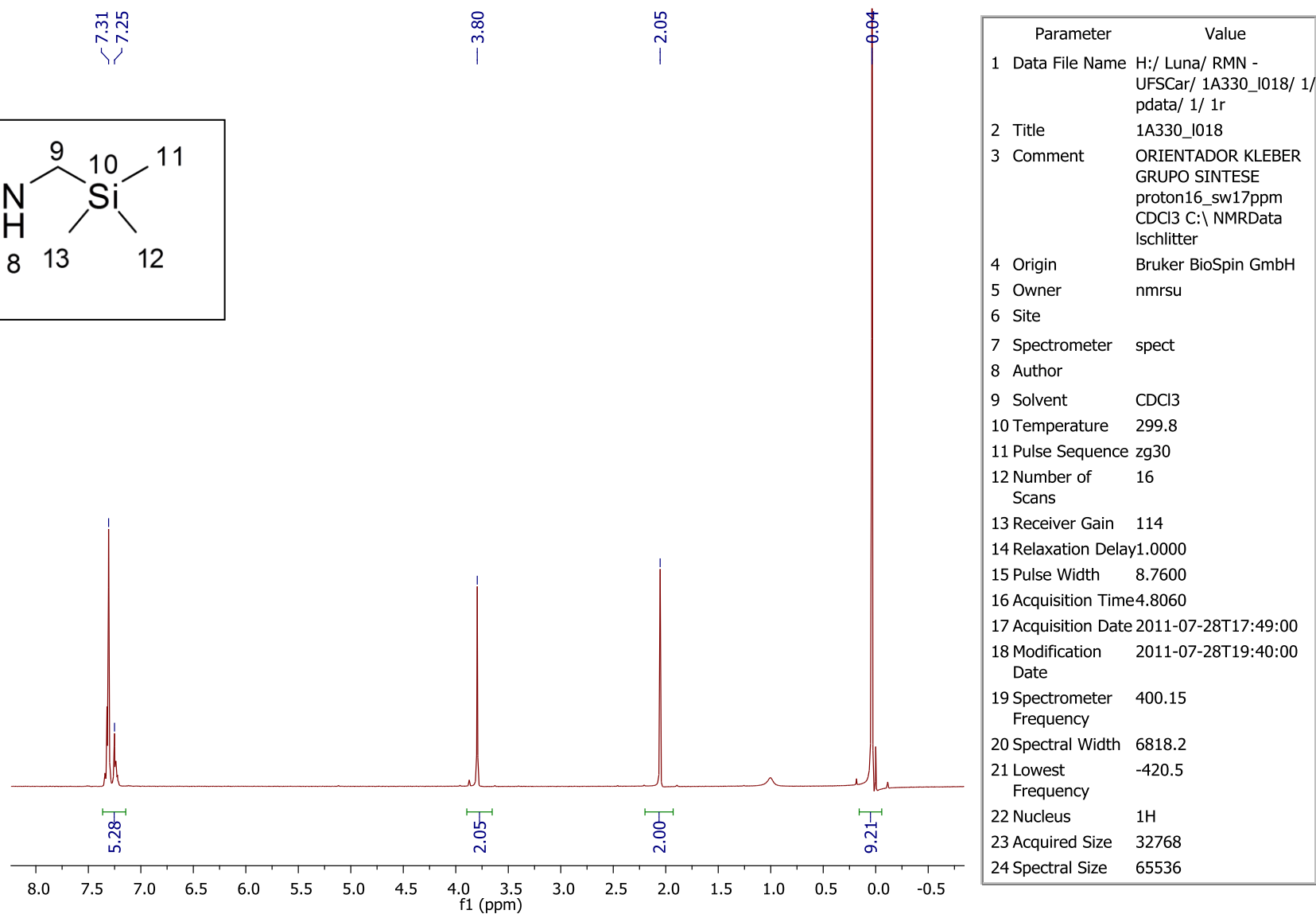


Figura 49. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **77**.

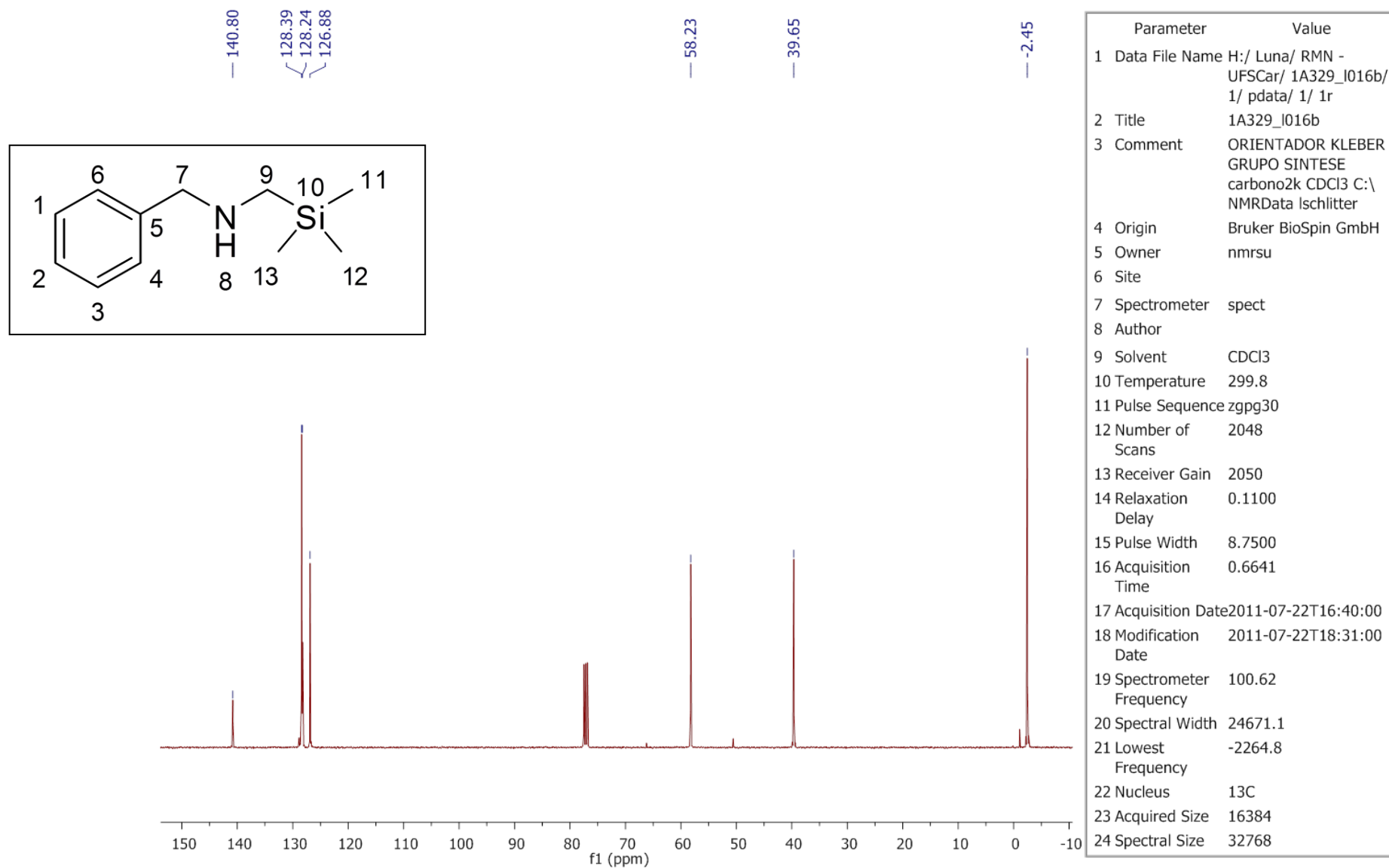


Figura 50. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) – do Composto 77.

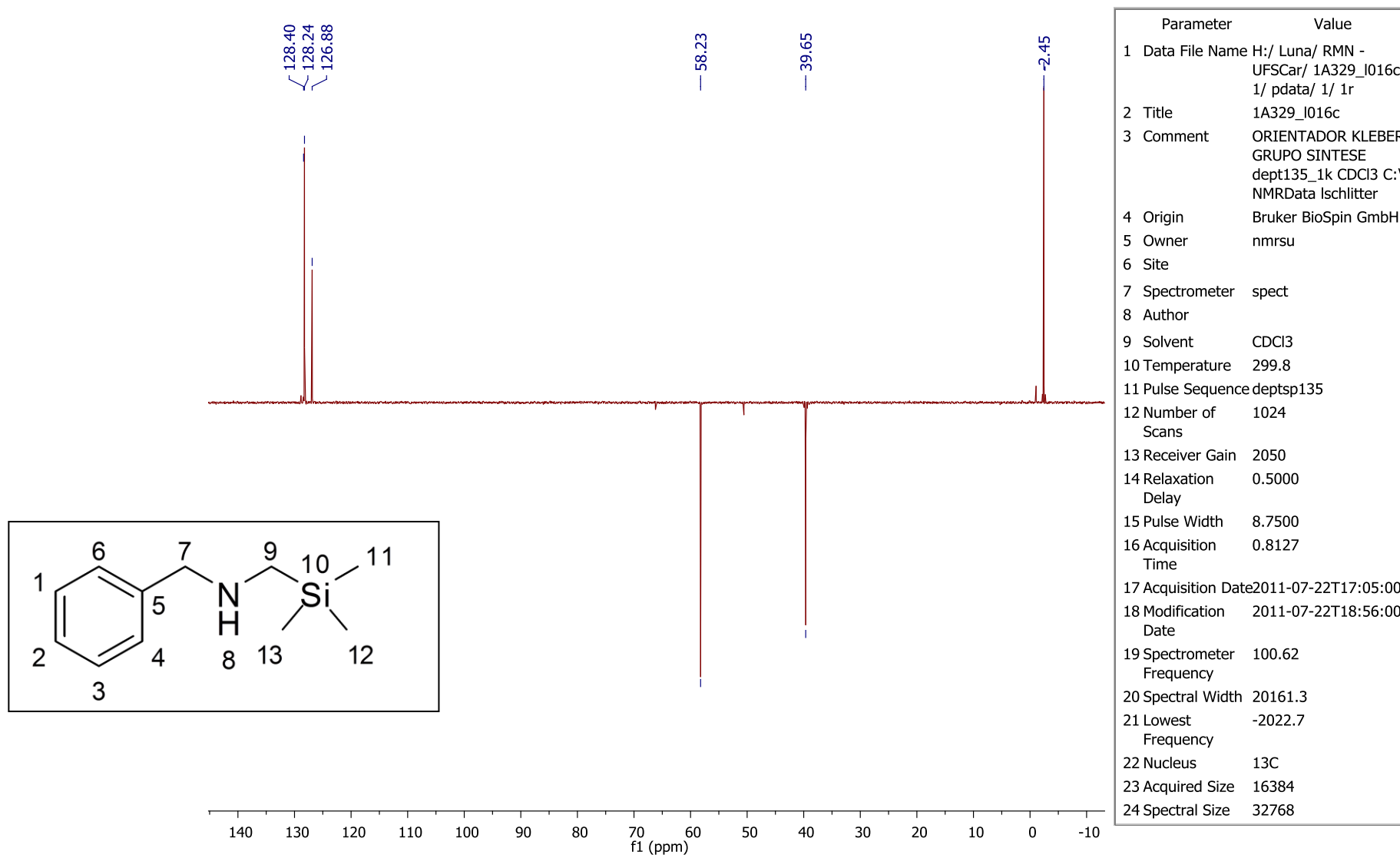


Figura 51. Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135) – do Composto 77.

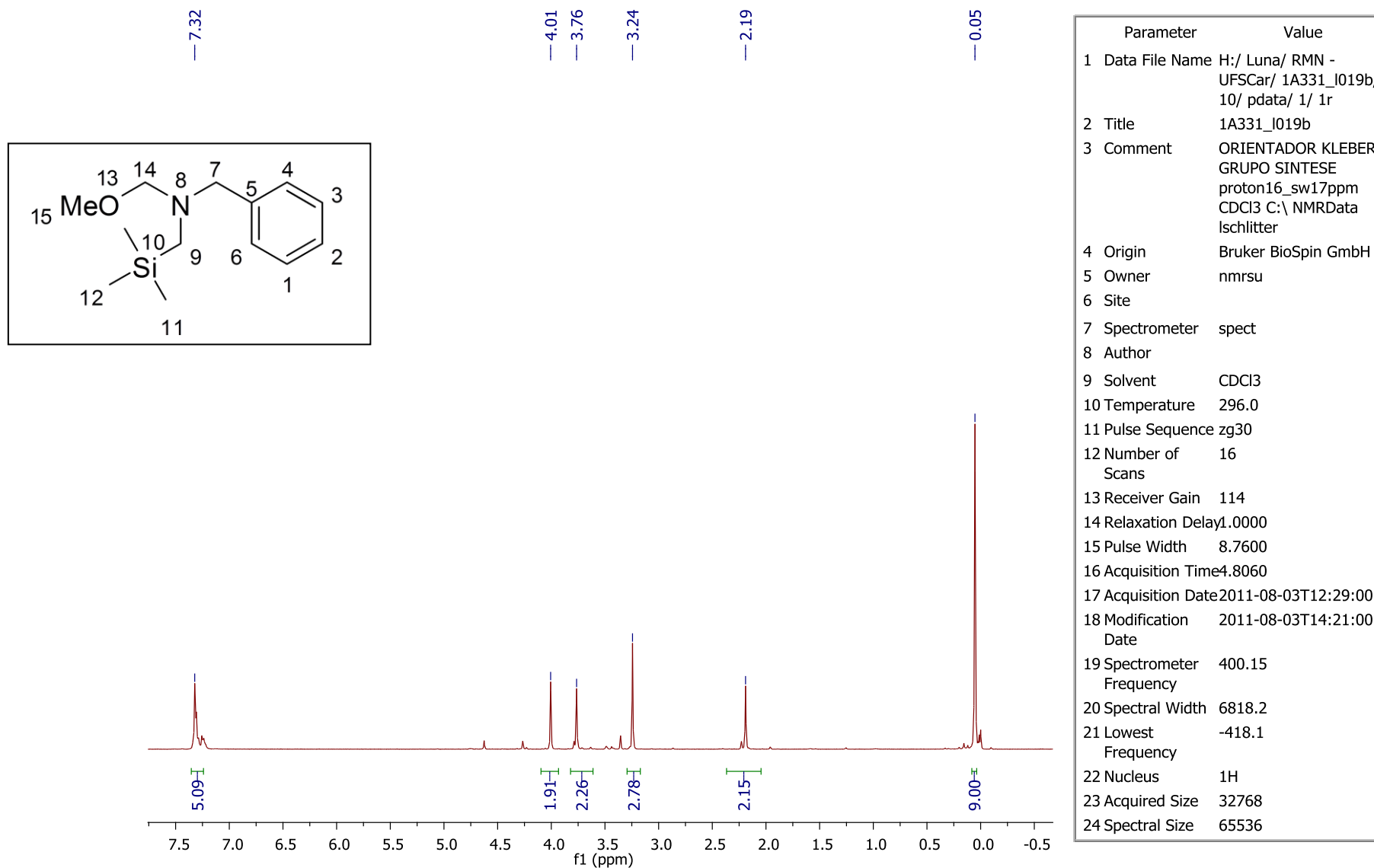


Figura 52. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **8**.

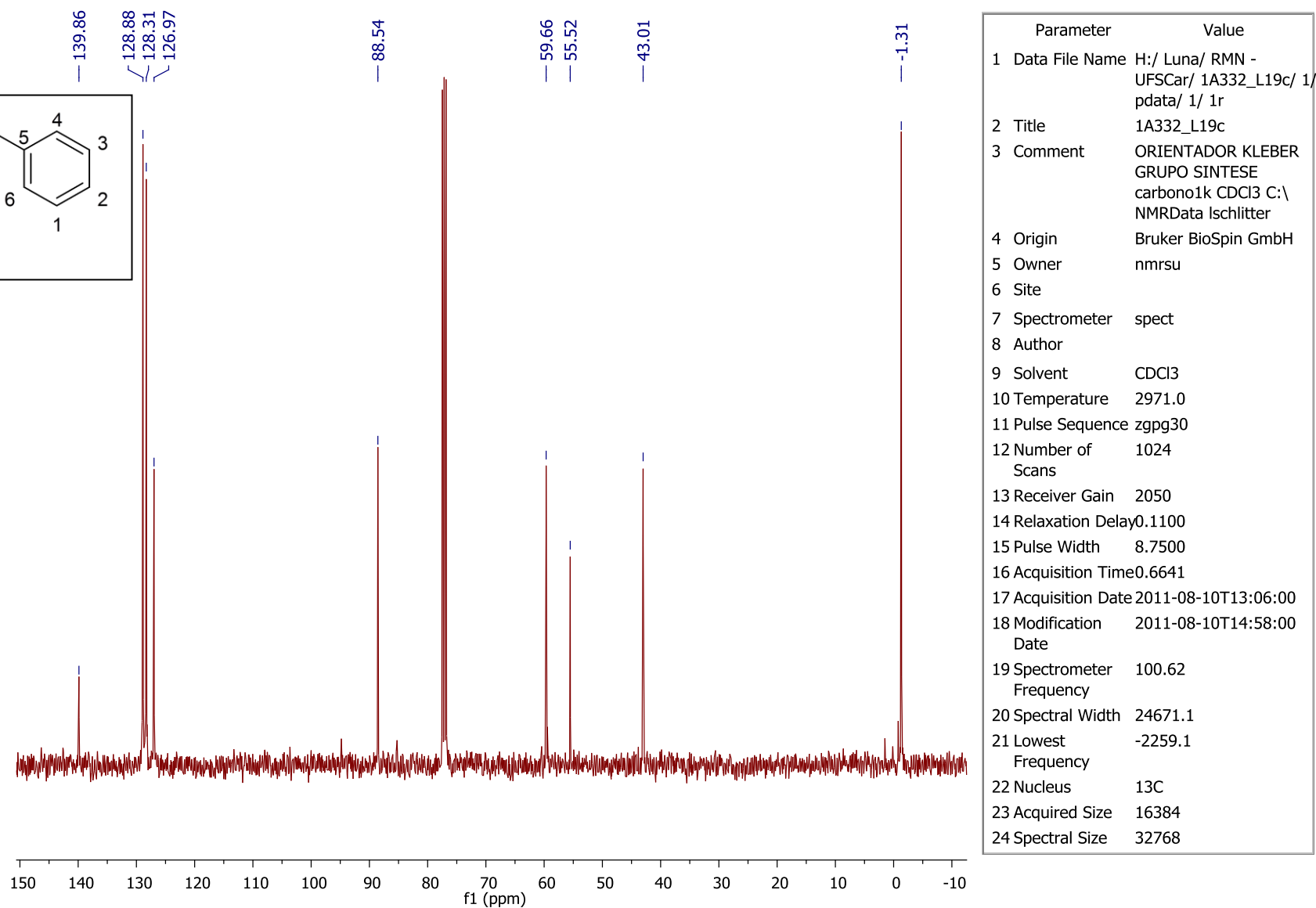


Figura 53. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) – do Composto 8.

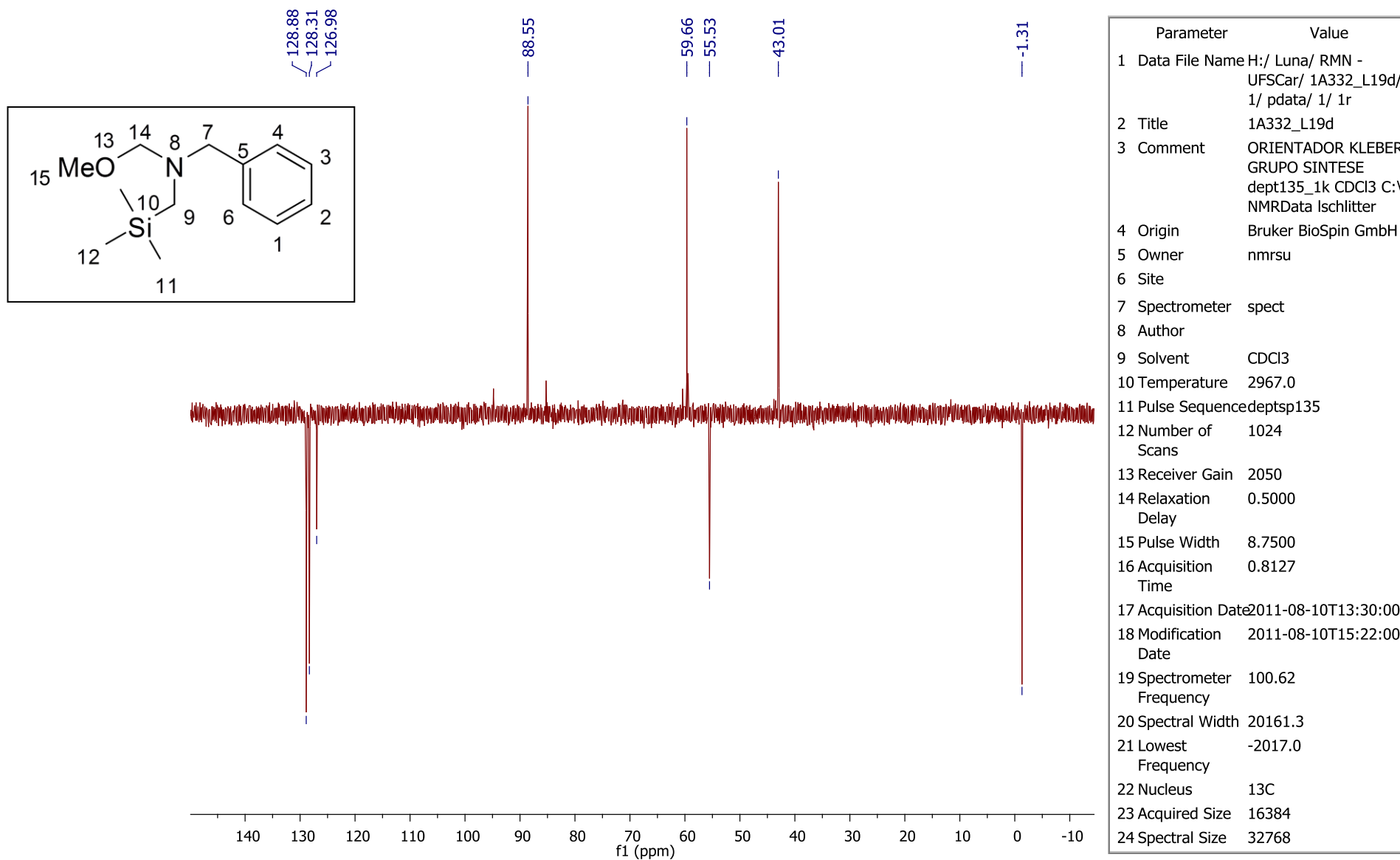


Figura 54. Espectro de RMN ^{13}C (DEPT-135) – do Composto **8**

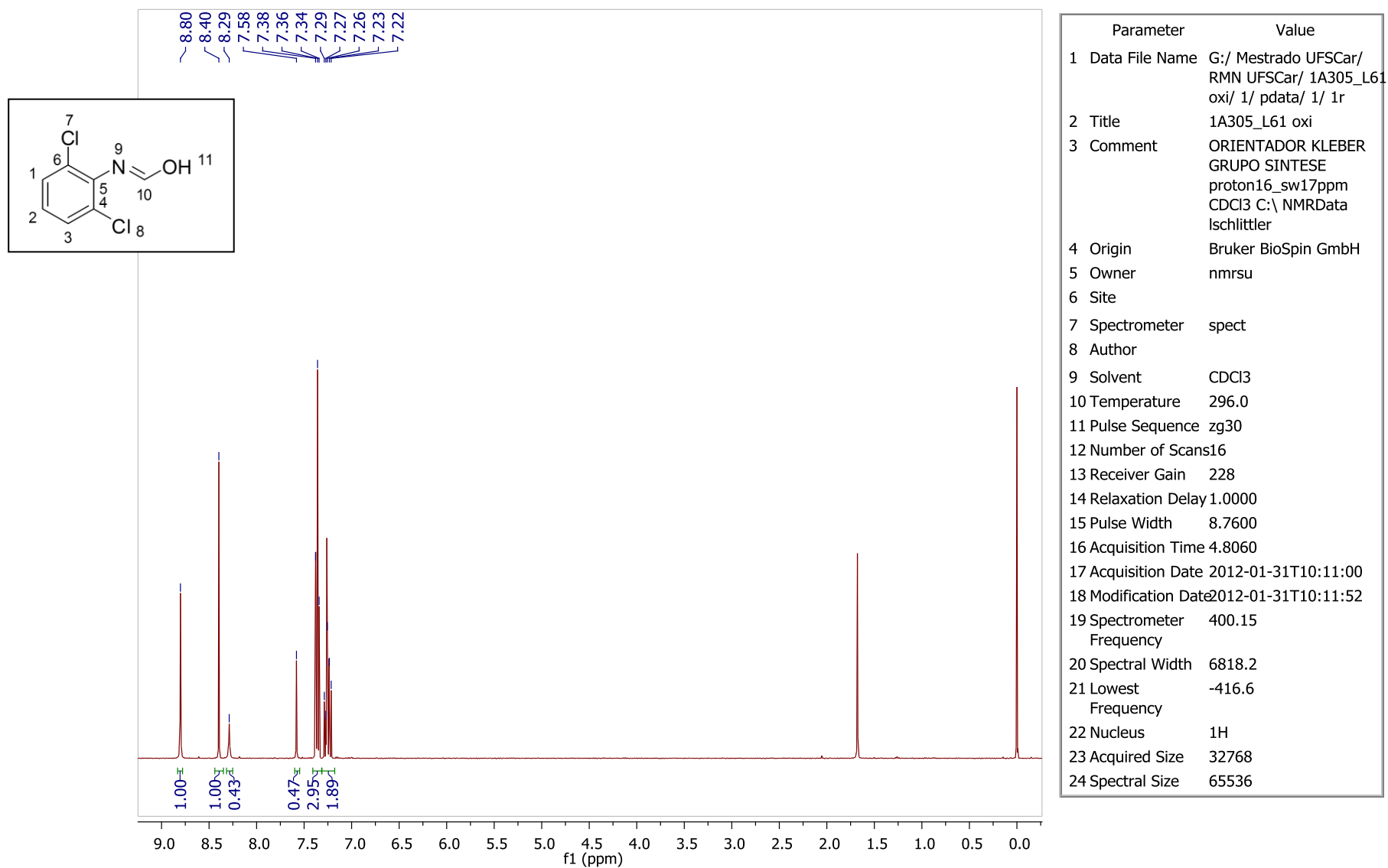


Figura 55. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **83**.

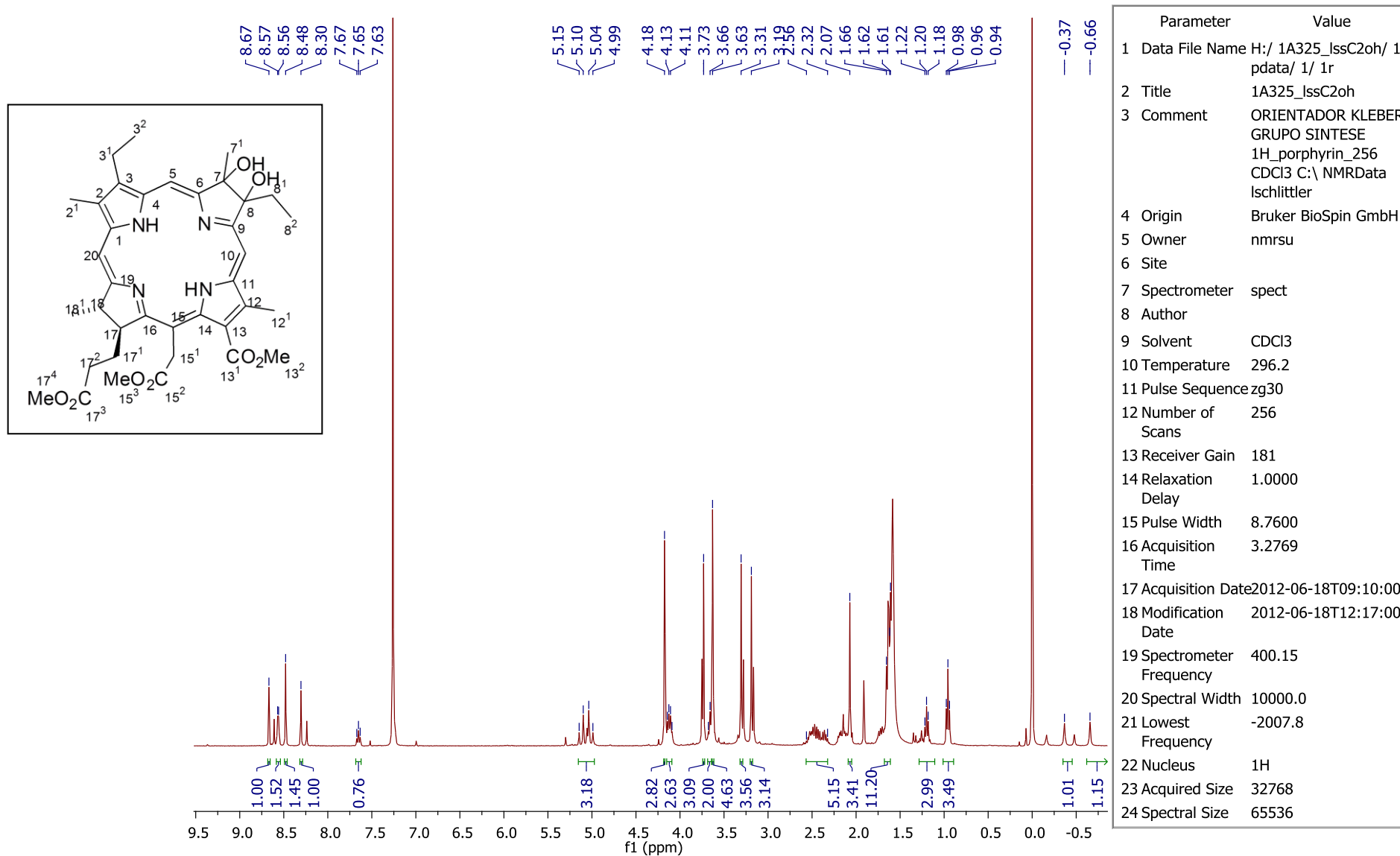


Figura 56. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 12.

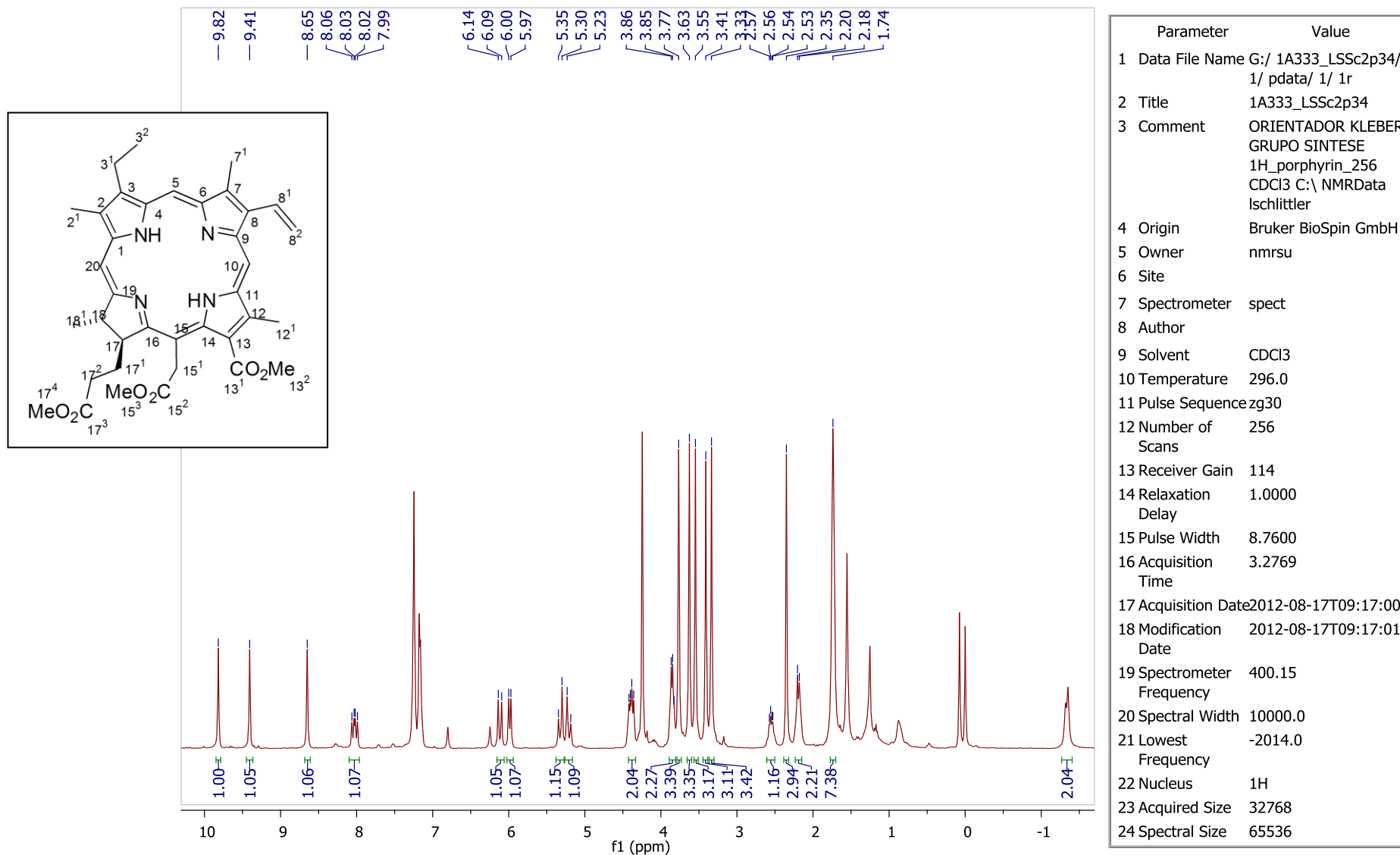


Figura 57. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **13**.

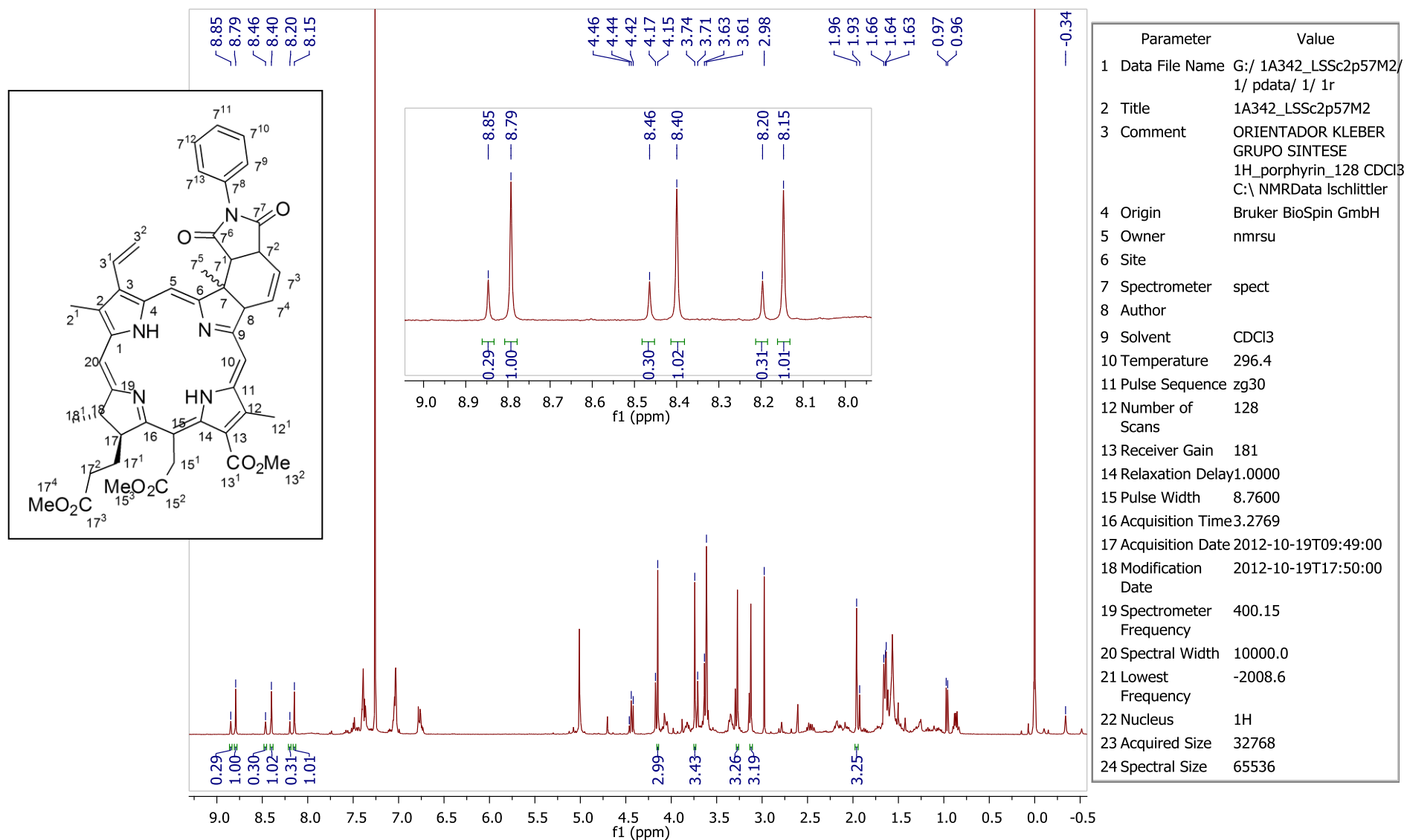


Figura 58. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **14**.

8. Referências Bibliográficas

1. a) SIMPLICIO, F. I.; MAIONCHI, F.; HIOKA, N.; “Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos”. *Quim. Nova*, **25**, 5, 801-807, 2002. b) DE OLIVEIRA, K. T.; DE ASSIS, F. F.; RIBEIRO, A. O.; NERI, C. R.; FERNANDES, A. U.; BAPTISTA, M. S.; LOPES, N. P.; SERRA, O. A.; IAMAMOTO, Y.; “Synthesis of Phthalocyanines-ALA Conjugates: Water-Soluble Compounds with Low Aggregation”. *J. Org. Chem.*, **74**, 7962-7965, 2009. c) CALVETE, M. J. F.; GOMES, A. T. P. C.; MOURA, N.M. M.; “Clorinas em terapia fotodinâmica – Síntese e aplicações”. *Rev. Virtual Quim.*, **1**, (2), 92-103, 2009. d) ALLISON, R. R., SIBATA, C. H.; “Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review”. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **7**, 61-75, 2010. e) WALTER, M. G.; RUDINE, A. B.; WAMSER, C. C.; “Porphyrins and phthalocyanines in solar photovoltaic cells”. *J. Porphyrins Phthalocyanines.*, **14**, 759–792, 2010. f) CARVALHO, C. M. B.; ALVES, E.; COSTA, L.; TOMÉ, J. P. C.; FAUSTINO, M. A. F.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; CUNHA, A.; ALMEIDA, A.; LIN, Z.; ROCHA, J.; “Functional Cationic Nanomagnet - Porphyrin Hybrids for the Photoinactivation of Microorganisms”. *ACS Nano*, **12**, 7133-7140, 2010. g) FIGUEIRA, A. C. B.; DE OLIVEIRA, K. T.; SERRA, O. A.; “New porphyrins tailored as biodiesel fluorescent markers”. *Dyes and Pigments*, **91**, 383-388, 2011. h) BERNALA, C.; RODRIGUES, J. A. O.; GUIMARÃES, A. P. P.; RIBEIRO, A. O.; DE OLIVEIRA, K. T.; IMASATO, H.; PERUSSIA, J. R.; “Selective Photoinactivation of *C. albicans* and *C. dubliniensis* with Hypericin”. *Laser Physics*, **21**, 1, 245-249, 2011. i) NAGATA MD, J.Y.; HIOKA, N.; KIMURA, E.; BATISTELA, V.R.; TERADA, R. S. S.; GRACIANO, A. X.; BAESSO, M. L. ; HAYACIBARA, M. F.; “Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: Evaluation of the photosensitizers used and light source properties”. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **9**, 122-131, 2012. j) TUMOLO, T.; LANFER-MARQUEZ, M. U.; “Copper chlorophyllin: A food colorant with bioactive properties?”. *Food Research International*, **46**, 451–459, 2012. l) CALZAVARA-PINTON, P.; ROSSI, M. T.; SALA, R.; VENTURINI, M.; “Photodynamic Antifungal Chemotherapy”. *Photochemistry and Photobiology*, **88**, 512–522, 2012. m) MIKATA, Y.; SHIBATA, M.; BABA, Y.; KAKUCHI, T.; NAKAI, M.; YANO, S.; “Synthesis and photodynamic properties of maltohexaose-conjugated porphyrins”. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **16**, 1–9, 2012. n) KING, A.; “Making light work”. *Chemistryworld*, **09**, 04, 52-55, 2012. o) SENGE, M. O.; FAZEKAS, M.; NOTARAS, E. G. A.; BLAU, W. J.; ZAWADZKA, M.; LOCOS, O. B.; MHUIRCHEARTAIGH, E. M. N.; “Nonlinear Optical Properties of Porphyrins”. *Adv. Mat.*, **19**, 2737-2774, 2007. p) DRAIN, C. M.; RUSSELL, K. C.; JEAN-MARIE LEHN, K. C.; “Self-assembly of a multi-porphyrin supramolecular macrocycle by hydrogen bond molecular recognition”. *Chem. Commun.*, 337-338, 1996. q) WALTER, M. G.; RUDINE, A. B.; WAMSER, C. C.; “Porphyrins and phthalocyanines in solar photovoltaic cells”. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **14**, 759-792, 2010.

2. HELENO, V. C. G. *Estudos de Transformações Químicas em Produtos Naturais Polifuncionalizados*. 1999 (Dissertação de Mestrado, Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo).

3. a) WILLIAMS, D.H. et al.; “Why Are Secondary Metabolites (Natural Products) Biosynthesized?” *J. Nat. Prod.*; **52**, 1189, 1989. b) PAUL, V.J.; *Ecological Roles of Marine Natural Products*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 1992. c) KINGSTON, D.G. I.; NEWMAN, D.J. “Taxoids: Cancer-fighting Compounds from Nature.” *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.*; **10**, 130-144, 2007. d) SHU, Y.-Z. “Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective”. *J. Nat. Prod.*; **61**, 1053, 1998. e) NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K. M. “Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002”. *J. Nat. Prod.*; **66**, 1022,

2003. f) NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. "The influence of natural products upon drug discovery". *Nat. Prod. Rep.*; **17**, 215, 2000.
4. BATTERSBY, A. R. "Tetrapyrroles: the pigments of life". *Nat. Prod. Rep.*; **17**, 507, 2000.
5. TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*, 3ª ed., Ed.Artmed, Porto Alegre, 719, 2009.
6. ANDREIADIS, E. S.; CHAVAROT-KERLIDOU, M.; FONTECAVE, M.; ARTERO, V. "Artificial Photosynthesis: From Molecular Catalysts for Light-driven Water Splitting to Photoelectrochemical Cells". *Photochemistry and Photobiology*; **87**, 946, 2011.
7. [http://www.infopedia.pt/\\$clorofila clorofila](http://www.infopedia.pt/$clorofila%20clorofila). In Infopédia [Em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2013. [Consult. 2013-01-11]. Disponível na www: <URL: [http://www.infopedia.pt/\\$clorofila](http://www.infopedia.pt/$clorofila)>.
8. BEALE, S. I. "Enzymes of chlorophyll biosynthesis". *Photosynth. Res.*; **60**, 43-73, 1999.
9. WOODWARD, R. B.; AYER, W. A.; BEATON, J. M.; BICKELHAUPT, F.; BONNETT, R.; BUCHSCHACHER, P.; CLOSS, G. L.; DUTLER, H.; HANNAH, J.; HAUCK, F. P.; ITÔ, S.; LANGEMANN, A.; LE GOFF, E.; LEIMGRUBER, W.; LWOWSKI, W.; SAUER, J.; VALENTA, Z.; VOLZ H.; "The total synthesis of chlorophyll". *J. Am. Chem. Soc.*; **82**, 3800-3802, 1960.
10. FLEMING, I.; "Absolute Configuration and the Structure of Chlorophyll". *Nature*; **216**, 151-152, 1967.
11. MAESTRIN, A. P.J.; NERI, C. R.; de OLIVEIRA, K. T.; SERRA, O. A.; IAMAMOTO, Y.; "Extração e purificação de clorofila a, da alga *Spirulina maxima*: um experimento para os cursos de química". *Quím. Nova*; **32**, 1670-1672, 2009.
12. YANG, E.; KIRMAIER, C.; KRAYER, M.; TANIGUCHI, M.; KIM, H.; DIERS, J. R.; BOCIAN, D. F.; LINDSEY, J. S.; HOLTEN, D.; "Photophysical Properties and Electronic Structure of Stable, Tunable Synthetic Bacteriochlorins: Extending the Features of Native Photosynthetic Pigments". *J. Phys. Chem. B*, **115**, 10801-10816, 2011.
13. SAMANKUMARA, L. P.; WELLS, S.; ZELLER, M.; ACUÇA, A. M.; RÖDER, B.; BRÜCKNER, C.; "Expanded Bacteriochlorins". *Angew. Chem. Int. Ed.*; **51**, 5757-5760, 2012.
14. JUZENIENE, A.; MOAN, J.; "The history of PDT in Norway Part one: Identification of basic mechanisms of general PDT". *Photodiag. Photodyn. Ther.*; **4**, 3-11, 2007.
15. a) MACHADO, A. E. DA H.; "Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas". *Quím. Nova*, **23**, (2), 237-243, 2000. b) BIOLO, R.; JORI, G.; SONCIN, M.; PRATESI, R.; VANNI, U.; RIHTER, B.; KENNEY, M. E.; RODGERS, M. A. J.; "Photodynamic therapy of B16 pigmented melanoma with liposome-delivered Si(IV)-naphthalocyanine". *Photochemistry and Photobiology*; **59**, (3), 362-365, 1994.

16. STOCKERT, J. C.; CAÑETE, M.; JUARRANZ, A.; VILLANUEVA, A.; HOROBIN, R. W.; BORRELL, J.I.; TEIXIDÓ, J.; NONELL, S.; "Porphycenes: Facts and Prospects in Photodynamic Therapy of Cancer". *Curr. Med. Chem.*; **14**, (9), 997-1026, 2007.
17. LINDSEY, J. S., MASS, O.; CHEN, C.-Y.; "Tapping the near-infrared spectral region with bacteriochlorin arrays". *New J. Chem.*; **35**, 511-516, 2011.
18. PEREIRA, M. M.; MONTEIRO, C. J. P.; SIMÕES, A. V. C.; PINTO, S. M. A.; ABREU, A. R.; SÁ, G. F. F.; SILVA, E. F. F.; ROCHA, L. B.; DABROWSKI, J. M.; FORMOSINHO, S. J.; SIMÕES, S.; ARNAUT, L. G.; "Synthesis and photophysical characterization of a library of photostable halogenated bacteriochlorins: an access to near infrared chemistry". *Tetrahedron*; **66**, 9545-9551, 2010.
19. SERGEEVA, N.; SHAKER, Y. M.; FINNIGAN, E. M; MCCABE, T.; SENGE, M. O.; "Synthesis of hydroporphyrins based on comparative studies of palladium-catalyzed and non-catalyzed approaches". *Tetrahedron*; **63**, 12454-12464, 2007.
20. KOZYREV, A. N.; ZHENG, G.; ZHU, C.; DOUGHERTY, T. J.; SMITH, K. M.; PANDEY, R. K.; "Syntheses of Stable Bacteriochlorophyll-a Derivatives As Potential Photosensitizers For Photodynamic Therapy". *Tetrahedron Letters*; **37**, (36), 6431-6434, 1996.
21. KOZYREV, A. N.; CHEN, Y.; GOSWAMI, L. N.; TABACZYNSKI, W. A.; PANDEY, R. K.; "Characterization of Porphyrins, Chlorins, and Bacteriochlorins Formed via Allomerization of Bacteriochlorophyll a. Synthesis of Highly Stable Bacteriopurpurinimides and Their Metal Complexes". *J. Org. Chem.*; **71**, 1949-1960, 2006.
22. STERNBERG, E. D.; DOLPHIN, D.; "Porphyrin-based Photosensitizers for Use in Photodynamic Therapy". *Tetrahedron*, **54**, 4151-4202, 1998.
23. MASS, O.; LINDSEY, J. S.; "A trans-AB-Bacteriochlorin Building Block". *J. Org. Chem.*; **76**, 9478-9487, 2011.
24. XINGANG, L.; YAQING, F.; XIAOFEN, H.; XIANGGAO, L.; "Synthesis of Novel Isoxazole-Fused Chlorins and Bacteriochlorins via 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of Nitrile Oxides with Porphyrins". *Synthesis*, **20**, 3632-3638, 2005.
25. CAVALEIRO, J. A. S.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; "Cycloaddition reactions of porphyrins". *Arkivoc*, **14**, 107-130, 2003.
26. UCHOA, A. F.; DE OLIVEIRA, K. T.; BAPTISTA, M. S.; BORTOLUZZI, A. J.; IAMAMOTO, Y.; SERRA, O. A.; "Chlorin Photosensitizers Sterically Designed To Prevent Self-Aggregation". *J. Org. Chem.*; **76**, 8824-8832, 2011.
27. DROVETSKAYA, T.; REED, C.A.; BOYD, P.; "A Fullerene Porphyrin Conjugate". *Tetrahedron Lett.*, **36**, 7971, 1995.
28. TOMÉ, A. C.; LACERDA, P. S. S.; NEVES, M. G. P. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; "Meso-Arylporphyrins as dienophiles in Diels-Alder reactions: a novel approach to the synthesis of chlorins, bacteriochlorins and naphthoporphyrins". *Chem. Commun.*; 1199-1200, 1997.

29. SILVA, A. M. G.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J.A. S.; "Meso-Tetraarylporphyrins as dipolarophiles in 1,3-dipolar cycloaddition Reactions". *Chem. Commun.*, 1767–1768, 1999.
30. a) SILVA, A. M. G.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; "1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of Porphyrins with Azomethine Ylides". *J. Org. Chem.* **70**, 2306–2314, 2005. b) SILVA, A. M. G.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; PERRONE, D.; DONDONI, A.; "Porphyrins in 1,3-Dipolar Cycloadditions with Sugar Azomethine Ylides. Synthesis of Pyrrolidinoporphyrin Glycoconjugates". *Synlett*, 857–859, 2005. c) MAESTRIN, A. P. J.; RIBEIRO, A. O.; TEDESCO, A. C.; NERI, C. R.; VINHADO, F.S.; SERRA, O. A.; MARTINS, P. R.; IAMAMOTO, Y.; SILVA, A. M. G.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. C.; CAVALEIRO, J. A. S.; "A Novel Chlorin Derivative of Meso-tris(pentafluorophenyl)-4-pyridylporphyrin: Synthesis, Photophysics and Photochemical Properties". *J. Braz. Chem. Soc.*; **15**, 923–930, 2004.
31. SILVA, A. M. G.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; "Porphyrins in 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions: Synthesis of a Novel Pyrazoline-fused Chlorin and a Pyrazole-fused Porphyrin". *Synlett*, 1155–1157, 2002.
32. SILVA, A. M. G.; TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; PERRONE, D.; DONDONI, A.; "Porphyrins in 1,3-dipolar cycloaddition reactions with sugar nitrones. Synthesis of glycoconjugated isoxazolidine-fused chlorins and bacteriochlorins". *Tetrahedron Lett.* **43**: 603–605, 2002.
33. TOMÉ, A. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; "Porphyrins and other pyrrolic macrocycles in cycloaddition reactions". *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **13**, 413–414, 2009.
34. FLEMMING, J.; DOLPHIN D.; "Carbonyl ylide 1,3-dipolar cycloadditions with porphyrins". *Tetrahedron Lett.* 2002; **43**: 7281–7283.
35. a) XIAOFANG, L.; JUNPENG, Z.; YULIANG, L.; HUIBIAO, L.; SHU, W.; DAOBEN Z.; "Synthesis of isoxazoline-fused chlorins and bacteriochlorins by 1,3-dipolar cycloaddition reaction of porphyrin with nitrile oxide". *Tetrahedron Lett.* 2005; **46**: 1555–1559. b) OSTROWSKI, S.; WYRĘBEK, P.; MIKUS, A.; "Synthesis of Isoxazoline-fused Chlorins by 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction of Porphyrins with Alkyl Nitrile Oxides". *Heterocycles* **68**, 885–888, 2006.
36. CALZAVARA-PINTON, P. G.; VENTURINI, M.; SALA, R.; "Photodynamic therapy: update 2006 Part 1: Photochemistry and photobiology". *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.*; **21**, 293-302, 2007.
37. DOUGHERTY, T. J.; MACDONALD, I. J.; "Basic principle of photodynamic therapy". *Journal of Porphyrin and Phthalocyanines*; **5**, 105-129, 2001.
38. DOLPHIN, D.; "1993 Syntex Award Lecture. Photomedicine and photodynamic therapy". *Can. J. Chem.*, **72**, 1005, 1994.
39. SPIKES, J. D.; BOMMER, J. C.; "Photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorine e6: a candidate sensitizer for Photodynamic therapy of tumors". *Photochemistry and Photobiology B: Biology*; **2**, 135-143, 1993.

40. RAAB, O.; "Über die Wirkung, fluorescirender Stoffe auf infusorien". *Z. Biol.*; **39**, 524-546, 1900.
41. JESIONEK, A.; TAPPEINER, V.; "Zur Behandlung der Hautcarcinome mit fluoreszierenden Stoffen". *Ark. Klin. Med.*; **82**, 223-226, 1905.
42. a) POLICART, A.; "Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examines a la lumiere de Wood". *Hebd C. R. Soc. Biol.*; **91**, 1422-1424, 1924. b) LAURENS, H. *The Physiological Effects of Radiation Energy* Tudor Press, New York, **1933**.
43. PASZKO, E.; EHRHARDT, C.; SENGE, M. O.; KELLEHER, D. P.; REYNOLDS, J. V.; "Nanodrug applications in photodynamic therapy". *Photodiagn. Photodyn. Ther.*; **8**, 14-29, 2011.
44. BONNET, R.; MARTINEZ, G.; "Photobleaching of sensitizer used in photodynamic therapy". *Tetrahedron Letters*, **57**, 9513-9547, 2001.
45. ETHIRAJAN, M.; CHEN, Y.; JOSHI, P.; PANDEY, R. K.; "The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy". *Chem. Soc. Rev.*; **40**, 340-362, 2011.
46. DETTY, M. R.; GIBSON, S. L.; WAGNER, S. J.; "Current Clinical and Preclinical Photosensitizers for Use in Photodynamic Therapy". *J. Med. Chem.*; **47**, 3897-3915, 2004.
47. DE ROSA, M. C.; CRUTCHLEY, R. J.; "Photosensitized singlet oxygen and its applications". *Coordination Chemistry Reviews*, **233-234**, 351-371, 2002.
48. SHARMAN, W. M.; ALLEN, C. M.; VAN LIER, J. E.; "Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications". *Drug Discovery Today*, **4**, 507-517, 1999.
49. SHARMAN, W. M.; ALLEN, C. M.; VAN LIER, J. E.; "Role of activated oxygen species in photodynamic therapy". *Singlet Oxygen, Uv-A, and Ozone*, **319**, 376-400, 2000.
50. GORMAN, A.; KILLORAN, J.; O'SHEA, C.; KENNA, T.; GALLAGHER, W. M.; O'SHEA, D. F.; "In vitro demonstration of the heavy-atom effect for photodynamic therapy". *Journal of the American Chemical Society*, **126**, 10619-10631, 2004.
51. OLEINICK, N. L.; MORRIS, R. L.; BELICHENKO, T.; "The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how". *Photochemical & Photobiological Sciences*, **1**, 1-21, 2002.
52. VAN NOSTRUM, C. F.; "Polymeric micelles to deliver photosensitizers for photodynamic Therapy". *Advances in drug Delivery for Cancer Therapy*, **56**, 9-16, 2004.
53. FOOTE, C. S.; "Definition of Type I and Type II photosensitized oxidation". *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **54**, 659, 1991.
54. CHATTERJEE, D. K.; FONG, L. S.; ZHANG, Y.; "Nanoparticles in photodynamic therapy: An emerging paradigm". *Advanced Drug Delivery Reviews*, **60**, 1627-1637, 2008.
55. PELEGRINO, A. C.; SIMIONI, A. R.; ASSIS, M. D.; TEDESCO, A. C.; "Photophysical

properties of crowned porphyrins". *Photochemistry and Photobiology*, **81**, 771-776, 2005.

56. ROBERTSON, C. A.; EVANS, D. H.; ABRAHAMSE, H.; "Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT". *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **96**, 1-8, 2009.

57. BOYLE, R. W.; DOLPHIN, D.; "Structure and Biodistribution Relationships of Photodynamic Sensitizers". *Photochem. Photobiol.*; **64**, 469-485, 1996.

58. GUY, J.; CARON, K.; DUFRESNE, S.; MICHNICK, S. W.; SKENE, W. G.; KEILLOR, J. W.; "Convergent Preparation and Photophysical Characterization of Dimaleimide Dansyl Fluorogens: Elucidation of the Maleimide Fluorescence Quenching Mechanism". *J. Am. Chem. Soc.*; **129**, 11969-1977, 2007.

59. KOMAGOE, K.; TAMAGAKE, K.; KATSU, T.; "The Influence of Aggregation of Porphyrins on the Efficiency of Photogeneration of Hydrogen Peroxide in Aqueous Solution". *Chem. Pharm. Bull.*; **54**, (7), 1004-1009, 2006.

60. a) GUOLIN, L., GRAHAM, A.; CHEN, Y.; DOBHAL, M. P.; MORGAN, J.; ZHENG, G.; KOZYREV, A.; OSEROFF, A.; DOUGHERTY, T. J.; PANDEY, R. K.; "Synthesis, Comparative Photosensitizing Efficacy, Human Serum Albumin (Sitell) Binding Ability, and Intracellular Localization Characteristics of Novel Benzobacteriochlorins Derived from vic-Dihydroxybacteriochlorins". *J. Med. Chem.* **46**, 5349, 2003. b) KOZYREV, A. N.; CHEN, Y.; GOSWAMI, L. N.; TABACZYNSKI, W. A.; PANDEY, R. K. "Characterization of Porphyrins, Chlorins, and Bacteriochlorins Formed via Allomerization of Bacteriochlorophyll a. Synthesis of Highly Stable Bacteriopurpurinimides and Their Metal Complexes". *J. Org. Chem.*; **71**, 1949, 2006. c) GARCIA, G.; et al "Synthesis and photocytotoxic activity of new chlorin-polyamine conjugates". *Bioorg. Med. Chem. Lett.*; **16**, 3188, 2006. d) PANDEY, S. K.; SAJJAD, M.; CHEN, Y.; ZHENG, X.; YAO, R.; MISSERT, J. R.; BATT, C.; NABI, H. A.; OSEROFF, A. R.; "Comparative Positron-Emission Tomography (PET) Imaging and Phototherapeutic Potential of ¹²⁴I- Labeled Methyl- 3-(1'-iodobenzyloxyethyl)pyropheophorbide-a vs the Corresponding Glucose and Galactose Conjugates". *J. Med. Chem.* **52**, 445, 2009. e) PARK J.-H. et al. "Antimicrobial effect of photodynamic therapy using a highly pure chlorin e₆". *Lasers Med. Sci.* **25**, 705, 2010.

61. SCHEER, H.; KATZ, J.J.; "Porphyrins and Metalloporphyrins", editado por K. M. Smith, Elsevier, Amsterdam, **1975**.

62. BURBIDGE, P. A.; COLLIER, G. L.; JACKSON, A. H.; KENNER, G. W.; "The Proton Magnetic Resonance Spectra of Porphyrins. Part V.I Syntheses and Spectra of Some meso-Methylated Porphyrins". *J. Chem. Soc. (B)*; **7**, 930-937, 1967.

63. RITTER, O. M. S.; GIANCOMELLI, F. C.; PASSO, J. A.; MERLO, A. A.; "Synthesis of 3,5-Disubstituted Isoxazolines as a Template for Liquid-Crystalline Polymers" *Polym. Bull.*; **56**, 549, 2006.

64. XINGANGN, L.; YAQING, F.; XUE, C.; FEI, L.; XIANGGAO, L.; "Porphyrins as Dipolarophiles in 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions with Nitrile Oxide". *Synlett*, **6**, 1030-1032, 2005.

-
65. PADWA, A.; PEARSON, W. H.; *Synthetic Applications Of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles And Natural Products*. 2002.
66. LI, G.; DOBHAL, M. P.; GRAHAM, A.; SHIBATA, M.; ZHENG, G.; KOZYREV, A.; PANDEY, R. K.; "Thermolysis of *vic*-Dihydroxybacteriochlorins: Effect of the Nature of Substrates in Directing the Formation of Chlorin-Chlorin Dimers with Fixed and Flexible Orientations and Their Preliminary in Vitro Photosensitizing Efficacy". *J. Org. Chem.*; **68**, 3762-3772, 2003.
67. MACK, J.; KOBAYASHI, N.; "Low Symmetry Phthalocyanines and Their Analogues" *Chem. Rev.* **111**, 281-321, 2011.
68. BONNET, R.; MARTINZ, G.; "Photobleaching of sensitisers used in photodynamic therapy". *Tetrahedron*, **57**, 9513-9547, 2001.
69. ZHU, T. C.; FINLAY, J. C.; "Prostate PDT Dosimetry". *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **3**, 234-246, 2006.
70. a) ADAMS, D. R. & WILKINSON, F. "Lifetime of singlet oxygen in liquid solutions" *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2: Molecular and Chemical Physics* **68**, 586-593, 1972. b) REDMONT, R. W. & GAMLIN, J. N. "A compilation of singlet oxygen quantum yields from biologically relevant molecules" *Photochem. Photobiol.* **70**, 391-475, 1999.
71. ZHANG, X. & LI, X. "The photostability and fluorescence properties of diphenylisobenzofuran" *J. Lumin.* **131**, 2263-2266, 2011.