



Universidade de Aveiro Departamento de Química
Ano 2009

**Joana Filipa
Brites Barata**

**Estudos de síntese e reactividade de novos
derivados do tipo corrol**



Universidade de Aveiro Departamento de Química
Ano 2009

**Joana Filipa
Brites Barata**

Estudos de síntese e reactividade de novos derivados do tipo corrol

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor José Abrunheiro da Silva Cavaleiro, Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Professora Doutora Maria da Graça de Pinho Morgado da Silva Neves Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Apoio financeiro do POCTI no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.



Apoio financeiro da FCT e do FSE no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.



União Europeia
Fundo Social Europeu

À minha querida filha
Ao meu marido

Ao meu Pai

o júri

presidente

Prof. Doutor Helmuth Robert Malonek
Professor Catedrático do Departamento de Matemática da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Rui Ferreira Alves Moreira
Professor Catedrático da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Prof. Doutor José Abrunheiro da Silva Cavaleiro
Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Amélia Pilar Grases Santos Silva Rauter
Professora Associada com Agregação da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Lisboa

Prof. Doutora Maria de Lurdes dos Santos Cristiano
Professora Associada com Agregação da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade do Algarve

Prof. Doutora Maria da Graça de Pinho Morgado da Silva Neves
Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Augusto Costa Tomé
Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutora Maria do Amparo Ferreira Faustino
Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Ao Professor José Cavaleiro, orientador desta dissertação, pela sua orientação científica, pelos valiosos ensinamentos, pelo seu importante apoio ao longo destes anos e por me ter possibilitado a entrada no mundo das porfirinas, e consequentemente no dos corróis.

À Professora Graça Neves, orientadora desta dissertação, o meu sincero reconhecimento pela sua orientação científica, pelos valiosos ensinamentos, incentivos, dedicação, entusiasmo, disponibilidade e constante ajuda prestada durante todo o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço em especial, a amizade partilhada que vai além destas páginas.

Ao Professor Artur Silva, pela constante disponibilidade e ajuda na análise dos espectros de RMN, a qualquer hora.

Ao Professor Augusto Tomé por todas as acesas e produtivas discussões que tivemos, que muito enriqueceram este trabalho.

À Professora Graça Marques pela sua especial orientação nos estudos de espectrometria de massa, pelo seu apoio que começou quando me encontrava em estado de graça e perdurou ao longo de toda a dissertação.

Ao Prof. Paulo Abreu do Departamento de Química da Universidade de Coimbra os estudos teóricos de algumas moléculas.

À Doutora Amparo Faustino pela colaboração prestada no desenvolvimento deste trabalho, em especial nos estudos fotofísicos.

À Professora Angeles Juarranz da UAM de Madrid, desejo expressar o meu reconhecimento pelo apoio e interesse dedicado à realização de parte deste trabalho e pela colaboração que me permitiu estabelecer com o seu grupo, a qual foi importante para o desenrolar dos estudos de avaliação biológica.

À Dra. Mimi, a preciosa ajuda prestada na separação dos conjugados corrol-ciclodextrina por HPLC e pelas nossas conversas.

Ao Hilário Tavares pelo contributo prestado na obtenção dos espectros de RMN e pela sua paciência.

À Cristina Barros e à Catarina Ramos pela ajuda prestada na obtenção dos espectros de massa, mas em especial, pelo valioso apoio no estudo dos metalocorróis e derivados aminados, respectivamente.

À Doutora Ana Margarida Silva, por todo o valioso apoio dado neste trabalho, pela sua amizade, pela sua paciência e por todos os bons momentos partilhados, especialmente quando ambas estávamos em estado de graça.

A todos os colegas de laboratório, em especial aos com mais tempo de casa, a amizade e companheirismo demonstrados nos anos em que partilhámos o laboratório e partilhamos fora dele.

À Dra Fátima (Pomba Branca) pela sua amizade e pelos seus conselhos.

Aos meus amigos Alex, Andreia, Ana, Cláudia, I. Cláudia, Cristela, Diana, Teresa, Vanda, Vera, Roger e Rodrigo, o meu especial agradecimento pela ajuda e pelo apoio prestados nas várias fases deste trabalho, mas principalmente nas alturas mais difíceis, onde o vosso apoio foi fulcral.

À Universidade de Aveiro e ao departamento de Química, todas as ajudas prestadas para o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia, a bolsa de doutoramento e os subsídios atribuídos para a participação em congressos internacionais bem como para o estágio realizado em Madrid.

À minha família por tudo.

Ao meu marido, todas as palavras serão insuficientes para expressar o amor, o carinho, a força, a compreensão e a paciência que sempre me dedicas. Por me guiares, por cuidares tantas vezes da nossa pequena família, sem uma única hesitação. Sem ti não teria sido possível.

À minha querida Maria, nasceste já neste doutoramento. Desculpa a mamã por todas as histórias que não li, pelas minhas ausências (mesmo presente), mas foi em ti que tantas e tantas vezes fui buscar as forças que não tinha, a vontade e a coragem para levar este trabalho até ao fim. Este trabalho dedico-o, principalmente, a ti.

palavras-chave

Corrol, dienos aromáticos, iletos de azometino, dímeros, metalocorróis, espectrometria de massa, PDT

resumo

A presente dissertação contempla estudos de reactividade na periferia e no interior do macrociclo corrólico, nomeadamente do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol. Nesses estudos foram estabelecidas novas rotas de síntese para a preparação de novos derivados tetrapirrólicos do tipo corrol, alguns deles com potencial aplicação medicinal.

Na primeira parte, foi estudado o comportamento de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol como componente 2π em reacções de cicloadição de Diels-Alder com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, designadamente antraceno, tetraceno, nafto[2,3-a]pireno e pentaceno. Estas reacções foram efectuadas em aquecimento clássico e com radiação de microondas. Desses estudos concluiu-se que todos os hidrocarbonetos aromáticos considerados, à excepção do nafto[2,3-a]pireno, reagem segundo reacções de Diels-Alder, mas apenas com o pentaceno se obtêm aductos provenientes de reacções de cicloadição [4+4]. Os resultados obtidos em algumas destas reacções levaram a um estudo aprofundado sobre a estabilidade do macrociclo considerado. Este estudo foi efectuado sob condições térmicas, sob a acção da luz e na presença de um agente promotor de radicais. Desses estudos concluiu-se que apenas com aquecimento clássico é possível obter o dímero com o anel ciclo-octatetraeno ligado pelas posições C-2, C-2' e C-18, C-18' e o dímero assimétrico ligado pelas posições C-2 e C-3'. Na presença de luz ou na presença de agente promotor de radicais obtêm-se o dímero simétrico ligado pelas posições C-3 e C-3'. O estudo do mecanismo da reacção de dimerização na presença de luz levou ainda à síntese de um corrol mono-iodado.

Foi ainda analisado o comportamento de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol e de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) na presença de iletos de azometino. Destes estudos resultou o desenvolvimento de novas rotas de síntese para a obtenção de novos derivados do tipo amina e do tipo éter.

Na terceira parte, descrevem-se estudos de complexação do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com diferentes sais metálicos por espectrometria de massa. Foram usados como fontes de ionização o Electrospray e o LSIMS. Os resultados obtidos comprovaram que os metalocorróis obtidos na fonte são idênticos aos metalocorróis sintetizados.

Na quarta parte deste trabalho foram sintetizados novos conjugados corrol-ciclodextrina por meio de reacções de substituição nucleófila. A actividade fotodinâmica destes derivados foi avaliada numa linha celular cancerígena. A estrutura dos compostos sintetizados foi estabelecida recorrendo a diversas técnicas espectroscópicas actuais, principalmente espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^1H , ^{13}C e ^{19}F , DEPT, COSY, HSQC, HMBC e NOESY), espectrometria de massa em LSIMS, ESI e MALDI e ainda recorrendo a espectrofotometria de Ultravioleta-Visível (UV-vis).

keywords

Corroles, aromatic dienes, azomethine ylides, dimers, metalocorroles, mass spectrometry, PDT

abstract

This dissertation reports reactivity studies on the peripheral and internal core of the corrole macrocycle, namely of 5,10,15-tris(pentafluorophenyl)corrole. In these studies new synthetic routes for the preparation of new corroles were established. Some of the corroles prepared have potential applications in medicine.

In the first part, it was studied the behavior of corrole as 2π component in Diels-Alder cycloaddition reactions with polycyclic aromatic hydrocarbons, namely, anthracene, tetracene, naphtho[2,3-a]pyrene and pentacene. These reactions were carried out under classical heating and microwave radiation. From these studies it was concluded that with exception of naphtho[2,3-a]pyrene, all the other aromatic hydrocarbons react through Diels-Alder reactions. However, only with pentacene the [4+4] cycloadduct was obtained. The previous results led to a more detailed study concerning the stability of 5,10,15-tris(pentafluorophenyl)corrole.

These studies were carried out under classical heating, in the presence of light and in the presence of a radical promoter. From these studies, it was observed that the dimer with a cyclo-octatetraene ring linked by positions C-2, C-2' and C-18, C-18' and the asymmetric dimer linked by positions C-2 and C-3' were only obtained with classical heating. On the other hand the symmetric dimer linked by positions C-3 and C-3' was obtained in the presence of light or in the presence of a radical promoter. The study of the mechanism of the photodimerization led to the synthesis of a mono-halogenated corrole.

The behavior of 5,10,15-tris(pentafluorophenyl)corrole and 5,10,15-tris(pentafluorophenyl)corrolategallium(III)(pyridine) in the presence of azomethine ylides was also studied. These reactions provided the development of new synthetic routes for the synthesis of new amino and ether derivatives of corrole.

In the third part, complexation reactions between 5,10,15-tris(pentafluorophenyl)corrole and several metallic salts, in the ionization sources (Electrospray and LSIMS) of mass spectrometers were reported. The results obtained proved that the metalocorroles formed in the ionization sources were identical to the previously synthesized ones.

In the fourth part of this work new corrole-cyclodextrin conjugates were synthesized through nucleophilic reactions. These new derivatives were tested as photosensitizers in Photodynamic Therapy, on a cancer cellular line.

The structural analysis of the synthesized compounds was made by using several spectroscopic techniques mainly NMR (^1H , ^{13}C and ^{19}F , DEPT, COSY, HSQC, HMBC and NOESY), mass spectrometry (LSIMS, ESI and MALDI) and UV-Visible spectrophotometry.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE.....	vii
ABREVIATURAS.....	xiii

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO	3
1.1 O CORROL.....	3
1.1.1 <i>Estrutura e Propriedades gerais dos corróis</i>	5
1.2 MÉTODOS DE SÍNTESE DE <i>MESO</i> -TRIARILCORRÓIS.....	7
1.3 FUNCIONALIZAÇÃO DE <i>MESO</i> -TRIARILCORRÓIS.....	12
1.4 APLICAÇÕES	18
1.5 REFERÊNCIAS	22
2 ESTUDOS DE REACTIVIDADE DO MACROCICLO CORRÓLICO.....	29
2.1 TRANSFORMAÇÕES NA PRESENÇA DE DIENOS E DIENÓFILOS.....	29
2.1.1 <i>Introdução</i>	29
2.1.2 <i>Reacções na presença de dienos aromáticos</i>	30
2.1.3 <i>Reacções na presença de dienófilos</i>	37
2.1.4 <i>Caracterização estrutural</i>	38
2.1.5 <i>Conclusões</i>	46
2.2 TRANSFORMAÇÕES OXIDATIVAS.....	47
2.2.1 <i>Transformações oxidativas de meso-arilcorróis em condições térmicas</i>	51
2.2.2 <i>Transformações oxidativas de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de luz</i>	56
2.2.3 <i>Transformações oxidativas de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de PIDA</i>	63
2.2.4 <i>Caracterização Estrutural</i>	65
2.2.5 <i>Conclusões</i>	73
2.3 TRANSFORMAÇÕES COM ILETOS DE AZOMETINO	74
2.3.1 <i>Introdução</i>	74
2.3.2 <i>Reacções do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) com iletos de azometino</i>	76

2.3.2.1	Caracterização estrutural	83
2.3.3	<i>Reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino</i>	92
2.3.3.1	Caracterização Estrutural	96
2.3.4	<i>Reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com iletos de azometino na presença de álcoois</i>	101
2.3.4.1	Considerações Mecanísticas	107
2.3.4.2	Caracterização Estrutural	110
2.3.5	<i>Conclusões</i>	117
2.4	PARTE EXPERIMENTAL	118
2.4.1	<i>Reagentes, solventes e equipamento</i>	118
2.4.2	<i>Síntese de 5,10,15-triarilcorróis</i>	120
2.4.2.1	Procedimento Geral para a preparação de 5,10,15-triarilcorróis	120
2.4.2.1.1	Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol	120
2.4.2.1.2	Síntese do 5,10,15-tris[3,5-bis(trifluorometil)fenil]corrol	121
2.4.2.1.3	Síntese do 5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol	122
2.4.2.1.4	Síntese do 5,10,15-tris(4-metilfenil)corrol	122
2.4.2.2	Síntese do 5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol	123
2.4.2.3	Síntese de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)	124
2.4.3	<i>Reacções dos corróis com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos</i>	124
2.4.3.1	Procedimento Geral	124
2.4.3.2	Reacções de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno	125
2.4.3.2.1	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno, usando aquecimento clássico	125
2.4.3.2.2	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno, usando radiação de microondas	127
2.4.3.3	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com antraceno	128
2.4.3.4	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com tetraceno	129
2.4.3.4.1	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com 9,10-dimetilantraceno	130
2.4.4	<i>Reacções de dimerização</i>	131
2.4.4.1	Reacção de dimerização de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol	132
2.4.4.2	Reacção de dimerização de 5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol	133
2.4.4.3	Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol em vários solventes	135
2.4.4.3.1	Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol em atmosfera de azoto	136
2.4.4.4	Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)	136
2.4.4.4.1	Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de iodo	137
2.4.5	<i>Reacções de Oxidação com PIDA</i>	138
2.4.5.1	Reacção de Oxidação com PIDA	138
2.4.6	<i>Reacções de corróis com iletos de azometino</i>	139

2.4.6.1	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) com ileto de azometino	139
2.4.6.2	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) com a <i>N</i> -(Porfirina-2- ilmetil)glicina 32	141
2.4.6.3	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino.....	142
2.4.7	<i>Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em álcoois..</i>	143
2.4.7.1.1	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em metanol.	143
2.4.7.1.2	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em metanol.	144
2.4.7.1.3	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em 1-propanol	145
2.4.7.1.4	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em 1-octanol	147
2.4.7.1.5	Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com paraformaldeído em 1-propanol na presença de TFA	148
2.5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	150

3 ESTUDOS DE COMPLEXAÇÃO DO 5,10,15- TRIS(PENTAFLUOROFENIL)CORROL POR ESPECTROMETRIA DE MASSA

.....**157**

3.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE ESPECTROMETRIA DE MASSA.....	158
3.2	REACÇÕES DE COMPLEXAÇÃO DE 5,10,15-TRIS(PENTAFLUOROFENIL)CORROL NAS FONTES DE DIFERENTES ESPECTRÓMETROS DE MASSA.....	163
3.2.1	<i>Complexação de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na fonte de iões secundários ...</i>	163
3.2.2	<i>Complexação do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol numa fonte de Electrospray</i>	169
3.2.3	<i>Estudos das fragmentações em fase gasosa das espécies iónicas formadas.....</i>	173
3.3	CONCLUSÕES.....	179
3.4	PARTE EXPERIMENTAL.....	181
3.4.1	<i>Reagentes, solventes e equipamento</i>	181
3.4.2	<i>LSIMS</i>	182
3.4.3	<i>Electrospray</i>	182
3.4.4	<i>Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatomanganês(III)</i>	182
3.4.5	<i>Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobre(III)</i>	183
3.4.6	<i>Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobalto(III)</i>	183
3.5	REFERÊNCIAS.	184

4 ESTUDO DA ACTIVIDADE FOTODINÂMICA DE CORRÓIS EM CÉLULAS HELA.....

..... **189**

4.1	TERAPIA FOTODINÂMICA (PDT).....	189
4.1.1	<i>Antecedentes históricos</i>	190
4.1.2	<i>Mecanismo de acção fotodinâmica e fotossensibilizadores</i>	193
4.1.3	<i>Noções básicas de Biologia Celular</i>	197

4.2	SÍNTESE DE NOVOS FOTOSSENSIBILIZADORES	201
4.2.1	<i>Síntese de novos conjugados corrol-ciclodextrina</i>	202
4.2.2	<i>Caracterização estrutural</i>	206
4.3	DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FOTOFÍSICOS	209
4.4	FOTO-ESTABILIDADE.....	211
4.5	DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE PARTIÇÃO	213
4.6	ENSAIOS BIOLÓGICOS	214
4.6.1	<i>Tratamentos fotodinâmicos</i>	215
4.6.2	<i>Alterações morfológicas causadas pelo tratamento fotodinâmico - azul de toluidina</i> .	218
4.6.3	<i>Efeitos da PDT sobre o citoesqueleto e núcleo</i>	219
4.6.3.1	Alterações da estrutura geral da actina nas células HeLa	221
4.6.3.2	Alterações da estrutura geral dos microtúbulos nas células HeLa.....	222
4.6.3.2.1	Bloqueio mitótico	225
4.6.3.3	Ensaio TUNEL.....	227
4.7	CONCLUSÕES	229
4.8	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	231
4.8.1	<i>Parte Experimental da síntese</i>	231
4.8.1.1	Síntese do novo conjugado 47	231
4.8.1.2	Síntese do conjugado di-substituído 49 βCD2	232
4.8.1.3	Determinação da Foto-estabilidade	233
4.8.1.4	Determinação dos coeficientes de partição.....	233
4.8.2	<i>Parte Experimental dos ensaios biológicos</i>	234
4.8.2.1	Meios, reagentes, solventes, material e equipamento utilizado	234
4.8.2.2	Culturas celulares.....	235
4.8.2.2.1	Tipo celular	235
4.8.2.2.2	Condições de cultura e manutenção das células.....	235
4.8.2.3	Administração dos fotossensibilizadores em culturas celulares.	236
4.8.2.3.1	Preparação de Lipossomas	236
4.8.2.4	Localização celular dos fotossensibilizadores	237
4.8.2.5	Tratamentos fotodinâmicos	237
4.8.2.5.1	Procedimento geral do tratamento fotodinâmico	237
4.8.2.5.2	Tratamentos fotodinâmicos com os fotossensibilizadores sintetizados.....	238
4.8.2.6	Estimativa de viabilidade celular – Teste MTT.....	239
4.8.2.7	Análise dos efeitos do tratamento fotodinâmico na morfologia celular.....	239
4.8.2.7.1	Alterações morfológicas	239
4.8.2.7.2	Determinação da actina filamentosa	240
4.8.2.7.3	Imunofluorescência directa α-tubulina.....	240
4.8.2.7.4	Dupla imunofluorescência de α-tubulina e soro ACA	241
4.8.2.7.5	Ensaio TUNEL	241
4.8.2.8	Observações ao microscópio de fluorescência	241
4.9	REFERÊNCIAS	242

5	CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS DE TRABALHO	
FUTURO	247

Abreviaturas

δ - Desvio químico em relação ao tetrametilsilano (em ppm)

ϵ - absorvância molar

η - rendimento

R_f - Factor de retardamento

β CD- beta-ciclodextrina

$\lambda_{\text{máx}}$ - comprimento de onda para os máximos de absorvência

$[M]^{+\bullet}$ - íon molecular

$[M+H]^+$ - íon molecular protonado

BSA- Albumina do soro bovino

CI- Chemical Ionization

COSY- Correlação espectroscópica homonucler, bidimensional, em RMN

d- duplete

DEPT- “distortionless enhancement of NMR signals by polarization transfer”

DDQ- 5,6-Diciano-2,3-dicloro-1,4-benzoquinona

DFT- Teoria da Funcional da Densidade

DMEM- Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMSO- Dimetilsulfóxido

DPPC- dipalmitoilfosfatidilcolina

EI- Electron Ionization

EMAR- Espectrometria de massa de alta resolução

ESI- Electrospray

equiv.- equivalente

FAB- Fast atom bombardment

FS –Fotossensibilizador

HMBC- Correlação espectroscópica heteronuclear a longa distância, bidimensional, em RMN (detecção inversa)

HSQC- Correlação espectroscópica heteronuclear, bidimensional, em RMN (detecção inversa)

J - Constante de acoplamento (Hz)

HDL- High Density Lipoprotein

HpD- derivados da Hematoporfirina
LDL- Low Density Lipoprotein
LSIMS- Liquid secondary ions mass spectrometry
m- multiplete
MALDI- Matrix-assisted laser desorption ionization
MTT- 4,5-dimetil-3-tiazolil-2,5-difeniltetrazolio
MW- Microondas
m/z- razão massa/carga
NBA- Álcool 3-nitrobenzílico
NOE- Efeito nuclear de Overhauser
NOESY- Espectroscopia de efeito nuclear de Overhauser
PBS- tampão fosfato salino
PDT- Terapia Fotodinâmica
PIDA- Diacetato do iodobenzeno
ppm- partes por milhão
Py- piridina
Pyd- piridina deuterada
 R_f - factor de retardamento
RMN de ^{13}C - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de ^{19}F - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de flúor 19
RMN de ^1H - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
s- singuleto
SET- Single Electron Transfer
sex- sexteto
t- tripleto
TFA- Ácido trifluoroacético
Th- thomson
TRITC-faloidina - Tetrametilrodamina isotiocianato-faloidina
TCB- 1,2,4- triclorobenzeno
TLC- Cromatograma de camada fina
TUNEL- Terminal deoxynucleotide transferase dUTP Nick End Labeling
UV-Vis- espectroscopia de ultravioleta-visível

Capítulo 1

1 Introdução

1.1 O corrol

A procura de novos princípios activos para as várias doenças que assolam a população mundial é um móbil para a descoberta e síntese de novos compostos. Foi esta a principal razão para o aparecimento de um novo tipo de macrociclos tetrapirrólicos aromáticos, os corróis. Este tipo de macrociclo sintetizado pela primeira vez em 1999, numa reacção num só passo, tem suscitado elevado interesse da comunidade científica pela sua química, que é tão própria, tão especial e tão criativa.

A história dos corróis começa no estudo desenvolvido na segunda década do séc. XX por George Whipple. Este cientista estudou a influência da dieta alimentar, na regeneração da hemoglobina, em cães com anemia, dando particular atenção a dietas ricas em fígado. Em 1926, Minot e Murphy impulsionados por este trabalho, aplicaram a dieta do fígado a pacientes com anemia perniciosa e observaram que a mesma dieta rica em fígado cru, restaurava o nível normal dos glóbulos vermelhos.

Esta nova terapia denominada de “terapia do fígado” aplicada ao tratamento da anemia perniciosa valeu a G. Minot, G. Whipple e W. Murphy o Prémio Nobel da Fisiologia e Medicina, em 1934.¹

No final dos anos 40, Folkers et *al.*² na procura do princípio activo desta nova metodologia, isolaram um pigmento vermelho cristalino do fígado, o qual designaram de vitamina B₁₂. Em 1949, Pierce et *al.*³ isolaram duas formas cristalinas de vitamina B₁₂, igualmente eficazes no combate da anemia perniciosa: a cianocobalamina e a hidroxicobalamina.

Em 1956, Dorothy Crowfoot-Hodgkins através de estudos de difracção por Raios X elucidou a estrutura da cianocobalamina (Figura 1) e as suas formas coenzimáticas,⁴ valendo-lhe o Prémio Nobel da Química em 1964.⁵ Estes estudos identificaram pela primeira vez um novo tipo de macrociclo denominado de corrina.

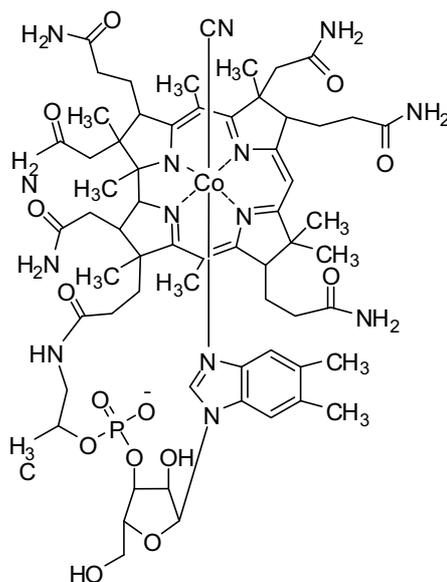
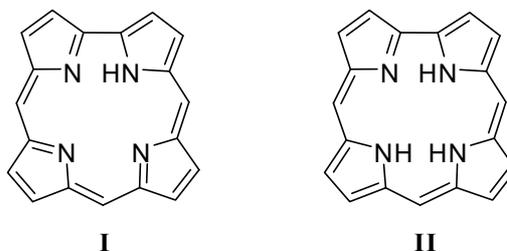


Figura 1 – Estrutura da cianocobalamina

Este novo macrociclo tetrapirrólico é menos simétrico que o macrociclo porfirínico e é caracterizado por uma ligação directa entre duas unidades afins de tipo pirrolidina.

Ao examinar possíveis métodos de síntese para a preparação de corrinas, Jonhson e Price⁶ descobriram uma rota sintética para preparar vários derivados metálicos de um macrociclo contendo onze ligações duplas, que por sugestão do editor da revista (*J. Chem. Soc.*), denominaram de **CORROL I** (Estrutura 1 - Esquema 1). Cinco anos mais tarde, Jonhson e Kay⁷ corrigiram a 1ª estrutura e sugeriram o termo corrol para designar a estrutura **II** (Esquema 1) que contém dez ligações duplas.

Em 1971 foi elucidado, pela primeira vez por cristalografia de Raios X, a estrutura de um corrol, o 8,12-dietil-2,3,7,13,17,18-hexametilcorrol,⁸ confirmando tratar-se da estrutura **II** do Esquema 1 constituída por quatro unidades pirrólicas unidas por uma ligação directa e três ligações metínicas.



Esquema 1

1.1.1 Estrutura e Propriedades gerais dos corróis

Os corróis **IV** são macrociclos tetrapirrólicos que podem ser considerados intermediários entre as corrinas **III** e as porfirinas **V** (Figura 2). O núcleo corróico contém uma ligação directa entre duas unidades de pirrol, idêntica à estrutura da corrina, e mantém o sistema aromático de 18 electrões π como a porfirina, ou seja só nove das dez ligações duplas existentes no macrociclo contribuem para o carácter aromático.

A nomenclatura dos macrociclos corróicos é análoga ao sistema de nomenclatura das porfirinas, no entanto, embora a posição 20 seja inexistente, os átomos de azoto internos mantêm-se numerados de 21 a 24. É de referir que as posições 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 e 18 também são designadas de posições β pirrónicas e as posições 5, 10 e 15 de posições *meso*, como se apresenta na Figura 2.

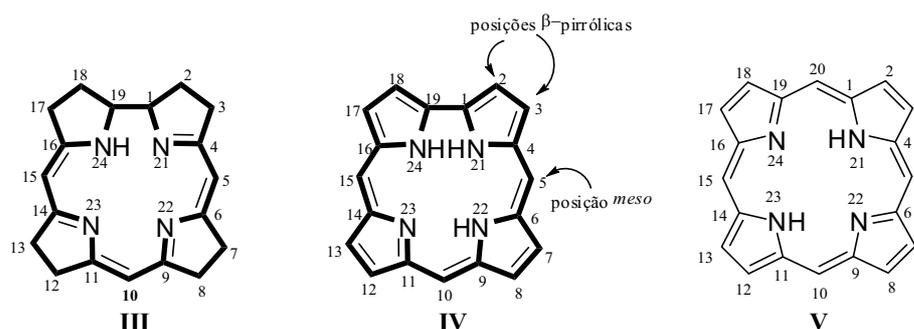


Figura 2- Estruturas e numeração segundo a IUPAC dos núcleos corrina (**III**), corrol (**IV**) e porfirina (**V**)

Sendo os corróis, macrociclos relacionados com as porfirinas os seus espectros de absorção são similares. Os corróis também apresentam uma banda intensa na região dos 400-440 nm e bandas de absorção entre 500-700 nm que são identificadas, tal como nas porfirinas, por bandas Soret e Q, respectivamente.

Os espectros de absorção dos corróis, nomeadamente dos *meso*-triarilcorróis, exibem duas diferenças importantes em relação aos espectros de absorção das porfirinas: ocorre uma maior variação nas bandas ópticas dos corróis com a substituição dos grupos fenilo do que nas porfirinas correspondentes e a posição das bandas de absorção dos corróis são bastante dependentes do tipo de solvente usado, em contraste com os pequenos desvios

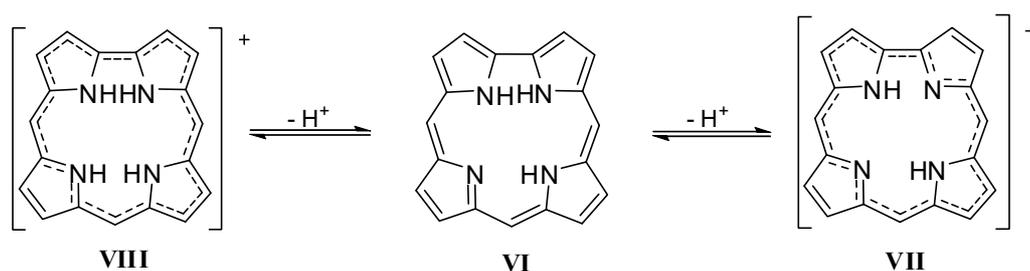
observados nas porfirinas correspondentes. Em solventes polares, esta dependência é justificada, pela ocorrência de interações por ponte de hidrogénio internas entre os grupos NH e o solvente.^{9,10}

Os corróis apresentam elevados rendimentos quânticos de fluorescência que também dependem da natureza do solvente, por exemplo o rendimento quântico de fluorescência do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol duplica o seu valor em solventes polares.^{9,10}

Os corróis **VI** (Esquema 2) na sua forma livre podem comportar-se como ácidos ou bases.

Em soluções básicas diluídas, ocorre a desprotonação de um átomo de azoto, formando o anião representado pela estrutura **VII** e em soluções ácidas diluídas, ocorre a protonação do azoto imínico, formando o catião representado pela estrutura **VIII** (Esquema 2). Ambas as formas carregadas são aromáticas e apresentam nos seus espectros de absorção bandas Q mais intensas, que as respectivas formas neutras. A presença de grupos sacadores ou de doadores de electrões nos grupos arilo das posições *meso* também influencia a formação destas espécies.^{11,12}

Estudos efectuados por Gross *et al.*,¹³ provaram que os corróis são mais ácidos que as porfirinas, pois a remoção de um dos seus protões internos diminui a tensão estérea no interior do macrociclo, formando a base conjugada **VII** mais planar que a forma neutra ou protonada. De facto, em estruturas observadas por Raio X, um dos três protões internos do macrociclo corrólico encontra-se desviada do plano cerca de 0,89Å.¹⁴



Esquema 2

Uma das propriedades mais importantes dos corróis é a capacidade de estabilizar iões metálicos com estados de oxidação elevados Cr(V), Fe(III) e Fe(IV), Co(IV) e Co(V), Mn(III). Os corróis actuam como ligandos trianiónicos, sendo a sua cavidade interna

menor que a da porfirina, conseguindo estabilizar iões metálicos com menor raio iónico e com um estado de oxidação mais alto. Geralmente, o número de oxidação mais estável nos metalocorróis é o estado de oxidação três.

Segundo os cálculos efectuados pela Teoria da Funcional da Densidade (DFT), o ião gálio no estado de oxidação três, Ga(III), é o ião metálico que melhor se encaixa na cavidade interna do corrol,¹⁵ sendo considerado o protótipo de metalocorróis, assim como o 5,10,15,20-tetrafenilporfirinatozínco(II), Zn(II)TPP, é a metaloporfirina modelo.¹⁶

O método sintético por excelência para a formação de metalocorróis envolve a metalação directa do corrol, a partir de sais metálicos divalentes. Desta forma, a formação de metalocorróis, a partir de catiões metálicos no estado de oxidação (+2) envolve a oxidação do centro metálico.

1.2 Métodos de síntese de *meso*-triarilcorróis

A síntese de macrociclos corrolícos durante a década de 90 envolvia a ciclização de *a,c*-biladienos (maioritariamente β -alquilados), na presença de catalisadores básicos ou ácidos ou mediada por metais.^{17,18} No entanto, estas rotas sintéticas eram bastante limitativas, pois só permitiam a obtenção de corrols substituídos nas posições β ou totalmente substituídos nas posições β e *meso*.

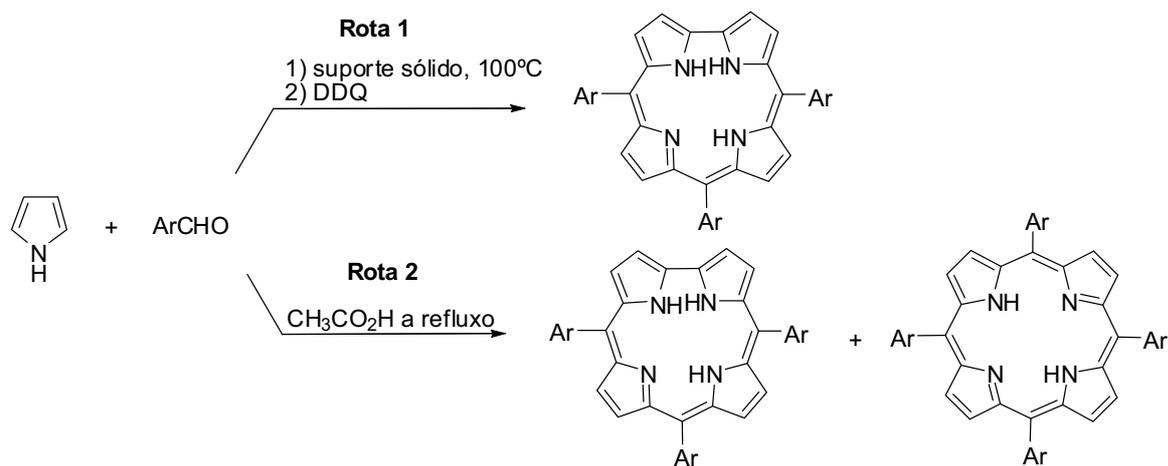
Desta forma a química dos corrols, nomeadamente de *meso*-triarilcorróis, permaneceu pouco desenvolvida até à descoberta de novas e eficientes rotas sintéticas envolvendo poucos passos e recorrendo a reagentes comerciais.

Em 1999 dois grupos, um liderado por Gross e outro por Paolesse, desenvolveram dois métodos diferentes para a síntese de *meso*-triarilcorróis, a partir de pirrol e aldeídos comerciais.

A rota sintética proposta por Gross *et al.*^{19,14} (Esquema 3 – rota 1) baseia-se na condensação de pirrol e aldeídos na ausência de solvente. O método consiste em aquecer a 100°C, durante 4 horas, uma mistura de pirrol e aldeído em quantidades equimolares num suporte sólido (florisil, sílica ou alumina básica), seguindo-se a oxidação com 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ). Quando se utiliza o benzaldeído como reagente obtém-se apenas a porfirina correspondente, mas quando o aldeído escolhido é o

pentafluorobenzaldeído, o corrol correspondente, o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (TPFC) é obtido com um rendimento de 11%.

A via desenvolvida por Paolesse *et al.*²⁰ baseia-se no método de Rothmund para a preparação de *meso*-tetrarilporfirinas, variando apenas a proporção de pirrol e benzaldeído (3:1) (Esquema 3 – rota 2). A reacção é efectuada em ácido acético, a refluxo durante 4 horas. Nestas condições, são obtidos como produtos principais da reacção o *meso*-trifenilcorrol e a correspondente *meso*-tetrafenilporfirina, ambos com rendimentos de 6%, sugerindo uma possível competição entre a formação dos dois macrociclos. Em 2001, os mesmos autores estenderam o método de Rothmund “modificado” a outros aldeídos aromáticos mono-substituídos, permitindo a síntese de uma vasta gama de *meso*-triarilcorróis, incluindo a síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com rendimento de apenas 4%.²¹

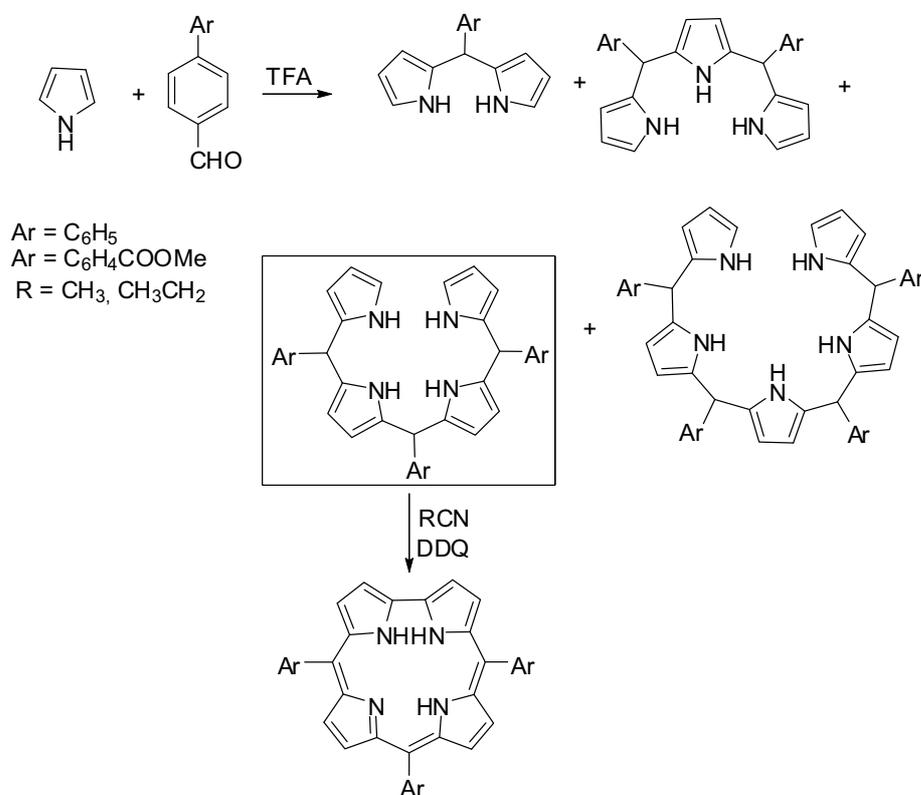


Esquema 3

No entanto, estes métodos apresentam algumas limitações: o método proposto por Gross só é aplicável a aldeídos aromáticos com grupos sacadores de electrões, enquanto que o método de Paolesse, embora mais versátil, não funciona com aldeídos estereamente impedidos e os corróis são geralmente acompanhados pela formação da porfirina correspondente.

Foi ainda publicado outro método, por Lee *et al.*,²² que relata a síntese de corróis com elevados rendimentos, a partir do acoplamento oxidativo com DDQ de tetrapirrometanos, o precursor directo do macrociclo corrólico. Os tetrapirrometanos foram sintetizados por condensação directa de aldeídos e pirrol (Esquema 4), em vários solventes

e na presença de sais inorgânicos (NH_4Cl , KCl , NaCl , KBr e NH_4NO_3) que provaram ser fundamentais para a reacção ocorrer.²²



Esquema 4

Em 2003, Gryko *et al.*²³ desenvolveram um procedimento mais abrangente, baseado no trabalho de Lee, para a síntese de *meso*-triarilcorróis que permite a utilização de aldeídos reactivos, moderadamente reactivos e estereamente impedidos, variando apenas as condições reaccionais.

O procedimento geral desta síntese a partir de aldeídos reactivos consiste em adicionar ácido trifluoroacético (TFA) a uma mistura de aldeído e pirrol. Esta mistura reaccional permanece sob agitação durante 10 min, à temperatura ambiente. Após este período de tempo a mistura reaccional é dissolvida em diclorometano seguindo-se a oxidação com uma solução de DDQ. Neste método obtém-se o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com um rendimento de 21%.

As condições reaccionais da síntese de *meso*-triarilcorróis estão optimizadas para cada tipo de aldeído. Estas condições consistem na variação do tempo de reacção (10 min para aldeídos reactivos e 16 h para aldeídos estereamente impedidos), proporção de pirrol e

aldeído (1,5:1 para aldeídos reactivos e 5:1 para aldeídos estereamente impedidos) e no número de equivalentes de TFA.

Em 2006, Gryko e Koszarna²⁴ desenvolveram um novo e eficiente método em meio aquoso para a síntese de *meso*-triarylcorróis, incluindo *meso*-triarylcorróis com grupos doadores de electrões, baseando-se na optimização da formação do tetrapirrometano e na oxidação deste a corrol. O primeiro passo deste método, envolve a reacção de aldeído com pirrol numa mistura de água/metanol, na presença de ácido clorídrico (HCl). Após extracção dos compostos orgânicos da mistura reaccional com clorofórmio, procede-se à oxidação com cloranil. O rendimento obtido para o 5,10,15-trifenilcorrol é de 32%, o mais alto até hoje publicado.

Recentemente, foi publicada uma nova rota sintética, considerada mais eficiente, a partir de aldeídos aromáticos e de pirrol. Esta metodologia consiste na condensação de aldeídos e pirrol numa proporção de 1:2, catalisada com Amberlyst 15, seguida de ciclização oxidativa com DDQ à temperatura ambiente.²⁵ Esta síntese tem a particularidade de ser realizada na ausência de solvente. Aliás Chauhan *et al.* referem que a ausência de solvente é ideal para a formação de tetrapirrometanos e consequentemente do corrol, enquanto condições mais diluídas, que envolvam solvente, favorecem a formação do porfirinogénio e consequentemente do macrociclo porfirínico. Com este método é possível, obter o 5,10,15-trifenilcorrol com 15% de rendimento e o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com um rendimento de 30%, o mais alto até hoje divulgado para este macrociclo.

Como se pode verificar na Tabela 1, o rendimento do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol é superior no método de Chauhan (entrada 4). No entanto o tempo de reacção no método de Gryko é consideravelmente menor, apenas 15 min (entrada 3), ao invés das 4 horas usadas nos métodos de Gross e Paolesse (entradas 1 e 2), respectivamente.

Os métodos de Gryko e Chauhan apresentam ainda outra vantagem, para aldeídos reactivos, não se observa a formação da porfirina correspondente. A porfirina só se isola e em baixíssimo rendimento $\approx 2\%$, no método de Gryko, para aldeídos moderadamente reactivos e estereamente impedidos, o que simplifica bastante o processo de purificação do corrol.

No nosso trabalho foi usado o método de Gryko para a síntese de *meso*-triarilcorróis, nomeadamente para a obtenção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol, o macrociclo base desta tese, por ser o método mais eficiente e rápido. Não se usou o método de Chauhan, pois apenas data de Maio de 2008.

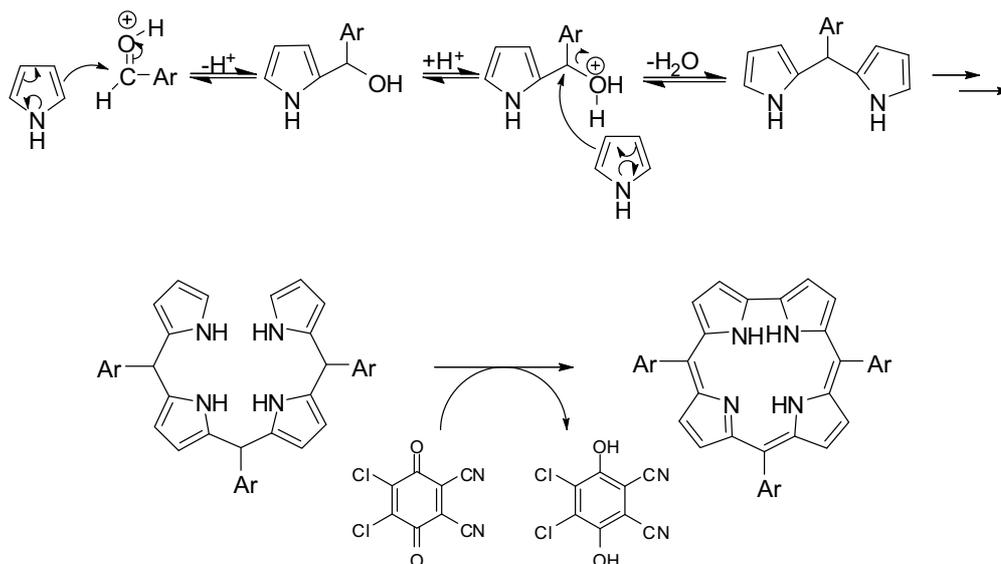
Tabela 1: Tabela comparativa dos quatro métodos usados para a síntese 5,10,15-triarilcorróis, nomeadamente do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (TPFC)

Entradas	Método	Proporção pirrol/aldeído (mmol)	Tempo de reacção	TPFC (%)
1	Gross	3/1	4h	11
2	Paollesse	1/1	4h	4
3	Gryko	1,5/1	15 min	21
4	Chauhan	2/1	2h	30

O mecanismo reaccional proposto para a formação de *meso*-triarilcorróis (Esquema 5), envolve dois passos independentes. No primeiro passo está envolvido o ataque nucleófilo do pirrol ao aldeído, em meio ácido, originando uma mistura de oligómeros, incluindo o tetrapirrometano, precursor directo do corrol e no segundo passo da síntese ocorre a macrociclicação oxidativa do tetrapirrometano a corrol. O agente oxidante mais utilizado nos diferentes métodos é a DDQ.

É de referir que a eficiência deste passo depende da concentração do tetrapirrometano e do solvente onde ocorre a oxidação.²⁴

A formação de tetrapirrometano em detrimento da formação de dipirrometanos e tripirrometanos é o passo chave para melhorar os rendimentos de *meso*-triarilcorróis.



Esquema 5

1.3 Funcionalização de *meso*-triarilcorróis

As reacções de bromação, clorossulfonação, nitração e formilação têm sido as mais usadas na derivatização de *meso*-triarilcorróis, permitindo a síntese de uma vasta variedade de compostos.

No caso de reacções de halogenação de corróis, nomeadamente nas de bromação, foi referida a obtenção de produtos bromados em todas as posições β -pirrólicas mesmo na presença de pequenas quantidades de agente bromante (Br_2^{22} e NBS^{26}). Mais recentemente, verificou-se que, com corrolato de germânio e um ligeiro excesso de Br_2 obtém-se um derivado parcialmente bromado nas posições 2, 3 e 17.²⁷

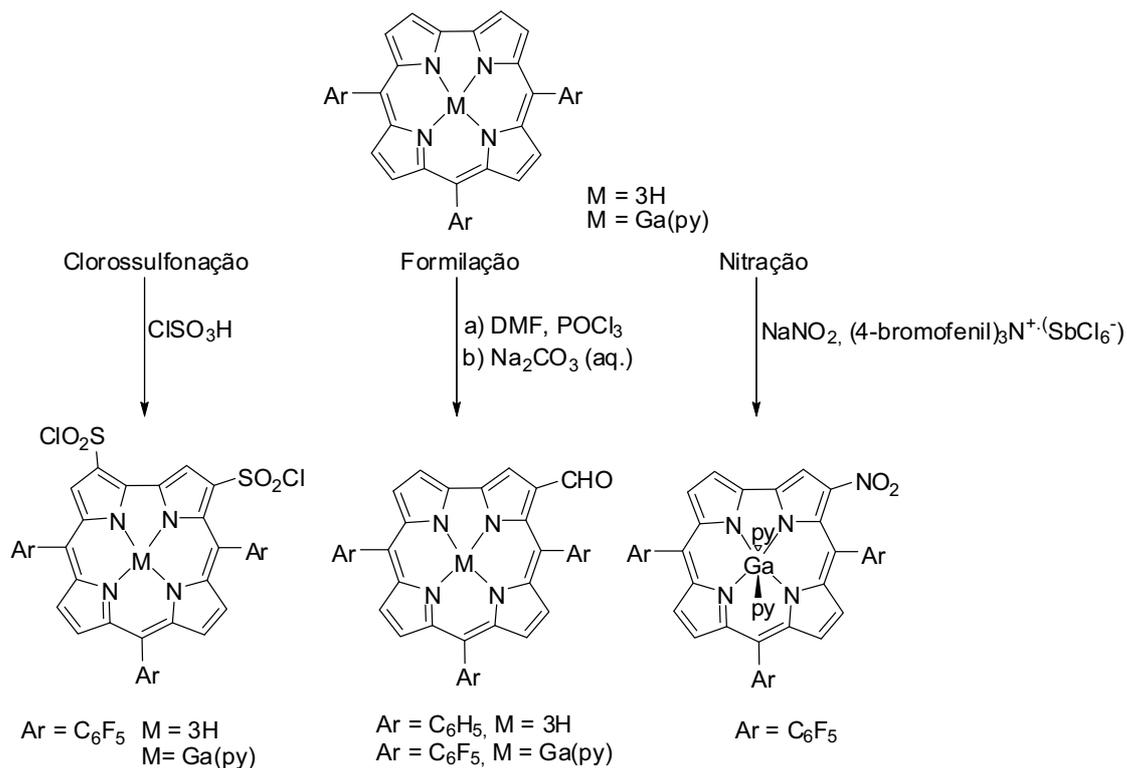
A reacção de clorossulfonação foi a primeira reacção de substituição aromática electrofílica aplicada aos corróis, a qual demonstrou ser altamente selectiva para a funcionalização destes e respectivos complexos, permitindo a preparação de derivados anfifílicos.²⁸ Nesta reacção, o corrol é dissolvido num excesso de ácido clorossulfónico permanecendo em agitação, durante 5 min, obtendo-se o derivado di-clorosulfónico, substituído nas posições 2 e 17, quantitativamente (Esquema 6).²⁹ A sua hidrólise posterior origina o correspondente ácido com rendimento de 71%.²⁸

As vantagens apresentadas para se proceder à reacção de clorossulfonação ao invés da sulfonação directa das posições β -pirrólicas do corrol baseiam-se nas condições reaccionais mais suaves apresentadas para a clorossulfonação. Esta reacção é realizada à temperatura ambiente, enquanto a reacção de sulfonação é realizada a 100°C e o produto clorossulfónico permite a obtenção de outros derivados, incluindo os de tipo sulfonilo.

A preparação de compostos anfífilicos levou ainda à síntese de compostos monocarboxilados, através da reacção com fosgénio.³⁰

A introdução do grupo nitro na periferia do corrol também tem sido amplamente estudada. O agente nitrante mais comumente utilizado é o NaNO_2 em acetonitrilo seguindo-se a oxidação com tris(4-bromofenil)amino-hexafluoroantimonato, originando o composto nitrado na posição 3, com rendimento de 84% (Esquema 6). No entanto, se se usar uma maior quantidade de oxidante obtêm-se produtos di-nitrados nas posições 3,17 e produtos tri-nitrados nas posições 2, 3 e 17.²⁹

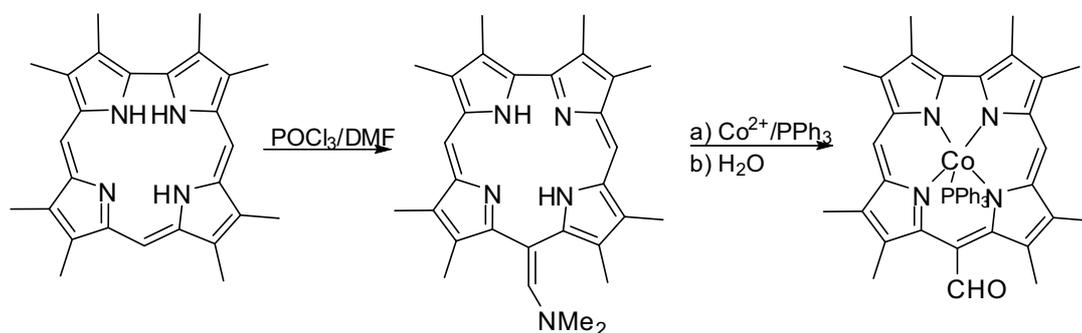
Outro método publicado mais recentemente, utiliza AgNO_2 como agente nitrante. Neste caso, o corrol é usado na sua forma livre obtendo-se o 3-nitro-5,10,15-triarilcorrolatoprata(III).³¹ Note-se que esta reacção é favorecida em corrols com grupos doadores de electrões nos anéis fenilo.



Esquema 6

A reacção de formilação de Vilsmeier também tem sido usada para funcionalizar o macrociclo corrólico nas posições *meso*³² e nas posições β .^{29,33}

Na reacção de formilação “directa” nas posições *meso* em β -alquilcorróis obteve-se como produto maioritário o derivado 10-dimetilaminometeno (Esquema 7). O derivado formilado esperado só se forma, após se proceder à metalação do corrol com cobalto e subsequente hidrólise.



Esquema 7

A formilação nas posições β -pirrónicas de *meso*-triarilcorrolatogálio(III) demonstrou ser mais eficiente e versátil. Dependendo do excesso de reagente de Vilsmeier usado, pode obter-se, como produtos maioritários, o corrol-3-carbaldeído na posição 3 (Esquema 6) ou o derivado di-formilado nas posições 3 e 17. É importante referir que o grupo de Química Orgânica da Universidade de Aveiro, usando as mesmas condições utilizadas por Gross *et al.*, isolou o derivado mono-formilado na posição 2, com rendimento de 17%.³⁴

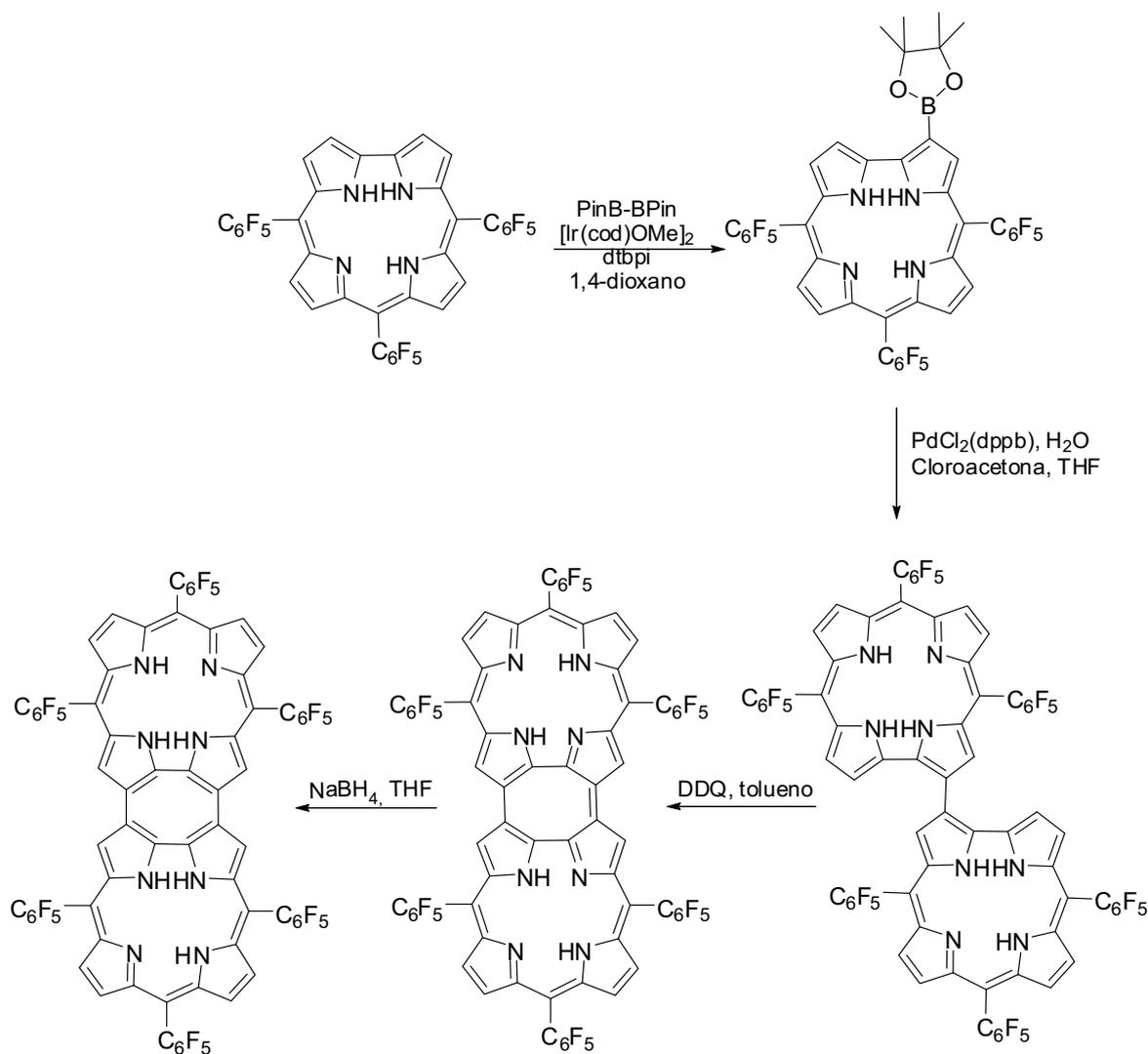
Note-se que quando a formilação de Vilsmeier é efectuada num corrol livre, nomeadamente com o 5,10,15-trifenilcorrol,³³ o produto mono-formilado é obtido em menor rendimento. O produto principal da reacção corresponde a um derivado com uma ponte de etano no interior do macrociclo, obtido pelo ataque dos azotos internos do corrol ao reagente de Vilsmeier. As condições reaccionais usadas para a formilação dos corróis são mais suaves que as usadas para outros macrociclos tetrapirrónicos.³⁵

Os resultados demonstrados nas reacções de substituição revelam que a primeira substituição ocorre sempre em C-3 e a segunda substituição ocorre em C-17 (nitração) ou em C-18 (formilação e clorossulfonação), ou seja, os átomos de carbono (C-2, C-3, C-17 e C-18) da unidade bipirrónica do corrol apresentam uma maior reactividade que os da unidade de dipirrometeno (C-7, C-8, C-12, C-13).

Em relação à diferença de selectividade entre C-2 e C-3, os dados cristalográficos sugerem que esta diferença não se deve a efeitos estéreos, mas sim a efeitos electrónicos. De acordo com estudos de DFT, a posição C-3 é muito mais rica em electrões que as restantes direccionando o ataque dos reagentes electrofílicos para C-3.

Pode-se concluir que as rotas sintéticas descritas anteriormente, favorecem a inserção de novos grupos funcionais na posição 3 do macrociclo corrólico.

Mais recentemente, foi publicada por Osuka *et al.*³⁶ um método de derivatizar selectivamente a posição C-2 do macrociclo, que se baseia na borilação directa de C-2 catalisada com irídio, segundo o procedimento de Miyaura-Hartwig-Smith. Este derivado borilado pode reagir com compostos aromáticos halogenados, segundo uma reacção de Suzuki-Miyaura. No Esquema 8 está representada a síntese de um dímero C-2,2' por acoplamento de duas unidades de derivado borilado, que por oxidação origina um dímero corrólico altamente conjugado.³⁷



Esquema 8

Nos últimos anos o grupo de Aveiro mostrou que as reacções de cicloadição são um método eficiente para funcionalizar as posições β -pirrólicas de *meso*-arilporfirinas.³⁸ Este grupo provou que as porfirinas participam em reacções de Diels-Alder³⁹⁻⁴⁷ e em reacções de cicloadição 1,3-dipolar⁴⁸⁻⁵⁰ originando novas porfirinas, clorinas, bacterioclorinas e isobacterioclorinas.

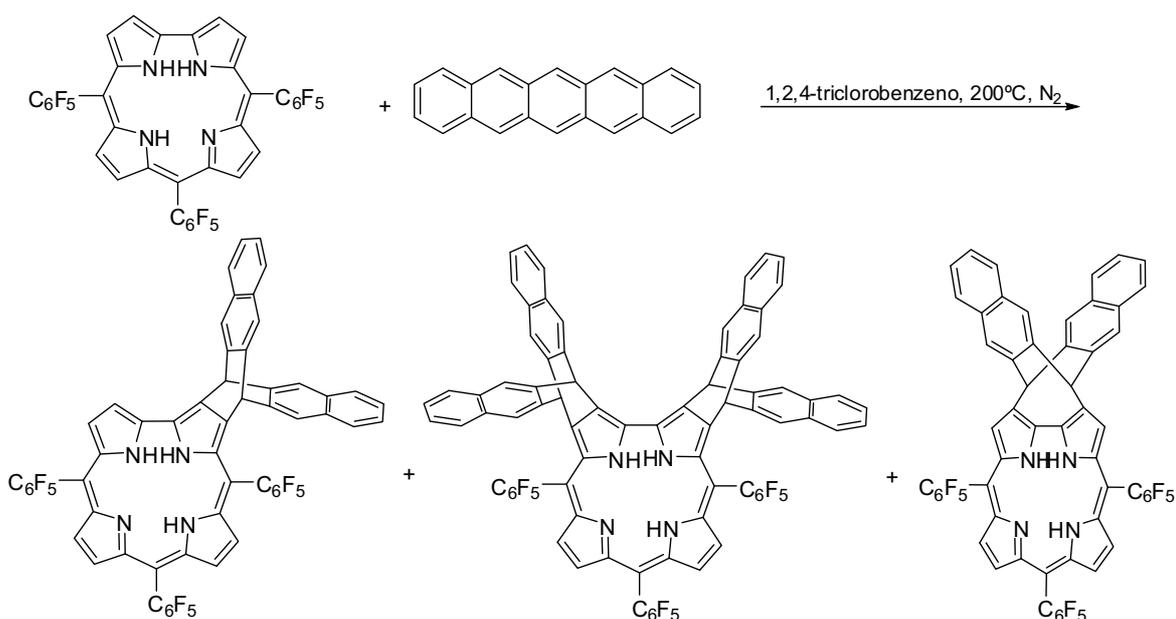
A possibilidade de usar reacções de cicloadição na funcionalização de *meso*-triarilcorróis pareceu ser uma aposta promissora e pioneira na funcionalização destes macrociclos.

Os primeiros estudos começaram em 2004⁵¹ com o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de pentaceno, um derivado policíclico aromático

comercial. A reacção foi efectuada com 2 equivalentes de dieno, a 200°C durante seis horas, originando, com rendimentos moderados, os cicloadductos de Diels-Alder esperados desidrogenados e um terceiro composto desidrogenado resultante da reacção de cicloadição [4+4]. A formação destes compostos com os dados anteriormente obtidos demonstrou, mais uma vez, que a unidade bipirrólica apresenta uma elevada selectividade local.

Nesta publicação foi, pela primeira vez, reportado que os corróis podem reagir como componentes 2π em reacções de Diels-Alder e como componentes 4π em reacções de cicloadição [4+4]. Quando se pretendeu estudar a versatilidade do carácter diénico noutros macrociclos, como a safirina,⁵² usando a mesma reacção com o pentaceno, observou-se que apenas se forma o cicloadducto de Diels-Alder, não se tendo detectado o cicloadducto [4+4].

Estes resultados demonstraram mais uma vez, a peculiaridade do macrociclo corrólico e a sua única reactividade.

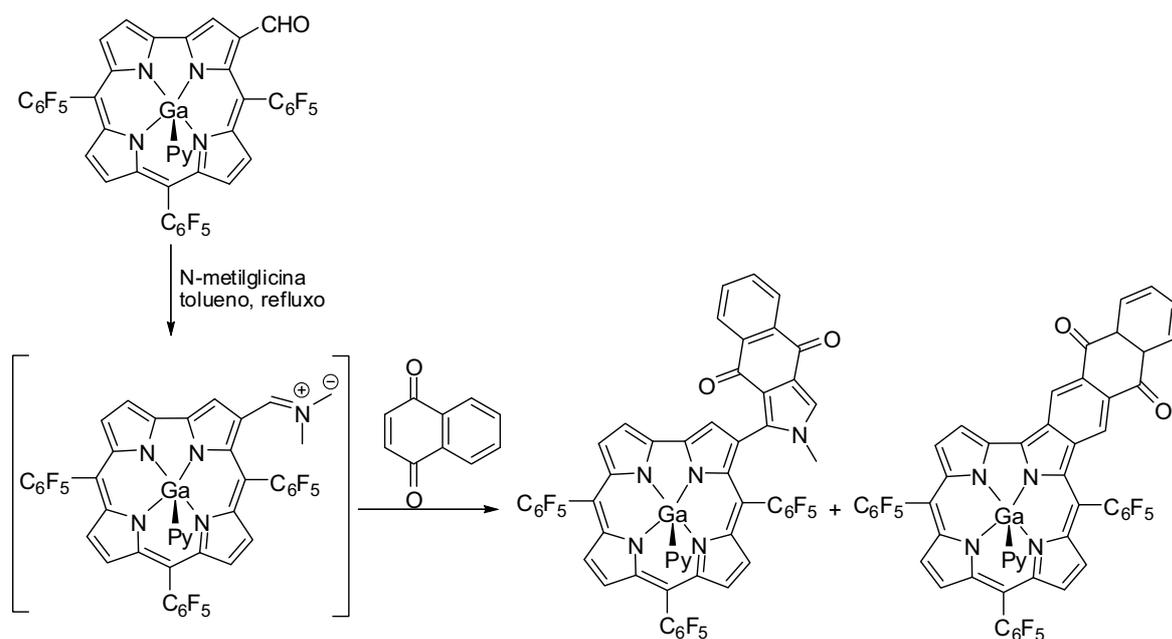


Esquema 9

A possibilidade de usar um derivado corrólico como ileto de azometino em reacções de cicloadição 1,3-dipolar foi também considerada.

Em 2007,^{53,34} decidiu-se usar o complexo de gálio(III) (piridina) de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol-3-carbaldeído como precursor do ileto de azometino, em

reacções de cicloadição 1,3-dipolar com várias quinonas. As reacções foram efectuadas refluxando uma solução de corrol-3-carbaldeído em tolueno, na presença de *N*-metilglicina e da correspondente quinona. É interessante notar que a reacção com 1,4-naftoquinona (Esquema 10) originou para além do cicloaducto 1,3-dipolar esperado e desidrogenado, um composto em que o resíduo de quinona se encontra fundido ao corrol, como produto maioritário da reacção.



Esquema 10

1.4 Aplicações

O interesse pelos corróis e, nomeadamente pelas suas características físicas e químicas, levou a que este macrociclo se tornasse alvo de estudo em diversas áreas de aplicação.⁵⁴ Hoje em dia, os corróis participam numa variedade de aplicações desde o seu uso como catalisadores,⁵⁵⁻⁵⁷ sensores⁵⁸⁻⁶⁰ e eléctrodos,^{61,62} no desenvolvimento de células solares⁶³ e sistemas de transferência de energia,⁶⁴ e a sua potencial aplicação como fármacos.⁶⁵⁻⁶⁸

Em 1999, é descoberta uma das primeiras aplicações de *meso*-triarilcorróis, nomeadamente do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol. Os seus complexos metálicos

demonstraram ser bons catalisadores, quase tão potentes como as correspondentes metaloporfirinas na oxigenação de hidrocarbonetos pelo iodosilbenzeno e mais eficientes na ciclopropanação de olefinas por carbenoides.⁶⁹ No entanto, uma das aplicações mais recentes e importantes é a capacidade deste corrol, quando se encontra complexado com iões ferro ou manganês, de disporcionar o peroxinitrito.

O peroxinitrito é uma espécie bastante tóxica e perigosa, visto não haver nenhuma enzima específica para impedir a sua decomposição radicalar. As espécies oxidantes e nitrantes resultantes da decomposição radicalar do peroxinitrito, provocam danos irreversíveis nas células, tornando de extrema importância a descoberta de novos compostos capazes de decompor o peroxinitrito em produtos benignos. Gross *et al.*⁷⁰ quando publicaram o uso de corrolatos de manganês(III) e de ferro(III) na disporcionação do peroxinitrito, demonstraram que este complexo actua em valores de pH fisiologicamente relevantes e não é decomposto ou modificado no meio (Figura 3). Estes resultados tornaram possível o uso de derivados corrolícos na prevenção da acção do peroxinitrito em moléculas biológicas.

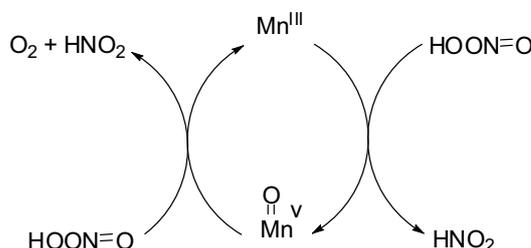


Figura 3 – Ciclo catalítico para a disporcionação do peroxinitrito catalisada pelo complexo de Mn (III)

A possibilidade de usar corrols como sensores também foi descrita. Por exemplo, os corrolatos de cobalto(III) foram referidos como tendo uma selectividade muito elevada para monóxido de carbono, quando comparada com a demonstrada para N_2 e O_2 , através da coordenação ao centro metálico $Co(III)$. Esta selectividade é favorecida pela presença de grupos sacadores de electrões no corrol e pelo carácter de ácido de Lewis do ião $Co(III)$.^{71,72}

Os corróis foram ainda usados em eléctrodos selectivos de iões, nomeadamente de compostos fenólicos,⁶² ácido salicílico e salicilato,⁷³ como sensores químicos ópticos de pH⁷⁴ e de iões Hg²⁺. Verificou-se que o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol apresentou resultados satisfatórios na determinação de Hg²⁺ em amostras de água.⁷⁵

Em relação ao uso de corróis em aplicações medicinais, existem algumas referências até à data, nomeadamente de derivados hidrossolúveis ou anfifílicos (Figura 4).

O derivado **IX** foi o primeiro corrol anfifílico usado em medicina e revelou ser eficiente na inibição da proliferação de células endoteliais e na progressão de tumores e metástases.⁷⁶ No campo da descoberta de agentes anti-tumorais, as estruturas que estabilizam G-quadruplex têm recebido uma especial atenção pela família corróica. Zhou *et al.* sintetizaram diversos corróis catiónicos, tais como **X**, capazes de estabilizar as estruturas de G-quadruplex e inibir a actividade da telomerase.^{77,78} Também Gross *et al.* descreveram que complexos catiónicos como **XI** podem interagir especificamente com o DNA.⁷⁹

Outros estudos com o derivado di-sulfonado e os seus complexos metálicos **XII** demonstraram que estes se ligam covalentemente a albuminas do soro.²⁸ Estes derivados carregados negativamente não penetram nas membranas celulares, mas formam espontaneamente conjugados proteicos que induzem “uptake” celular e acumulação no citoplasma.⁶⁸

O conjunto destes resultados com os obtidos na disproporcionação do peroxinitrito levou ao estudo dos compostos do tipo **XII** como antioxidantes para a atenuação do desenvolvimento da arteriosclerose *in vitro* e *in vivo*. Gross *et al.*⁸⁰ demonstraram que os complexos se ligam preferencialmente a lipoproteínas LDL e HDL em detrimento de outras proteínas do soro, utilizando-as como meio de transporte até às paredes arteriais, onde vão desempenhar um papel vital na atenuação da arteriosclerose. Dados *in vivo* demonstraram que num grupo de ratos sujeitos a tratamento com o complexo **XII** de Fe, dois não desenvolveram arteriosclerose e nos restantes as lesões foram reduzidas em 60%, em relação ao grupo de ratos controlo. Estes resultados superaram os obtidos com o tratamento com antioxidantes naturais. De facto, o complexo **XII** de Fe mostrou ser um antioxidante bastante potente.

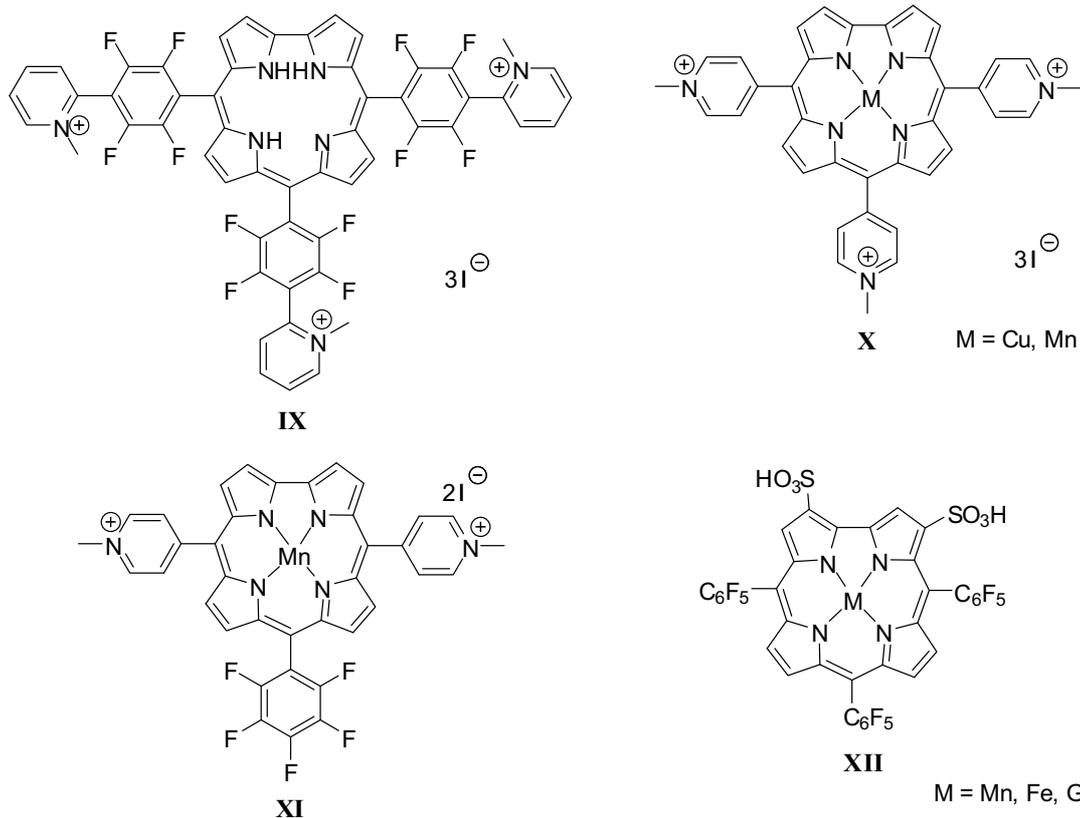


Figura 4 – Estruturas de coróis anfífilos

Com o objectivo de estudar a reactividade e potenciais aplicações de coróis, neste trabalho desenvolveram-se os seguintes tópicos:

- a reactividade de coróis como componentes 2π e 4π , em reacções de cicloadição na presença de dienos e dienófilos (capítulo 2). Estes estudos permitiram, posteriormente, desenvolver reacções de dimerização sob várias condições.

- a reactividade de coróis na presença de iletos de azometino em diferentes solventes.

- Estudos de complexação de coróis na fonte de espectrómetros de massa e comparação do seu comportamento com metalocoróis sintetizados previamente.

- Estudos de avaliação da actividade biológica de novos conjugados corol-ciclodextrina numa linha celular cancerígena HeLa.

1.5 Referências

- 1 <http://www.nobel.se/medicine/laureates/1934/press.html> 20/4/2008
- 2 Rickes, E. L.; Brink, N. G.; Koniuszy, F. R.; Wood, T. R.; Folkers, K. *Science*, **1948**, *107*, 396-397.
- 3 Pierce, J. V.; Page A. C.; Stokstad, E. L. R.; Jukes, T. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*, 2952-2952.
- 4 Hodgkin, D. C.; Kamper, J.; Maureen, M; Pickworth, J.; Trueblood, K. N.; White, J. G., *Nature*, **1956**, *178*, 64-66.
- 5 <http://www.nobel.se/chemistry/laureates/1964/press.html> 20/4/2008.
- 6 Jonhson, A. W.; Price, R. *J. Chem. Soc.*, **1960**, 1649-1653.
- 7 Jonhson, A. W.; Kay, I. T. *J. Chem. Soc.*, **1965**, 1620-1629.
- 8 Harrison, D. C.; Hodder, O. J. R.; Hodgkin, D. C. *J. Chem. Soc. (B)*, **1971**, 640-645.
- 9 Ventura, B.; Esposti, A. D.; Koszarna, B.; Gryko, D.T.; Flamigni, L. *New J. Chem.* **2005**, *29*, 1559–1566.
- 10 Ding, T.; Alemán, E. A.; Modarelli, D. A.; Ziegler, C. J. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 7411-7417.
- 11 Shen, J.; Shao, J.; Ou, Z.; Wenbo, E.; Koszarna, B.; Gryko, D. T.; Kadish, K. M. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 2251-2265.
- 12 Ou, Z.; Shen, J.; Shao, J.; Wenbo E., Gałęzowski, M.; Gryko, D. T.; Kadish, K. M. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 2775-2786.
- 13 Mahammed, A.; Weaver, J. J.; Gray, H. B.; Abdelas, M.; Gross, Z. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2077–2079.
- 14 Gross, Z.; Galili, N.; Simkhovich, L.; Saltsman, I.; Botoshansky, M.; Blser, D.; Boese, R.; Goldberg, I. *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 599-602.
- 15 Ghosh, A.; Jynge, K. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 823-833.
- 16 Bendix, J.; Dmochowski, I. J.; Gray, H. B.; Mahammed, A.; Simkhovich, L.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4048–4051.
- 17 Licoccia, S.; Di Vona, M. L.; Paolesse, R. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3190-3195.
- 18 Paolesse, R.; Licoccia, S.; Bandoli, G.; Dolmella, A.; Boschi, T. *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 1171-1176.
- 19 Gross, Z.; Galili, N.; Saltsman, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1427-1429.

- 20 Paolesse, R.; Jaquinod, L.; Nurco, D. J.; Mini, S.; Sagone, F.; Boschi, T.; Smith, K. M. *Chem. Commun.* **1999**, 1307–1308.
- 21 Paolesse, R.; Nardis, S.; Sagone, F.; Khoury R. G. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 550-556.
- 22 Ka, J.-W.; Cho, W.-S.; Lee, C.-H. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 8121–8125.
- 23 Gryko, D. T.; Koszarna, B. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 350-357.
- 24 Koszarna, B.; Gryko, D. T. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3707-3717.
- 25 Chauhan, S. M. S.; Kumari, P. *J. Heterocyclic Chem.* **2008**, *45*, 779-783.
- 26 Golubkov, G.; Bendix, J.; Gray, H. B.; Mahammed, A.; Goldberg, I.; DiBiblio, A. J.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2132-2134.
- 27 Nardis, S.; Mandoj, F.; Paolesse, R.; Fronczek, F.; Smith, K.; Prodi, L.; Montalti, M.; Batistini, G. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *23*, 2345-2352.
- 28 Mahammed, A.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3443-3446.
- 29 Saltsman, I.; Mahammed, A.; Goldberg, I.; Tkachenko, E.; Botoshansky, M.; Gross, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7411-7420.
- 30 Saltsman, I.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 5669-5673.
- 31 Stefanelli, M.; Mastroianni, M.; Nardis, S.; Licocchia, S.; Fronczek, F. R.; Smith, K. M. Zhu, W.; Ou, Z.; Kadish, K. M.; Paolesse, R. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 10791-10799.
32. Paolesse, R.; Jaquinod, L.; Senge, M. O.; Smith, K. M. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6193-6198.
- 33 Paolesse, R.; Nardis, S.; Venanzi, M.; Mastroianni, M.; Russo, M.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1192-1197.
- 34 Vale, L. S.H. P.; Barata, J. F. B.; Neves, M. G. P. M. S.; Faustino, M. A. F.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Paz, F. A. A.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, *13*, 358-368.
- 35 Bonfantini, E. E.; Burrell, A. K.; Campbell, W. M.; Crossley, M. J.; Gosper, J. J.; Harding, M. M.; Officer, D. L.; Reid, D. C. W. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2002**, *6*, 708-719.
- 36 Hiroto, S.; Hisaki, I.; Shinokubo, H.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6763-6766.
- 37 Hiroto, S.; Furukawa, K.; Shinokubo, H.; Osuka, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12380-12381.

- 38 Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C. *ARKIVOC* **2003**, *xiv*, 107-130.
- 39 Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Chem. Commun.* **1999**, 1767-1768.
- 40 Zhao, S.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Domingues, M. R. M.; Ferrer-Correia, A. J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2189-2191.
- 41 Lacerda, P. S.S.; Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Llamas-Saiz, A. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5487-5491.
- 42 Tomé, A. C.; Lacerda, P. S. S.; Silva, A. M. G.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2000**, *4*, 532-537.
- 43 Tomé, J. P. C.; Pereira, A. M. V. M.; Alonso, C. M. A.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Martínez-Díaz, M. V.; Torres, T.; Rahman, G. M. A.; Ramey, J.; Guldi, D. M. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 257-267.
- 44 Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *ARKIVOC* **2005**, *ix*, 332-343.
- 45 Alonso, C. M. A.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3233-3239.
46. Alonso, C. M. A.; Serra, V. I. V.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Paz, F. A. A.; Cavaleiro, J. A. S. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2305-2308.
- 47 Silva, A. M. G.; Oliveira, K. T.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Brandão, P.; Félix, V. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 704-712.
- 48 Silva, A. M. G.; Lacerda, P. S. S.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Makarova, E. A.; Lukyanets, E. A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8352-8356.
- 49 Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 726-732.
- 50 Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2306-2314.
- 51 Barata, J. F. B.; Silva, A. M. G.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Synlett* **2004**, 1291-1293.

- 52 Tomé, J. P. C.; Cho, D-G.; Sessler, J. L.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3131-3134.
- 53 Vale, L. S.H. P.; Barata, J. F. B.; Neves, M. G. P. M. S.; Faustino, M. A. F.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Paz, F. A. A.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8904–8908.
- 54 Aviv, I.; Gross, Z. *Chem. Commun.* **2007**, 1987-1999.
- 55 Aviv, I.; Gross, Z. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 3995-4005.
- 56 Mahammed, A.; Gross, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2883-2887.
- 57 Mahammed, A.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6544-6547.
- 58 Li, C-Y.; Zhang, X-B.; Han, Z-X.; Åkermark, B.; Sun, L.; Shen, G-L.; Yu, R-Q. *Analyst* **2006**, *131*, 388–393.
- 59 Barbe, J-M.; Canard, G.; Brandès, S.; Guillard, R. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 2118-2129
- 60 He, C-H.; Ren, F-L.; Zhang, X-B.; Han, Z-X. *Talanta* **2006**, *70*, 364-369.
- 61 Radecki, J.; Stenka, I.; Dolusic, E.; Dehaen, W. *Electrochim. Acta* **2006**, *51*, 2282-2288.
- 62 Radecki, J.; Stenka, I.; Dolusic, E.; Dehaen, W.; Plavec, J. *Comb. Chem. High Throughput Screening*, **2004**, *7*, 375-381.
- 63 Sorasaene, K.; Taqavi, P.; Henling, L. M.; Gray, H. B.; Tkachenko, E.; Mahammed, A.; Gross, Z. *J Porphyrins Phthalocyanines* **2007**, *11*, 189-197.
- 64 D'Souza, F.; Chitta, R.; Ohkubo K.; Tasiar, M.; Subbaiyan, N. K., Zandler, M. E.; Rogacki, M. K., Gryko, D. T.; Fukuzumi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14263-14272.
- 65 Mahammed, A.; Gray, H. B.; Weaver, J. J.; Sorasaene, K.; Gross, Z. *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 738-746.
- 66 Fu, B.; Huang, J.; Ren, L.; Weng, X.; Zhou, Y.; Du, Y.; Wu, X.; Zhou, X.; Yang, G. *Chem. Commun.* **2007**, 3264-3266.
- 67 Haber, A.; Agadjanian, H.; Medina-Kauwe, L. K.; Gross, Z. *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 446-457.
- 68 Agadjanian, H.; Weaver, J. J.; Mahammed, A.; Rentsendorj, A.; Bass, S.; Kim, J.; Dmochowski, I. J.; Margalit, R.; Gray, H. B.; Gross, Z.; Medina-Kauwe, L. K. *Pharm. Res.* **2006**, *23*, 367-377.
- 69 Gross, Z.; Simkhovich, L.; Galili, N. *Chem. Commun.* **1999**, 599–600.

- 70 Mahammed, A.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6544–6547.
- 71 Barbe, J.-M.; Canard, G.; Brandès, S.; Guillard, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3103-3106.
- 72 Barbe, J.-M.; Canard, G.; Brandès, S.; Guillard, R. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 2118 – 2129
- 73 Radecki, J.; Stenka, I.; Dolusic, E.; Dehaen, W. *Electrochim. Acta* **2006**, *51*, 2282–2288.
- 74 Li, C.-Y.; Zhang, X.-B.; Han, Z.-X.; Åkermark, B.; Sun, L.; Shen, G.-L.; Yu, R.-Q. *Analyst*, **2006**, *131*, 388–393.
- 75 He, C.-L.; Ren, F.-L.; Zhang, X.-B.; Han, Z.-X. *Talanta*, **2006**, *70*, 364–369.
- 76 Aviezer, D.; Cotton, S.; David, M.; Segev, A.; Khaselev, N.; Galili, N.; Gross, Z.; Yaron, A. *Cancer Res.*, **2000**, *60*, 2973-2980.
- 77 Fu, B. Q.; Zhang, D.; Weng, X.; Zhang, M.; Ma, H.; Ma, Y.; Zhou, X. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9431 – 9441.
- 78 Fu, B. Q.; Huang, J.; Ren, L. G.; Weng, X. C.; Zhou, Y. Y.; Du, Y. H.; Wu, X. J.; Zhou, X.; Yang, G. F. *Chem. Commun.* **2007**, 3264 –3266.
- 79 Gershman, Z.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4320 – 4324.
- 80 Haber, A.; Mahammed, A.; Fuhrman, B.; Volkova, N.; Coleman, R.; Hayek, T.; Aviram, M.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7896 –7900.

Capítulo 2

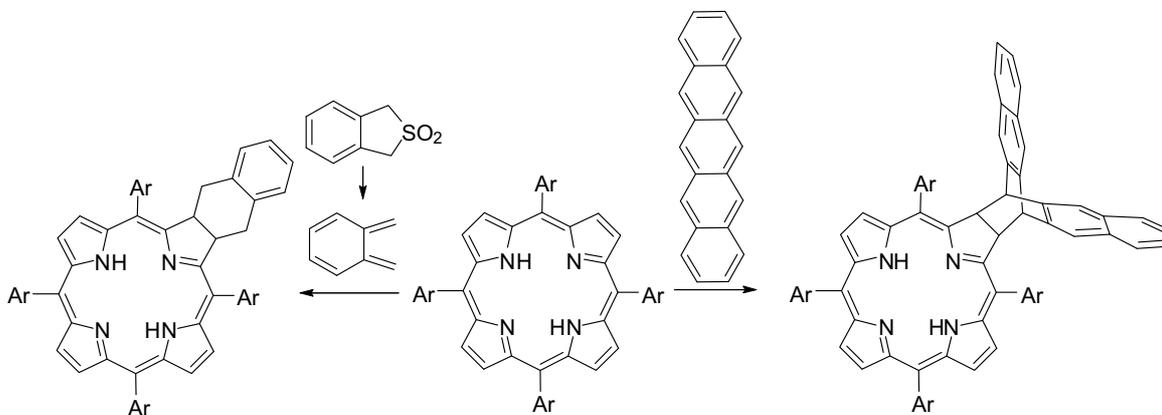
2 Estudos de reactividade do macrociclo corrólico

2.1 Transformações na presença de dienos e dienófilos

2.1.1 Introdução

Como já foi referido no capítulo 1, as reacções de cicloadição têm sido das mais estudadas para a obtenção de novos derivados porfirínicos, de tipo clorina, bacterioclorina e isobacterioclorina.

Na década de 90, o grupo de Química Orgânica da Universidade de Aveiro demonstrou pela primeira vez que *meso*-tetra-arilporfirinas podem comportar-se como dienófilos, na presença de dienos reactivos como, por exemplo, *orto*-quinodimetanos gerados *in situ*³ e pentaceno^{4,5} (Esquema 11).



Esquema 11

Mais recentemente, o mesmo grupo provou que o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol participa com o pentaceno em reacções de cicloadição do tipo [4+2] e [4+4].⁶ Com o intuito de prosseguir e aprofundar estes estudos serão em seguida apresentados novos resultados obtidos na reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno e

ainda na presença de outros dienos aromáticos, tais como tetraceno, antraceno, 9,10-dimetilantraceno e nafto[2,3-*a*]pireno.

Dado o comportamento do corrol como componente 4π na reacção com o pentaceno, também se decidiu estudar o carácter diénico do corrol em reacções de Diels-Alder, na presença de vários dienófilos, tais como fulereno C_{60} , 3,4-di-hidro-2*H*-pirano, acetileno dicarboxilato de dimetilo e fumarato de dimetilo.

2.1.2 Reacções na presença de dienos aromáticos

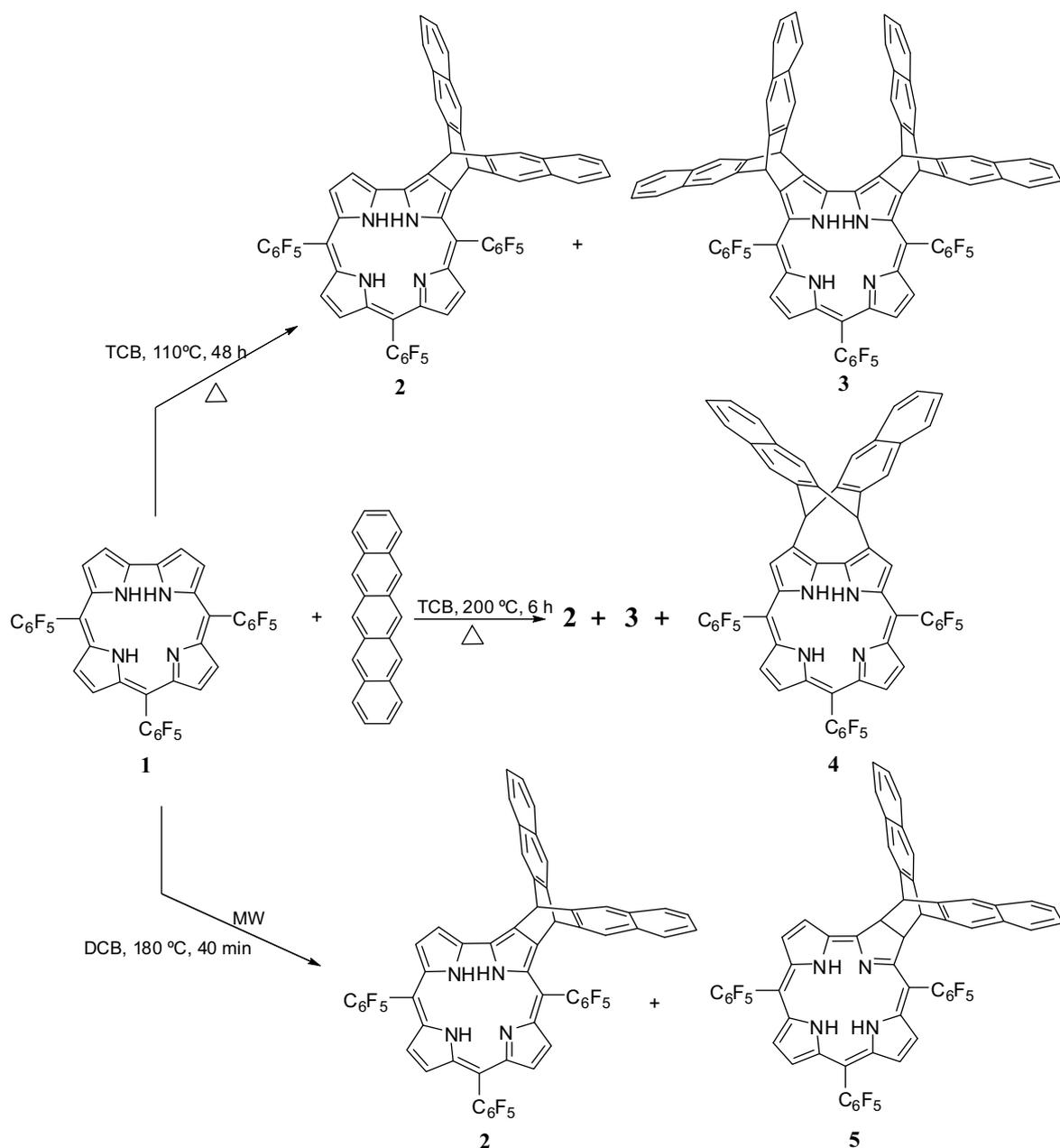
Nos estudos já publicados das reacções de cicloadição do corrol **1** com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, nomeadamente com pentaceno, as reacções foram realizadas com aquecimento clássico.^{6,7} Nessas reacções uma solução de corrol **1** e 2 equivalentes de pentaceno em 1,2,4-triclorobenzeno (TCB) (3 mL) foi aquecida a 200°C, durante 6 horas, tendo sido isolados os três compostos apresentados no Esquema 12. O monoadocto **2** (19%) e o bis-adocto **3** (15%) foram identificados como resultantes da desidrogenação dos correspondentes aductos de Diels-Alder e o monoadocto **4** (6%) foi identificado como resultante de uma reacção de cicloadição [4+4]. Nestas condições não foi recuperado corrol de partida. De forma a aumentar a quantidade dos monoaductos, a reacção foi ainda repetida, mas usando apenas 1 equivalente de pentaceno. Nestas condições, o rendimento dos monoaductos **2** (23%) e **4** (13%) melhorou ligeiramente, e o do bis-adocto **3** diminuiu praticamente para metade (6%). Recuperou-se ainda 10% de corrol de partida.

Assumindo-se que existiria uma reacção de competição entre a reacção de cicloadição [4+2] e [4+4] e que esta poderia ser influenciada pela temperatura, foram ainda efectuados ensaios a duas temperaturas diferentes, um a 110°C e outro a 250°C. Em ambos os casos, apenas foram obtidos os compostos **2** e **3**.

Estes resultados mostraram que apenas a formação do monoadocto **4** depende da temperatura da reacção, ao contrário da dos derivados **2** e **3**.

Já no presente trabalho, procurou-se avaliar a estabilidade térmica do composto **4** a 200°C. O ensaio foi realizado mantendo uma solução deste aducto em TCB, a 200°C durante seis horas. O TLC de controlo da reacção revelou que o composto inicial foi

convertido numa mistura complexa de produtos, mostrando que o composto **4** não é muito estável a esta temperatura.



Esquema 12

Assim, estas reacções foram novamente abordadas com o intuito de utilizar a radiação de microondas como aquecimento alternativo e deste modo minimizar a decomposição dos aductos.

A síntese orgânica assistida por microondas é considerada uma metodologia eficiente em reacções de cicloadição. Os menores tempos de reacção associados com a activação por

microondas minimizam a decomposição dos reagentes e produtos e são responsáveis por um aumento significativo nos rendimentos dos produtos de reacção; conseqüentemente, os processos de purificação tornam-se muito mais simples.⁸⁻¹⁰

A radiação de microondas é uma radiação electromagnética que apresenta frequências na gama 0,3-300 GHz. Geralmente, tanto os microondas domésticos como os reactores usados em síntese orgânica operam a uma frequência de 2,45 GHz, para evitar interferências com as frequências de telecomunicações e telemóveis. A síntese orgânica assistida por microondas baseia-se na capacidade de um material específico (solvente ou reagente) em absorver radiação electromagnética na região espectral das microondas e convertê-la em calor.

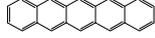
A capacidade do solvente em converter a radiação electromagnética em calor, a uma dada frequência e temperatura depende das suas propriedades dieléctricas e é determinada pelo seu factor de perda ($\tan\delta$). Aliás, para uma transformação ocorrer de forma eficiente sob a acção de radiação microondas é importante que exista no meio reaccional um componente com factor de perda elevado. Nestas condições existirá uma absorção eficiente de radiação e conseqüentemente, um aquecimento rápido.^{11,12}

Os estudos da reacção do corrol **1** com o pentaceno (1 e 2 equivalentes) sob radiação de microondas foram efectuados inicialmente em 0,5 mL de TCB. Estas condições foram seleccionadas adaptando as usadas em reacções análogas com macrociclos porfirínicos.⁵

O uso de um menor volume de solvente levou a que as reacções em aquecimento clássico fossem repetidas, mas agora em 0,5 mL de TCB. As reacções corrol-pentaceno usando como meio de aquecimento a radiação de microondas também foram realizadas em 1,2-diclorobenzeno (DCB).

As reacções ocorreram numa cavidade de microondas multimodo em vaso aberto, a 200°C, durante 40 min. Os resultados destes estudos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Tabela de rendimentos dos compostos obtidos nas reacções de cicloadição do corrol **1** com pentaceno, usando aquecimento clássico e com microondas

Entrada	Tipo de aquecimento		Rendimento (%)				
			1	5 [4+2] aducto	2 [4+2] desidrogenado	4 [4+4] desidrogenado	3 bisaducto
1	Térmico	1 equiv	6	-----	35	4	9
2		2 equiv	-----	-----	16	13	10
3	MW	1 equiv	36	32	11	-----	-----
4	(TCB)	2 equiv	9	34	2	-----	Mistura complexa
5	MW (DCB)	2 equiv	34	44	3	-----	-----

Analisando a Tabela 2, verificou-se que no aquecimento clássico e usando um equivalente de dieno (entrada 1), o rendimento do composto **2** (35%) é praticamente o dobro do obtido da reacção com dois equivalentes de pentaceno (entrada 2). No entanto, nestas condições, o uso de dois equivalentes de dieno (entrada 2) é mais favorável para a formação do composto **4**.

Como se pode verificar, quando se usou radiação de MW e 1 equivalente de pentaceno (Tabela 2- entrada 3), recuperou-se 36% de corrol de partida, obteve-se 11% de aducto **2** e 32% de um composto novo que foi identificado como sendo o aducto **5** resultante da reacção de Diels-Alder (Esquema 12). Observou-se que este aducto sofria um processo de retro-Diels-Alder, à temperatura ambiente, tornando mais difícil a sua elucidação estrutural. Quando a reacção foi efectuada usando 2 equivalentes de pentaceno, o rendimento do composto **5**, aumentou ligeiramente, no entanto o rendimento de **2** (2%) e a recuperação do material de partida foi bastante menor. Observou-se ainda a formação de vários compostos, cujos espectros de massa (m/z 1350) sugeriram estar-se na presença de misturas de bis-aductos e bis-aductos oxidados. Quando foi efectuada a reacção em DCB, usando dois equivalentes de pentaceno (Tabela 2- entrada 5) o aducto **5** foi obtido com maior rendimento (44%), tendo-se recuperado 34% de corrol de partida. O composto **2** foi obtido, apenas com rendimento de 3%.

Analisando as reacções efectuadas com aquecimento clássico (Tabela 2, entradas 1 e 2) e microondas (Tabela 2, entradas 3 e 4), observam-se duas diferenças principais. O composto **4**, monoaducto desidrogenado resultante da reacção de cicloadição [4+4], só se formou com aquecimento clássico, enquanto o composto **5**, monoaducto resultante da reacção de cicloadição [4+2], só se observou com radiação de microondas.

Atendendo aos resultados descritos, nomeadamente a baixa estabilidade do aducto **5** e o facto da formação de **4** apenas se observar em condições de aquecimento clássico levou-nos a seleccionar as condições experimentais da entrada 2 da Tabela 2 para realizar as reacções de cicloadição com outros hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Assim, as reacções com tetraceno, 9,10-dimetilantraceno, antraceno e nafto[2,3-*a*]pireno foram efectuadas usando 0,5 mL de TCB e dois equivalentes de dieno, durante seis horas.

Estas reacções originaram os correspondentes cicloaductos desidrogenados de Diels-Alder **6**, **7**, **8** e **9** (Figura 5) e nos casos do tetraceno e do 9,10-dimetilantraceno foram também isolados os correspondentes bisaductos **10** e **11** (mistura de isómeros devido à assimetria presente). Na reacção com o 9,10-dimetilantraceno a separação e purificação dos compostos foi difícil, uma vez que tanto o corrol **1** como o monoaducto **9** e o bisaducto **10** têm R_f s bastante próximos.

Os rendimentos dos compostos obtidos encontram-se descritos na Tabela 3.

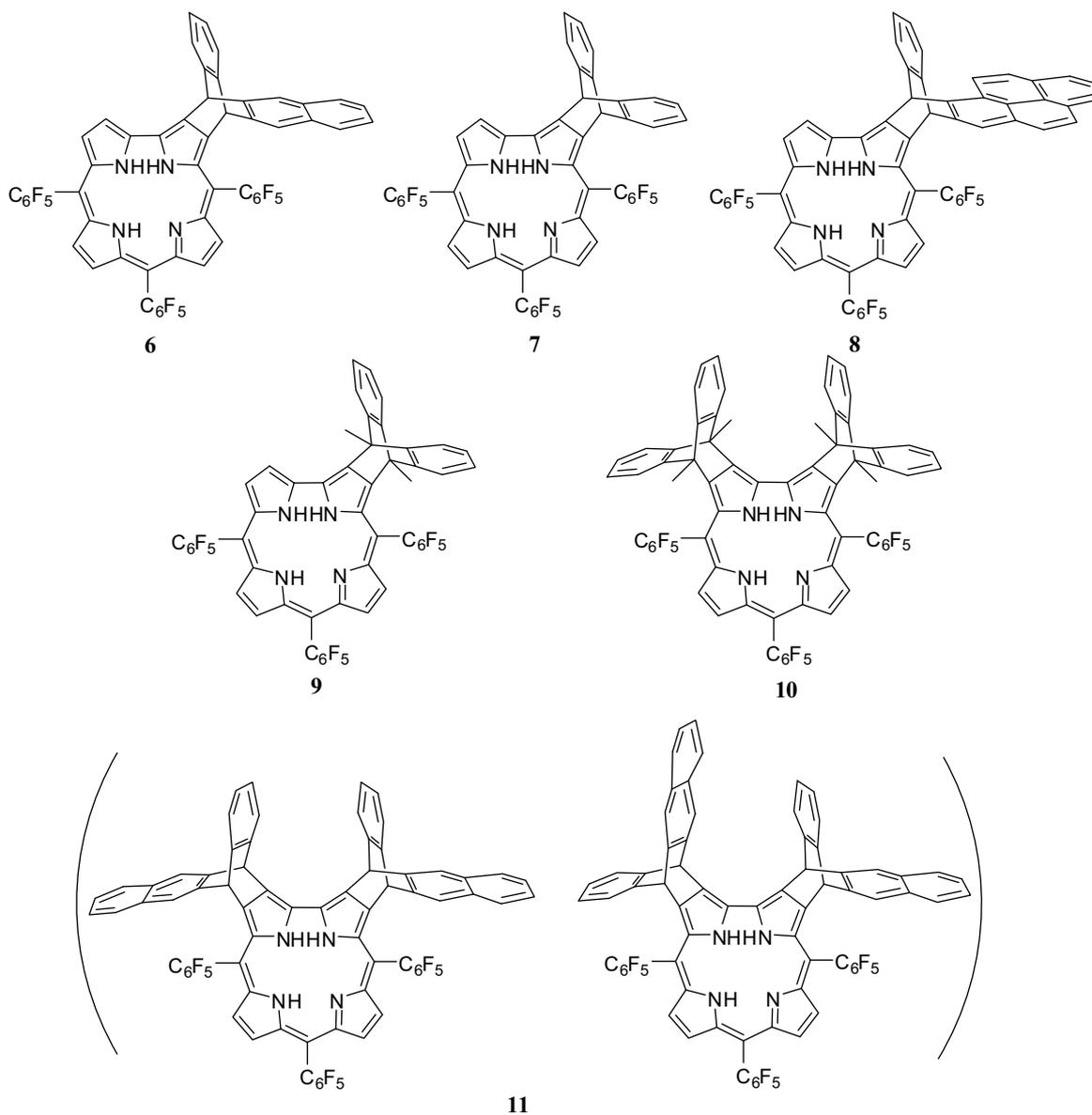
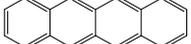
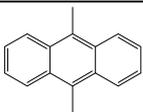
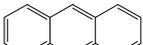
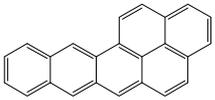


Figura 5 – Estruturas dos compostos resultantes da reacção de Diels-Alder entre o corrol **1** e os correspondentes hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Tabela 3 - Tabela de rendimentos dos compostos obtidos nas reacções de cicloadição do corrol **1** com tetraceno, 9,10-dimetilantraceno, antraceno e nafto[2,3-*a*]pireno.

Entradas	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos	Rendimentos(%)		
		[4+2] desidrogenado	Bisaducto Desidrogenado	Corrol recuperado
1		31	15 (1:1)	32
2		12	9	30
3		11	-----	54
4		<1	-----	>80

Note-se que os rendimentos dos monoactos desidrogenados (Tabela 3 - entradas 1-3) diminuíram com o número de anéis benzénicos lineares presentes no hidrocarboneto aromático policíclico. No entanto, na presença de nafto[2,3-*a*]pireno, um hidrocarboneto angular, a quantidade de monoactos obtido foi apenas vestigial (entrada 4). Estes resultados estão de acordo, com a reactividade estudada para estes dienos. Segundo Clar,¹³ o aumento da reactividade dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos quando se caminha do benzeno para o pentaceno, ocorre devido à perda gradual do carácter benzenóide. Enquanto no benzeno os seis electrões π podem ser representados por um sexteto aromático, no antraceno o sexteto aromático é partilhado por três anéis, no tetraceno por quatro e no pentaceno por cinco. Deste modo, quando se passa do benzeno para o pentaceno ocorre uma “diluição” do sexteto aromático e conseqüentemente uma diminuição do carácter benzenóide, que se traduz num aumento de reactividade do composto.

Por outro lado, quando um anel é adicionado angularmente a um hidrocarboneto aromático policíclico, cria-se um novo sexteto aromático. Ou seja, com o aumento do número de sextetos aromáticos, o novo sistema policíclico angular apresenta um maior carácter benzenóide e conseqüentemente uma menor reactividade que o seu correspondente linear. Daí a pouca quantidade que se obteve do cicloactos resultante da reacção de Diels-Alder do corrol com o nafto[2,3-*a*]pireno.

É de referir que nas reacções com o antraceno e com o nafto[2,3-a]pireno, para além dos aductos de Diels-Alder desidrogenados foram isolados mais dois compostos minoritários. Os espectros de massa destes compostos apresentaram o ião molecular $M^{+\bullet}$ a m/z 1590 e 1588, sugerindo estar-se na presença de aductos corrol-corrol. Estes novos compostos, embora minoritários, não foram considerados de todo surpreendentes, uma vez que poderá existir uma competição entre os dienos pouco reactivos e o corrol **1**, que também pode actuar como componente 4π nas reacções de cicloadição.

Decidiu-se então otimizar a formação destes dímeros, fazendo um ensaio em branco. No entanto, os resultados preliminares desta reacção não apontaram para cicloaductos diméricos, mas sim para dímeros resultantes de acoplamento C-C entre duas unidades corrólicas. Estes estudos serão desenvolvidos em 2.2.

2.1.3 Reacções na presença de dienófilos

No estudo do comportamento do corrol como componente 4π em reacções de Diels-Alder seleccionaram-se dienófilos com características sacadoras de electrões, acetilenodicarboxilato de dimetilo e o fumarato de dimetilo, um dienófilo com características dadoras, o 3,4-di-hidro-2*H*-pirano e o fulereno.

O primeiro dienófilo a ser testado foi o fulereno C_{60} . Foram utilizadas as mesmas condições reaccionais das reacções de cicloadição com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (200°C, 2 equiv., 6 horas). O TLC da mistura reaccional revelou a presença de compostos minoritários de R_f inferior ao do corrol de partida. Os espectros de massa dos novos compostos formados apresentaram iões moleculares a m/z 1590 e 1588, revelando tratarem-se de espécies diméricas do corrol e não do aducto esperado corrol-fulereno. O rendimento global destes dímeros foi baixo, tendo-se recuperado a maior parte do corrol de partida.

De seguida, testaram-se dienófilos mais reactivos, como o fumarato de dimetilo e o acetilenodicarboxilato de dimetilo. Nestes dois casos, foram testadas várias condições reaccionais tais como: temperatura, número de equivalentes e tempo de reacção. Os

compostos separados por cromatografia preparativa, das várias misturas reaccionais não evidenciaram ser os aductos esperados.

Experimentou-se ainda outro tipo de dienófilo como o 3,4-di-hidro-2*H*-pirano. Mais uma vez, testaram-se várias condições reaccionais e em nenhuma foi obtido o cicloaducto de Diels-Alder pretendido.

2.1.4 Caracterização estrutural

As estruturas dos novos produtos sintetizados foram deduzidas pela análise dos seus espectros de RMN de ^1H e com o auxílio de técnicas de RMN bidimensionais.

As estruturas dos compostos **2**, **3** e **4** já tinham sido bem estabelecidas em estudos anteriores por espectroscopia de ressonância magnética nuclear.⁶ Os novos compostos sintetizados foram caracterizados com base nos estudos efectuados para os compostos **2** e **3** e nos estudos de RMN mono (^1H e ^{13}C) e bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC).

Na Figura 6 estão apresentados os espectros parciais de RMN de ^1H dos novos compostos **6** e **7** e também o do composto **2** para fins comparativos.

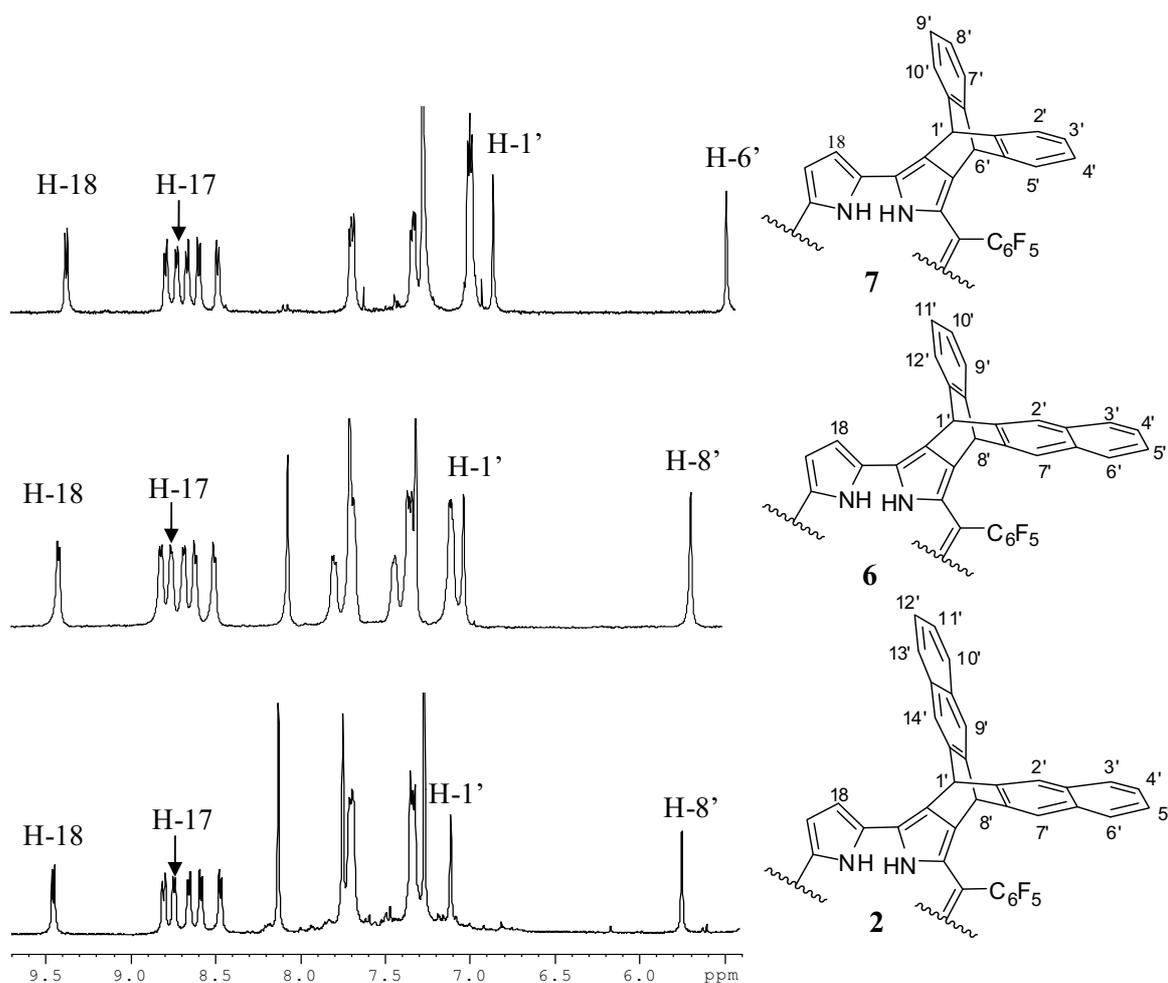


Figura 6 –Espectros parciais de RMN de ^1H dos compostos **2**, **6** e **7**

Como se pode observar na Figura 6, os espectros de RMN dos compostos **2**, **6** e **7** são muito similares. Todos apresentaram seis dupletos entre δ 9,40 ppm e δ 8,41 ppm que correspondem à ressonância dos seis prótons β -pirrólicos. O duplete a campos mais baixos δ 9,40 ppm para **6** e δ 9,36 ppm para **7**, foi rapidamente identificado como correspondendo à ressonância do próton β -pirrólico H-18, visto apresentar o desvio químico típico de prótons β -pirrólicos junto à ligação directa da unidade bipirrólica.¹⁴

À semelhança do monoaducto oxidado obtido na reacção entre o pentaceno e a *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfírina¹⁵ a estrutura **2** apresenta dois anéis naftalénicos que são equivalentes, estando ambos inclinados cerca de 120° em relação ao plano do macrociclo. No entanto, a estrutura do composto **6** apresenta dois tipos de anéis, benzénico e

naftalénico, pelo que os espectros de COSY, NOESY e HMBC foram determinantes para o assinalamento inequívoco das ressonâncias dos prótons aromáticos.

No espectro de COSY, observou-se correlação entre os três multipletos a δ 7,76-7,73 ppm, δ 7,40-7,37 ppm e δ 7,05-7,03 ppm e ainda correlação entre o multipletos a δ 7,66-7,63 ppm com o a δ 7,31-7,28 ppm. Estes dados permitiram identificar os pares dos prótons de cada anel aromático.

No espectro de NOESY (Figura 7) observou-se a existência de correlação entre o singuleto a δ 6,97 ppm com sinal correspondente a H-18, permitindo atribuir a este singuleto a ressonância do próton H-1'. Observaram-se ainda correlações entre H-1' com o multipletos a δ 7,76-7,73 e o singuleto a δ 8,03 ppm permitindo atribuir a estes sinais as ressonâncias dos prótons H-12' e H-2', respectivamente. Note-se que o sinal correspondente a H-2' ainda se correlaciona espacialmente com o multipletos a δ 7,66-7,63 ppm, permitindo assinalá-lo como correspondente à ressonância dos prótons H-3',6'.

O mesmo tipo de correlações espaciais foi observado para o singuleto a δ 5,60 ppm correspondente a H-8' com os sinais a δ 7,40-7,37 ppm e δ 7,66 ppm correspondentes a H-9' e H-7', respectivamente.

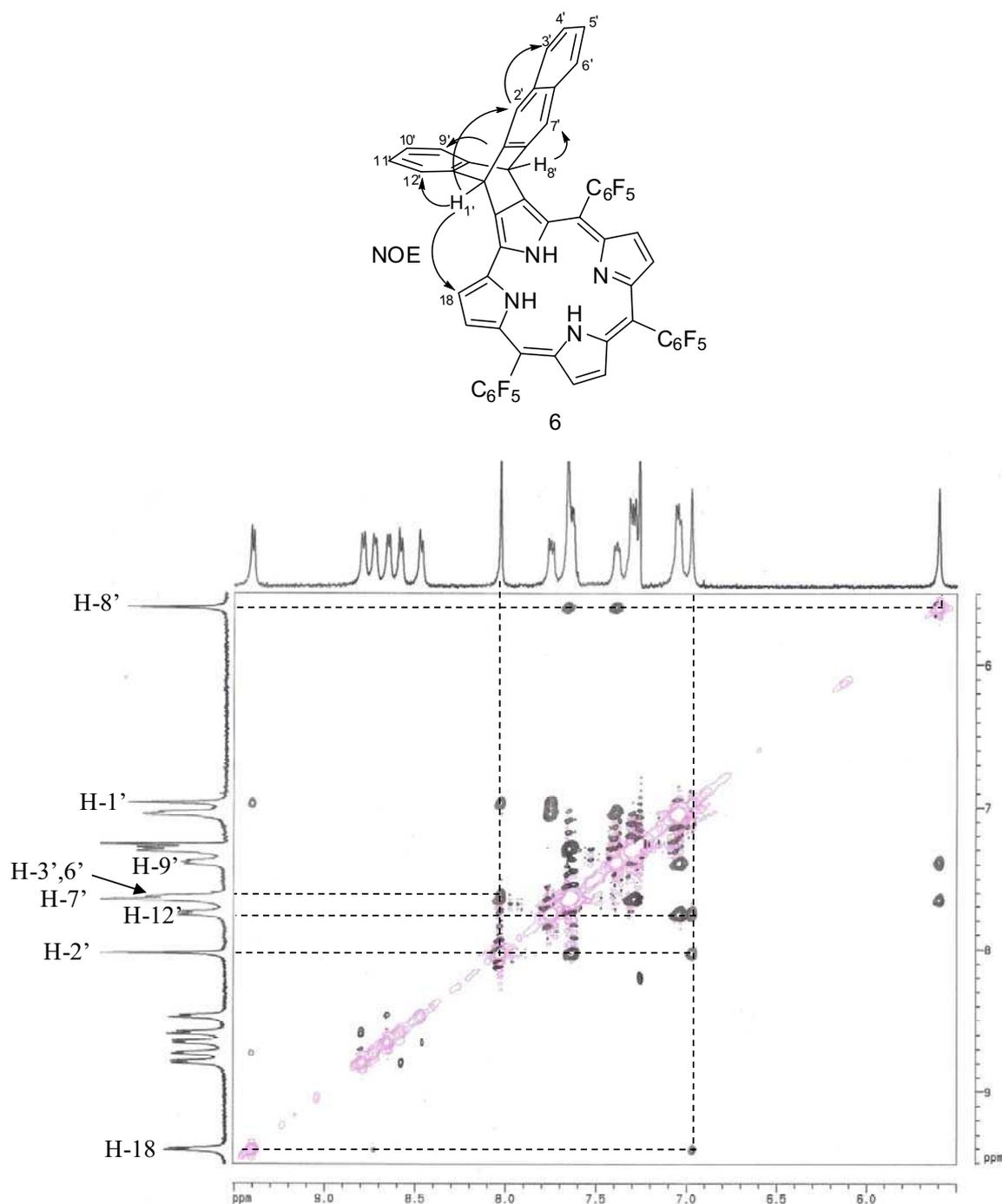


Figura 7 – Espectro de NOESY do composto 6

Uma vez, identificados alguns sinais relativos aos prótons dos anéis aromáticos, o espectro de COSY, permitiu a elucidação dos restantes. Assim, observou-se correlação entre o sinal a H-12' e o multipeto a δ 7,05-7,03 ppm que por sua vez também se correlaciona com o multipeto a δ 7,40-7,37 ppm. Atendendo à integração apresentada no

espectro de RMN de ^1H , foram identificados como correspondendo à ressonância dos prótons H-10',11' e H-9'. Verificou-se ainda correlação entre o sinal H-3',6' com o multipletto a δ 7,31-7,28 ppm, o qual se identificou como a ressonância dos prótons H-4',5'. O mesmo tipo de estudos foi efectuado para o composto **7**.

A diferença dos desvios químicos para as ressonâncias dos prótons H-1' e H-6', não é de todo surpreendente, uma vez que a ressonância do próton H-6' sofre influência do anel pentafluorofenilo, protegendo-o para campos mais altos. No entanto, a ressonância dos respectivos carbonos C-1' e C-6', cujos sinais aparecem a δ 49,1 e 49,6 ppm não sofre esse tipo de influência.

O monoadducto desidrogenado **9** apresentou um espectro de RMN de ^1H um pouco mais complicado que o correspondente composto **7**. Na zona alifática apresentou dois singletos a δ 3,25 e 1,25 ppm correspondentes à ressonância dos dois grupos metilo que foram identificados por analogia aos prótons H-1' e H-6' do composto **7**. Assim ao singuleto a δ 3,25 ppm foi atribuída a ressonância do grupo metilo 1' e ao sinal a δ 1,25 ppm foi atribuída a ressonância do grupo metilo 6'. Os restantes sinais do espectro de RMN de ^1H foram identificados por analogia aos estudos efectuados para o monoadducto **7**.

Dada a pouca quantidade obtida do adducto resultante da reacção do corrol com o nafto[2,3-a]pireno, não foi possível proceder à sua caracterização por ressonância magnética nuclear. No entanto, o seu espectro de massa apresentou o íão a m/z 1097 indicando a formação do composto **8**.

O adducto Diels-Alder **5** apresentou um espectro de RMN de ^1H mais complexo que o do seu correspondente oxidado e observou-se, como já foi referido, que sofria reacção de retro Diels-Alder, tornando difícil a sua caracterização. No entanto foi possível identificar o sinal correspondente à ressonância do próton H-18 a δ 8,66 ppm (note-se que o sinal H-18 está desviado para campos mais altos que o correspondente em **2**) e quatro singletos a δ 8,15, 7,76, 7,39 e 7,35 ppm correspondentes à ressonância dos prótons H- 2', 7', 9', 14', respectivamente.

Na região alifática apresentou dois dupletos a δ 4,77 ppm e δ 5,81 ppm correspondentes à ressonância dos prótons H-8' e H-1', respectivamente, e dois duplos dupletos a δ 5,18 ppm e δ 5,59 ppm correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos

H-2 e H-3. Foi ainda possível observar o desvio químico da ressonância de dois prótons internos NH a δ -0,87 e -3.04 ppm.

A diferença dos desvios químicos entre o aducto oxidado **2** e o aducto **5** reside na aromaticidade dos respectivos macrociclos; no composto **2** o macrociclo é um corrol enquanto no **5** o macrociclo é uma corrolina. A partir dos valores dos desvios químicos observados nos espectros dos compostos **2** e **5** pode-se concluir que os prótons β -pirrólicos de **5** são gradualmente desviados para campos mais altos devido à redução da corrente do anel. Estas observações estão consistentes com os resultados obtidos para porfirinas reduzidas.¹⁵

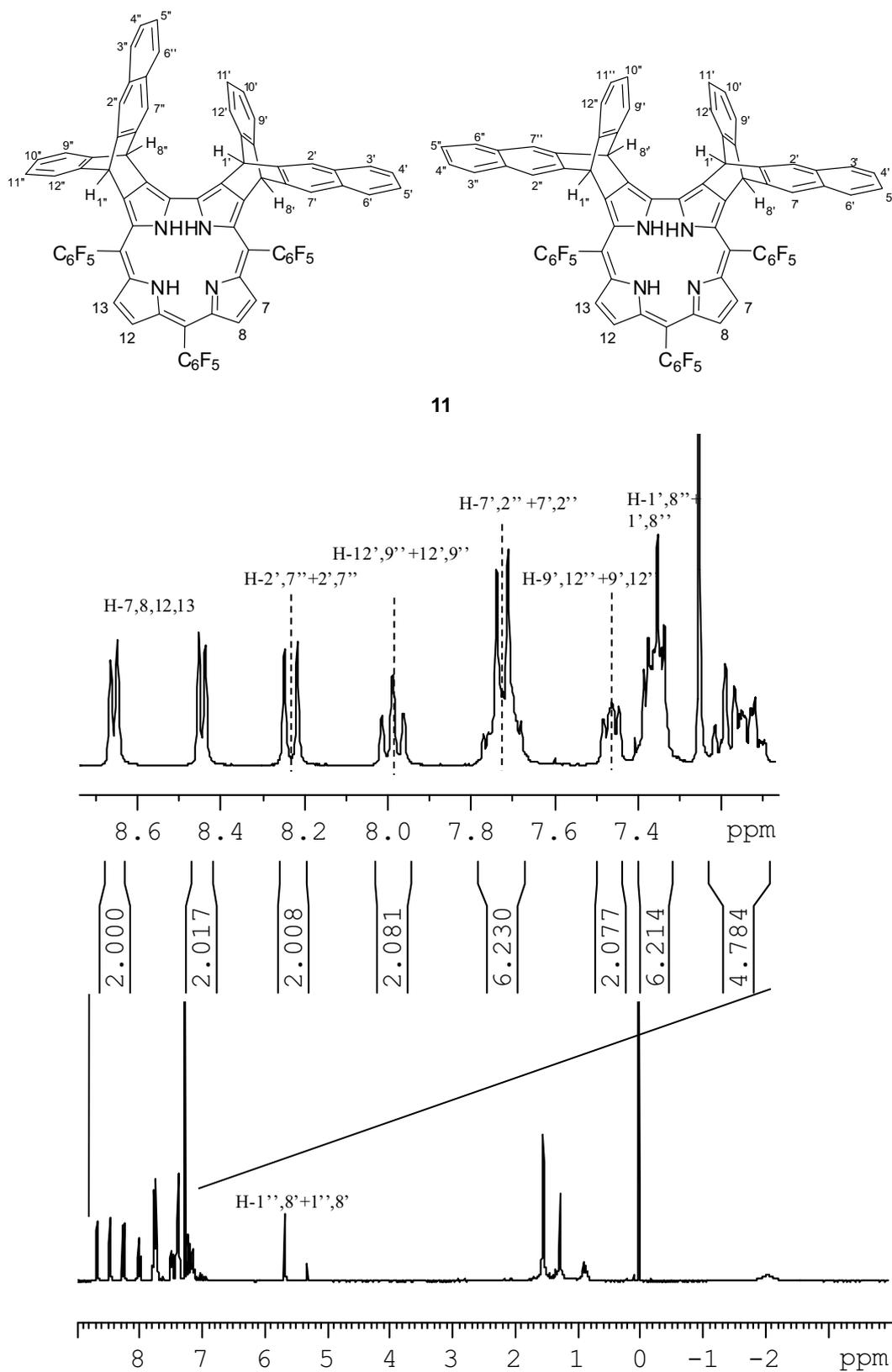
O espectro de RMN de ^1H do bis-aducto desidrogenado **10** apresentou elevada complexidade na zona aromática, não tendo sido possível a sua caracterização por ressonância magnética nuclear. No entanto, o seu espectro de massa apresentou o ião molecular a m/z 1204, confirmando a bis-adição.

A caracterização dos bis-aductos resultantes da reacção do corrol como tetraceno, não se mostrou de todo fácil, uma vez que, como já foi referido, ocorreu a formação de dois bis-aductos desidrogenados com R_f similares. De facto, analisando a bis-adição seguida de desidrogenação entre o corrol e duas moléculas de tetraceno, verifica-se que pode ocorrer a formação de dois produtos: um isómero *cis* com dois anéis naftalénicos (ou benzénicos) para cima do plano ou um isómero *trans* com um anel naftalénico (ou benzénico) para cima e outro para baixo do plano do corrol. A separação desta mistura foi tentada em HPLC, mas mesmo usando esta técnica não foi possível isolar cada bis-aducto. Assim, procedeu-se à elucidação estrutural da mistura **11**.

O espectro de RMN de ^1H da mistura **11** (Figura 8) permitiu rapidamente verificar que as reacções de cicloadição ocorreram nas posições 2, 3 e 17, 18 da unidade corrólica, uma vez que apenas apresentou dois dupletos a δ 8,66 e 8,44 ppm com uma constante de acoplamento de J 4,8 Hz. Este valor de J é típico dos prótons β -pirrólicos das posições 7, 8, 12 e 13 do corrol. Assim, aos dupletos δ 8,66 e 8,44 ppm foram atribuídas as ressonâncias dos prótons H-7,13 e H-8,12. Em analogia com o composto **6** os singletos a δ 5,654 e 5,648 ppm, foram identificados como pertencendo às ressonâncias dos prótons H-8', H-1'', H-8'' e H-1' e aos singletos a δ 7,36 ppm foram atribuídas as ressonâncias dos prótons H-

8'', H-1', H-8'' e H-1'. Como não foi possível isolar os dois compostos e visto a diferença das ressonâncias dos prótons aromáticos ser muito pequena, procedeu-se à identificação geral das ressonâncias dos prótons dos anéis naftalénicos e benzénicos dos dois isómeros. Aos singuletos a δ 8,25 e 8,22 ppm atribuíram-se as ressonâncias dos prótons H-2',7'', 2'', 7', aos dupletos a δ 8,00 e 7,97 ppm as dos prótons H-12',9'', 12'',9', aos singuletos a δ 7,74 e 7,72 ppm as dos prótons H-7',2'',7'',2' e aos dupletos a δ 7,48 e 7,47 ppm as dos prótons H-12'',9', 12',9''.

As ressonâncias dos prótons aromáticos nas posições 3',3'' e 6',6'' foram atribuídas ao multiplete a δ 7,77-7,68 ppm, as dos prótons nas posições 4',4'' e 5',5'' foram atribuídas ao multiplete a δ 7,41-7,34 ppm e as dos prótons 10',10'' e 11',11'' foram atribuídas ao multiplete a δ 7,22-7,10 ppm.

Figura 8 - Espectro de RMN de ¹H da mistura de bis-adtuctos **11**

A cicloadição de uma molécula de dieno aromático ao macrociclo corrólico não produziu grandes alterações nos espectros de absorção dos compostos obtidos. A título de exemplo, na Figura 9 está representado o espectro de absorção do composto **7** e do corrol **1**. Note-se que não existe conjugação entre o macrociclo corrólico e os anéis do tipo benzénico, razão pela qual ao comparar-se os espectros de visível do composto **7** com o espectro de visível do corrol não se observaram alterações significativas.

Como é típico dos macrociclos reduzidos, o espectro de absorção do aducto **5** apresentou uma banda de absorção a λ 701 nm. No entanto, a banda Soret mais larga que a banda Soret do corrol **1**, sofreu um desvio hipsocrómico apresentando-se a λ 392 nm.

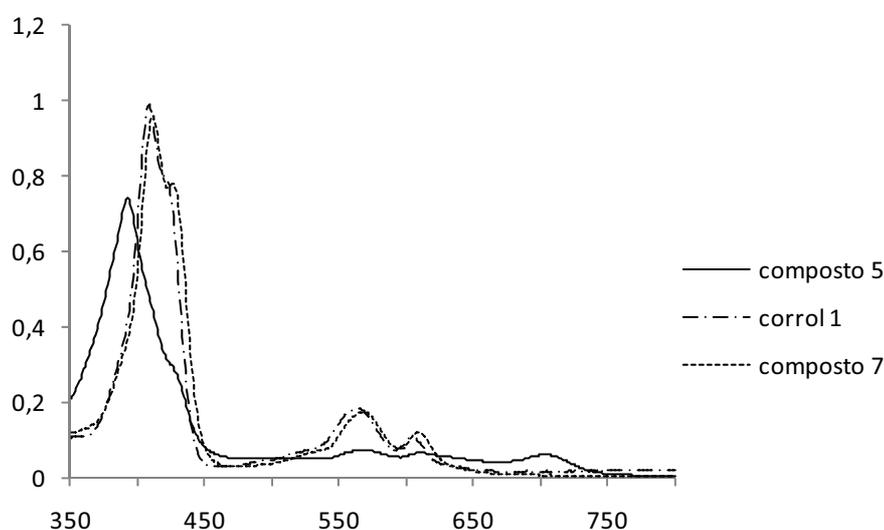


Figura 9 – Espectro de visível do corrol **1**, do composto **7** e do aducto **5**

2.1.5 Conclusões

Os resultados obtidos mostram que, nas condições utilizadas, todos os dienos aromáticos reagem com o corrol segundo reacções de cicloadição [4+2], mas apenas na presença de pentaceno, o corrol também reage segundo uma reacção de cicloadição [4+4].

Como é esperado, os rendimentos obtidos com os vários hidrocarbonetos aromáticos policíclicos diminuem consoante a reactividade do dieno utilizado.

Todos os compostos sintetizados apresentam os resíduos de benzeno ou naftaleno na unidade bipirrólica do corrol, o que significa que existe uma selectividade local nesta reacção.

Na reacção modelo corrol-pentaceno, efectuada sob radiação de microondas, o composto maioritário obtido é o aducto de Diels-Alder, não sendo assim o tempo da radiação de MW suficiente para provocar a oxidação do aducto.

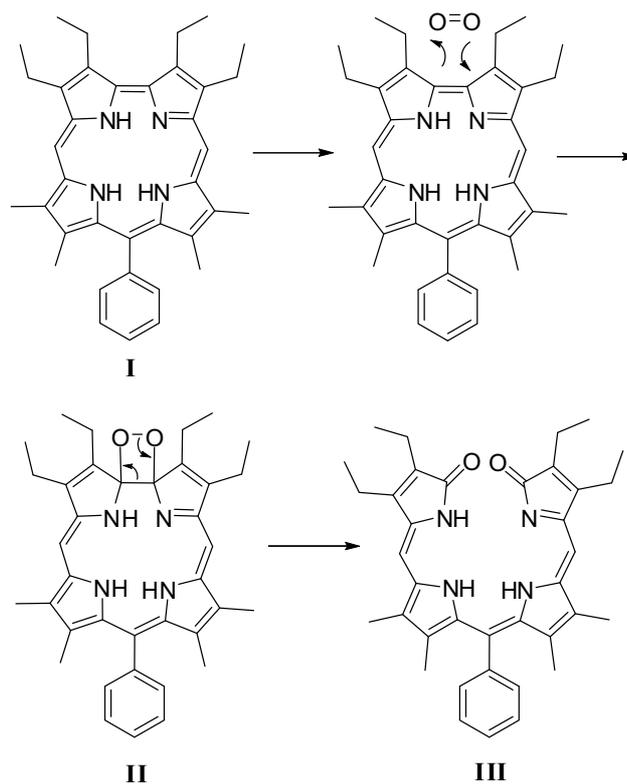
2.2 Transformações oxidativas

Nas reacções do corrol **1** com o fulereno e com os dienos aromáticos menos reactivos (antraceno e nafto[2,3a]pireno) foram isolados compostos, cujos espectros de massa sugeriram ser espécies diméricas, resultantes de acoplamento C-C entre duas unidades corrólicas. Por outro lado, durante a prática laboratorial verificou-se que o mesmo corrol em solução se começava a “decompor” ao fim de algum tempo, em compostos, cujos espectros de massa também sugeriram ser espécies diméricas.

Estes dados indicaram que a estabilidade do corrol **1** merecia ser investigada, tanto sob aquecimento como sob a acção da luz.

Sabe-se que os corróis livres, na presença de ar e luz são pouco estáveis em solução. A primeira referência a esta foto-instabilidade surgiu em 1998, tendo-se verificado que o 2,3,17,18-tetraetil-10-fenil-7,8,12,13-tetrametilcorrol **I** em diclorometano, na presença de ar e luz, é lentamente convertido num derivado de cadeia aberta do tipo biliverdina **III**¹⁶ (Esquema 13).

O mecanismo proposto para esta transformação consiste numa reacção de cicloadição [2+2] com o oxigénio, originando o intermediário dioxetano **II**, o qual, com a consequente abertura do anel (Esquema 13) leva à formação de **III**.



Esquema 13

O mesmo mecanismo foi sugerido por Paollesse e colaboradores¹⁷ para justificar a formação da díade porfirina-biliverdina **IV** (Figura 10), a partir de uma solução da correspondente díade porfirina-corról em diclorometano. Neste caso, foram analisados os espectros de absorção e de luminescência da solução da díade porfirina-corról, e verificaram-se mudanças significativas, após 15 minutos de exposição à luz ambiente. No espectro de absorção, a banda Q atribuída à sub-unidade corrólica da díade desapareceu, e o espectro de luminescência, apenas evidenciou emissões características do núcleo porfirínico. Estes resultados indicaram a ocorrência de uma reacção fotoinduzida apenas na sub-unidade corrólica da díade.

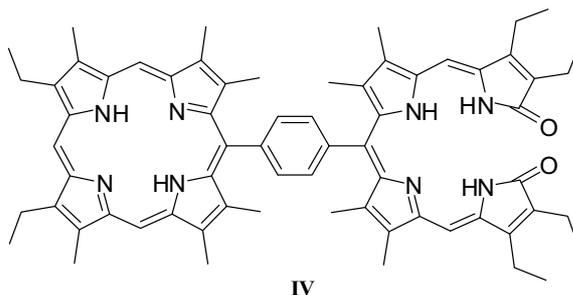
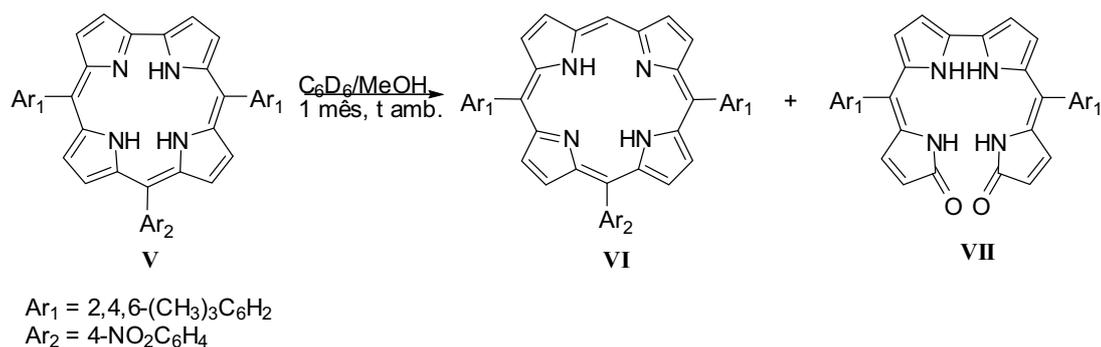


Figura 10 – Díade porfirina-biliverdina **IV**

Estes exemplos referem-se a corróis beta alquilados e a partir de 2004, surgem os primeiros estudos de estabilidade envolvendo *meso*-arilcorróis, nomeadamente o 5,10,15-trifenilcorrol e o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol.^{18,19} Os estudos foram realizados por espectrofotometria de UV-vis, observando o decréscimo das bandas Soret dos *meso*-arilcorróis em análise, após 5 horas de exposição à luz e ao ar. Neste caso, verificaram que o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol em diclorometano e tolueno era mais estável que os outros corróis, mas também sofria alguma decomposição quando deixado em solução e à luz. No entanto, não foram identificados os correspondentes produtos de decomposição. Estes estudos mostraram ser consistentes com a literatura, que descreve que os corróis com grupos substituintes sacadores de electrões são mais estáveis.^{20,21}

Outro estudo importante foi efectuado em 2006, com o 10-(4-nitrofenil)-5,15-bis[2,4,6-tris(metilfenil)]corrol **V**,²² onde se verificou que este corrol em MeOH/C₆D₆, na presença de ar e à temperatura ambiente, era convertido lentamente (30 dias) na correspondente *trans*-A₂BC-porfirina **VI** (Esquema 14). A reacção foi ainda acelerada após iluminação directa e produziu a porfirina com um rendimento de 19%, em 2 dias. Foi o primeiro exemplo publicado de conversão de corrol em porfirina.

Para além da porfirina como produto da reacção, isolou-se ainda um derivado de cadeia aberta **VII**, cuja estrutura é bastante similar à do composto obtido na fotodecomposição de corróis β-alquilados. No entanto, este produto de cadeia aberta tinha menos um carbono e um grupo arilo que os já descritos. O mecanismo proposto, para esta conversão de corrol a porfirina, sugere que esteja envolvida uma reacção de cicloadição [2+2] obtendo-se um intermediário *spiro*, que é facilmente oxidado originando a porfirina **VI** e o produto de cadeia aberta **VII** (Esquema 14).

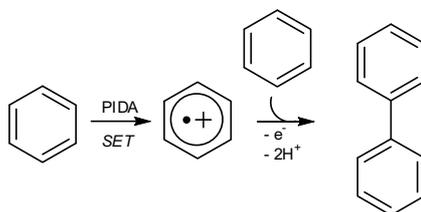


Esquema 14

Tendo em conta os resultados preliminares obtidos nas reacções sob aquecimento propôs-se ainda estudar a formação de compostos diméricos, sob acção de um agente oxidante.

O acoplamento oxidativo de compostos aromáticos *via* transferência de electrões de arenos é um método eficiente e directo para sintetizar compostos de tipo biarilo. Existem vários reagentes que podem ser utilizados no acoplamento oxidativo como metais pesados, no entanto, o uso de reagentes de iodo(III) hipervalente é uma alternativa menos tóxica e mais barata.²³

Os reagentes de iodo(III) hipervalentes como o diacetato de iodobenzeno (PIDA) e o di(trifluoroacetato) de iodobenzeno (PIFA) têm sido usados para o acoplamento oxidativo de compostos aromáticos como: porfirinas,²⁴ benzo[*c*]fenantridinas²⁵ entre outros. Estes promotores de radicais são usados para a síntese de compostos bi-aromáticos através da geração do correspondente catião radical arílico *via* um mecanismo SET (Single Electron Transfer) (Esquema 15).²⁶



Esquema 15

De seguida, descrever-se-ão os resultados obtidos da avaliação da estabilidade do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol sob condições térmicas, sob a acção da luz e na presença de um agente promotor de radicais.

2.2.1 Transformações oxidativas de *meso*-arilcorróis em condições térmicas

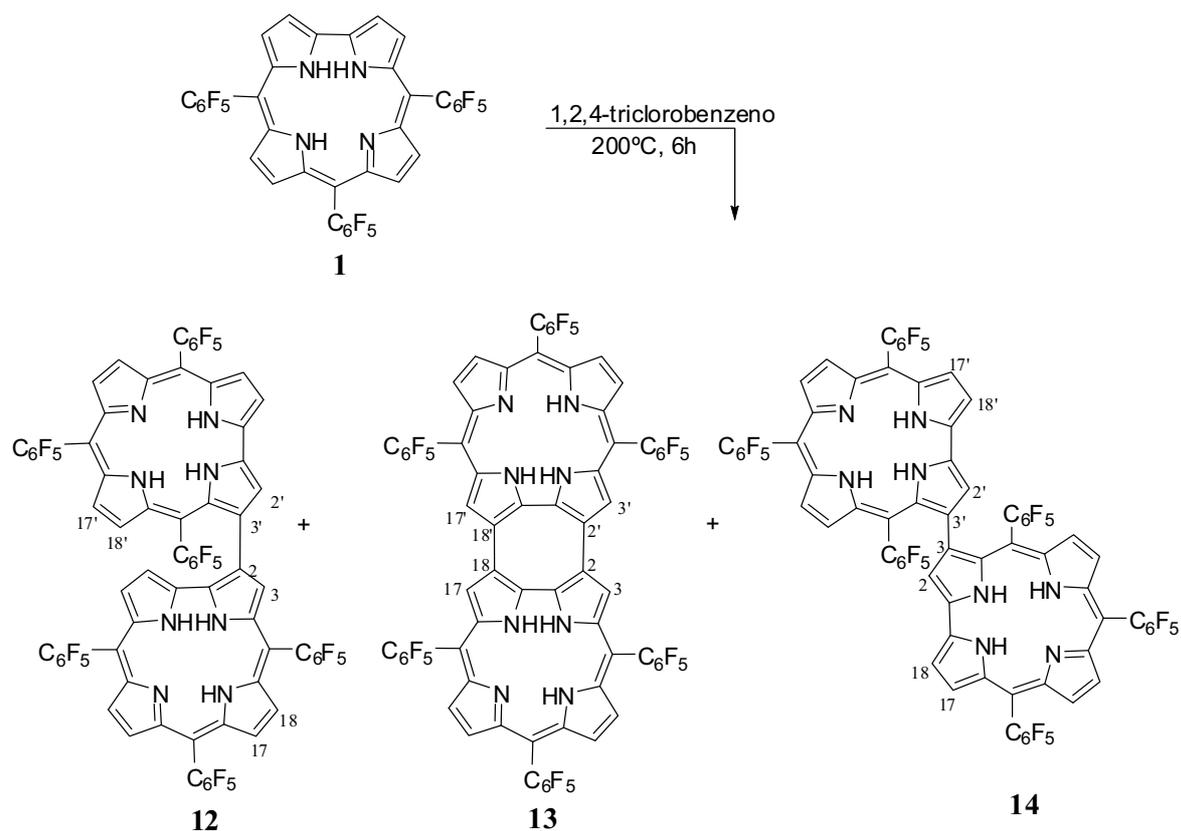
O estudo da estabilidade do corrol **1** em condições térmicas foi iniciado, usando as condições experimentais referidas nos estudos com dienos aromáticos, mas agora na ausência destes.

Assim, uma solução de corrol **1** (20 mg) em 1,2,4-triclorobenzeno (0,3 mL) foi mantida sob agitação, a 200°C durante 6 h. Após o término da reacção, o TLC de controlo revelou para além de corrol de partida, três novos produtos. A mistura reaccional foi sujeita a cromatografia em coluna, a fim de retirar o TCB e separar o corrol não consumido (52%) dos novos compostos formados. Estes foram posteriormente purificados por cromatografia preparativa de camada fina e identificados por ordem decrescente de R_f como sendo os derivados **12** (7%), **13** (11%) e **14** (2%) (Esquema 16).²⁷

O espectro de massa do composto de maior R_f apresentou o ião molecular a m/z 1590 correspondente a duas unidades corrólicas menos dois Th. O espectro de RMN de ^1H apresentou vários sinais aromáticos evidenciando um composto assimétrico. Estudos de RMN bidimensionais e a presença de dois singuletos a δ 9,57 e 8,49 ppm, permitiram atribuir a este composto a estrutura **12**.

O composto de R_f intermédio apresentou o ião molecular a m/z 1588 correspondente à massa de **12** menos dois Th, evidenciando um dímero corrólico num maior estado de oxidação. O seu espectro de RMN bastante simples, mostrou apenas dois dupletos um a δ 8,66 ppm e outro a δ 8,49 ppm e ainda um singuleto a δ 8,92 ppm. Este perfil sugeriu um composto com elevado grau de simetria, tendo-lhe sido atribuída a estrutura **13**.

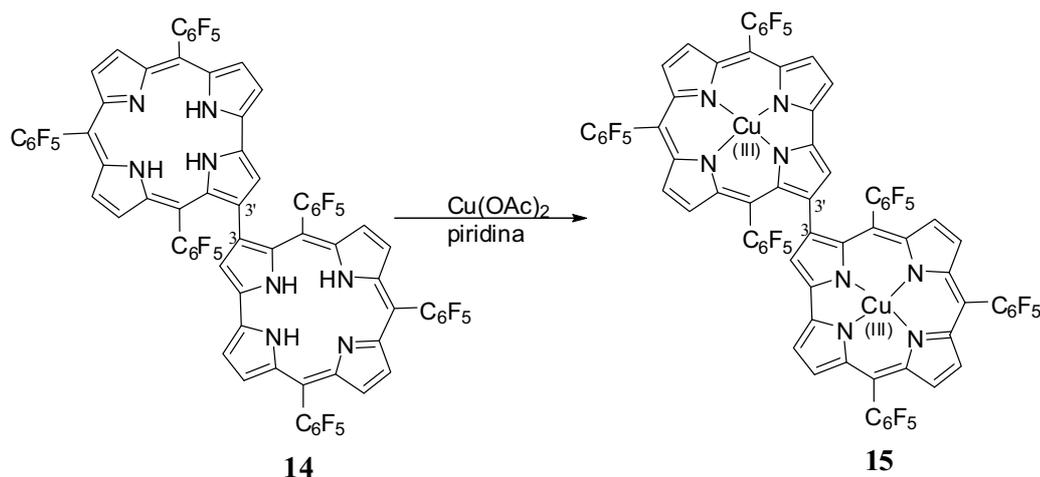
O espectro de RMN do composto menos abundante e com menor R_f apresentou sete sinais na zona aromática seis dupletos e um singuleto a δ 9,12 ppm, evidenciando também um composto simétrico. Os dados espectroscópicos obtidos permitiram atribuir-lhe a estrutura **14**.



Esquema 16

Os resultados obtidos evidenciam um novo método oxidativo e rápido para a obtenção de novos dímeros corrólicos. De modo a provar a utilidade prática desta dimerização oxidativa, efectuou-se a mesma reacção numa escala 10 vezes superior. Desta forma, uma solução de corrol (200 mg) em 1,2,4-triclorobenzeno (2 mL) foi aquecida a 200°C, durante 24 horas, sob atmosfera de azoto. Após separação por cromatografia em coluna, os rendimentos dos produtos obtidos foram de 10% para o dímero **12**, 18% para o dímero **13** e 3% para o dímero **14**. Foi recuperado 32% de corrol **1**.

Analizando as estruturas diméricas obtidas, verificou-se que os complexos de cobalto²⁸ e cobre²⁹ do dímero **14** já haviam sido reportados na literatura. De forma a confirmar a estrutura do dímero **14**, procedeu-se à complexação do dímero com acetato de cobre(II) em piridina, à temperatura ambiente (Esquema 17). Os espectros de massa e RMN de ¹H do complexo formado **15** são consistentes com os dados reportados na literatura, permitindo concluir que se tratava do mesmo dímero.



Esquema 17

Pela elucidação estrutural dos compostos obtidos nesta reacção, verificou-se que, efectivamente, os dímeros formados não eram aductos provenientes da reacção de cicloadição de Diels-Alder, em que o corrol se comporta simultaneamente como componentes 2π e 4π , mas sim de dímeros resultantes de um acoplamento C-C (compostos **12** e **14**). O mecanismo de formação destes dímeros ainda está por confirmar, mas provavelmente envolve a formação de radicais. No entanto, a formação do dímero **13** sugere um mecanismo do tipo [4+4] em que duas unidades corrólicas actuam como componentes 4π . Como alternativa, este derivado poderá formar-se, a partir do dímero ligado pelas posições C-2 e C-2', que no entanto não foi isolado. Uma das evidências para esta última sugestão, surge da síntese do dímero C-2,2' por acoplamento oxidativo de duas unidades de derivado borilado, que por oxidação origina o dímero **14** (ver introdução).³⁰

De forma a avaliar o efeito dos substituintes nas posições *meso*, decidiu-se estudar a reacção de dimerização com corróis com diferentes grupos arilo, nomeadamente, com o 5,10,15-tris[3,5-bis(trifluorometil)fenil]corrol **16**, o 5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol **17**, o 5,10,15-tris(4-metilfenil)corrol **18** e o 5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol **19** (Figura 11).

As sínteses dos três primeiros corróis **16**, **17** e **18** foram efectuadas segundo as condições de Gryko.³¹ O corrol 5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol foi sintetizado a partir de uma solução de corrol **1** em DMSO na presença de excesso de

metanol e carbonato de potássio. A mistura reaccional permaneceu em refluxo durante 2 dias, tendo-se procedido a duas adições de metanol seco e de carbonato de potássio.

Após o término da reacção o TLC controlo não evidenciou corrol **1** de partida, revelando a presença de um composto maioritário. Após a separação cromatográfica o composto foi identificado como sendo o corrol pretendido tri-substituído **19** obtido com um rendimento de 87%.

As reacções de dimerização foram efectuadas segundo as condições reaccionais descritas para a dimerização do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol.

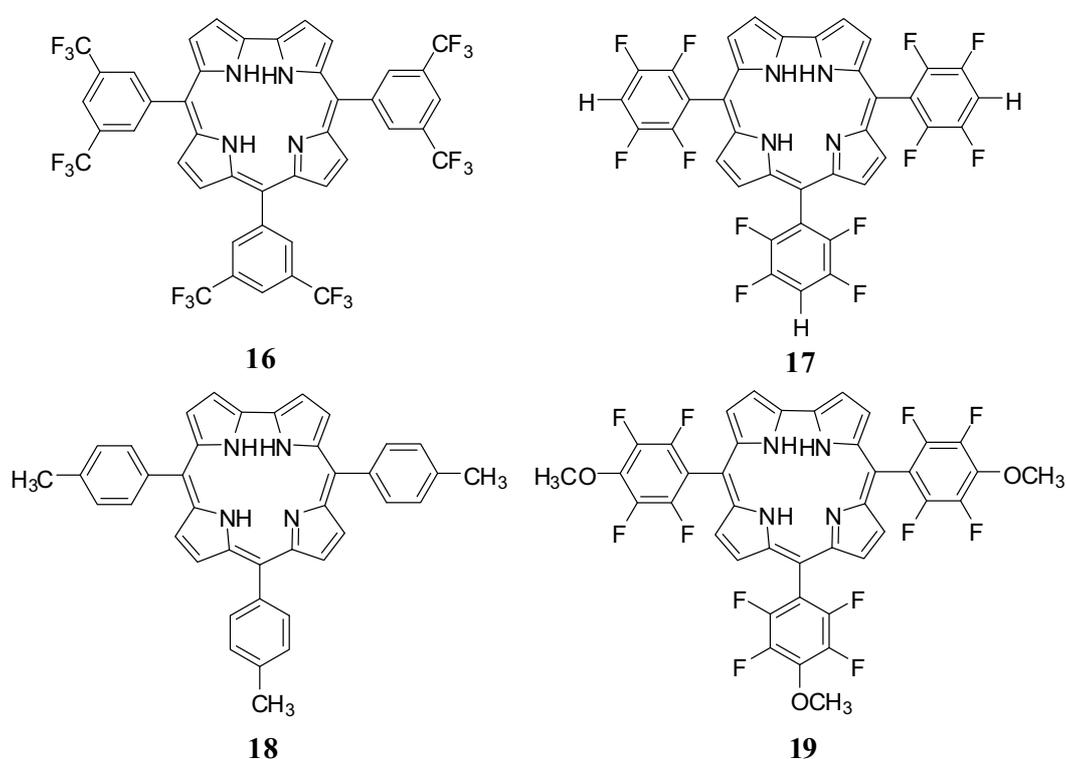
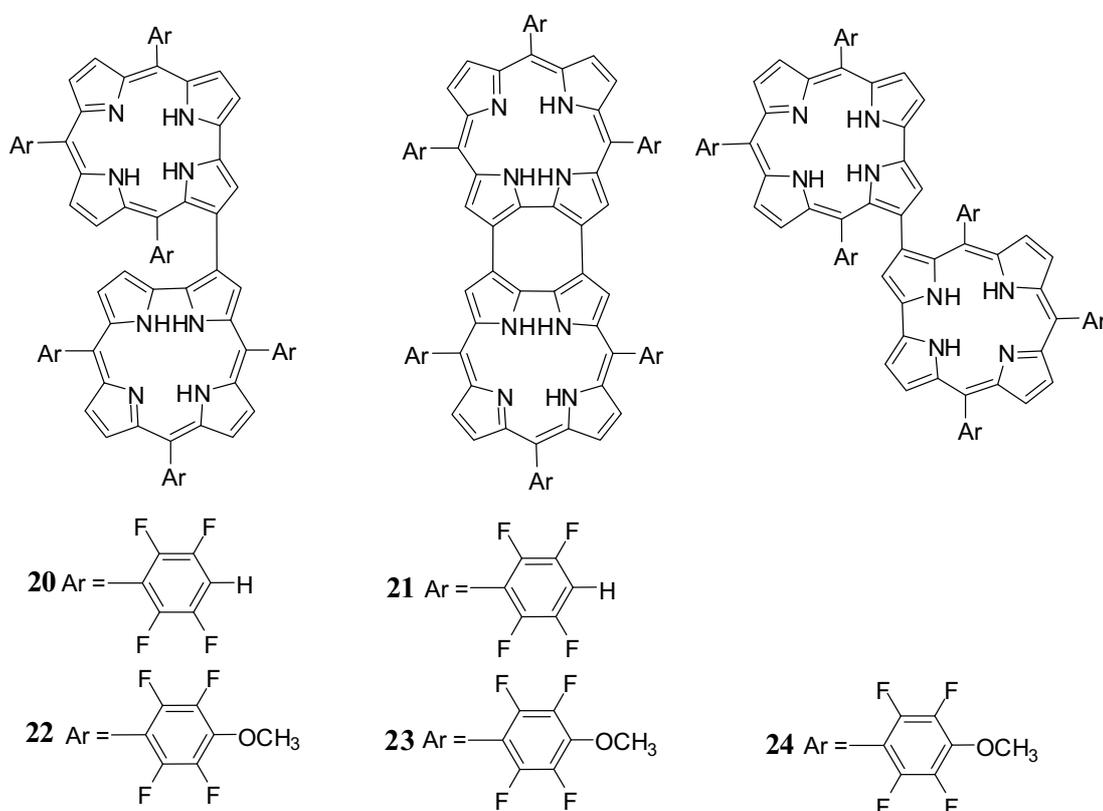


Figura 11 – Estruturas dos *meso*-arilcorróis sintetizados

No caso do 5,10,15-tris[3,5-bis(trifluorometil)fenil]corrol **16**, após seis horas de aquecimento a 200°C, o TLC da mistura reaccional não revelou a formação dos dímeros esperados, detectando-se apenas corrol de partida (60%) e produtos de decomposição na base do TLC. Com o 5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol recuperou-se 52% do material de partida e os dímeros correspondentes **20** e **21** foram obtidos apenas em quantidades vestigiais e foram identificados por espectrometria de massa.

No caso do 5,10,15-tris(4-metilfenil)corrol **18** o TLC de controlo da mistura reaccional revelou, após seis horas de aquecimento, apenas compostos de degradação na base do TLC.

Na reacção de dimerização do corrol **19**, após as seis horas de reacção, o TLC de controlo da mistura reaccional, revelou material de partida, três novos produtos maioritários e vários compostos em quantidade vestigial. Depois da separação e purificação dos compostos da mistura reaccional, onde se recolheu uma pequena quantidade de corrol de partida (3%), os produtos maioritários isolados foram identificados como sendo os dímeros pretendidos **22**, **23** e **24** com rendimentos de 11%, 5% e 4%, respectivamente (Esquema 18).



Esquema 18

Como já foi referido, o mecanismo de formação dos dímeros ainda está por confirmar, mas provavelmente envolverá a formação de radicais. De forma a verificar esta hipótese, efectuou-se a reacção com o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de um captador de radicais.

É sabido que o 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-*N*-oxilo (TEMPO) é um captador de radicais selectivo e reactivo perante outros radicais e dependendo da quantidade de TEMPO que se utilize, a reacção radicalar pode ser travada na totalidade³² ou parcialmente obtendo-se aductos com TEMPO³³.

Assim, foram efectuados vários ensaios com o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol e TEMPO (0,5 -1equiv.), a 200°C, durante 5 horas. Em nenhum dos ensaios efectuados a reacção foi travada na totalidade observando-se sempre a formação dos dímeros. A formação do aducto corrol-TEMPO também não foi observada. Quando se usou um maior nº de equiv. de TEMPO observou-se a formação de vários compostos originando uma mistura bastante complexa e de difícil separação. Infelizmente, este estudo não nos permitiu tirar uma conclusão concreta, sobre o possível mecanismo radicalar envolvido nas reacções de dimerização.

2.2.2 Transformações oxidativas de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de luz

Os estudos de estabilidade do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de luz foram realizados em clorofórmio, clorofórmio deuterado, diclorometano e tolueno. As reacções de fotoestabilidade foram efectuadas mantendo uma solução de corrol (20 mg em 2 mL de solvente) à temperatura ambiente, sob agitação e na presença de luz solar. Todas as reacções foram monitorizadas por TLC e no caso do clorofórmio deuterado, também por RMN de ¹H.

Após oito dias, o TLC das misturas reaccionais revelou a formação de um composto maioritário com um R_f inferior ao do corrol de partida, quantidades vestigiais de vários compostos e ainda algum material na base do TLC. Quando se usou o tolueno como solvente, foi apenas detectado um composto maioritário.

De forma a aumentar a quantidade dos novos produtos, as reacções foram mantidas sob agitação e expostas à luz solar durante 30 dias.

Na Figura 12 pode-se verificar a evolução da reacção por RMN de ¹H. Ao fim de oito dias de reacção, observou-se o aparecimento de um novo duplete a δ 9,16 ppm, que

foi aumentando com o decorrer da reacção. Note-se, que ao fim de 30 dias, observaram-se para além do referido duplete, o aparecimento de outros sinais entre δ 8,76-8,29 ppm.

Após o término das reacções, os compostos das misturas reaccionais foram separados por cromatografia preparativa usando como eluente uma mistura de éter de petróleo/diclorometano. Em todas as reacções foi isolado um único composto maioritário que foi identificado como sendo o dímero **14**, em que as unidades corrólicas estão ligadas pelas posições 3,3'. Nas reacções que ocorreram em diclorometano e clorofórmio, foi ainda isolado um composto minoritário que foi identificado, com base nos espectros de massa e RMN de ^1H , como sendo o composto **25**, um trímero constituído por três unidades corrólicas ligadas entre si pelos carbonos 3 (Esquema 19).

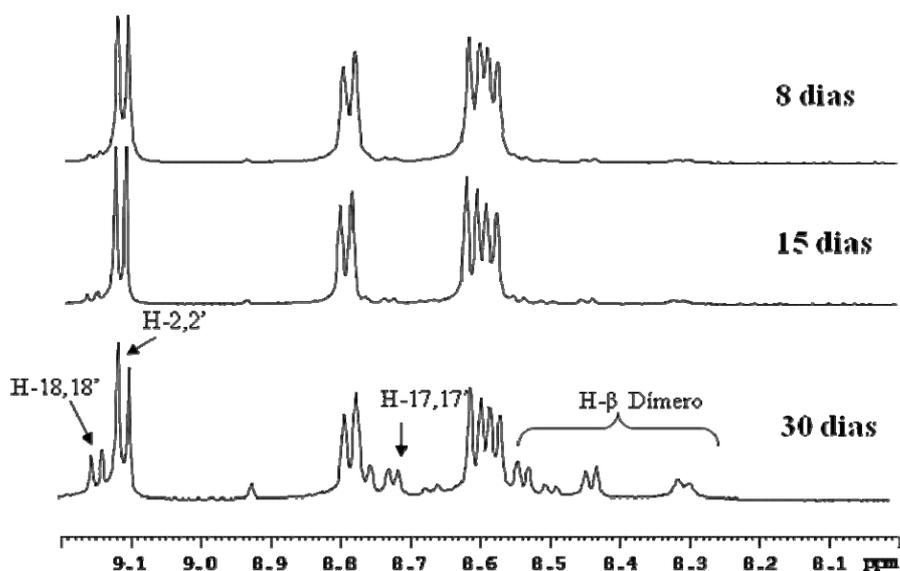
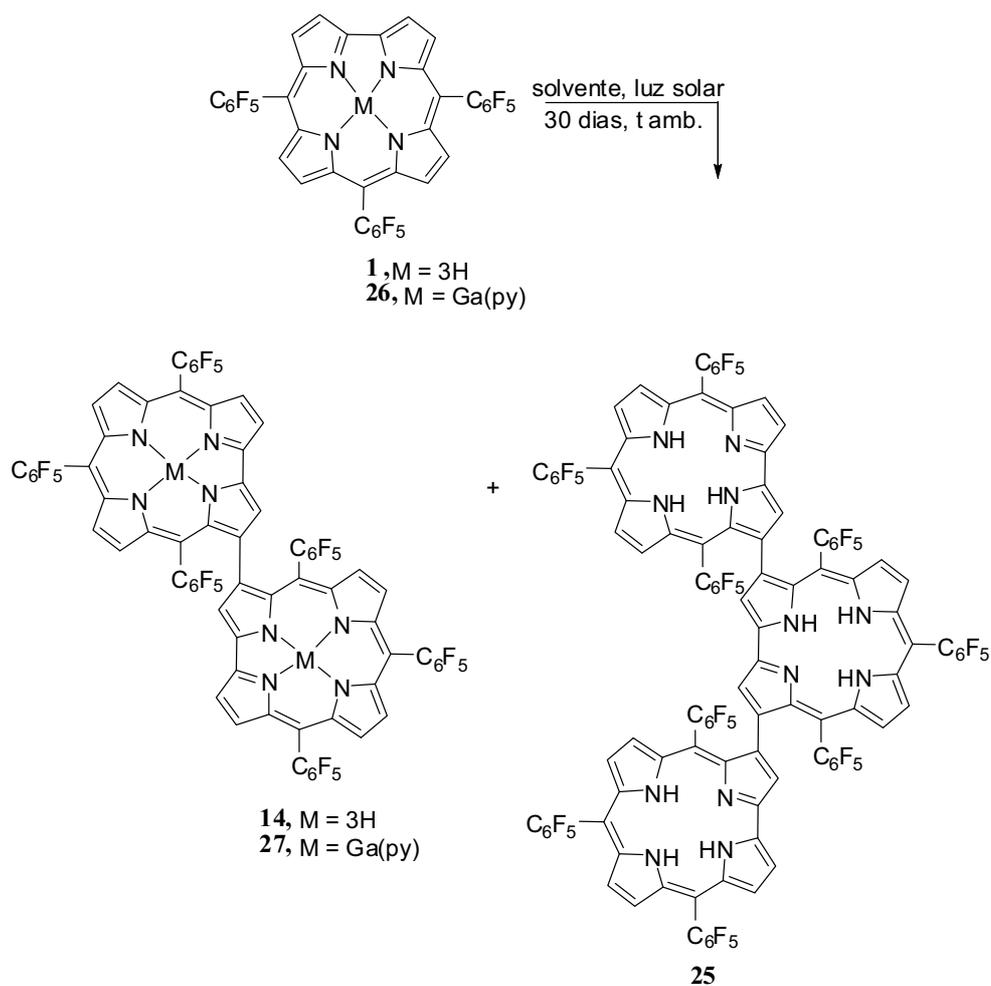


Figura 12 – Espectros parciais de RMN de ^1H da mistura reaccional

Note-se que nesta reacção não se verificou a formação dos dímeros **12** e **13**.



Esquema 19

Nas reacções em que se utilizaram solventes halogenados, isolaram-se ainda quantidades vestigiais de outros compostos, cujos espectros de massa sugeriram ser espécies diméricas (m/z 1590) e ainda um composto azul minoritário <1%. No entanto, embora haja evidências de que se trata de um composto aberto, os estudos espectroscópicos efectuados não permitiram chegar à estrutura do composto.

Os rendimentos dos compostos obtidos, nas reacções de exposição à luz de soluções de corrol **1** em vários solventes, durante 30 dias, encontram-se sumariados na Tabela 4.

Tabela 4 – Rendimentos dos produtos obtidos nas reacções de exposição à luz de soluções de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol durante 30 dias, em vários solventes.

Entrada	Solvente	Corrol 1 (%)	Dímero 14 (%)	Trímero 25 (%)
1	CHCl ₃	35	28	4
2	CHCl ₃ , 500W	47	18	1
3	CH ₂ Cl ₂	50	15	1
4	C ₆ H ₅ CH ₃	90	10	-----

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram que o corrol **1** é muito mais estável em tolueno do que em solventes halogenados, tendo-se recuperado 90% de corrol de partida e isolado apenas 10% do dímero **14** (entrada 4). Nos outros solventes recuperou-se metade ou menos do corrol de partida e comparando a estabilidade do corrol **1** nos dois solventes halogenados (entradas 1 e 3) é evidente que o corrol **1** é menos estável em clorofórmio.

A estabilidade sob luz artificial (500W, luz branca) do corrol **1** em clorofórmio também foi avaliada (entrada 2). Após 30 dias de irradiação (cerca de 8 h por dia) mais de metade do corrol de partida foi consumido e o dímero **14** foi isolado com 18% de rendimento.

Com o objectivo de comparar a extensão da fotoestabilidade do corrol livre com a de um corrol complexado, também se averiguou a fotoestabilidade do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III) **26** em clorofórmio deuterado. Este complexo foi seleccionado por ser considerado o protótipo de metalocorróis.³⁴

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III) foi preparado de forma quantitativa por reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com GaCl₃ em piridina seca, a refluxo, seguindo o procedimento já descrito na literatura.³⁵

Assim, uma solução de corrolato de gálio em clorofórmio deuterado (a fim de se monitorizar a reacção por RMN de ¹H) foi colocada sob agitação, na presença de ar e luz solar, durante 30 dias. O TLC de controlo da mistura reaccional revelou que apenas se tinha formado um composto maioritário e que praticamente todo o corrol de partida tinha sido consumido. Também, neste caso, o composto maioritário recorrendo às técnicas espectroscópicas foi identificado como sendo o dímero **27**, constituído por duas unidades

de corrolato de gálio ligadas entre si pelas posições 3, 3' (Esquema 19). Este dímero foi obtido com um rendimento de 54%.

De forma a compreender o mecanismo da reacção e de que forma os seus componentes (luz, oxigénio, solvente), influenciam a reacção, procedeu-se ainda a alguns estudos adicionais. Desta forma, propôs-se realizar a reacção em condições ácidas, na ausência de luz e em atmosfera inerte.

Note-se que nesta reacção pode estar envolvido um de dois mecanismos: um mecanismo radicalar (presença de luz) ou um via iónica, induzido pela formação *in situ* de HCl, a partir da decomposição radicalar de solventes halogenados.

Considerando a hipótese de se tratar de um mecanismo iónico, colocou-se a reagir uma solução de corrol em clorofórmio com TFA na presença de luz e um controlo que consistia apenas numa solução de corrol em clorofórmio. A reacção foi efectuada durante 5 dias sob a radiação de um projector de 500 W e foi controlada por TLC. Ao fim de 5 dias, o TLC da reacção com TFA não apresentava dímero ao contrário do do controlo. Assim pode-se concluir que nesta reacção não está patente um mecanismo iónico.

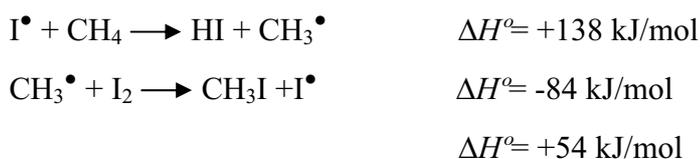
Para confirmar a importância da luz no processo de dimerização, a reacção decorreu, sob as mesmas condições reaccionais, mas no escuro. Neste caso e após 15 dias em escuridão, o TLC controlo revelou que o único composto presente na mistura reaccional era o corrol **1**.

Este resultado indicou que a luz tem um papel importante nesta reacção e que com maior certeza se pode afirmar que a reacção segue um mecanismo radicalar.

A reacção foi ainda considerada em atmosfera de azoto de forma a avaliar a participação do oxigénio na reacção. A reacção foi realizada em clorofórmio, e exposta à luz de uma lâmpada de tungsténio de 500 W, 9 horas por dia, durante 30 dias, num total de 270 h, sob a atmosfera de azoto purificado. O dímero **14** foi obtido com um rendimento de 11%, inferior ao da reacção efectuada na presença de ar. O trímero foi isolado com rendimento de 2%.

Estes dados permitem concluir que o oxigénio tem influência na reacção de fotodecomposição do corrol.

De modo a confirmar o mecanismo radicalar da reacção, efectuou-se ainda a reacção na presença de iodo molecular.³⁶ É conhecido que nas reacções de iodação radicalar, a remoção de átomos de hidrogénio pelo radical iodo é bastante desfavorável. A energia libertada no segundo passo não é suficiente para que todo o processo seja favorável. (No Esquema 20 apresentam-se os valores da variação de entalpia na reacção do iodo com metano).³⁷



Esquema 20

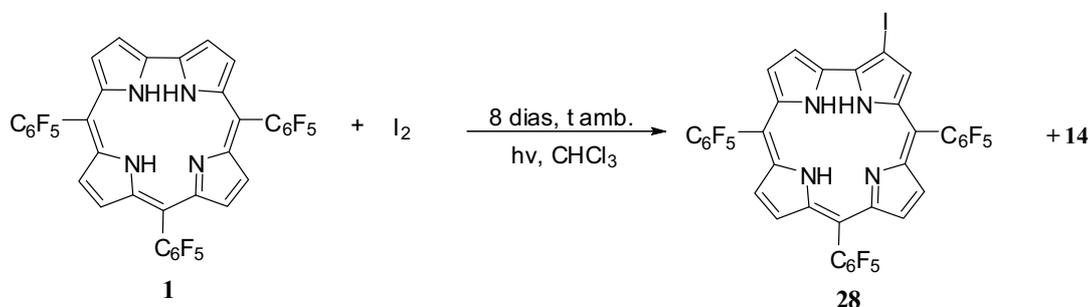
Assim, só na presença de radicais previamente formados é que as reacções de iodação radicalares poderão ocorrer.

Tendo em conta o já estabelecido, efectuou-se a reacção de dimerização do corrol na presença de iodo sob a acção da luz, à temperatura ambiente. Nestas condições após 8 dias de irradiação com lâmpada de tungsténio (cerca de 9h por dia), o TLC controlo revelou a formação de um composto maioritário roxo com R_f ligeiramente superior ao do corrol **1**, um composto verde minoritário e o dímero **14**. Embora ainda permanecesse corrol **1** por reagir, optou-se por terminar a reacção.

Os compostos foram separados por cromatografia preparativa e efectuados os seus espectros de RMN de ^1H e massa. O corrol **1** foi recuperado com 25% de rendimento e o dímero **14** foi obtido com um rendimento de 3%.

O composto com R_f superior ao do corrol evidenciou o ião molecular a m/z 922 a que corresponde um corrol substituído com um átomo de iodo. O espectro de RMN de ^1H apresentou sete sinais relativos a sete protões β -pirrólicos não equivalentes, dos quais se destacaram um duplete e um singuleto que, conjuntamente com o espectro de NOESY permitiram identificar que o átomo de iodo se encontrava na posição 2 do macrociclo corrólico, atribuindo-lhe assim a estrutura **28** (Esquema 21). Este novo derivado foi obtido com um rendimento de 29%.

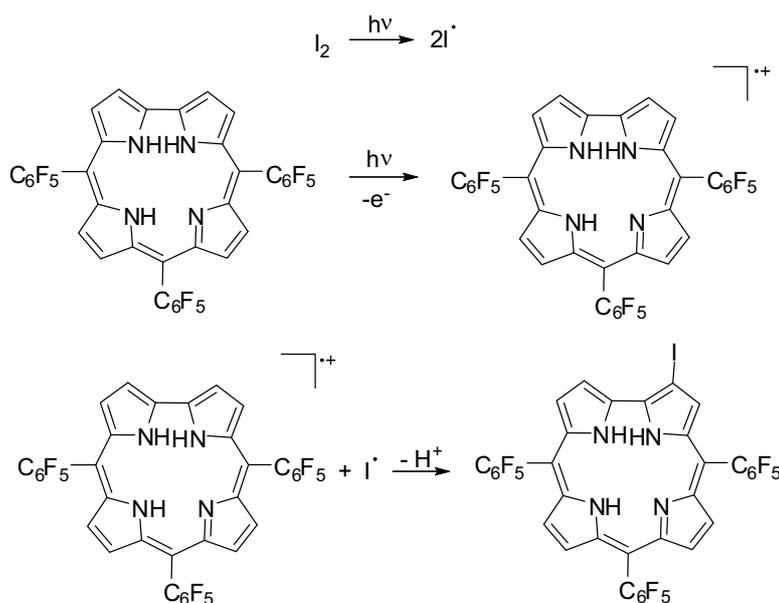
O composto verde com R_f superior ao do dímero **14** apresentou o íon molecular a m/z 1726 que corresponde à massa de um dímero corrol-corrol substituído com dois átomos de iodo. No entanto, a pouca quantidade obtida não permitiu a sua elucidação estrutural por RMN.



Esquema 21

Esta reacção foi ainda efectuada na ausência de luz, de modo a verificar que na reacção está realmente envolvido um processo radicalar. Ao fim de 72 horas na ausência de luz, sob agitação, o TLC controla apenas evidenciou a presença de corrol de partida.

Com a formação do composto **28**, cuja proposta mecanística se apresenta no Esquema 22, ficou provado que nas reacções de dimerização na presença de luz está envolvido um mecanismo radicalar.



Esquema 22

2.2.3 Transformações oxidativas de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de PIDA

Para o estudo do comportamento do corrol **1** na presença de um promotor de radicais seleccionou-se o diacetato de iodobenzeno (PIDA) reconhecido, como já foi referido, como bastante eficiente para o acoplamento oxidativo de compostos aromáticos.

Estes estudos foram iniciados em clorofórmio e na presença de 1 equivalente de PIDA. A mistura reaccional permaneceu, sob agitação, a 25°C, durante 4 horas, ao fim, das quais o TLC de controlo revelou a formação de vários compostos, incluindo a do dímero **14**. No entanto, como a mistura reaccional se mostrou bastante complexa para posterior purificação, optou-se por diminuir o tempo de reacção.

Assim, mantendo as mesmas condições reaccionais, a reacção foi controlada por TLC ao fim de uma hora, que revelou a presença de corrol de partida, a formação de três novos compostos maioritários e vários compostos minoritários. Optou-se por terminar a reacção nestas condições e proceder à separação e purificação dos compostos obtidos. Nestas condições isolou-se 28% de corrol de partida e conseguiu-se identificar os dois compostos mais polares (Esquema 23).

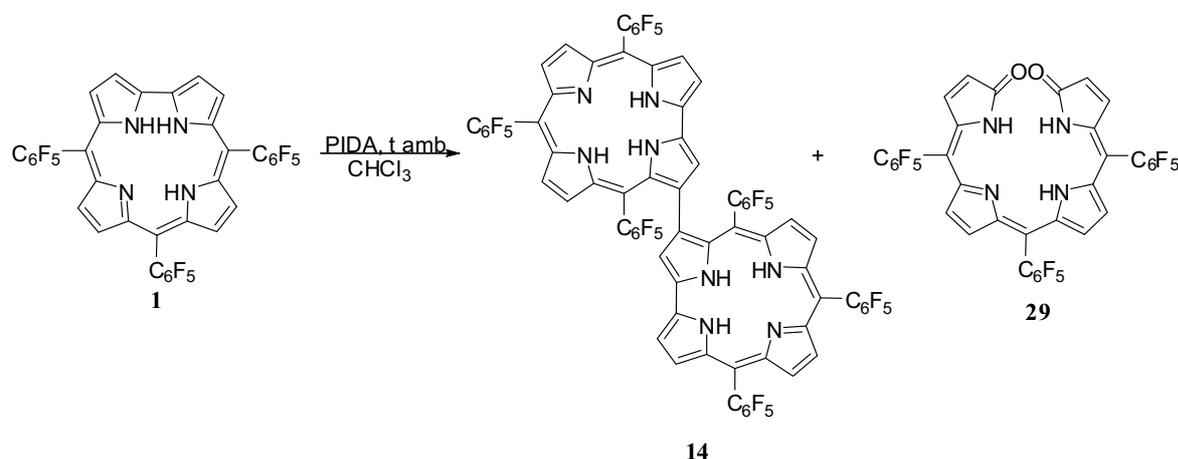
O espectro de massa do composto de maior R_f revelou ser uma mistura apresentando dois sinais a m/z 1590 e m/z 2384, sugerindo a formação de um dímero e de um trímero. No entanto, a separação da mistura não foi conseguida, não tendo sido possível identificar e caracterizar estes compostos por RMN.

O terceiro composto provou ser por espectrometria de massa e por RMN, o já referido dímero **14** e foi isolado com rendimento de 12%.

O espectro de massa do composto mais polar de cor azul apresentou o ião molecular a m/z 828, sugerindo a adição de uma molécula de oxigénio ao corrol **1**. O espectro de RMN de ^1H apresentou quatro dupletos entre δ 6,88 e 6,32 ppm relativos à ressonância dos prótons β -pirrólicos e um singuleto largo a δ 8,26 ppm relativo à ressonância de um próton NH sugerindo estar-se na presença de um composto aberto. A análise do espectro de RMN de ^1H , assim como estudos de RMN bidimensionais confirmaram a estrutura **29** do tipo biliverdina; este composto foi isolado com rendimento de 9%.

Procurou-se ainda testar outras condições, nomeadamente diminuir o número de equivalentes de PIDA. A reacção foi realizada com 0,5 equiv. de PIDA, durante 1 hora a

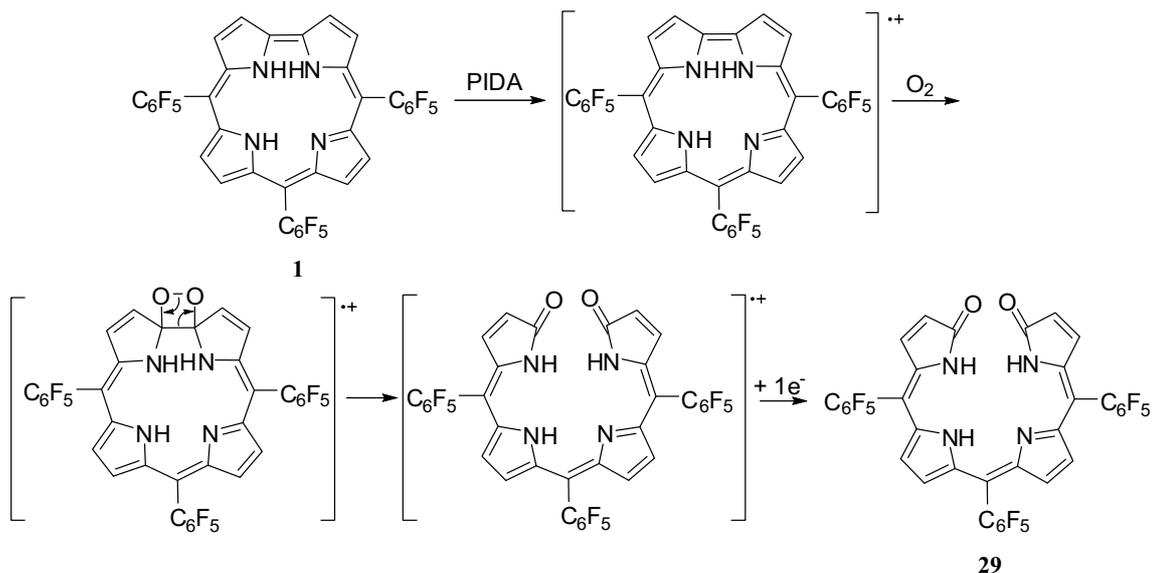
25°C. Neste caso, o rendimento do dímero **14** não se alterou (12%), embora se tenha recuperado uma maior percentagem de corrol de partida (33%). O composto do tipo biliverdina **29** foi isolado com 6% de rendimento.



Esquema 23

A formação do dímero **14** é facilmente explicada, após a geração de um catião radical arílico, *via* um mecanismo SET, análogo ao representado genericamente no Esquema 15.

O mecanismo de formação do composto aberto **29** está proposto no Esquema 24. Após a formação de um corrol catião radical, (*via* mecanismo SET) ocorre a adição de uma molécula de oxigénio no estado fundamental com formação do peróxido cíclico (dioxetano) como intermediário. Segue-se a abertura do anel, sucedendo-se a redução do composto do tipo biliverdina.



Esquema 24

2.2.4 Caracterização Estrutural

Os espectros de absorção dos dímeros **12**, **13**, **14** estão apresentados na Figura 13. O mesmo comportamento foi observado para os dímeros **22**, **23** e **24**. Note-se que nos dímeros **12**, **14** e no trímero **25**, não existe conjugação entre os macrociclos corrólicos, ao contrário do que acontece no dímero **13**, que apresenta um espectro de absorção significativamente diferente. Neste caso, os electrões π estão deslocalizados nas duas unidades corrólicas, resultando num cromofóro π -extendido, responsável pela banda de absorção intensa a 723 nm. Como se mostra no Esquema 25, para o mesmo tautómero, podem ser desenhadas várias estruturas de ressonância com ou sem um centro anti-aromático ciclooctatetraeno.

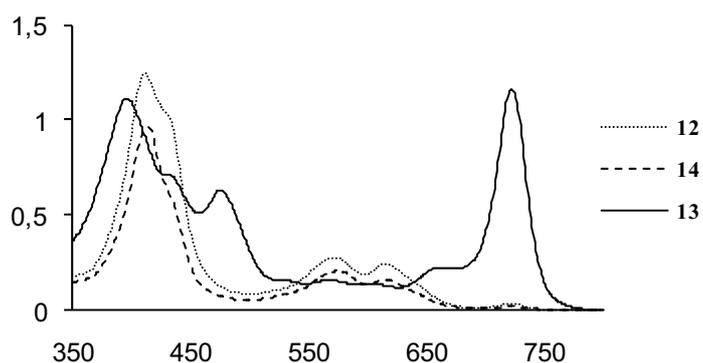
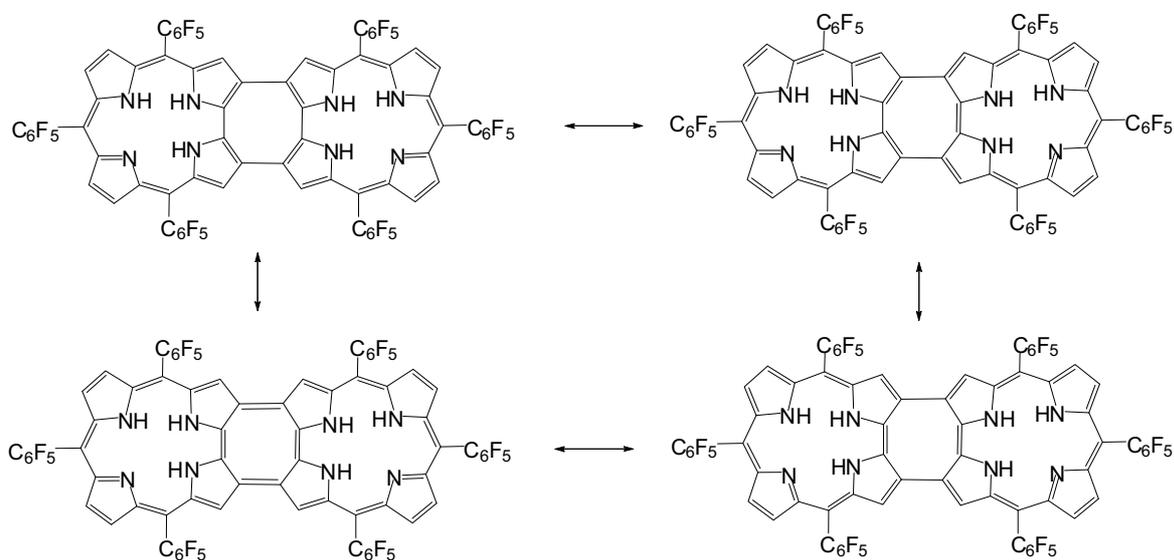


Figura 13 - Espectros de absorção electrónica dos dímeros **12**, **13** e **14**



Esquema 25

As estruturas dos novos produtos sintetizados foram deduzidas pela análise dos seus espectros de RMN mono e bidimensionais e pelos espectros de massa.

Na Figura 14 estão apresentadas as zonas aromáticas dos espectros de RMN de ^1H dos dímeros **12**, **13** e **14**, que ilustram a diversidade de espectros obtidos.

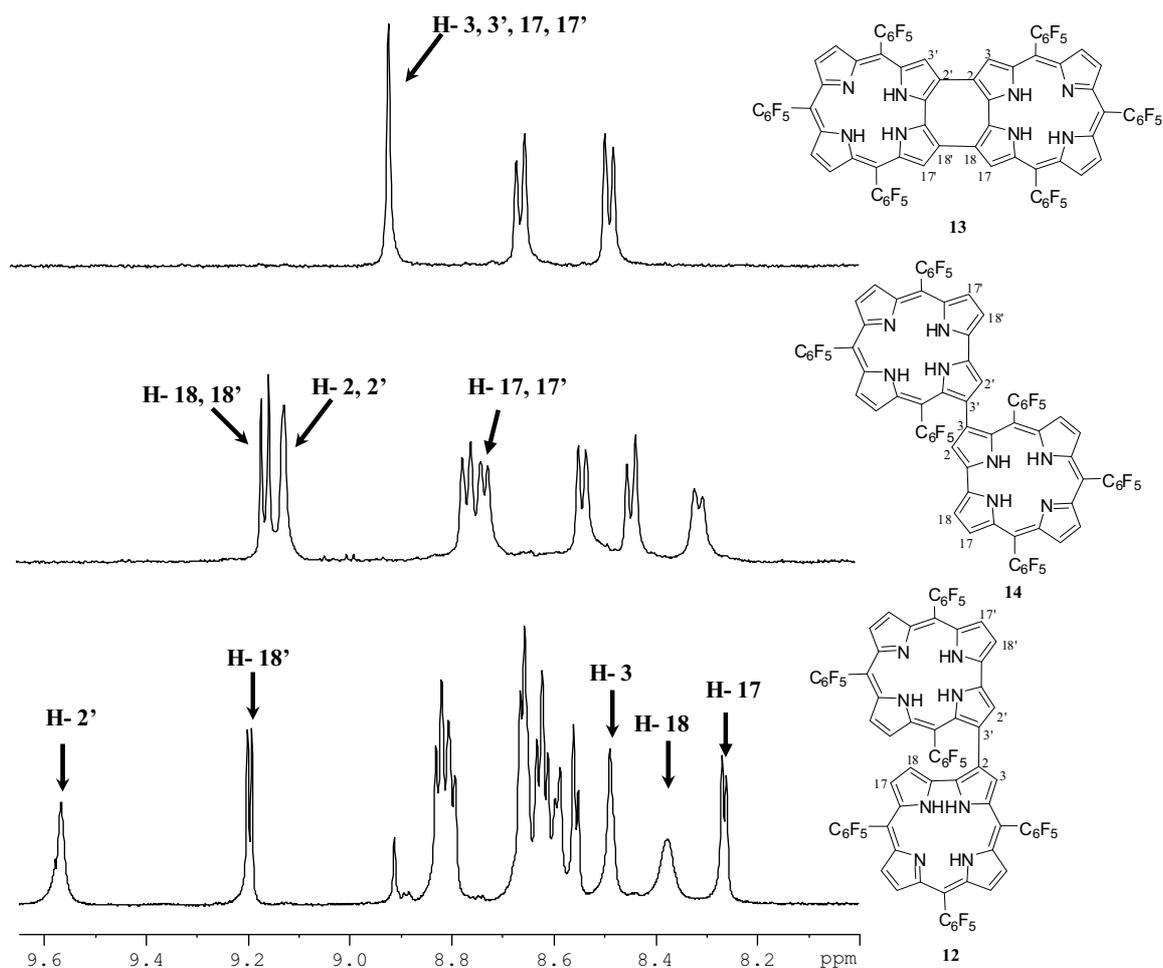


Figura 14 - Espectros parciais de RMN de ^1H dos dímeros **12**, **13** e **14**

O espectro de RMN de ^1H do dímero **13** apresentou-se bastante simples com um singuleto a δ 8,92 ppm correspondente à ressonância dos quatro prótons β -pirrólicos H-3,3',17,17' e dois dupletos a δ 8,66 e 8,49 ppm que correspondem às ressonâncias dos restantes prótons β -pirrólicos. A simplicidade do espectro de RMN de ^1H sugere uma molécula altamente simétrica; de facto esta molécula apresenta dois planos de simetria e um eixo de simetria C_2 .

O dímero **14** apresentou um espectro de RMN de ^1H com sete sinais, cada um correspondente a dois prótons β -pirrólicos: um singuleto largo a δ 9,12 ppm e seis dupletos entre δ 9,16 e 8,31 ppm.

Salvaguardando que a reacção ocorreu na unidade bi-pirrólica do corrol, as duas unidades corrólicas só podem estar ligadas pelas posições 2, 2' ou pelas posições 3, 3'. A

presença de um singuleto largo a δ 9,12 ppm, desvio químico típico de prótons β -pirrólicos H-2,18 só é consistente com a substituição C-3 nas duas unidades de corrol. Se se tratasse do dímero 2, 2' o singuleto correspondente aos prótons H-3, 3' deveria aparecer a δ 8,5 ppm.

Para a identificação inequívoca o espectro de HSQC foi fundamental. A correlação entre os singuletos a δ 9,12 ppm e o sinal a δ 118,1 ppm típico dos carbonos da posição 2 do corrol, confirmou a ligação 3, 3' sugerida para este dímero.

O espectro de RMN de ^1H do dímero **12** apresentou dois singuletos um a δ 9,57 ppm e outro a δ 8,49 ppm, cada um, correspondente à ressonância de um próton β -pirrólico e vários sinais entre δ 8,83-8,26 ppm correspondentes às ressonâncias de doze prótons β -pirrólicos.

O singuleto a δ 9,57 ppm desviado para campos baixos, sugere a ressonância de um próton junto à ligação directa H-2 ou H-18 e o singuleto a δ 8,49 ppm aponta para a ressonância de um próton H-3 ou H-17. Estes sinais parecem indicar que uma das unidades corrolícas esteja substituída em C-3 e outra unidade em C-2.

O espectro de NOESY foi imprescindível para o assinalamento inequívoco da estrutura. No espectro de NOESY (Figura 15) observou-se um efeito NOE entre o singuleto a δ 9,57 ppm e (i) o duplete a δ 9,20 ppm, (ii) o singuleto a δ 8,49 ppm e (iii) o duplete a δ 8,38 ppm. Apenas um próton com desvio químico tão alto podia apresentar três correlações NOE com outros sinais, assim, ao singuleto a δ 9,57 ppm foi atribuída a ressonância do próton H-2'.

A proximidade espacial de H-2' com o duplete a δ 9,20 ppm com J 4,2 Hz permitiu identificar este sinal como pertencendo à ressonância do próton β -pirrólico H-18' e ao singuleto a δ 8,49 ppm foi atribuída a ressonância de H-3.

O duplete a δ 8,26 ppm apresentou uma constante de acoplamento de J 4,2 Hz suspeitando-se tratar do próton H-17 ou H-18. Pelo espectro de HSQC foi possível identificar este sinal como pertencendo à ressonância de H-17, que por sua vez se correlaciona (COSY) com o sinal a δ 8,38 ppm. O duplete a δ 8,38 ppm foi assinalado como correspondente à ressonância do próton H-18.

É evidente que os desvios químicos correspondentes aos prótons H-18 e H-18' são bastante diferentes, talvez devido à geometria adoptada pela molécula, onde uma das unidades de corrol é quase perpendicular “à outra”, com uma rotação parcial na ligação C-

2 e C-3'. O próton H-18 encontra-se escudado pelo efeito anisotrópico da unidade corrol adjacente.

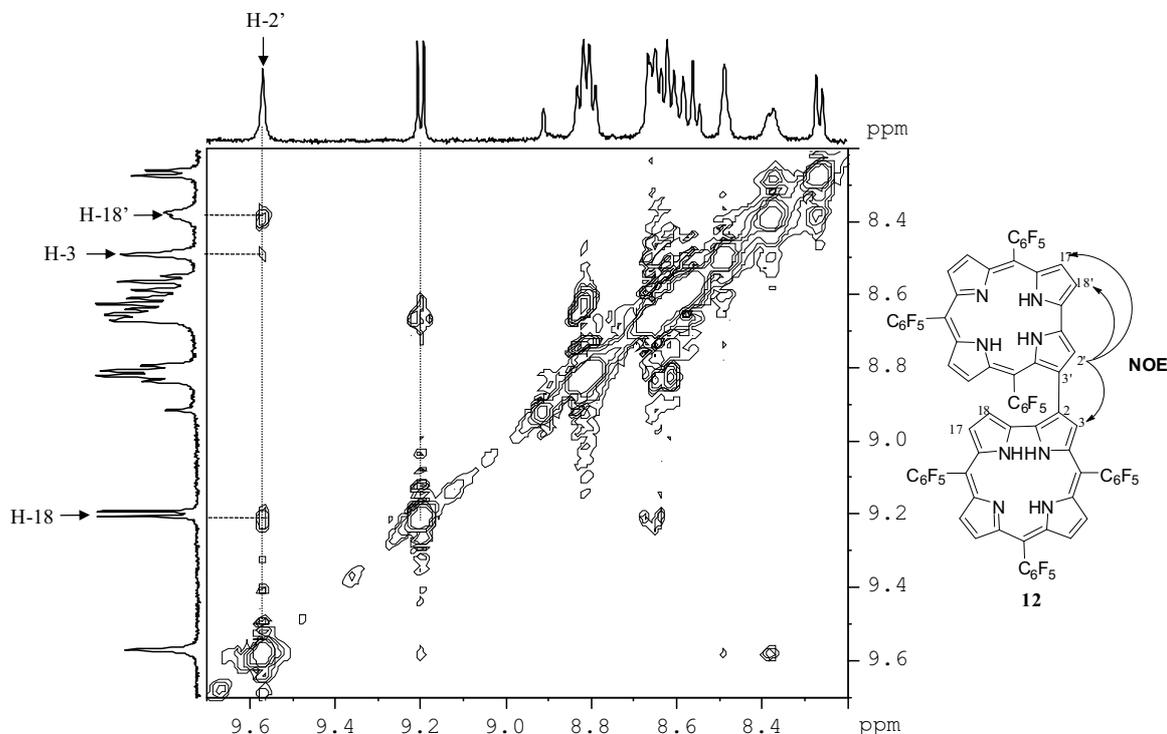


Figura 15 – Espectro de NOESY do dímero **12**

O espectro de RMN de ^1H do 5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluoro-4-metoxi-fenil)corrol **19** apresentou um espectro análogo ao do seu precursor, o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol **1**, com quatro dupletos a δ 9,06, 8,79, 8,60 e 8,57 ppm, relativos à ressonância dos prótons β -pirrólicos e um singuleto a δ 4,39 ppm, relativo às ressonâncias dos nove prótons dos três grupos metoxilo.

O espectro de RMN de ^{19}F evidenciou como era esperado, a ausência das ressonâncias dos átomos de flúor nas posições *para*, evidenciando dois duplos dupletos a δ -162,76 e -163,29 ppm correspondentes à ressonância de seis átomos de flúor nas posições *orto* e dois duplos dupletos a δ -186,02 e -181,74 ppm correspondentes à ressonância de seis átomos de flúor nas posições *meta*.

Os espectros de RMN de ^1H dos dímeros **22**, **23** e **24** obtidos por dimerização do corrol **19**, foram caracterizados por analogia com os dímeros **12**, **13** e **14**. O espectro de RMN de ^1H do dímero **22** apresentou uma zona aromática rica em sinais entre δ 9,75 -8,21

ppm relativos às ressonâncias de catorze prótons β -pirrólicos não equivalentes. Na zona alifática apresentou cinco multipletos entre δ 4,44-4,31 ppm relativos às ressonâncias dos dezoito prótons dos nove grupos metoxilo.

O espectro de RMN de ^1H do dímero **24** apresentou um perfil semelhante ao do dímero **14**, com seis sinais entre δ 9,27 - 8,25 ppm relativos à ressonância dos sete pares de prótons β -pirrólicos equivalentes. As ressonâncias dos prótons dos grupos metoxilo apresentaram-se como dois multipletos a δ 4,44 - 4,43 ppm e δ 4,38 - 4,37 ppm.

Em relação ao dímero **23** o espectro de RMN de ^1H mostrou-se, mais uma vez, bastante simples com um singuleto a δ 8,93 ppm e dois dupletos a δ 8,66 e 8,49 ppm, relativos às ressonâncias dos três grupos de prótons β -pirrólicos equivalentes. Aos multipletos a δ 4,44-4,43 ppm e δ 4,41-4,30 ppm foram atribuídas as ressonâncias de doze e seis prótons dos grupos metoxilo, respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H do composto **27** apresentou um perfil ligeiramente diferente do apresentado pela correspondente base livre **14**. As ressonâncias dos prótons β -pirrólicos H-18,18' foram também atribuídas ao duplete com maior desvio químico a δ 9,30 ppm, mas os prótons β -pirrólicos H-2 e H-2' aparecem na forma de dois singuletos a δ 9,212 ppm e a δ 9,206 ppm. Observaram-se ainda entre δ 8,94-8,67 ppm sinais correspondentes à ressonância dos restantes prótons β -pirrólicos.

A presença de dois ligandos axiais em cada unidade corrólica poderá provocar-lhe algum desvio planar, levando a uma menor simetria, justificando essa que poderá estar na base das ressonâncias de H-2 e H-2' aparecerem como dois singuletos.

O espectro de RMN de ^1H do trímero **25** apresentou um duplete a δ 9,20 ppm e um singuleto a δ 9,13 ppm, ambos correspondentes à ressonâncias de dois prótons β -pirrólicos. Estes sinais são similares aos observados para a ressonância dos prótons H-18,18' e H-2,2' do dímero **14**, respectivamente. No espectro HSQC (baseado na detecção inversa de ^{13}C), observou-se correlação entre os sinais a δ 9,20 e 9,13 ppm e o sinal de carbono a δ 118,0 ppm, confirmando que, os prótons respectivos aos sinais a δ 9,20 e 9,13 ppm estão ligados ao mesmo tipo de carbonos. Assim, o sinal a δ 118,0 ppm, característico da ressonância dos carbonos C-2,18, foi identificado como pertencente às ressonâncias dos carbonos C-

2,18, C-2',18' e C-2'', 18'; ao duplete a δ 9,20 ppm atribuiu-se a ressonância dos protões H-18,18'' e ao singuleto a δ 9,13 ppm a ressonância dos protões H-2',18' e H-2,2''.

O espectro de RMN de ^1H do composto **28** apresentou vários sinais na zona aromática dos quais se destacam um duplete bastante desprotegido a δ 9,48 ppm e um singuleto a δ 8,77 ppm. Como já foi referido aos dupletos mais desprotegidos pertencem as ressonâncias dos protões H-2 e H-18, assim atribuiu-se a este sinal a ressonância de um destes protões. No entanto, a multiplicidade e o desvio químico apresentados, sugerem que o protão estará sob o efeito desprotector, através do espaço, do halogéneo, que provavelmente se situará em C-2, assim atribuiu-se ao duplete a δ 9,48 ppm a ressonância de H-18. O desvio químico do singuleto a δ 8,77 ppm sugere a ressonância do protão H-3, indicando que a substituição no macrociclo corrólico por um átomo de iodo, tenha ocorrido em C-2. De forma a assinalar inequivocamente a posição do átomo de iodo, efectuou-se um espectro NOESY. Neste espectro não foi observado nenhum tipo de correlação espacial entre o protão H-18 e o singuleto, permitindo atribuir inequivocamente ao singuleto a ressonância H-3 e concluir que o átomo de iodo se encontra, efectivamente, na posição 2.

O espectro de absorção do composto **29** assemelha-se ao espectro de absorção da biliverdina com duas bandas, uma a λ 381 nm e outra a λ 625 nm.

O composto **29** do tipo biliverdina apresentou no seu espectro de RMN de ^1H um singuleto largo a δ 8,26 ppm relativo à ressonância de dois protões NH e quatro dupletos a δ 6,88, 6,66, 6,38 e 6,32 ppm relativos à ressonância de oito protões β -pirrólicos. A presença destes quatro dupletos indica a existência de uma molécula simétrica, o que é consistente com a reacção do corrol com oxigénio, na ligação directa da unidade bipirrólica.

Após a confirmação pelo espectro de ^{13}C , de um sinal a δ 170,9 ppm, indicativo da presença de grupos carbonilo na estrutura, o espectro de HMBC (Figura 16) foi essencial para a sua correcta identificação. Neste espectro foi possível correlacionar o sinal a δ 6,32 ppm com o sinal relativo ao grupo carbonilo a δ 170,9 ppm. Desta forma, atribuiu-se ao duplete a δ 6,32 ppm as ressonâncias dos protões H-2,18. Pelo cálculo das constantes de acoplamento foi possível identificar o sinal correspondente ao par dos protões anteriores, assim o duplete a δ 6,88 ppm foi identificado como pertencendo às ressonâncias dos

protões H-3,17. Os dupletos a δ 6,66 e 6,38 ppm foram identificados como pertencendo às ressonâncias dos protões H-7,13 e H-8,12.

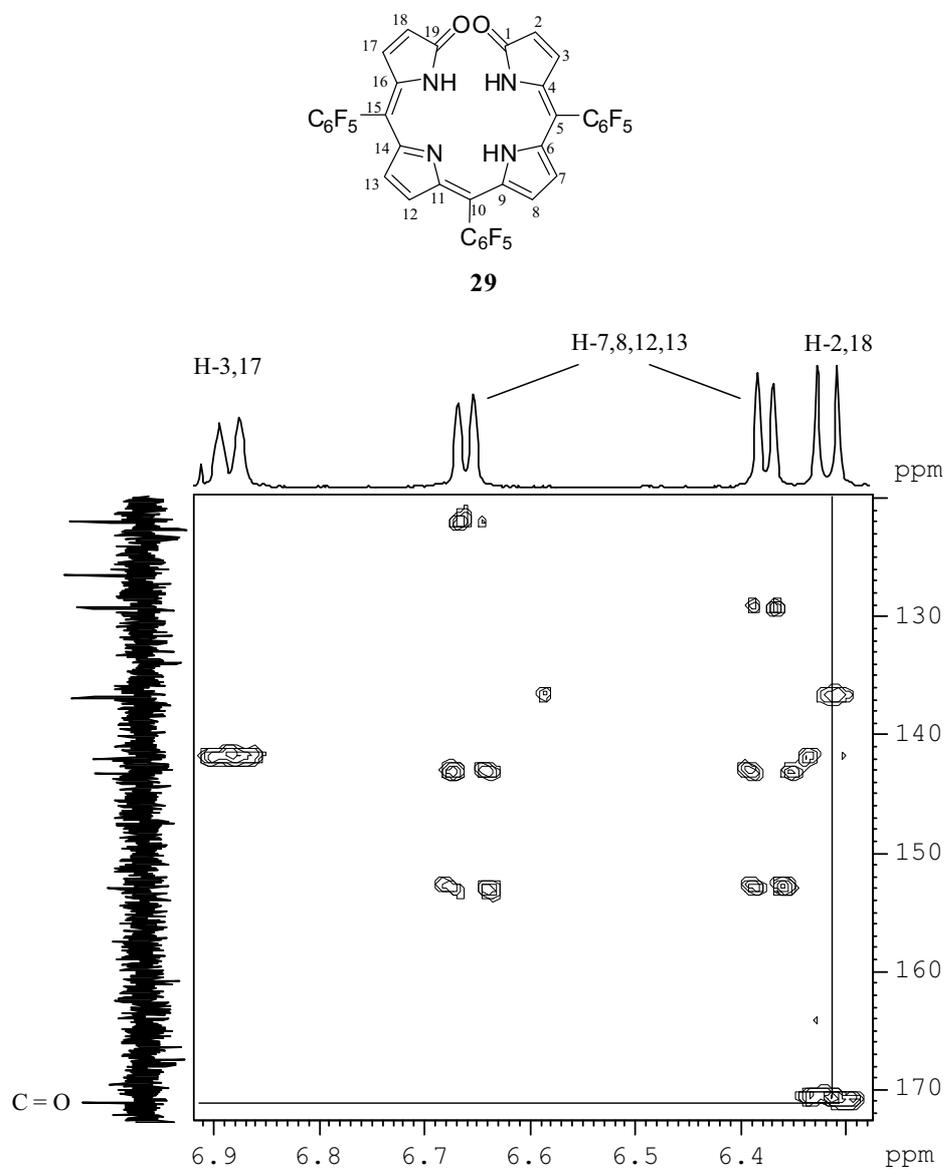


Figura 16 – Espectro de HMBC do composto **29**

2.2.5 Conclusões

Os resultados obtidos permitiram identificar, pela primeira vez, os produtos de decomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol.

Comparando os resultados das reacções sob aquecimento clássico e sob radiação verifica-se que sob aquecimento obtêm-se os três dímeros **12**, **13** e **14** e sob acção de radiação solar/lâmpada isolou-se apenas o dímero **14**.

Estes dados indicam que a radiação promove apenas a formação de um tipo de dímero ou trímero ligado pelas posições **3** do macrociclo corrólico, enquanto a 200°C ocorre também a formação de um dímero assimétrico e de outro altamente conjugado. Pode-se sugerir que para a formação dos compostos **12** e **13** seja necessário uma maior energia (200°C) ou que estejam envolvidos dois tipos de mecanismo.

Estes dados permitem concluir que as reacções de decomposição efectuadas são reacções de oligomerização. A adição de iodo à reacção confirmou o mecanismo radicalar da reacção de fotodecomposição e permitiu caracterizar o único corrol mono-halogenado até hoje sintetizado.

A presença de um promotor de radicais na reacção, favorece a formação dímero **14**, e do derivado de cadeia aberta do tipo biliverdina. Embora haja exemplos de compostos de cadeia aberta provenientes de macrociclos corrólicos, este foi o primeiro derivado sintetizado a partir do corrol **1**.

2.3 Transformações com iletos de azometino

2.3.1 Introdução

O corrol pode participar em reacções de cicloadição [4+2] e em reacções de cicloadição [4+4], comportando-se como componente 2π e 4π , respectivamente. Estes resultados levaram-nos também a estudar o comportamento do macrociclo corrólico como componente 2π noutra classe de reacções pericíclicas – as reacções de cicloadição 1,3-dipolar.

As reacções de cicloadição 1,3-dipolar, tal como as de Diels-Alder, são reacções do tipo [4+2], uma vez que se encontram envolvidos seis electrões π . A componente 4π é geralmente designada por 1,3-dipolo e a componente 2π é designada por dipolarófilo.

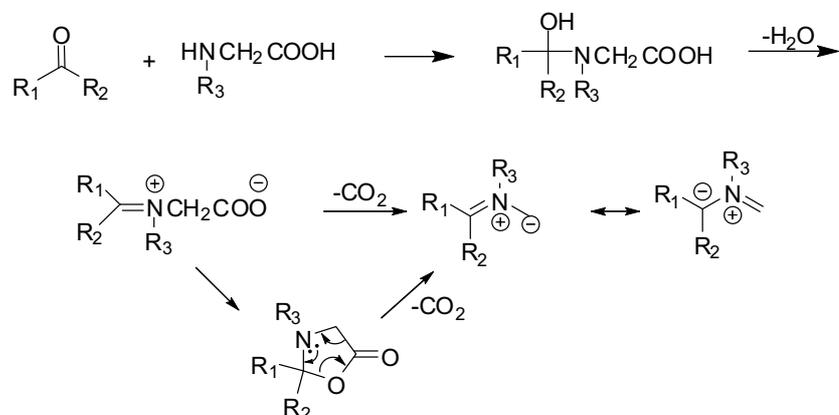
Existem vários tipos de 1,3-dipolos dos quais se destacam as nitronas, os iletos de azometino, iminas de nitrilo, óxidos de carbonilo, óxidos de nitrilo, diazoalcanos e azidas.³⁸ Para dar início ao estudo da reactividade de corróis como dipolarófilos em reacções de cicloadição 1,3-dipolar seleccionaram-se os iletos de azometino, como componentes 4π .

Os iletos de azometino são das espécies mais reactivas e versáteis dentro da classe de 1,3-dipolos. Por serem espécies extremamente instáveis, estes dipolos são geralmente gerados *in situ* na presença do dipolarófilo.

Na literatura estão descritos vários métodos para gerar iletos de azometino, destacando-se: a abertura do anel de aziridinas por termólise ou fotólise³⁹; a reacção entre um α -diazó-éster e uma imina na presença de um catalisador adequado;⁴⁰ a transposição de um protão em iminas derivadas de α -aminoésteres⁴¹ e por condensação de compostos de carbonilo com α -aminoácidos, com subsequente descarboxilação.

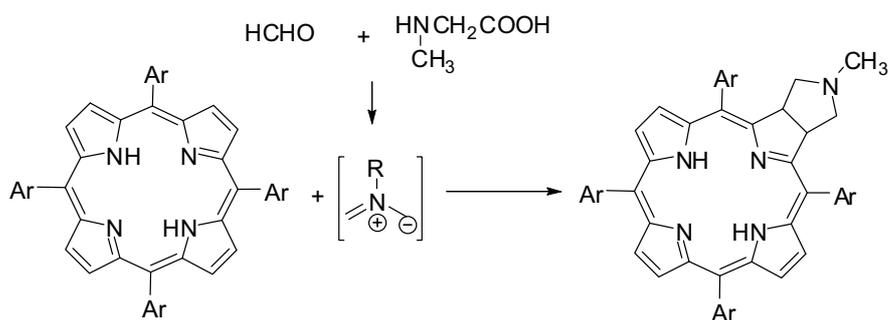
Dos vários métodos disponíveis para gerar iletos de azometino seleccionou-se a condensação de compostos de carbonilo com α -aminoácidos, por permitir o uso de materiais de partida comercialmente disponíveis e baratos.

O mecanismo da formação do ileto ocorre através do ataque do grupo terminal amino ao composto de carbonilo gerando a imina que, por descarboxilação, origina o respectivo ileto de azometino (Esquema 26).⁴²



Esquema 26

O primeiro exemplo da utilização de iletos de azometino na presença de macrociclos porfirínicos foi publicado pelo grupo de Química Orgânica da Universidade de Aveiro. Este estudo envolveu a síntese de pirrolidinoclorinas por reacção de *meso*-tetra-*aril*porfirinas com iletos de azometino gerados *in situ*, a partir de α -aminoácidos e paraformaldeído (Esquema 27).⁴³ Esta reacção mostrou ser bastante versátil tendo-se utilizado vários tipos de iletos de azometino,^{44,45} incluindo derivados glicosídicos⁴⁶ e *N*-flavonilglicinas⁴⁷ e derivados porfirínicos.⁴⁸⁻⁵⁰



Esquema 27

No decorrer deste trabalho, o grupo de Química Orgânica do Departamento de Química explorou as reacções de cicloadição 1,3-dipolar usando o macrociclo corrólico, nomeadamente o 3-carbaldeído-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) como precursor da espécie 1,3-dipolar (ver introdução).

Em seguida serão apresentados os resultados obtidos em reacções com iletos de azometino utilizando o corrol quer na forma livre quer na forma de complexo de gálio (III), como componente 2π .

2.3.2 Reacções do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) com iletos de azometino

Este estudo foi iniciado com o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina), recorrendo às mesmas condições reaccionais descritas pelo grupo de Aveiro para as reacções de *meso*-arilporfirinas com iletos de azometino, gerados a partir de paraformaldeído e sarcosina.⁴³

Assim, a uma solução de complexo de gálio (III) **26** em tolueno foram adicionados 5 equivalentes de paraformaldeído e 2 equivalentes de sarcosina. A mistura reaccional permaneceu a refluxo, sob-agitação, durante cinco horas. O TLC de controlo desta reacção revelou a presença de dois compostos de cor roxa, em quantidades muito pequenas e a de um elevado número de outros compostos em quantidade vestigial. O processo de purificação da mistura reaccional mostrou-se bastante difícil, no entanto, foi possível isolar os dois compostos minoritários de cor roxa, por cromatografia preparativa de camada fina. A análise dos espectros de massa mostrou, em ambos os casos, o ião molecular $[M]^{•+}$ a m/z 920, correspondente à razão massa/carga do aducto 1,3-dipolar esperado.

De forma a favorecer a formação destes aductos, optou-se por efectuar a mesma reacção usando um menor número de equivalentes de sarcosina e paraformaldeído. Assim, a uma solução de 1 equivalente de paraformaldeído e 1 equivalente de sarcosina em tolueno adicionou-se 1 equivalente de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina). A mistura reaccional permaneceu a refluxo, sob agitação e em atmosfera de azoto. Após duas horas de reacção, o controlo por TLC revelou a presença de corrol de partida, a dos aductos esperados, bem como a de outros compostos em quantidade vestigial. Optou-se por adicionar mais 1 equivalente de

paraformaldeído e 1 equivalente de sarcosina, prolongando o aquecimento por mais duas horas. Ao fim deste tempo, o TLC de controlo continuou a revelar a presença dos dois compostos pretendidos, mas acompanhados por uma mistura complexa de muitos outros produtos. Assim, mantendo a proporção de sarcosina:paraformaldeído (1:1) decidiu-se diminuir a temperatura de reacção para 80°C, de modo a minimizar a formação de produtos secundários em quantidade vestigial.

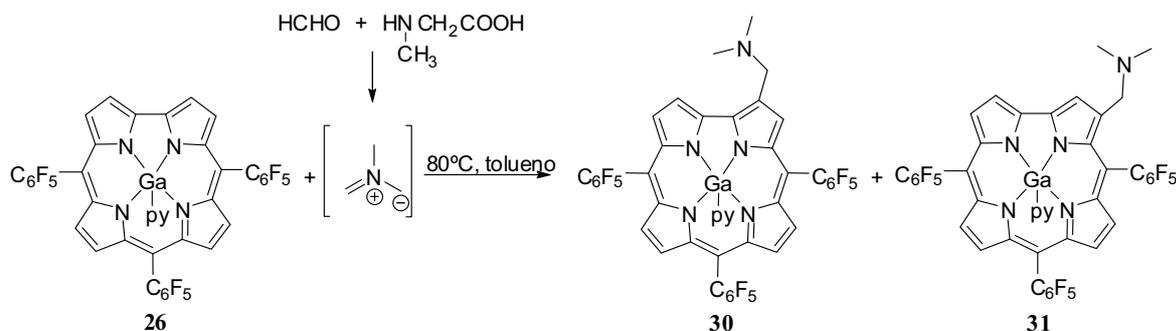
Nestas condições, após duas horas, o TLC de controlo da mistura reaccional revelou a presença de corrol de partida e dos dois compostos de cor roxa. Com o intuito de forçar a reacção, foi adicionado mais um equivalente de sarcosina e um equivalente de paraformaldeído. Após quatro horas de reacção o TLC revelou a presença de corrol de partida e um aumento substancial na quantidade dos dois compostos pretendidos, assim como uma menor formação de compostos vestigiais do que nas condições anteriores.

Desta forma, decidiu-se terminar a reacção nestas condições e procedeu-se à separação e purificação da mistura reaccional por cromatografia preparativa de camada fina. Em resultado desta cromatografia recolheu-se, 65% do complexo de gálio que não reagiu e os dois compostos de cor roxa.

O espectro de RMN de ^1H do composto de maior R_f apresentou na zona aromática um singuleto a δ 8,75 ppm e vários dupletos entre δ 9,32 e 8,65 ppm correspondentes à ressonância de sete prótons β -pirrólicos e na zona alifática dois singuletos a δ 5,10 e 2,70 ppm correspondentes à ressonância de dois e seis prótons, respectivamente. A presença do singuleto aromático e dos dois singuletos alifáticos não se mostrou consistente com a estrutura do aducto 1,3-dipolar esperado, sugerindo a presença de um corrol substituído em C-2, por um grupo *N,N'*-dimetilaminometilo. Os estudos bidimensionais de RMN efectuados permitiram atribuir a este composto a estrutura **30** (Esquema 28). Este composto foi isolado com rendimento de 15%.

O espectro de RMN de ^1H do composto de menor R_f também não se mostrou consistente com o aducto 1,3-dipolar esperado. Na zona aromática apresentou um singuleto a δ 8,99 ppm e vários sinais entre δ 9,07 e 8,52 ppm correspondentes à ressonância de sete prótons β -pirrólicos e na zona alifática dois singuletos a δ 4,03 e 2,09 ppm correspondentes à ressonância de dois e seis prótons, respectivamente. Mais uma vez, os estudos bidimensionais de RMN efectuados permitiram identificar este derivado como sendo o composto **31**, que foi isolado com rendimento de 17%.

A elucidação estrutural destes compostos, por RMN e por espectrometria de massa revelou que os compostos formados não são os aductos 1,3-dipolar esperados, mas sim derivados corróicos substituídos em C-2 (composto **30**) e em C-3 (composto **31**) com resíduos de *N,N'*-dimetilaminometilo (Esquema 28).



Esquema 28

A obtenção das aminas **30** e **31** em vez do cicloaducto 1,3-dipolar previsto foi inesperada e levanta dúvidas quanto ao modo como o processo ocorre.

A abertura térmica do anel pirrolidina no aducto 1,3-dipolar (Esquema 29) é pouco provável e embora existam alguns exemplos referidos na literatura,⁵¹⁻⁵⁴ nenhum se refere à abertura “espontânea” desse anel. Por outro lado se o processo de formação das aminas fosse *via* reacção de cicloadição 1,3-dipolar o aducto correspondente deveria ter sido isolado. Mais se confirma pelos estudos teóricos (Figura 17) efectuados pelo grupo do Prof. Paulo Abreu, do Departamento de Química da Universidade de Coimbra, que demonstraram que a estabilidade do aducto é superior à das aminas obtidas.

Com base em estudos recentes onde sistemas diénicos análogos à unidade bipirrólica na presença de iletos de azometino originaram derivados do tipo azepina (Esquema 30),⁵⁵ uma outra *via* para a formação de **30** poderia envolver a formação de um intermediário com um anel azepina. Este, após abertura do anel originaria o derivado **30**. No entanto, os estudos teóricos demonstraram que este intermediário é comparativamente mais instável e portanto esta *via* é pouco provável.

Assim, outras questões permanecem em aberto: porquê este tipo de comportamento em corróis, quando nunca foi observado em porfirinas?; será que o corrol, num possível processo de oxidação do anel pirrolidina a pirrolina, sofre uma clivagem?

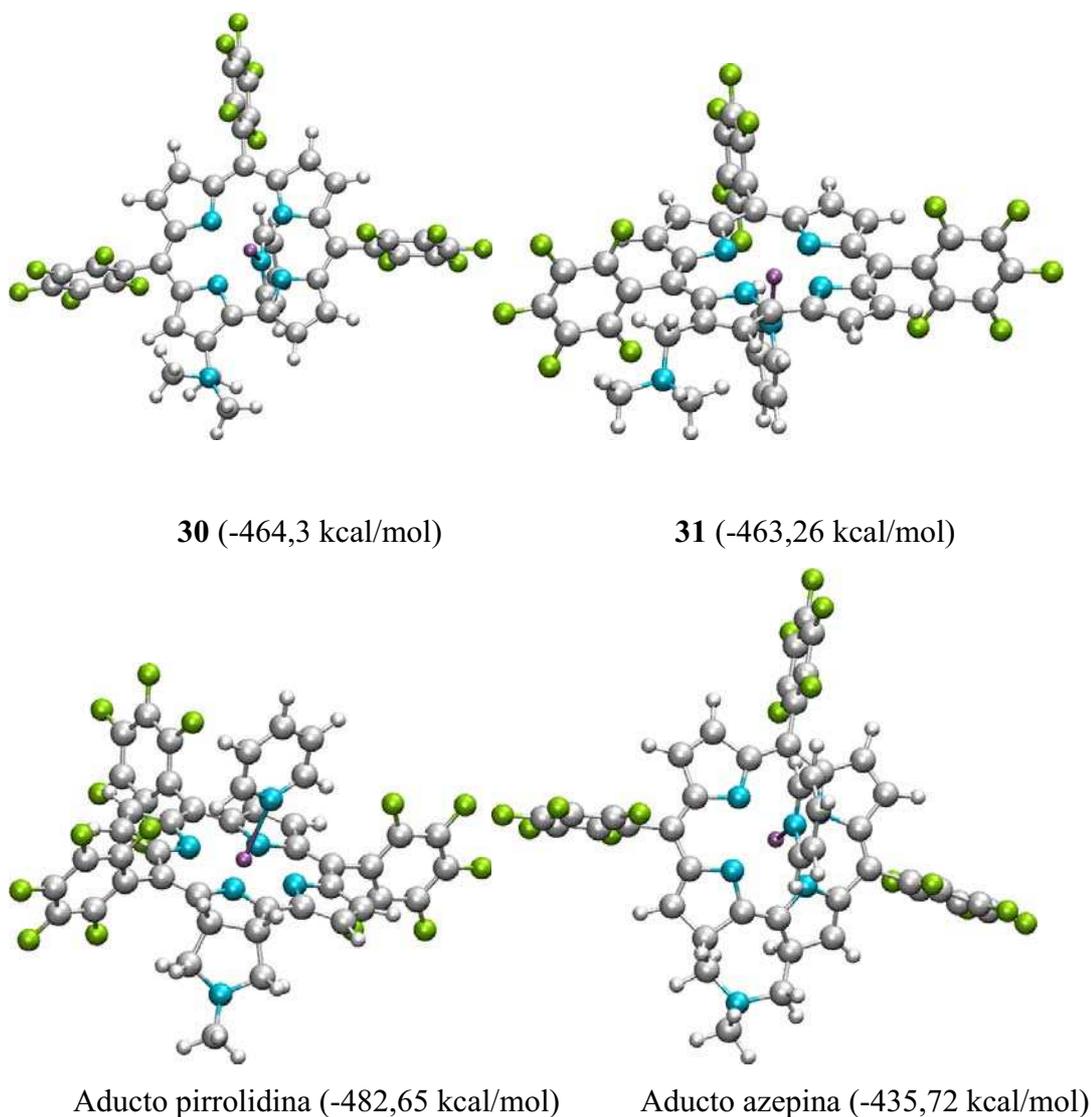
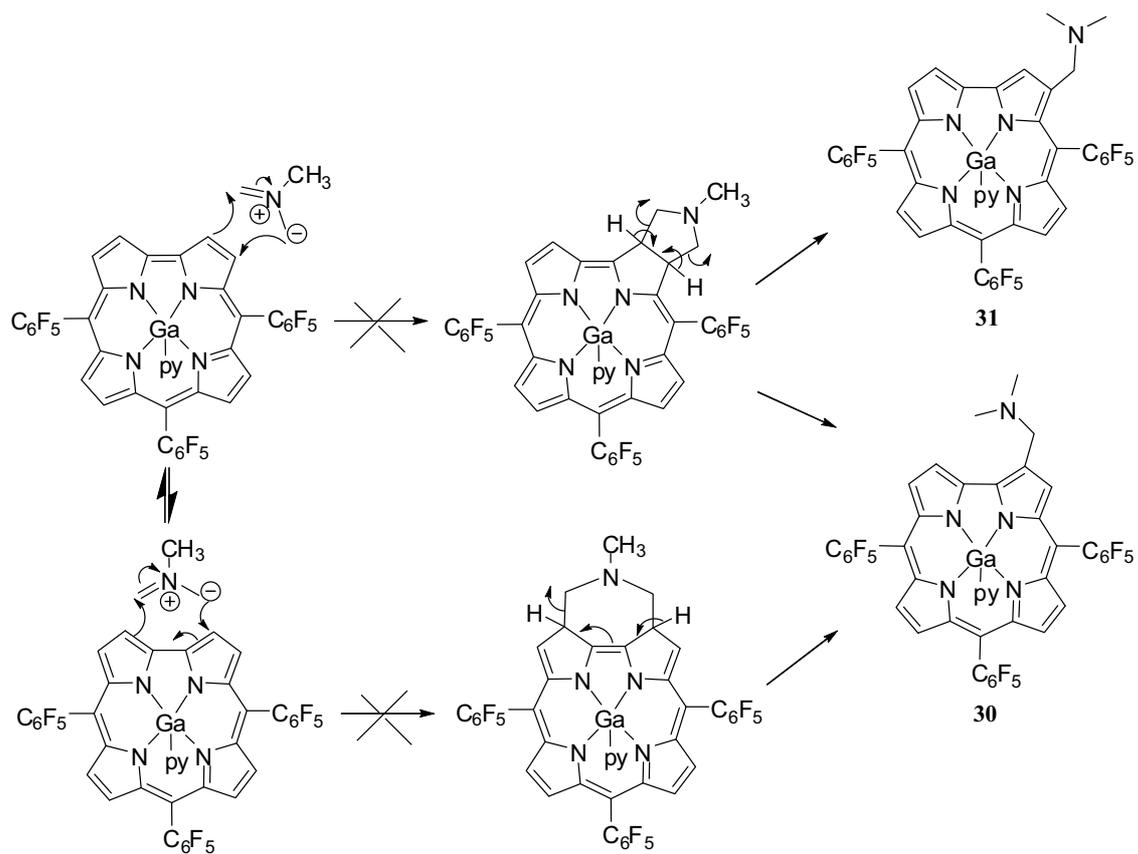


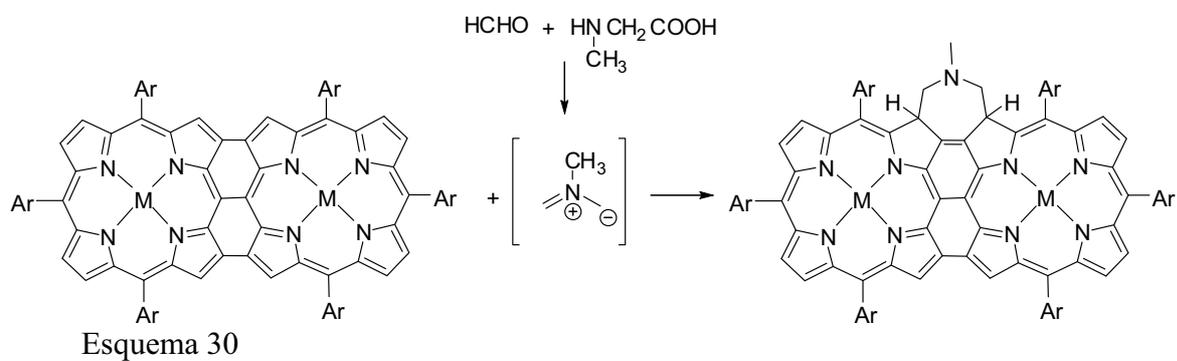
Figura 17 – Cálculos do mínimo de energia das estruturas dos compostos **30**, **31**, aducto pirrolidina e aducto azepina[†]

Assim, estes factos levam-nos a sugerir que na reacção esteja provavelmente envolvido um processo do tipo Mannich⁵⁶ como se apresenta no Esquema 31. No entanto, pelo que nos foi possível pesquisar, não existem exemplos onde este tipo de comportamento esteja descrito para iletos de azometino.

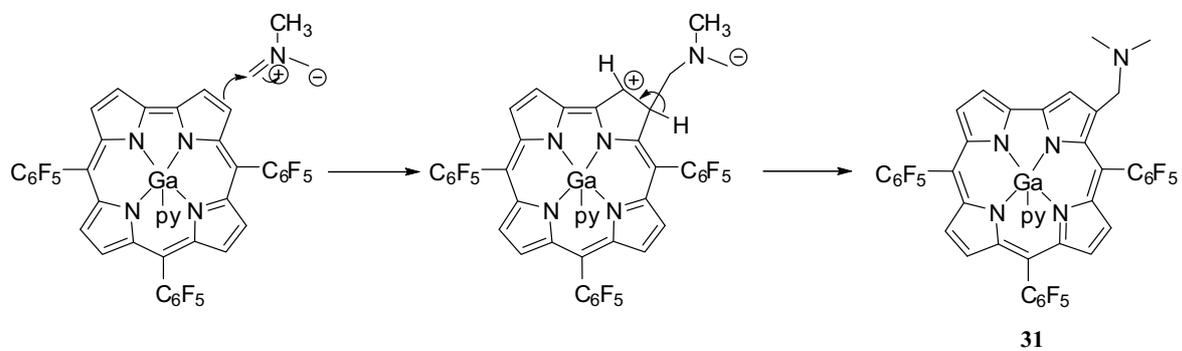
[†] Os cálculos foram efectuados usando o MOPAC2007, no nível PM3.



Esquema 29



Esquema 30



Esquema 31

Os resultados obtidos traduzem um novo método de sintetizar novos derivados corrólicos aminados, a partir da reacção com iletos de azometino. Optou-se, então por explorar esta via de formação de novas aminas, recorrendo a outros aminoácidos, como: glicina, *L*-prolina, *N*-benzilglicina e *N*-(porfirin-2-ilmetil)glicina.⁴⁸

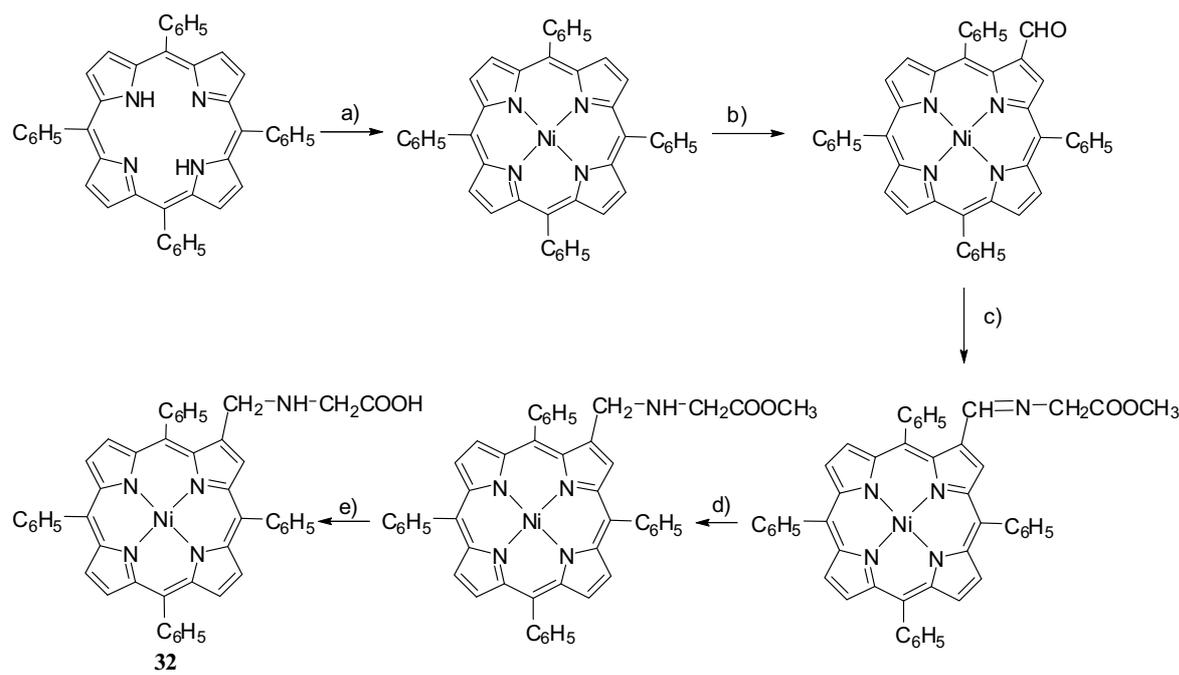
As condições experimentais utilizadas para a reacção entre o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) **26** e o ileto gerado *in situ*, a partir do paraformaldeído e da *N*-benzilglicina, foram idênticas às referidas para a *N*-metilglicina. No entanto, após 5 horas de reacção o TLC de controlo apenas revelou corrol de partida. Optou-se por adicionar mais 4 equiv. de cada reagente, no entanto após 10 horas de aquecimento, o TLC da mistura reaccional continuou a revelar apenas a presença de corrol de partida.

Observou-se uma situação idêntica quando se estendeu a reacção à *L*-prolina. Também se procedeu a várias adições de *L*-prolina e paraformaldeído (4 adições, durante 24 horas), no entanto, o TLC da mistura reaccional apenas indicou a presença de corrol de partida.

A reacção do corrol **26** com a glicina e o paraformaldeído também não foi bem sucedida, o TLC de controlo revelou bastante corrol por reagir e a presença de uma mistura complexa de compostos, cujos espectros de massa indicavam ser espécies diméricas.

Melhores resultados foram obtidos quando se testou a *N*-(porfirin-2-ilmetil)glicina sintetizada segundo a sequência reaccional apresentada no Esquema 32.^{48,57} Após a preparação da 5,10,15,20-tetrafenilporfirina segundo a literatura,⁵⁸ e consequente complexação com acetato de níquel (II) procedeu-se à introdução de um grupo formilo na posição β -pirrólica **2** segundo o método de formilação de Vilsmeier-Haack.⁵⁹ De seguida, preparou-se a correspondente imina com glicinato de metilo que após redução com boro-hidreto de sódio originou o correspondente éster metílico (passos c) e d)).

No último passo o éster metílico foi sujeito a hidrólise alcalina originando a *N*-(porfirin-2-ilmetil)glicina pretendida **32**.



- a) $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2$, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$, refluxo
 b) i) POCl_3/DMF , 1,2-dicloroetano, ii) Na_2CO_3 (aq)
 c) $\text{HCl}\cdot\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$, $\text{La}(\text{OTf})_3$, K_2CO_3 , tolueno a refluxo
 d) NaBH_4 , $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 0°C
 e) NaOH (aq)

Esquema 32

Uma vez sintetizada a *N*-porfirinilmetilglicina procedeu-se à sua utilização como ileto de azometino porfirínico (gerado *in situ* a partir da *N*-(porfirin-2-ilmetil)glicina **32** e do paraformaldeído).

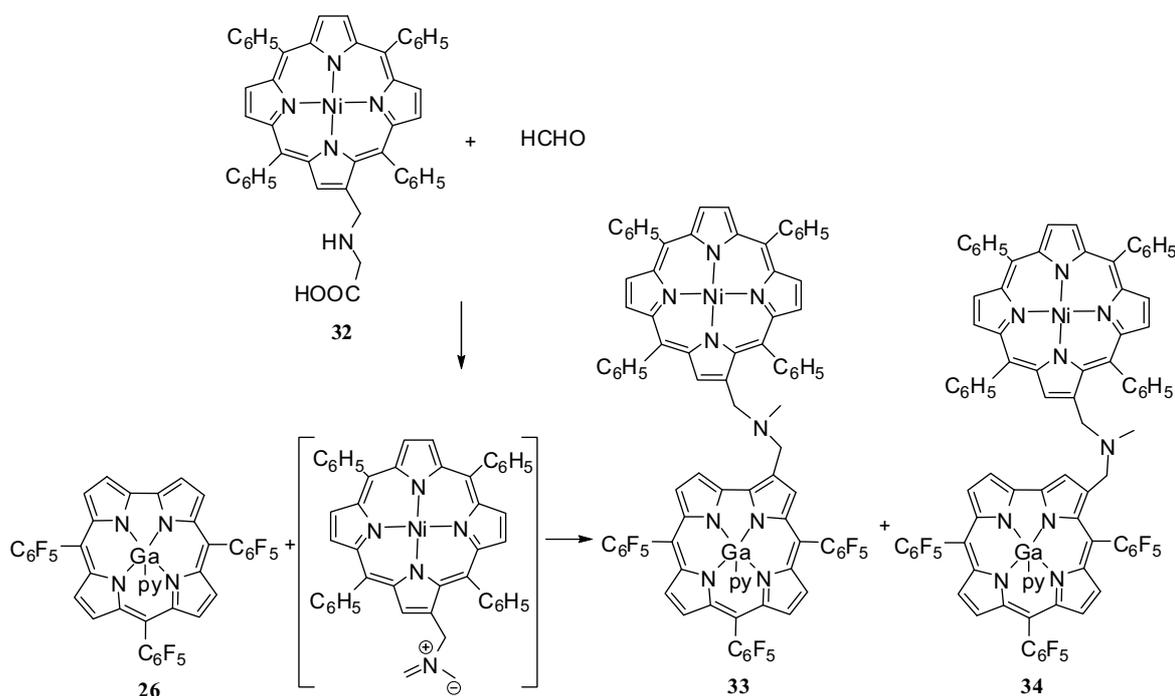
A uma solução de 1 equivalente de *N*-porfirinilmetilglicina e 1 equivalente de paraformaldeído em tolueno foi adicionado um equivalente de complexo de gálio **26**. A mistura reaccional permaneceu sob aquecimento a 80°C , sob agitação e em atmosfera de azoto, durante duas horas. O TLC de controlo revelou corrol de partida, a formação de dois novos produtos, bem como compostos de degradação da *N*-(porfirin-2-ilmetil)glicina. Optou-se por terminar a reacção e proceder à separação e purificação dos compostos por cromatografia preparativa de camada fina.

Os dois novos produtos apresentaram espectros de massa idênticos com iões moleculares a m/z 1590 $[\text{M}+\text{H}]^+$ correspondentes à formação das duas aminas esperadas.

Os espectros de RMN de ^1H dos dois compostos apresentaram sinais correspondentes à formação de duas aminas, semelhantes aos obtidos com *N*-metilglicina. Os estudos

bidimensionais efectuados por RMN permitiram confirmar as estruturas das duas novas díades porfirina-corról **33** e **34** (Esquema 33).

De modo a maximizar a formação destes novos produtos e diminuir a degradação da porfirina, optou-se por diminuir o número de equivalentes do ileto de azometino porfirínico. Assim, a mesma reacção foi testada em tolueno, usando 1 equivalente de corrolato de gálio (III), 1 equivalente de paraformaldeído, 1/3 equivalente de *N*-(porfirin-2-ilmetil)glicina, durante 3 horas a 80°C. Neste caso, a reacção não só foi mais limpa como permitiu obter os dois novos compostos **33** e **34** com um rendimento de 10% e 13%. Nesta reacção recuperou-se 53% de corrol precursor.



Esquema 33

2.3.2.1 Caracterização estrutural

Os espectros de absorção dos derivados aminados **30** e **31** (Figura 18) apresentaram um perfil semelhante ao do corrol precursor **26**, com um banda Soret e duas bandas Q na região dos 550-620 nm. Note-se que a presença do grupo *N,N'*-dimetilaminometilo no corrol não provocou grandes alterações no espectro de absorção, apenas um pequeno desvio das bandas Q.

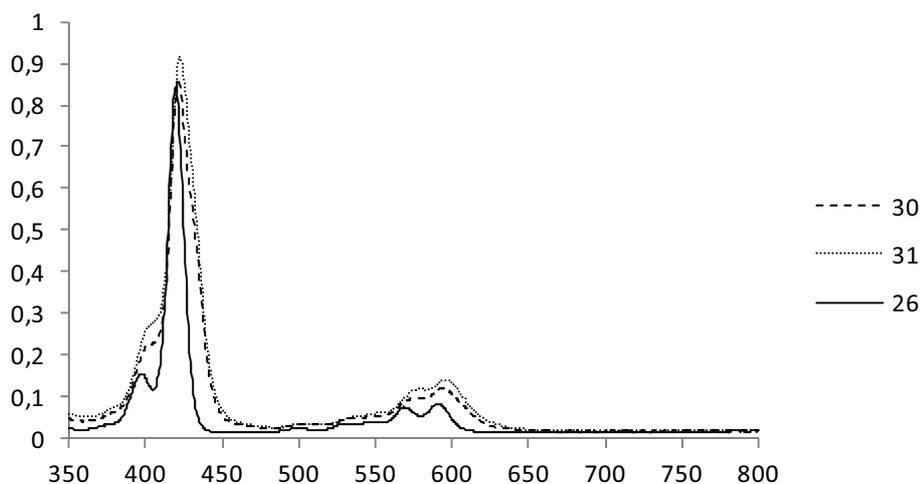


Figura 18 – Espectros de absorção dos compostos **30**, **31** e **26**

Os espectros de RMN dos compostos **30** e **31** foram efectuados em clorofórmio deuterado com 3 a 4 gotas de piridina deuterada. Os espectros só em clorofórmio deuterado (Figura 19) não apresentaram definição nem resolução, exibindo bandas largas, provavelmente, devido a fenómenos de agregação e a uma menor solubilidade dos derivados aminados em clorofórmio. Assim a adição de 3 a 4 gotas de piridina deuterada foi imprescindível para melhorar a resolução e definição dos sinais dos espectros de RMN. Pode-se afirmar que a adição de piridina deuterada permitiu “revelar” os espectros de RMN destes compostos e proceder à sua identificação.

Note-se que todos os compostos possuem na sua estrutura uma unidade de piridina como ligando axial do ião metálico Ga(III). Após a adição da piridina deuterada, a piridina-“ligando” será provavelmente substituída por uma unidade de piridina deuterada, passando a piridina-“ligando” para o solvente, como piridina livre. Assim os espectros de RMN passaram a exibir sinais correspondentes à ressonância dos prótons nas posições 2, 4 e 3 da piridina livre a δ 8,46, 7,51 e 7,12 ppm, respectivamente.

Se a piridina permanecesse coordenada ao ião metálico, os sinais referentes à ressonância dos prótons nas posições 2, 4 e 3 surgiriam a δ 7,07, 6,40 e 4,79 ppm, respectivamente.

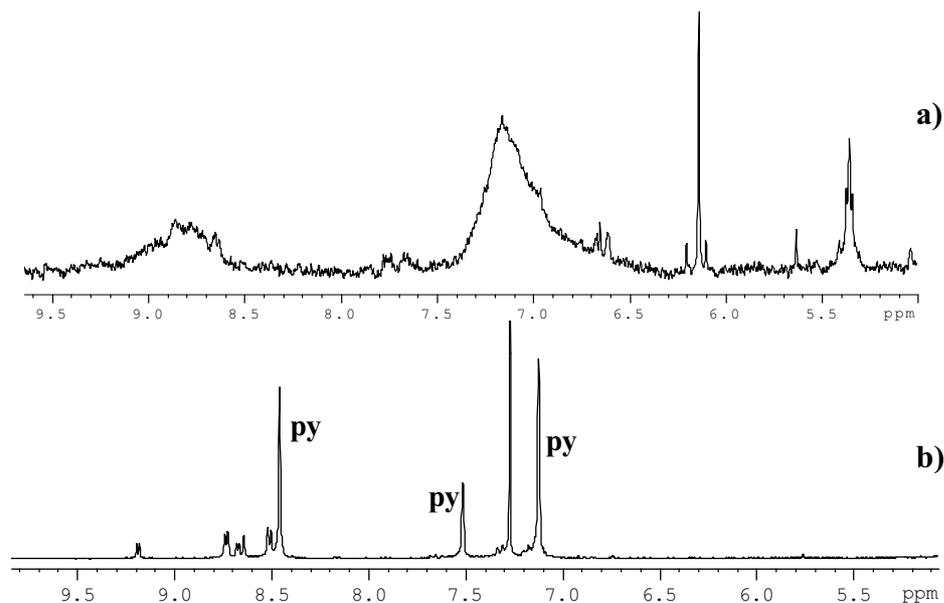


Figura 19 – Espectro parcial de RMN de ^1H do composto **30**: a) sem a adição de piridina deuterada, b) com a adição de piridina deuterada

A atribuição do grupo dimetilaminometilo ao carbono β -pirrólico C-2 do composto **30** foi averiguada por estudos de RMN bidimensionais: COSY, HMBC, NOESY e HSQC.

Como já foi referido, o espectro de RMN de ^1H do composto **30** apresentou na zona aromática quatro dupletos a δ 9,32, 8,86, 8,80, 8,65 ppm e um singuleto δ 8,75 ppm, relativos à ressonância dos sete prótons β -pirrólicos e na zona alifática verificou-se a presença de dois singuletos a δ 5,10 e 2,70 ppm relativos à ressonância dos oito prótons alifáticos. A constante de acoplamento de J 4,6 Hz dos dupletos a δ 8,86 e 8,65 ppm, correspondentes a quatro prótons β -pirrólicos, indicou que as posições β -pirrólicas C-7, C-8, C-12 e C-13 do corrol, não se encontravam substituídas, atribuindo-se as ressonâncias desses prótons aos referidos dupletos a δ 8,86 e 8,65 ppm.

A presença do singuleto a δ 8,75 ppm mostrou que uma das posições C-2 ou C3 de uma unidade pirrólica do bipirrol se encontrava substituída. A primeira evidência que se tratava de um macrociclo substituído em C-2 veio do espectro HSQC. Neste espectro foi possível correlacionar o duplete a δ 9,32 ppm com o sinal a δ 118,4 ppm, exclusivo da ressonância de carbonos β junto à ligação directa do corrol (C-2,18), identificando o sinal a δ 9,32 ppm como correspondente à ressonância do próton H-18. Ora, se a substituição ocorresse em C-3 o singuleto a δ 8,75 ppm devia-se correlacionar com um carbono com

desvio químico similar a C-18 (118,4), no entanto, correlaciona-se com um sinal a δ 125,0 ppm, característico dos carbonos C-3 e C-17. Desta forma, atribuiu-se a δ 8,75 ppm a ressonância do próton H-3 e a δ 125,0 ppm a ressonância do carbono C-3.

O espectro de NOESY (Figura 20) permitiu confirmar a estrutura do composto **30**. Neste espectro foi observado efeito NOE entre o singuleto a δ 5,10 ppm e os sinais a δ 8,75 e 9,32 ppm pertencentes aos prótons β -pirrólicos H-3 e H-18. Desta forma, foi atribuído ao singuleto a δ 5,10 ppm a ressonância dos prótons do grupo CH₂ e ao singuleto a δ 2,70 ppm as ressonâncias dos grupos metilo.

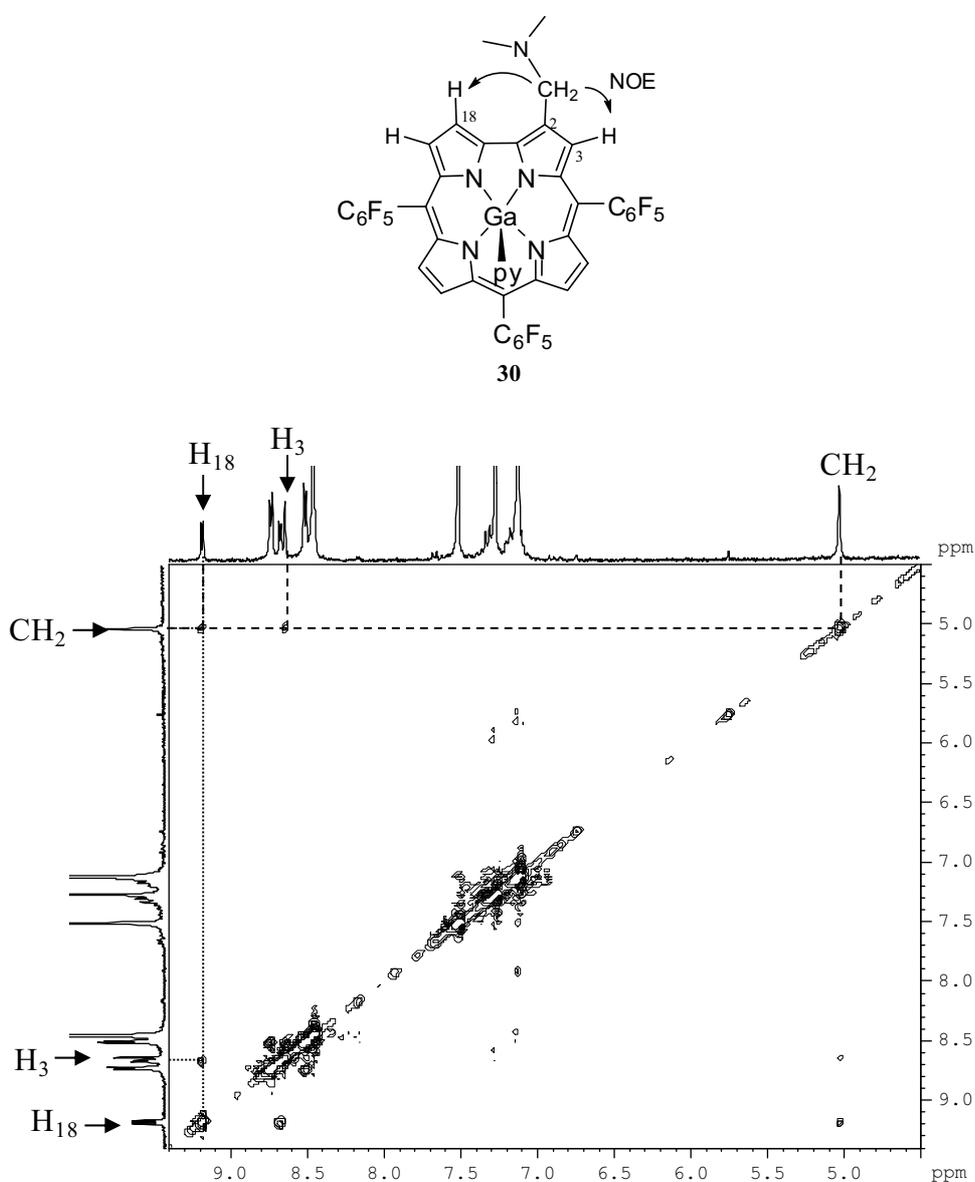


Figura 20 – Espectro NOESY do composto **30**

Em relação ao derivado aminado **31** o espectro de RMN de ^1H apresentou, na zona aromática, seis dupletos a δ 9,07, 8,74, 8,66, 8,62, 8,52 e 8,48 ppm e um singuleto δ 8,99 ppm, correspondentes à ressonância de sete prótons β -pirrólicos. Note-se que este espectro apresentou um perfil semelhante ao do dímero **14**. Na zona alifática, tal como no derivado **30**, observaram-se dois singuletos a δ 4,03 e 2,09 ppm, aos quais foram identificados como sendo devidos à ressonância dos prótons CH_2 e CH_3 , respectivamente.

Neste caso, o espectro de HMBC (Figura 21) mostrou-se muito útil para o assinalamento inequívoco dos sinais. Neste espectro, verificou-se correlação a longa distância entre o sinal do CH_2 (δ 4,03 ppm) com o sinal a δ 45,3 ppm, típico de carbonos alifáticos, ao qual foi atribuída a ressonância dos grupos metilo e ainda com o sinal a δ 120,2 ppm, identificado como pertencendo à ressonância do C-2. Observaram-se ainda correlações com os sinais a δ 134,7 ppm e δ 139,4 ppm, identificados como as ressonâncias dos carbonos C-1 e C-4, que por sua vez também se correlacionaram com o sinal do H-2.

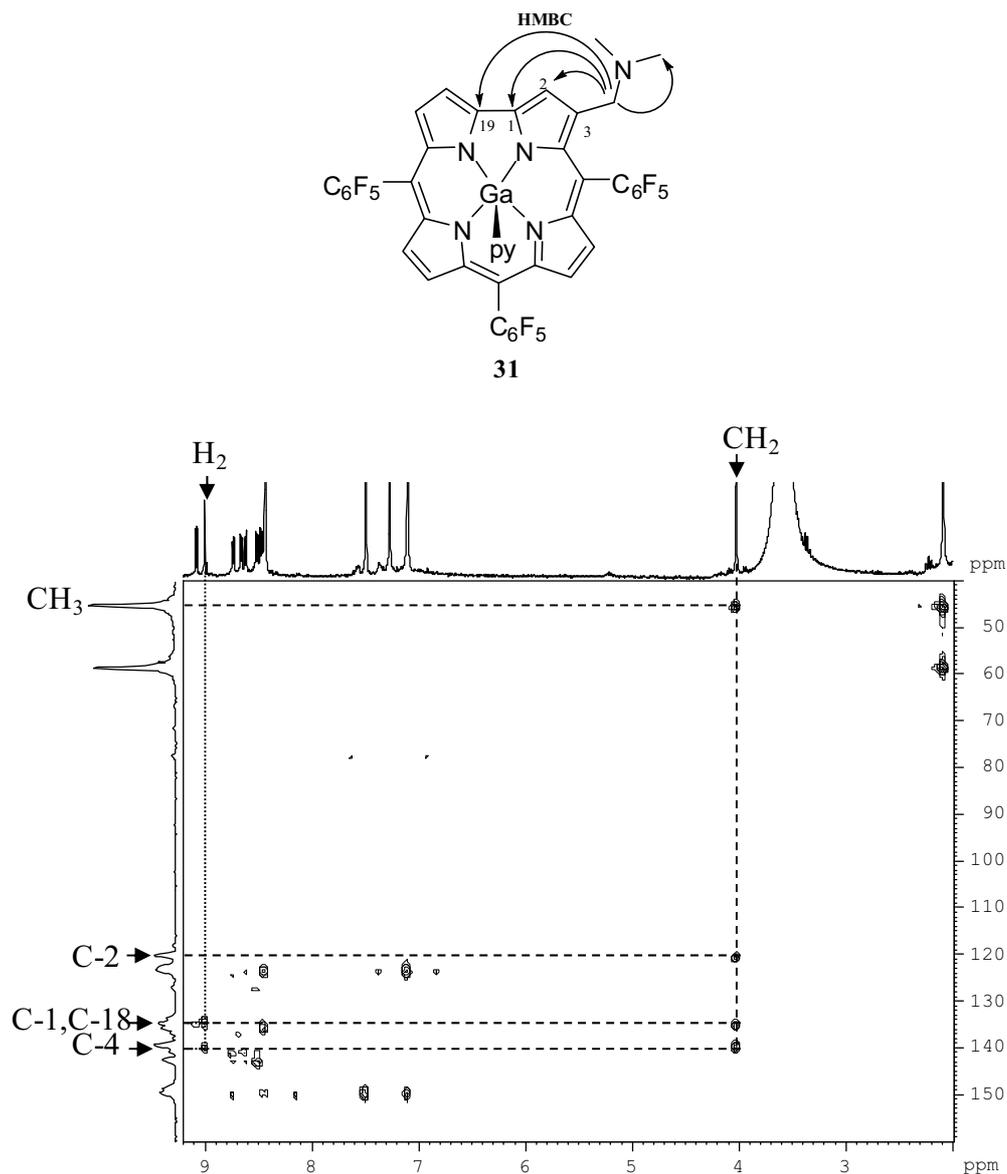


Figura 21 - Espectro HMBC do composto **31**

No caso das díades porfirina-corrol **33** e **34**, o perfil dos seus espectros de absorção é igual entre si (Figura 22), no entanto sofreu alterações, comparativamente com o do corrol precursor. Nestes casos, a banda Soret a 423 nm apresentou-se mais larga e surgiu uma nova banda Q a 532 nm, devido à presença do macrociclo porfirínico.

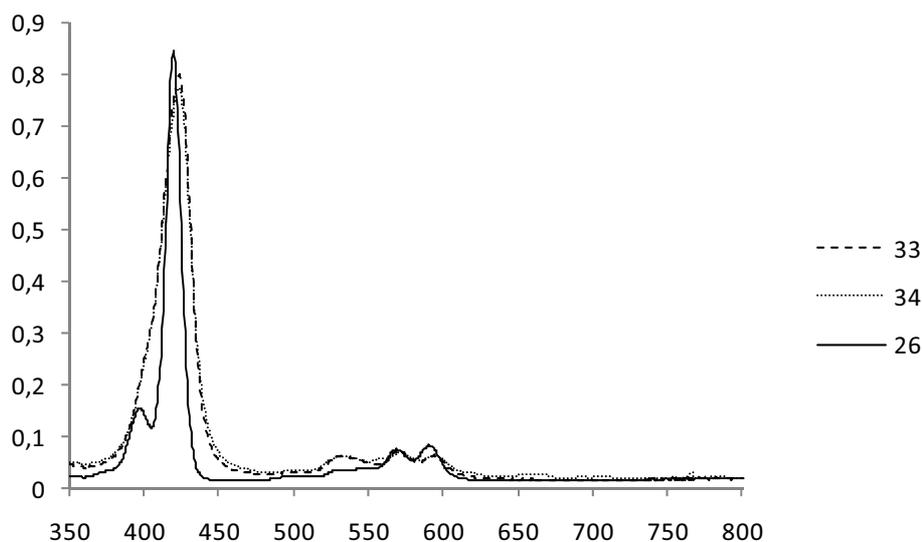


Figura 22 – Espectros de absorção dos compostos **33**, **34** e **26**

Os espectros de RMN de ^1H das díades **33** e **34** (Figura 23) apresentaram-se mais complexos que os correspondentes derivados aminados **30** e **31**, devido à presença em cada composto de dois núcleos tetrapirrólicos. Nestes espectros observou-se que o perfil da unidade corrólica nas díades era ligeiramente diferente, quando comparado com o correspondente derivado aminado.

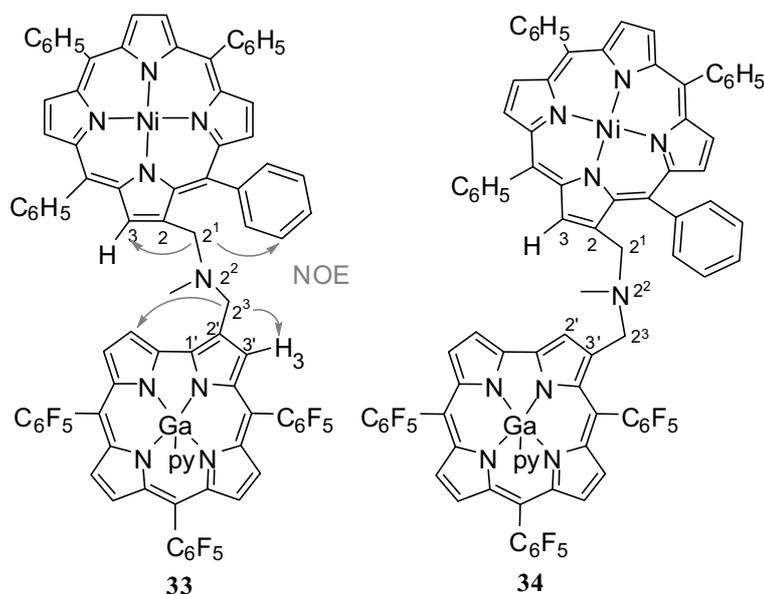


Figura 23 – Estruturas das díades **33** e **34** e efeitos NOE observados na díade **33**

O espectro de RMN de ^1H da díade **33** apresentou na zona aromática vários sinais relativos aos prótons β -pirrólicos das duas unidades tetrapirrólicas, dos quais se salientam: o singuleto a δ 9,01 ppm referente à ressonância do próton H-3 da porfirina, o duplete a δ 8,90 ppm correspondente à ressonância do próton H-18' da unidade corrólica e o singuleto a δ 8,62 ppm relativo à ressonância do próton H-3' também da unidade corrólica. Na zona alifática apresentou três sinais a δ 5,24, 4,28 e 2,03 ppm correspondentes às ressonâncias dos prótons CH_2 e às dos prótons do grupo metilo.

A substituição do carbono C-2 da unidade corrólica pelo derivado porfirínico ficou, mais uma vez, comprovada pelo espectro de NOESY. Neste espectro observaram-se efeitos NOE entre o singuleto a δ 5,24 ppm correspondente à ressonância dos prótons CH_2 -2³ e os sinais correspondentes a H-3' e a H-18' do macrociclo corrólico. Da mesma forma, observaram-se efeitos espaciais entre CH_2 -2¹ e os sinais correspondentes a H-3' e HPh_{meta} do macrociclo porfirínico. O assinalamento dos restantes sinais foi efectuado por analogia com o derivado aminado **30** e pelos estudos de RMN bidimensionais.

O espectro de RMN de ^1H do composto **34** apresentou na zona aromática um singuleto a δ 9,18 ppm, que corresponde a ressonância do próton H-3 da unidade porfirínica e vários sinais, dos quais se destacaram o duplete a δ 8,94 ppm relativo à ressonância do próton H-18' da unidade corrólica e o singuleto a δ 8,71 ppm correspondente à ressonância do próton H-2'. A zona alifática do espectro apresentou ainda três singuletos a δ 4,95, 3,89 e 2,03 ppm relativos às ressonâncias dos prótons CH_2 e do grupo metilo, respectivamente.

Nesta díade as ressonâncias relativas aos prótons H-18' e H-2' encontram-se desviadas para campos mais altos (em relação, aos desvios químicos apresentados num núcleo corrólico não substituído), o que poderá sugerir uma conformação tal, em que a unidade porfirínica esteja a escudar os prótons H-18 e H-17 da unidade bipirrólica do corrol.

O assinalamento dos restantes sinais também foi efectuado por analogia com o derivado aminado **31** e pelos estudos de RMN bidimensionais.

Para os derivados aminados **30** e **31** foram ainda efectuados estudos de espectrometria de massa, em colaboração com a Prof. Dra M. Graça Santana Marques do

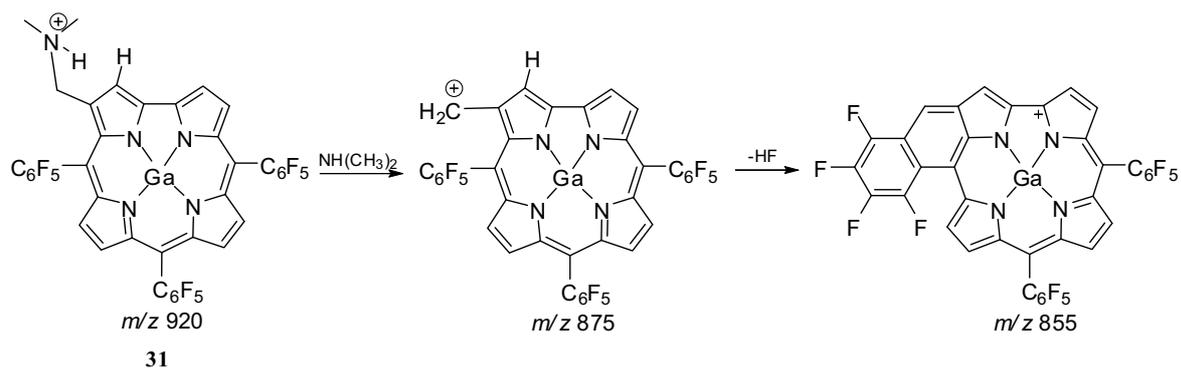
grupo de espectrometria de massa do Departamento de Química da Universidade de Aveiro. Nestes estudos foram usadas três fontes de ionização, o Electrospray, o MALDI e o Ion trap, porém no âmbito deste trabalho apenas se fará uma breve análise dos dados recolhidos.

Os espectros de massa em MALDI dos compostos **30** e **31**, obtidos sob as mesmas condições experimentais foram similares. Ambos apresentaram o sinal a m/z 920 correspondente a $[(M-Py)+H]^+$, com baixa abundância relativa e um pico a m/z 875 bastante abundante.

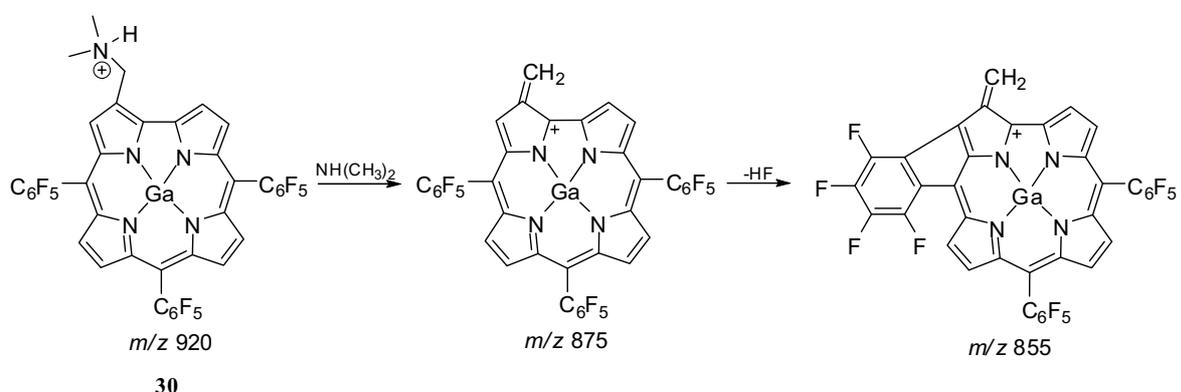
Pela análise dos espectros de massa, verificou-se que o sinal a m/z 875, correspondia a um ião fragmento, com perda de 45 Th, o que sugere a saída de $NH(CH_3)_2$. De modo, a confirmar este ião fragmento foram efectuados estudos de massa Tandem (MS/MS) dos iões a m/z 920 e a m/z 875.

Os espectros MS/MS do ião m/z 920 dos dois compostos não apresentaram nenhuma diferença significativa observando-se apenas o sinal a m/z 875, correspondente à perda de dimetilamina $NH(CH_3)_2$. No entanto, os espectros MS/MS do ião m/z 875 obtidos sob as mesmas condições experimentais já permitiram a distinção dos dois isómeros aminados **30** e **31**. Para o composto **30**, o ião fragmento mais abundante é o ião a m/z 855, que corresponde à perda de uma molécula HF, enquanto que para o composto **31**, o ião precursor permanece sensivelmente intacto, com o ião a m/z 855 a surgir em pequena abundância.

Este comportamento pode ser justificado pela formação de uma espécie com um anel de seis ligações para o derivado **31** (Esquema 34) e a formação de uma espécie com um anel de cinco ligações para o derivado **30** (Esquema 35). A formação de anéis de cinco ligações por perdas sucessivas de HF, já foi estudada, no caso de porfirinas, clorinas^{60,61} e corróis (capítulo 3).



Esquema 34



Esquema 35

2.3.3 Reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino

A formação dos derivados aminados **30** e **31** e das díades porfirina-corrol **33** e **34** levou ao estudo da mesma reacção, mas agora na presença do correspondente corrol livre, o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol. Tendo em conta, as condições reaccionais adoptadas na reacção do complexo de gálio(III) **26** com ileto de azometino, decidiu-se efectuar a reacção do corrol **1** usando essas condições.

Desta forma, a uma solução de *N*-metilglicina (1 equiv.) e paraformaldeído (1 equiv.) em tolueno seco (0,5 mL) adicionou-se 1 equivalente de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol **1**. Após 2 horas de reacção o TLC de controlo da mistura reaccional revelou para além de uma pequena quantidade de corrol de partida, uma

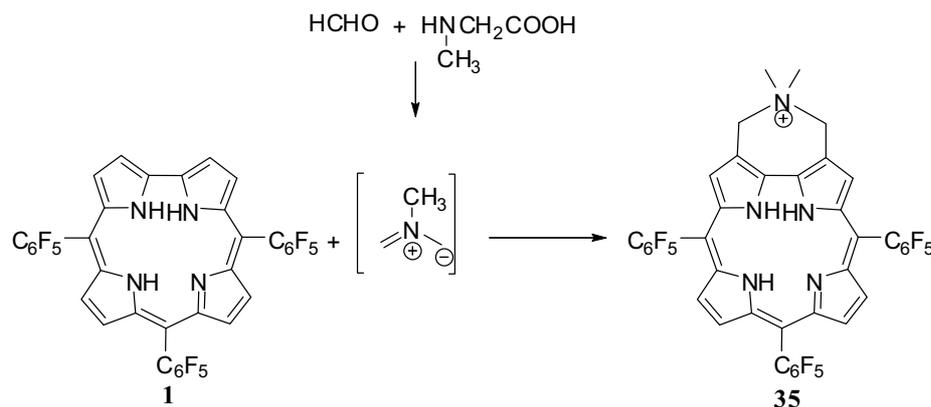
mistura complexa de produtos. Assim, optou-se por dar a reacção como terminada e testar novas condições.

Sabendo que as reacções de cicloadição 1,3-dipolar das porfirinas com iletos de azometino são efectuadas usando uma proporção de 2 equivalentes de sarcosina e 5 equivalentes de paraformaldeído, numa solução de tolueno a refluxo,^{43,44} decidiu-se realizar a reacção com o corrol **1** nestas condições, mantendo o mesmo volume de tolueno.

A uma solução de *N*-metilglicina (2 equiv.) e paraformaldeído (5 equiv.) em tolueno seco (0,5 mL) adicionou-se 1 equivalente de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol **1**. A mistura reaccional foi mantida a refluxo, em agitação e sob atmosfera de azoto. O TLC controlo da mistura reaccional revelou após 2 horas, corrol de partida e a presença de um composto de cor verde bastante polar e de vários compostos minoritários. Optou-se por prolongar o aquecimento mais três horas, de forma a consumir a totalidade do corrol de partida. Após 5 horas de reacção, o TLC controlo revelou o consumo total de corrol de partida e a presença de um composto verde como produto maioritário e ainda vários produtos minoritários. A reacção foi dada como terminada, procedeu-se à separação e purificação dos constituintes da mistura reaccional por cromatografia preparativa de camada fina. Devido à complexidade demonstrada nas placas de cromatografia preparativa, apenas se isolou e caracterizou o composto polar de cor verde.

O espectro de RMN de ¹H deste composto apresentou apenas cinco sinais; três na zona aromática, correspondentes à ressonância de protões β-pirrólicos e dois na zona alifática correspondentes à ressonância de dez protões alifáticos.

O espectro de massa apresentou o ião molecular a *m/z* 866 que não corresponde à massa do cicloadducto 1,3-dipolar (*m/z* 853) ou à massa de um derivado aminado análogo a **30** ou a **31**. Atendendo aos espectros de RMN e massa, o novo derivado sugere a adição de uma molécula de ileto de azometino e de um grupo metilo à unidade corrólica. Foram efectuados estudos de espectrometria de massa Tandem e de espectroscopia de ressonância magnética nuclear mono e bidimensional que permitiram atribuir-lhe a estrutura peculiar **35** (Esquema 36). Este composto foi obtido com um rendimento de 19%.



Esquema 36

Dada a estrutura particular do composto **35**, decidiu-se proceder ao estudo de condições reaccionais, que permitissem obtê-lo em maior rendimento. Optou-se por investigar o efeito do volume de solvente na reacção e do número de equivalentes de sarcosina e de paraformaldeído. Assim o novo estudo foi iniciado usando um volume de 3 mL de tolueno, mantendo as restantes condições reaccionais: proporção de sarcosina e paraformaldeído (2:5), tolueno a refluxo e tempo de reacção de 5 horas. Nestas condições (entrada 2, Tabela 5) o composto **35** foi obtido com um rendimento de 57%. No entanto, uma vez que as placas preparativas de cromatografia fina continuavam a revelar a formação de muitos compostos minoritários, optou-se por diminuir o excesso de equivalentes de sarcosina e paraformaldeído (1:3), mantendo o volume de 3 mL e as restantes condições reaccionais. Nestas condições, o composto **35** foi obtido apenas com 38% de rendimento (entrada 3, Tabela 5), indicando que a diminuição do número de equivalentes de sarcosina e paraformaldeído, não era favorável, à formação do composto **35**. Assim estabeleceu-se que a proporção ideal de sarcosina e paraformaldeído, para efectuar a reacção seria de 2:5.

Como se pode ver na Tabela 5, o aumento do volume de tolueno levou a um aumento considerável no rendimento do composto **35**. Optou-se então por efectuar a reacção num volume ainda maior de solvente, usando 6 mL e 9 mL de tolueno (entrada 4, entrada 5, Tabela 5). Nestas condições, após as cinco horas de reacção, precipitou-se directamente do balão reaccional o composto **35** com hexano, procedendo-se de seguida à sua filtração e posterior purificação. Nestes casos, o composto **35** foi obtido com rendimento ainda maior, 70% e 73%, respectivamente.

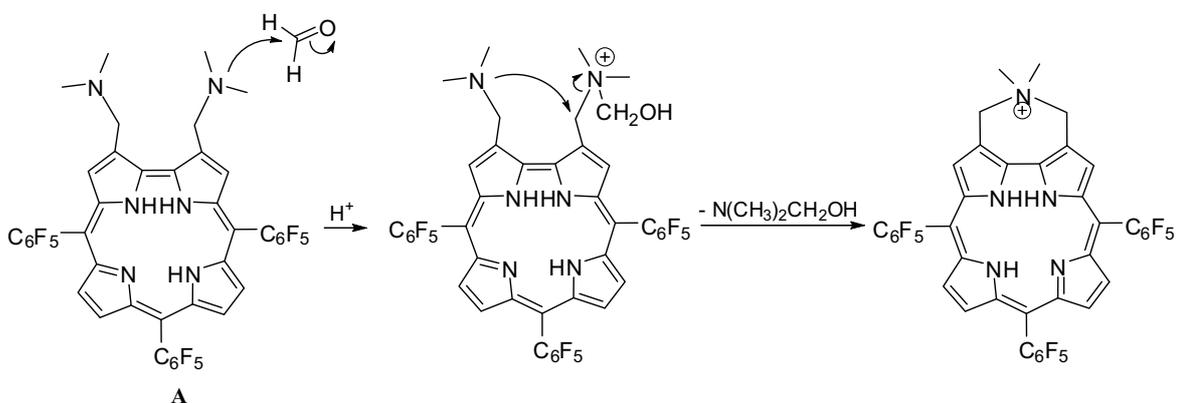
Tabela 5 – Condições reaccionais usadas na reacção do corrol **1**, durante 5 horas, a 120°C

Entradas	V (tolueno) mL	nº equiv. Sarcosina	nº equiv. HCHO	η 35 (%)
1	0,5	2	5	19
2	3	2	5	57
3	3	1	3	38
4	6	2	5	70
5	9	2	5	73

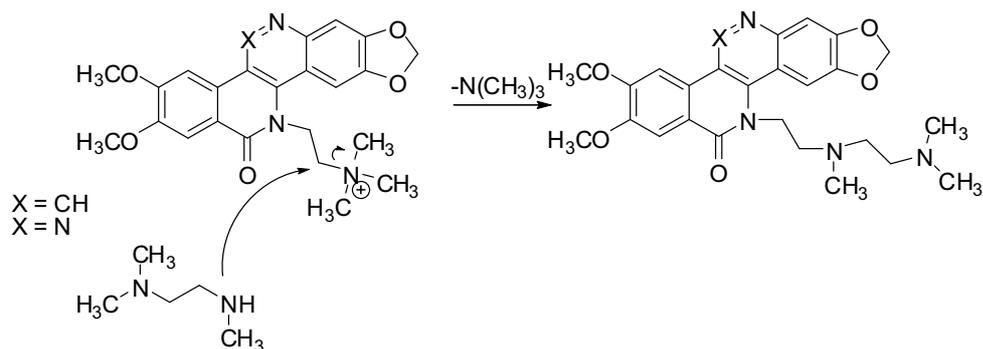
Alguns produtos minoritários foram isolados e efectuados os seus espectros de massa, que revelaram iões moleculares a m/z 1617, a que correspondem espécies diméricas com duas ligações metilénicas.

A elucidação estrutural do composto **35** levantou problemas, nomeadamente no seu mecanismo de formação.

Uma das propostas mais plausíveis e tendo em conta a formação das aminas **30** e **31** propõe-se que o intermediário chave seja um composto diaminado. Nesta proposta, ocorre a formação de um sal de amónio quartenário, pelo ataque de um dos terminais N,N' -dimetilaminometilo a uma molécula de paraformaldeído, facilitando o ataque intramolecular do azoto ao carbono electrofilico, de acordo com o Esquema 37. Uma reacção do mesmo tipo está representada no Esquema 38.⁶²



Esquema 37



Esquema 38

No entanto algumas questões ficam em aberto, tais como as de não se terem isolado as correspondentes aminas **30** e **31** nem o intermediário diaminado **A**.

2.3.3.1 Caracterização Estrutural

O espectro de absorção do composto **35** apresenta a banda Soret a λ 426 nm e as bandas Q a λ 594 e 623 nm. Todas as bandas sofreram um desvio batocrômico de cerca de 20 nm, relativamente ao corrol **1**.

A estrutura atribuída ao derivado **35** está suportada por estudos mono e bidimensionais de RMN.

O espectro de RMN de ^1H do composto **35** (Figura 24) apresentou um espectro bastante simples, na zona aromática exibiu um singuleto a δ 7,75 ppm e dois dupletos a δ 8,51 e 8,35 ppm e na zona alifática um sinal largo a δ 5,10 - 5,08 ppm e um singuleto a δ 1,15 ppm.

Analisando o espectro de RMN, os dupletos a δ 8,51 e 8,35 ppm foram identificados com base na constante de acoplamento apresentada J 4,4 Hz, como pertencentes às ressonâncias dos prótons β -pirrólicos H-7,13 e H-8,12, o singuleto a δ 7,75 ppm correspondente à integração de dois prótons β -pirrólicos, sugeriu uma substituição em C-2 e em C-18 da unidade bipirrólica, sendo necessário estudos de RMN bidimensionais para o correcto assinalamento deste singuleto. O sinal largo a δ 5,10 - 5,08 ppm, mostrou-se um pouco controverso, no entanto, atendendo à sua integração sugeriu a presença de prótons

do tipo CH₂, ao singuleto a δ 1,15 ppm, cuja integração evidenciou seis protões, atribuiu-se as ressonâncias dos protões dos dois grupos metilo.

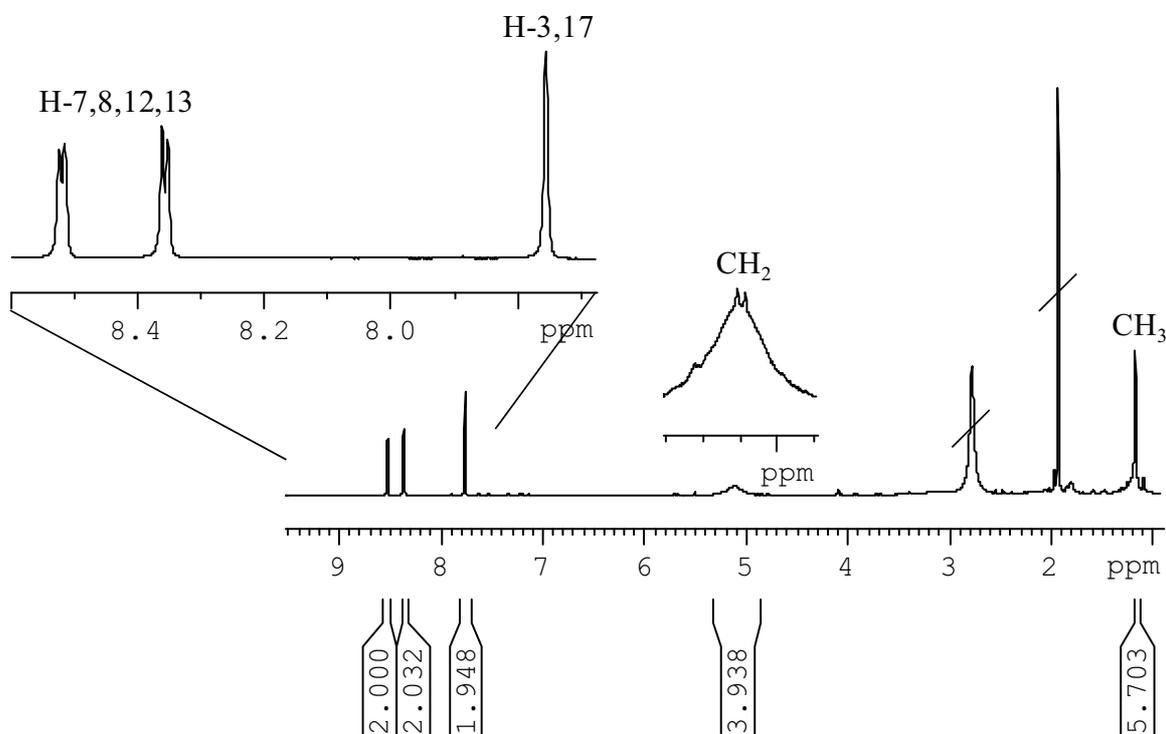


Figura 24 – Espectro de RMN de ¹H do derivado 35

Como já foi referido, os estudos de RMN bidimensionais, nomeadamente o HMBC foram de extrema importância para a correcta elucidação estrutural. O espectro de HMBC (Figura 25) apresentou correlação entre o singuleto a δ 7,75 ppm com: os sinais a δ 69,4 e 69,3 ppm correspondentes à ressonância de carbonos CH₂; com os sinais a δ 119,4 e 119,1 ppm que são típicos das ressonâncias de carbonos C-2,18 e ainda com os sinais a δ 134,2 e 140,8 ppm correspondentes à ressonância de carbonos quaternários. Desta forma, e atendendo à correlação a longa distância observada entre este singuleto e os carbonos C-2 e C-18, atribuiu-se ao singuleto a δ 7,75 ppm, as ressonâncias dos protões H-3 e H-17 e confirmou-se, por intermédio de um espectro de HSQC, que o singuleto largo a δ 5,10 - 5,08 ppm se refere à ressonância de quatro protões alifáticos do tipo CH₂.

Foram ainda efectuados estudos a baixa temperatura que permitiram distinguir os dois protões do mesmo carbono CH₂. Neste caso, o espectro de RMN de ¹H, apresentou

dois sinais a δ 6,08 e 5,50 ppm, cujas integrações confirmaram a ressonância de dois prótons do tipo CH₂.

Assim foi possível assinalar inequivocamente os sinais correspondentes aos prótons e aos carbonos dos grupos CH₂, e dos grupos metilo e confirmar que as posições β -pirrólicas C-2 e C-18 se encontram substituídas.

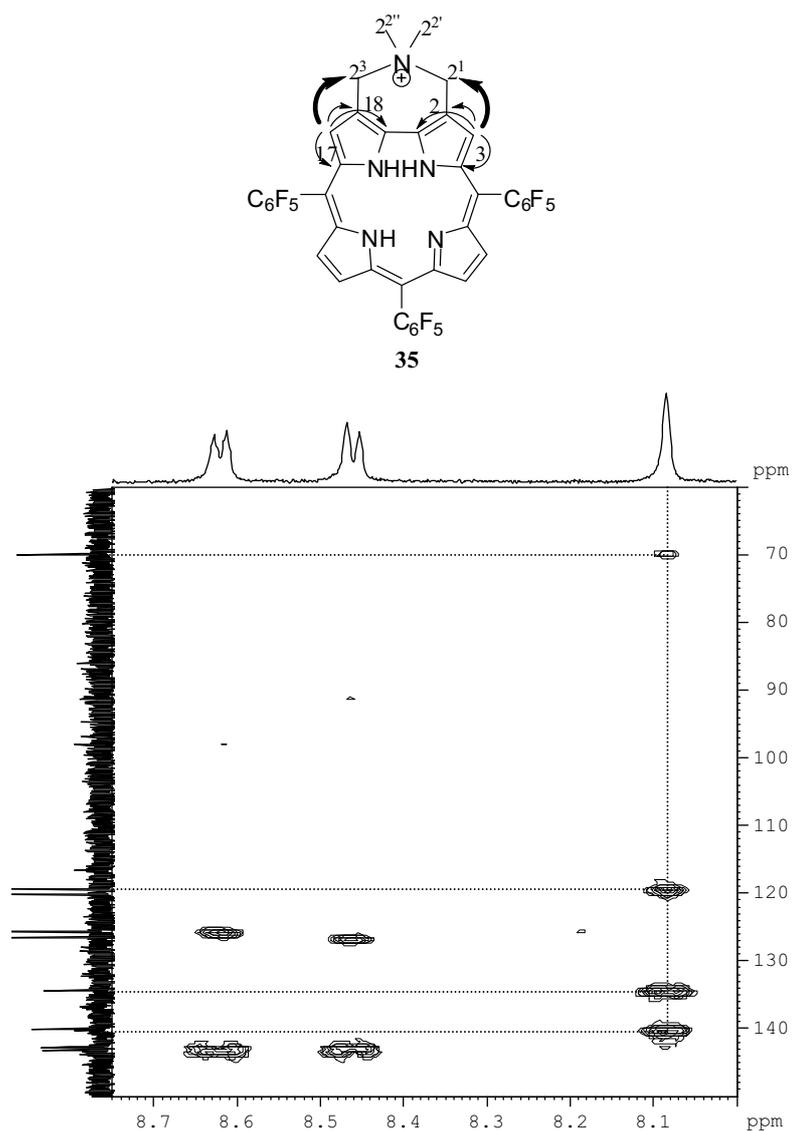


Figura 25 – Espectro de HMBC do composto **35**

Dada a estrutura peculiar do composto **35** também foi estudado o seu padrão de fragmentação, em colaboração com o grupo de espectrometria de massa do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, permitindo confirmar a estrutura proposta para o

composto **35**. Nestes estudos foi usado o Electrospray como fonte de ionização e os analisadores TOF e quadrupolo para efectuar os estudos de MS/MS.

O espectro do ião produto do derivado **35**, patente na Figura 26 apresentou vários sinais, dos quais se destacou o ião m/z 823 com maior abundância relativa.

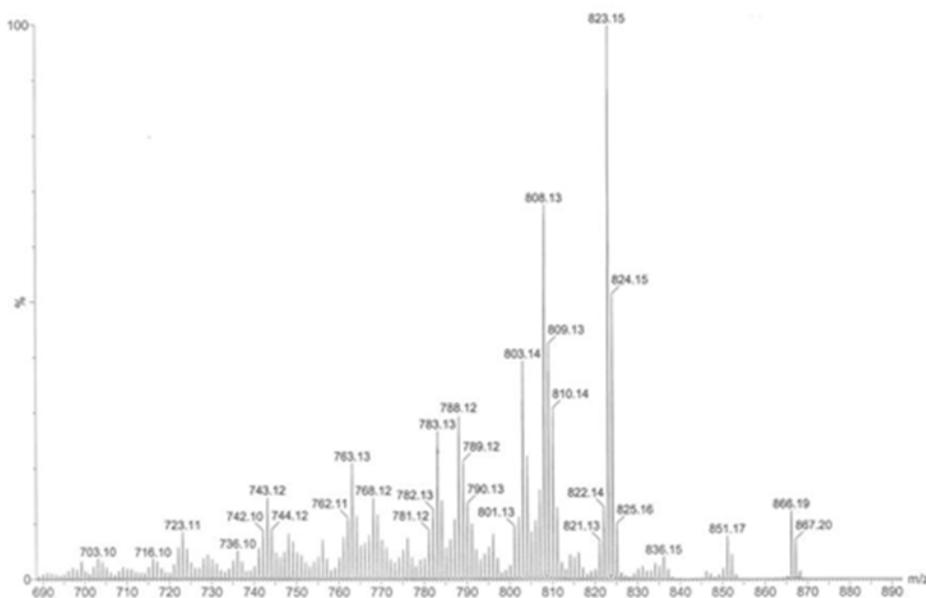
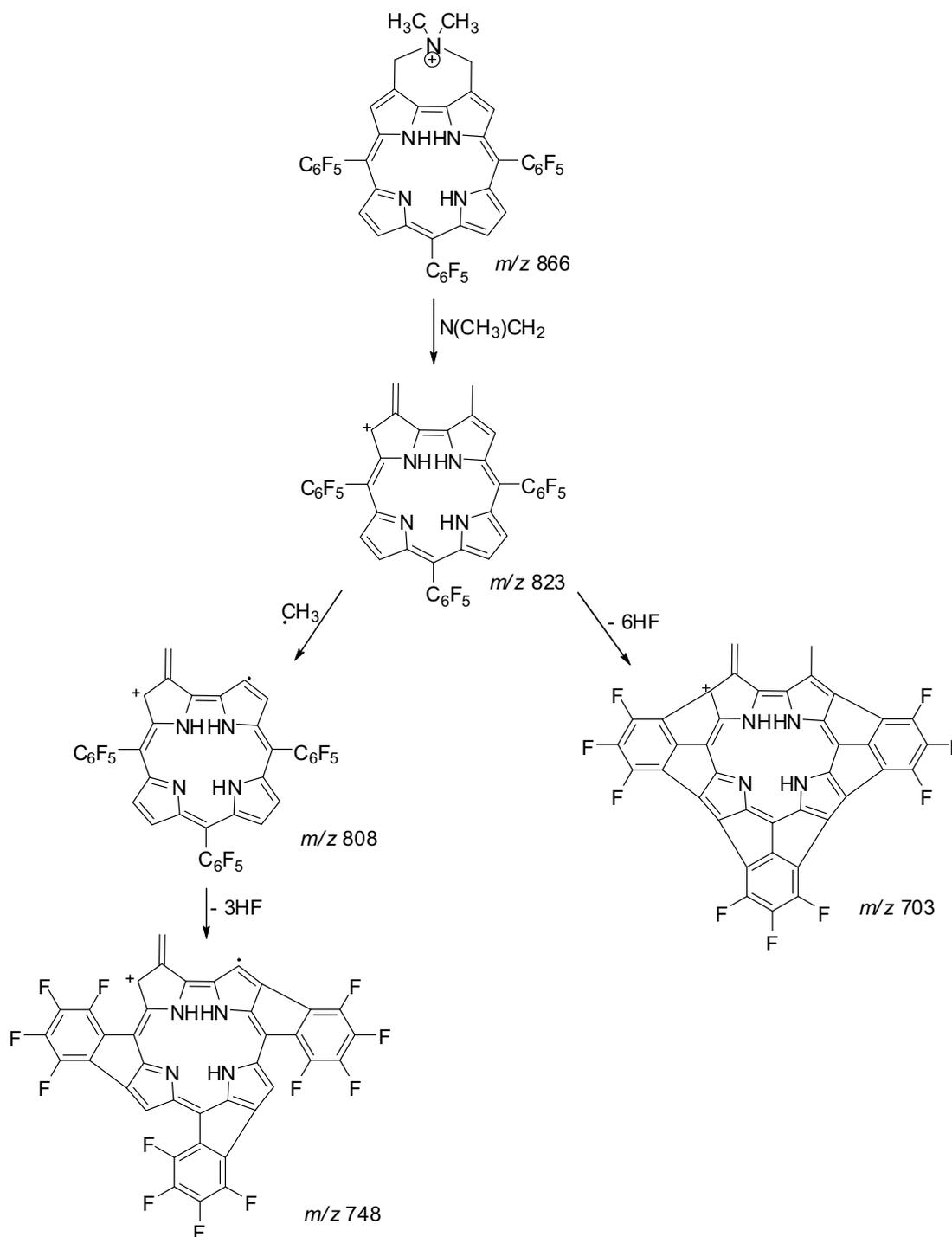


Figura 26 – Espectro do ião produto do derivado **35**

A análise dos vários iões produto evidenciou duas vias de fragmentação possíveis para o composto **35**.

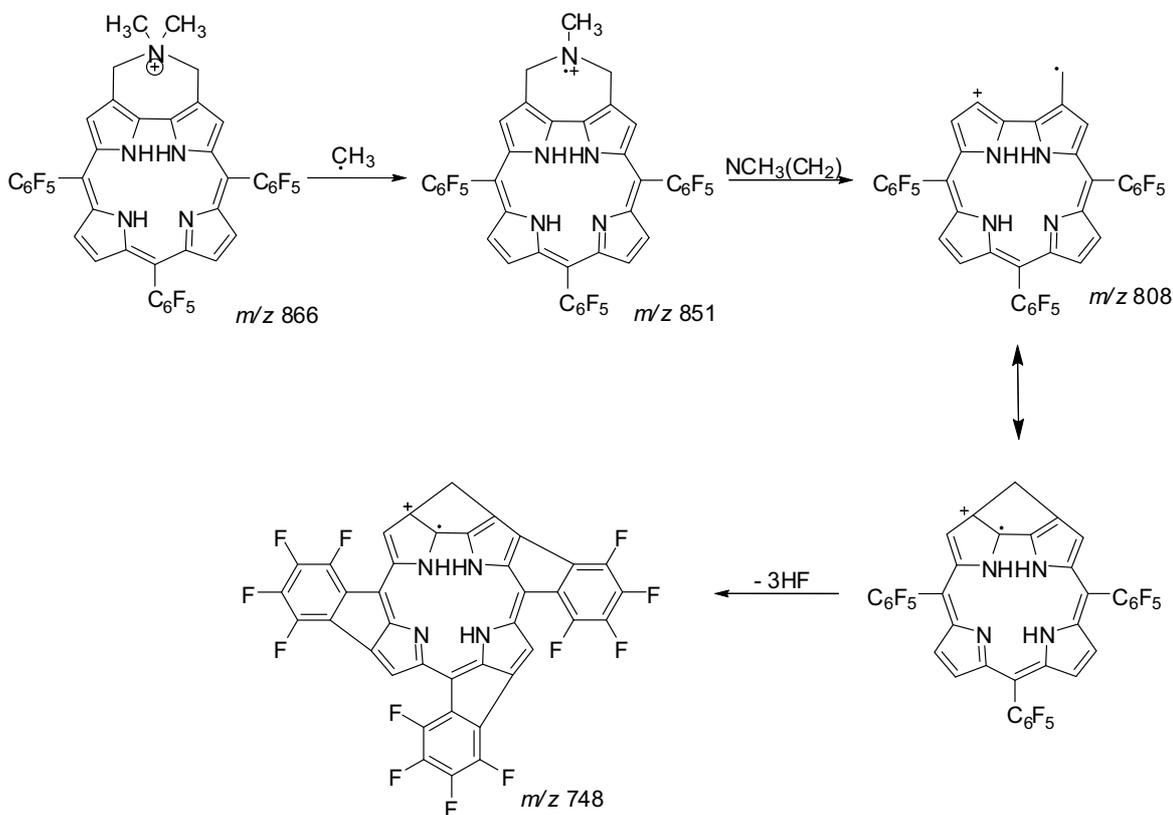
Na primeira via de fragmentação proposta ocorre eliminação de $N(CH_3)CH_2$, originando o sinal a m/z 823, que após a perda de um radical metilo CH_3^\bullet sofre eliminação de uma, duas e três moléculas de HF (m/z 788, 768 e 748) ou alternativamente, logo após a formação do ião a m/z 823, ocorre a perda de uma a seis moléculas de HF, dando origem aos iões m/z 803, 783, 763, 743, 723 e 703, respectivamente. Estas duas alternativas foram corroboradas pelo espectro MS/MS/MS do ião a m/z 823, o qual apresentou todos os iões produto referidos e apresentados no Esquema 39.



Esquema 39

A segunda via de fragmentação proposta baseia-se no sinal a m/z 851 apresentado pelo espectro MS/MS do ião m/z 866, relativo à razão m/z do composto **35**. Nesta via ocorre a perda de um radical metilo CH_3^\bullet dando origem ao sinal a m/z 851, seguindo-se a

eliminação de $N(CH_3)CH_2$ originando o sinal a m/z 808. Este por sua vez, sofre a perda de uma a três moléculas de HF, dando origem aos iões m/z 788, 768 e 748. No Esquema 40 apresentam-se as estruturas prováveis para os iões resultantes da fragmentação do ião m/z 866, por esta via.



Esquema 40

Estas vias de fragmentação propostas reforçam a estrutura apresentada para o composto **35**.

2.3.4 Reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com iletos de azometino na presença de álcoois

Sabendo que o rendimento dos cicloaductos 1,3-dipolares é favorecido em solventes próticos como o metanol, decidiu-se efectuar a reacção em metanol.⁶³

Desta forma a uma solução de 5 equivalentes de paraformaldeído e 2 equivalentes de sarcosina em metanol seco, adicionou-se o corrol **1**. A mistura reaccional foi sujeita a

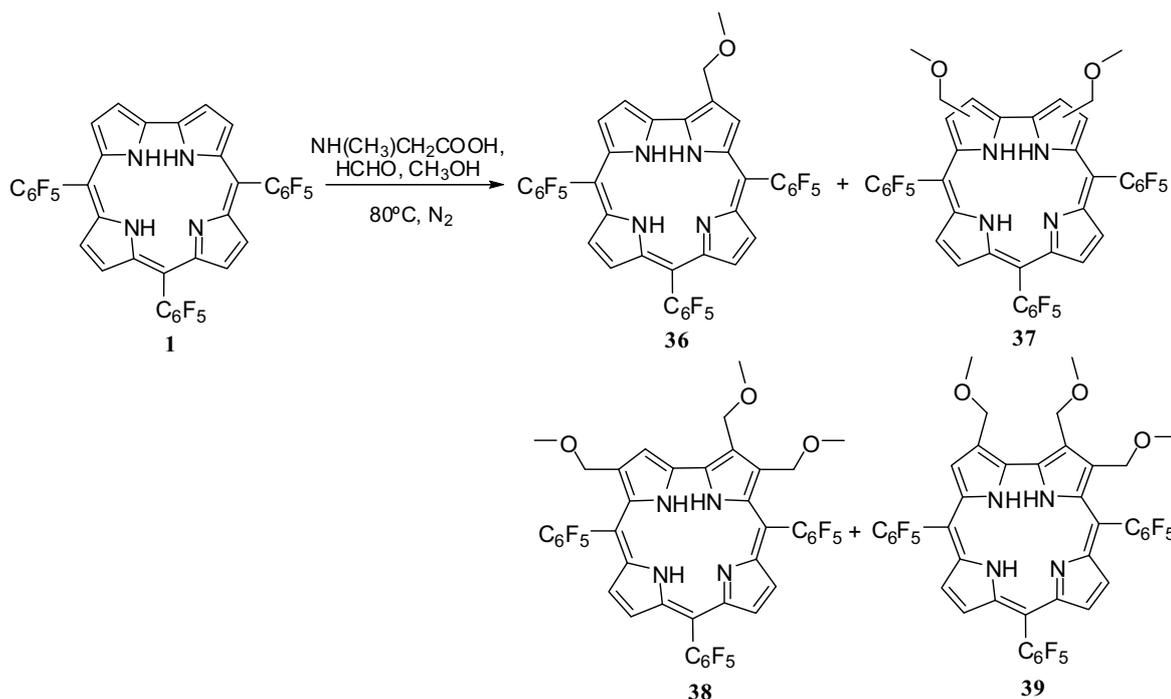
aquecimento num banho de óleo a 80°C, durante 5 horas. Após este período de tempo, observou-se por TLC, a formação de vários compostos roxos e uma mistura de compostos verdes mais polares. Foi efectuado um TLC comparativo para aferir se o composto **35** se encontrava presente na referida mistura, no entanto, o TLC confirmou que este não se tinha formado e que era mais apolar que os novos compostos verdes formados na reacção em metanol. A reacção foi dada como terminada e procedeu-se à separação dos produtos roxos formados por cromatografia preparativa. Foram isolados quatro novos compostos de cor roxa, tendo-se recuperado 42% de corrol de partida (Esquema 41).

Os espectros de massa dos novos compostos não evidenciaram nenhum sinal a m/z 851 correspondente à adição de uma molécula de ileto de azometino ao corrol, mas sim iões moleculares a m/z 840, m/z 884 e a m/z 928.

O espectro de massa do composto com menor R_f do que o corrol de partida revelou o ião molecular a m/z 840, que corresponde à introdução de um grupo metoximetilo numa das unidades pirrólicas. O espectro de RMN de ^1H comprovou a entrada deste grupo no carbono C-2 do corrol, observando-se sinais na zona alifática correspondentes aos protões CH_2 e CH_3 e na zona aromática sinais correspondentes à ressonância de sete protões β -pirrólicos. Os espectros de RMN e de massa estão de acordo com a estrutura proposta para o derivado **36**, que foi isolado com rendimento de 5%.

O espectro de massa do segundo composto evidenciou o ião molecular a m/z 884, a que corresponde um corrol di-substituído com dois grupos metoximetilo. No entanto, o espectro de RMN de ^1H sugere uma mistura de compostos di-substituídos, não tendo sido possível separar os três isómeros possíveis. A mistura **37** dos compostos di-substituídos foi obtida com 2% de rendimento.

Os espectros de massa do terceiro e quarto compostos apresentaram o ião molecular a m/z 928, que corresponde a corrols tri-substituídos com três grupos metoximetilo. O espectro de RMN de ^1H do terceiro composto não foi claro, mas sugeriu a estrutura **38** em que a introdução dos três grupos metoximetilo teria ocorrido nos carbonos C-2, C-3 e C-18. O espectro de RMN ^1H do quarto composto permitiu confirmar a substituição dos três grupos metoximetilo nos carbonos C-2, C-3 e C-17, sendo-lhe atribuída a estrutura **39**. Os derivados **38** e **39** foram isolados, respectivamente, com um rendimento de 3% e 5%.



Esquema 41

Este resultado revelou-se surpreendente. Ao invés da reacção de cicloadição 1,3-dipolar esperada com o ileto de azometino ocorre uma reacção de eterificação com o metanol.

Numa tentativa de obter o corrol tetra-substituído **40** (Figura 27), a reacção foi forçada, adicionando-se um maior número de equivalentes de sarcosina e paraformaldeído. Neste caso, usaram-se 4 equivalentes de sarcosina e 10 equivalentes de paraformaldeído, mantendo a temperatura e o tempo de reacção. Após 5 horas, a reacção foi terminada e o TLC controlo da mistura reaccional revelou a formação de dois compostos maioritários. Após a separação e purificação dos componentes da mistura reaccional, os compostos foram identificados por ordem decrescente de R_f . O composto de maior R_f correspondeu ao composto **38** já obtido anteriormente, agora com rendimento de 13%. O espectro de massa do outro produto apresentou o ião molecular a m/z 972 que corresponde à adição de quatro grupos metoximetilo. O espectro de RMN de 1H evidenciou uma molécula simétrica, apresentando apenas dois dupletos na zona aromática e quatro sinais correspondentes a prótons alifáticos. Assim este composto foi identificado como sendo o composto pretendido **40**, e foi isolado com um rendimento de 5%.

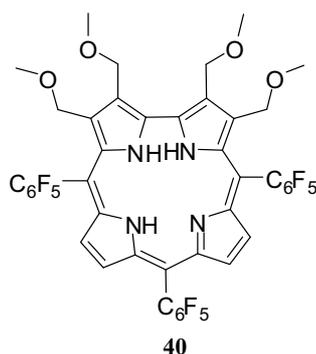


Figura 27 – 2,3,17,18-tetraquis(metoximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol **40**

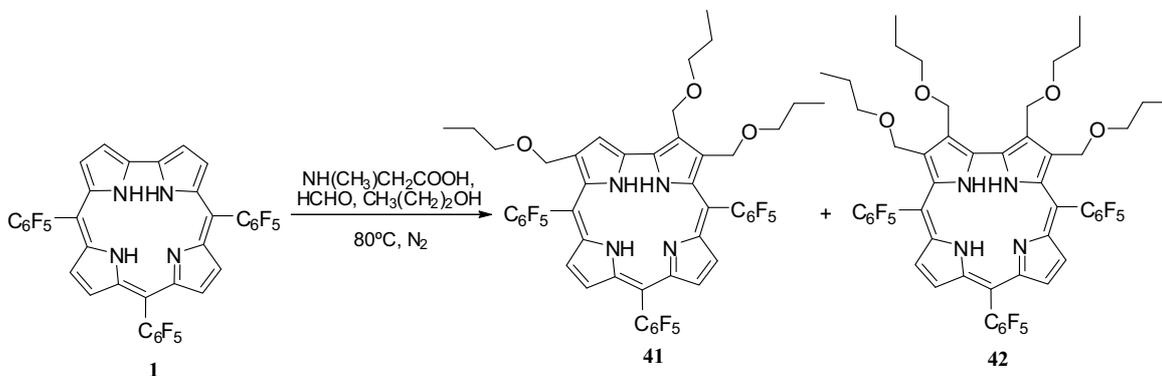
Para testar a versatilidade deste novo método de formação de éteres, decidiu-se realizar a mesma reacção com álcoois de cadeia carbonada maior, nomeadamente 1-propanol e 1-octanol.

A reacção usando 1-propanol como solvente foi efectuada, usando uma proporção de sarcosina e paraformaldeído de (2:5), seguindo o procedimento experimental anteriormente descrito. Após cinco horas de reacção, o TLC da mistura reaccional revelou a formação de dois novos compostos roxos e uma mistura de compostos verdes bastante polares. Os componentes da mistura reaccional foram separados e purificados por cromatografia em camada fina e caracterizados por ordem decrescente de R_f .

Assim, o espectro de massa do composto com maior R_f evidenciou o ião molecular a m/z 1012, a que corresponde um corrol tri-substituído com três grupos propoximetilo. O espectro de RMN de ^1H apresentou cinco sinais correspondentes à ressonância de cinco prótons β -pirrólicos e vários sinais na região alifática com diferente multiplicidade, confirmando a presença de três grupos propoximetilo. Tendo em conta estes dados, a este composto, que foi isolado com um rendimento de 10%, atribuiu-se a estrutura **41** (Esquema 42).

Da mesma forma, o espectro de massa do composto com menor R_f evidenciou o ião molecular a m/z 1084, a que corresponde um corrol tetra-substituído com quatro grupos propoximetilo. O espectro de RMN de ^1H evidenciou uma estrutura simétrica análoga ao do composto **40**, apresentando apenas dois dupletos correspondentes à ressonância de quatro prótons β -pirrólicos e a presença de sinais na região alifática, a que correspondem as ressonâncias dos prótons alifáticos dos grupos propoximetilo. Este composto, identificado com a estrutura **42**, foi obtido com um rendimento de 15%.

Tendo em vista a formação do composto tetra-substituído procurou-se forçar ainda mais a reacção, adicionando maior excesso de sarcosina e paraformaldeído, numa proporção de (4:10). Neste caso, e segundo as mesmas condições reaccionais, o composto **41** foi obtido com um rendimento de 4%, e o composto **42** com um rendimento de 40%.



Esquema 42

Quando se estendeu a reacção do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino ao 1-octanol, optou-se por utilizar o maior excesso de sarcosina: paraformaldeído (4:10), de modo a obter o maior número de substituições na unidade bipirrólica do corrol. Assim, a uma solução de paraformaldeído e sarcosina em 1-octanol, adicionou-se o corrol **1**. Após cinco horas de reacção, o TLC da mistura reaccional revelou uma pequena quantidade de corrol de partida e dois novos compostos roxos.

O espectro de massa do primeiro composto apresentou o ião molecular a m/z 1228, a que corresponde uma unidade corrólica substituída com três grupos octiloximetilo. De facto, o espectro de RMN de ^1H do composto de maior R_f apresentou na zona aromática dois dupletos e um singuleto entre δ 8,64 - 8,46 ppm, correspondentes à ressonância de cinco prótons β -pirrólicos e vários sinais na zona alifática, correspondentes às ressonâncias dos prótons da cadeia carbonada. Tendo em conta estes dados a este derivado foi-lhe atribuída a estrutura **43**, em que a introdução dos três grupos octiloximetilo ocorreu nas posições C-2, C-3 e C-18 (Figura 28). Este composto foi isolado com rendimento de 18%.

Por espectroscopia de RMN verificou-se que a segunda fracção correspondia a uma mistura de dois compostos, o composto tri-substituído **44** e o composto tetra-substituído **45** (Figura 28), cujas estruturas foram deduzidas por analogia aos compostos já descritos **41** e **42**. O espectro de massa desta mistura confirmou a presença de dois compostos, ao evidenciar dois iões moleculares a m/z 1222 e a 1364. O cálculo do rendimento foi

efectuado tendo em conta a massa da mistura obtida e a proporção apresentada no espectro de RMN. Assim os compostos **44** e **45** foram obtidos com rendimento de 16% e 29%, respectivamente.

Na tentativa de aumentar o rendimento do composto tetra-substituído **45**, efectuou-se a mesma reacção do corrol em 1-octanol, mas com maior excesso de sarcosina e paraformaldeído, numa proporção de 6:12. Nestas condições e mantendo as cinco horas de reacção e a temperatura de 80°C, o composto **45** foi obtido com um rendimento de 35%. Obtiveram-se ainda os compostos tri-substituídos **43** e **44**, com rendimentos de 10% e 13%, respectivamente.

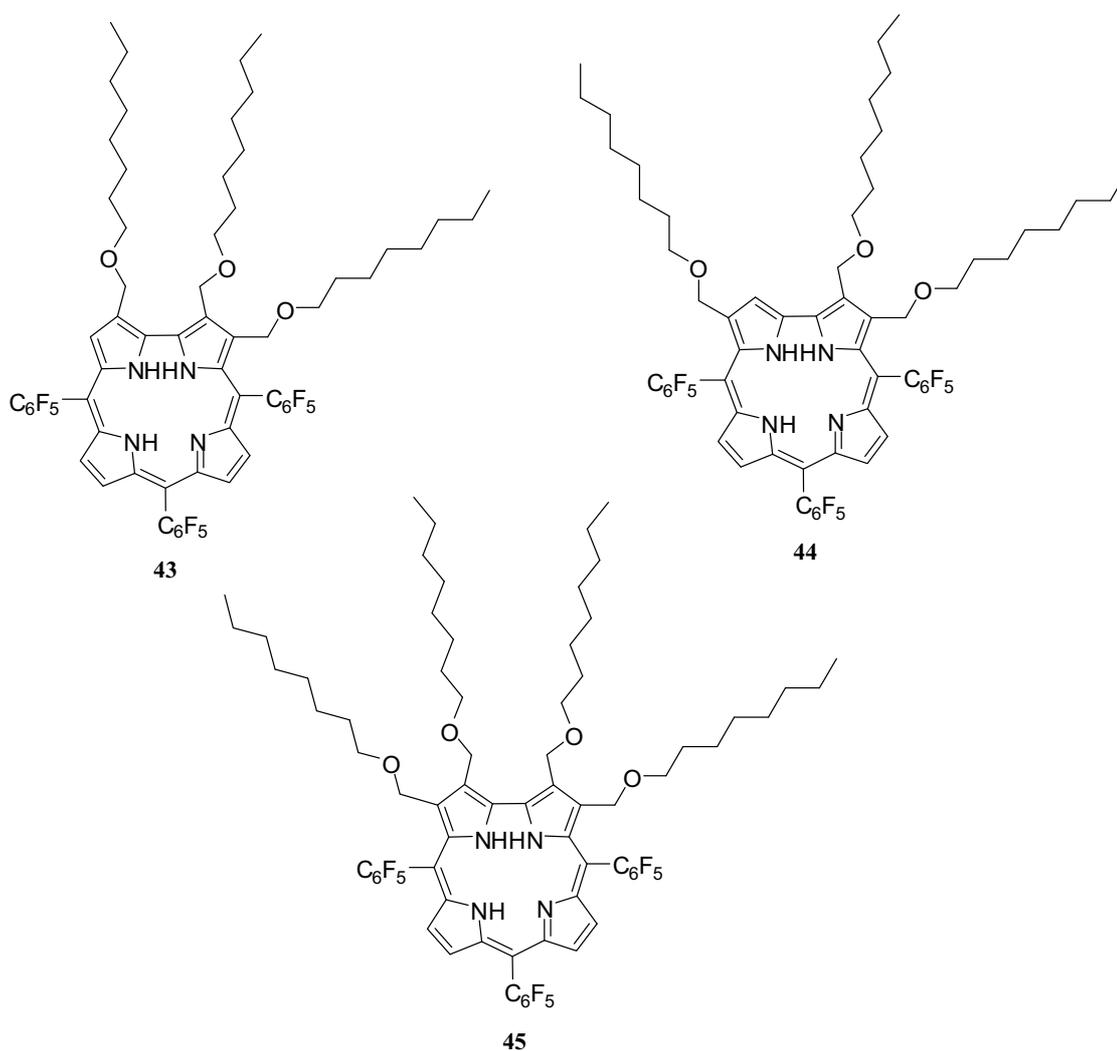
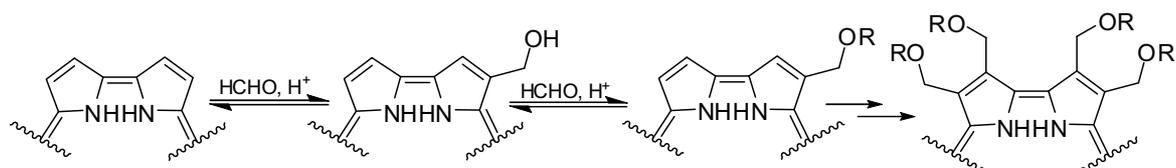


Figura 28 – Estrutura dos compostos obtidos na reacção em 1-octanol

2.3.4.1 Considerações Mecanísticas

Considerando os reagentes presentes no meio reaccional: corrol, paraformaldeído, *N*-metilglicina e álcool, e atendendo aos produtos eterificados que se obtêm, poderia considerar-se que neste processo estariam envolvidas reacções de substituição aromática electrofílica, seguindo-se reacções de eterificação promovidas pelas condições ácidas (Esquema 43).



Esquema 43

Assim, de forma a justificar o mecanismo e averiguar a possível participação da *N*-metilglicina na reacção, realizaram-se vários ensaios, onde apenas se substituiu a *N*-metilglicina por ácidos.

Para estes ensaios seleccionou-se o 1-propanol como solvente, atendendo ao rendimento do composto tetra-substituído bem como à facilidade de purificação dos produtos. Os ácidos escolhidos foram os ácidos: cítrico, acético, trifluoroacético e o *para*-toluenosulfónico (PTSA). Como se pode constatar na Tabela 6, apenas quando se usaram os ácidos acético e trifluoroacético se detectou e isolou o composto mono-substituído **46** (Figura 29). Na presença dos ácidos cítrico e PTSA não houve reacção.

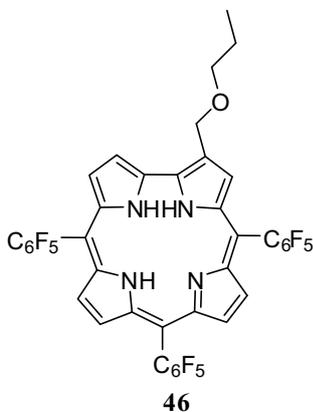
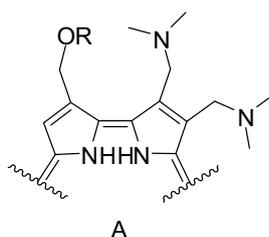
Figura 29 – 5,10,15-tris(pentafluorofenil)-2-propoximetilcorrol **46**

Tabela 6 – Rendimentos do composto **46** obtidos na presença de vários ácidos

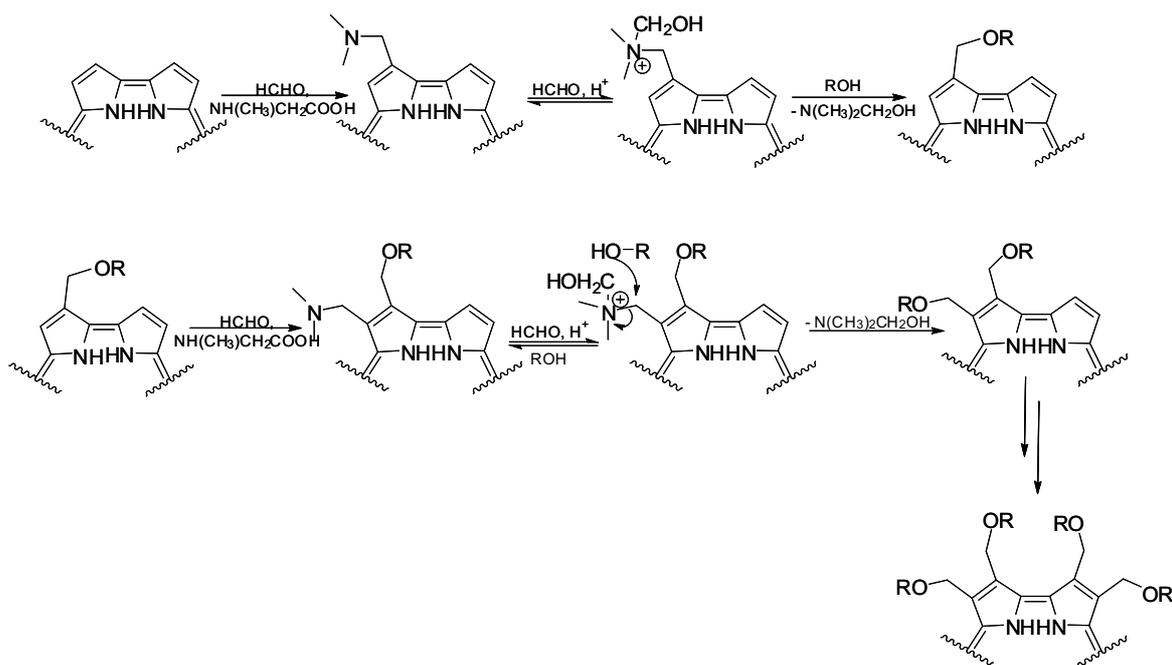
Ácido	Corrol recuperado (%)	Composto 46 (%)
Cítrico	100	-----
Acético	75	qq vestigial
Trifluoroacético	67	12
<i>para</i> -toluenossulfónico	100	-----

Estes resultados mostraram que esta via, a ocorrer, tem apenas uma pequena participação na formação do derivado mono-substituído **46**. Em nenhum dos ensaios foram detectados compostos poli-substituídos. Assim pode-se concluir que a presença da *N*-metilglicina é necessária para a formação deste tipo de compostos.

De modo a elucidar o mecanismo da reacção foram analisados os compostos verdes polares que também se formavam. Esses compostos foram separados por cromatografia preparativa em camada fina e efectuados os seus espectros de RMN de ^1H e massa. Os espectros de RMN adquiridos, por se apresentarem muito complexos, não permitiram retirar alguma informação em relação à estrutura destes compostos. No entanto os seus espectros de massa apresentaram vários sinais cuja análise evidenciou tratar-se de compostos do tipo **A** sugerindo que no processo de formação dos éteres as aminas sejam potenciais intermediários.



Deste modo, o mecanismo proposto para a formação dos derivados do tipo éter baseia-se mais uma vez na formação de compostos aminados análogos a **30** e **31**, seguindo-se o ataque nucleófilo do álcool e conseqüente saída de *N,N'*-dimetilaminometanol. Este processo ocorrerá até à completa substituição dos prótons da unidade bipirrólica por grupos alquinoximetilo. No Esquema 44 propõe-se um mecanismo para a formação do composto mono-substituído e a de um composto di-substituído em C-2 e C-3, permanecendo em aberto a ordem pela qual ocorrem as substituições.

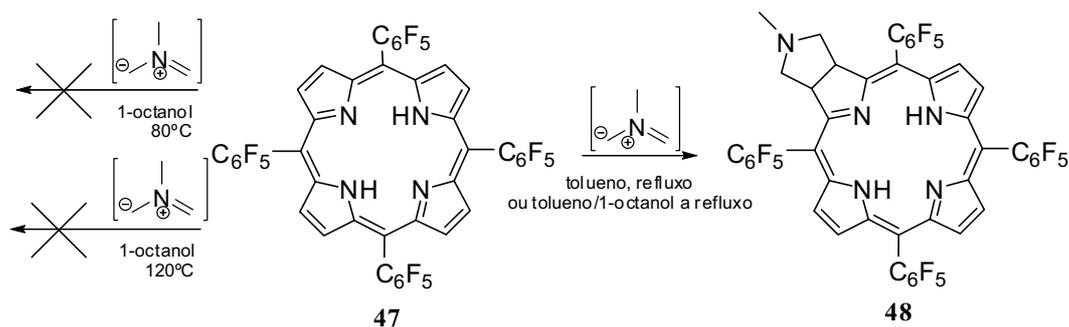


Esquema 44

Em suma, o macrociclo corrólico na presença de *N*-metilglicina, paraformaldeído e usando um álcool como solvente, origina derivados eterificados. Este comportamento do corrol não só é inesperado como inovador, permitindo a síntese de corróis com substituintes éter. Mas será esta reacção particular do macrociclo corrólico ou estaremos na presença de uma nova metodologia para introduzir grupos éter em macrociclos tetrapirrólicos?

Assim decidiu-se estudar esta reacção em macrociclos porfirínicos, seleccionando-se a porfirina correspondente ao corrol **1**, a 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina **47** (Esquema 45).

O álcool escolhido para efectuar estas reacções foi o 1-octanol, uma vez que a porfirina é solúvel neste álcool. Foram testadas várias condições reaccionais, tais como: variação de temperatura, número de equivalentes de paraformaldeído e sarcosina e tempo de reacção. No entanto, o TLC controlo das várias reacções revelou apenas porfirina de partida. Efectuou-se ainda um ensaio usando uma mistura de tolueno/1-octanol, mas os produtos da reacção foram apenas a clorina **48** esperada e a isobacterioclorina, não se tendo verificado a formação de compostos porfirínicos eterificados.



Esquema 45

Atendendo aos resultados obtidos com a correspondente porfirina **47** pode-se concluir que é o macrociclo corrólico o responsável pela inovação desta nova reacção.

2.3.4.2 Caracterização Estrutural

Os espectros de absorção dos derivados do tipo éter apresentaram, de forma geral, um desdobramento na banda Soret e duas bandas Q na região dos 550-620 nm. Embora o desdobramento da Soret seja característico de soluções de coróis do tipo trans-A₂B em solventes polares e seja justificada pela falta de simetria apresentada pelo corrol, este comportamento, no caso dos éteres, é comum aos diferentes graus de substituição e é mais evidente nos compostos tetra-substituídos. Na Figura 30 estão presentes, como exemplo, os espectros de absorção para os compostos **38** e **40**, onde é visível o desdobramento da Soret.

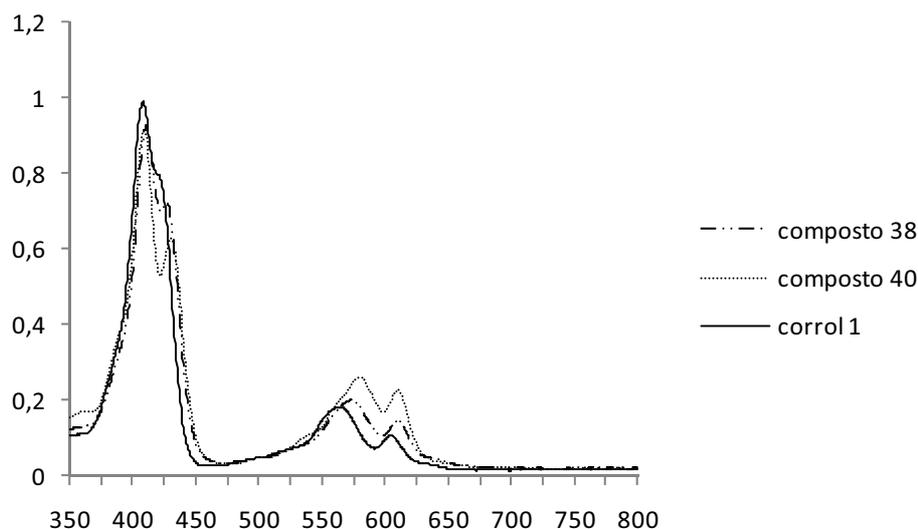


Figura 30 - Espectros de absorção dos compostos **38** e **40**

As estruturas dos compostos eterificados foram deduzidas pela análise dos espectros de RMN de ^1H e com o auxílio de técnicas bidimensionais de correlação espectroscópica homo (COSY, $^1\text{H}/^1\text{H}$) e heteronuclear (HMBC, HSQC, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) e a estudos de efeito nuclear de Overhauser (NOE).

O espectro de RMN de ^1H do composto **36** apresentou na zona aromática cinco sinais correspondentes à ressonância de sete prótons β -pirrólicos, nomeadamente três dupletos a δ 9,15, 8,60, 8,56 ppm, um multipletto a δ 8,78-8,77 ppm e um singuleto a δ 8,48 ppm. Na zona alifática apresentou dois singuletos a δ 5,81 e 3,77 ppm correspondentes às ressonâncias de dois e três prótons alifáticos, respectivamente. Estes sinais foram atribuídos aos prótons CH_2 na posição 2¹ e aos prótons CH_3 na posição 2³, respectivamente.

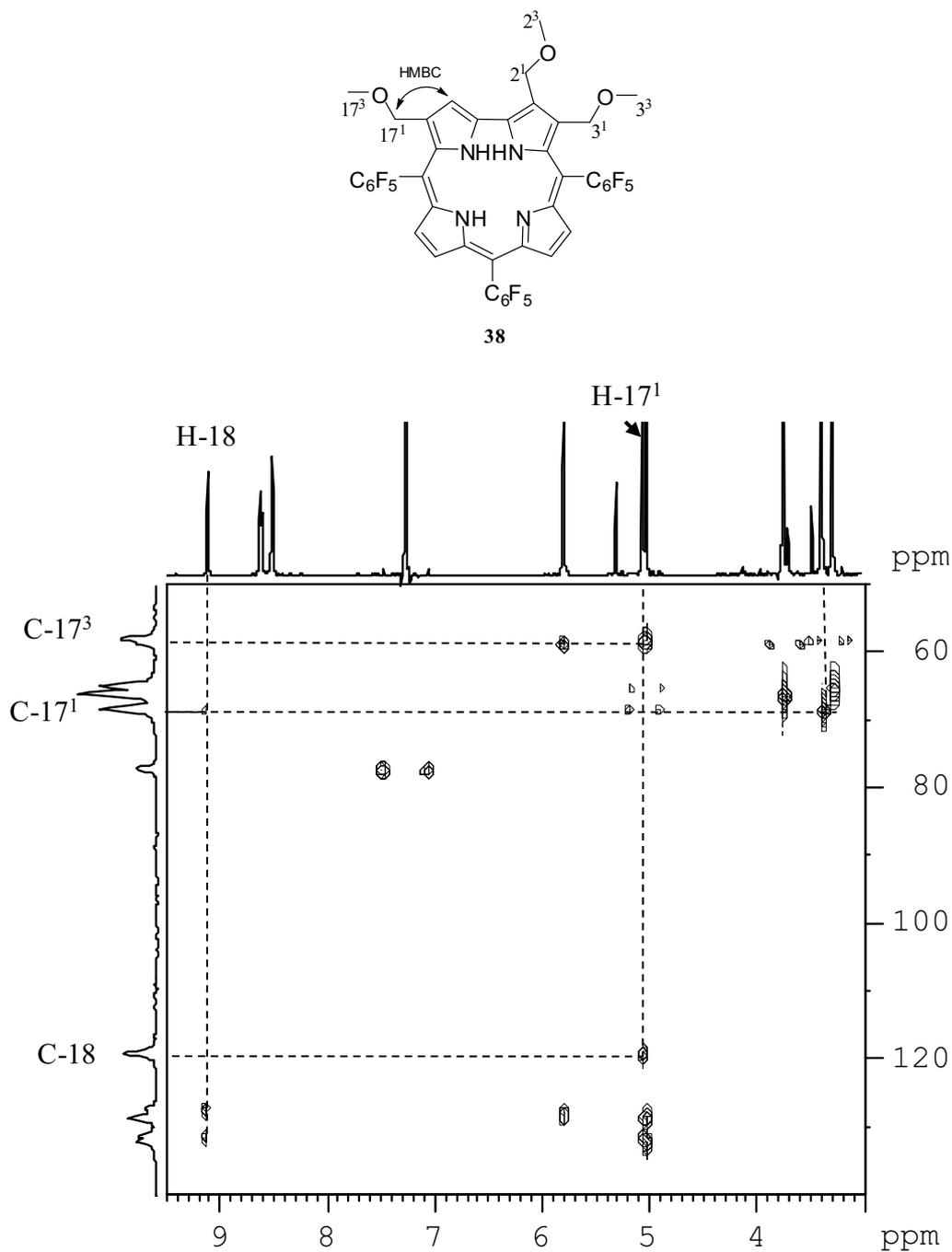
Tendo em conta a análise efectuada para o derivado aminado **30**, verificou-se que este também apresentou no seu espectro de RMN de ^1H um duplete e um singuleto a desvios químicos similares. Assim, e por analogia, atribuiu-se ao duplete a δ 9,15 ppm a ressonância do próton H-18 e ao singuleto a δ 8,48 ppm a ressonância do próton H-3, concluindo-se que a adição do grupo metoximetilo ocorreu na posição 2 do corrol.

O composto **46** apresentou um espectro de RMN semelhante ao do composto **36**, embora com maior número de sinais na zona alifática, devido às ressonâncias dos prótons do grupo propoximetilo.

O espectro de RMN de ^1H do composto **38** apresentou na zona aromática um singuleto a δ 9,11 ppm e três dupletos a δ 8,62, 8,61 e 8,51 ppm correspondentes à ressonância dos cinco prótons β -pirrólicos. Na zona alifática mostrou três singuletos a δ 5,79, 5,05 e 5,02 ppm que foram identificados como pertencendo às ressonâncias dos prótons dos grupos CH_2 e apresentou ainda três singuletos a δ 3,74, 3,38, 3,28 ppm pertencentes à ressonância dos prótons metílicos.

Tratando-se de um composto tri-substituído com três grupos metoximetilo, era necessário clarificar em qual dos prótons β -pirrólicos, H-17 ou H-18, ocorreu a substituição. Neste caso, o espectro HSQC teve um papel crucial. Neste espectro observou-se a correlação entre o singuleto a δ 9,11 ppm e o sinal de carbono a δ 119,0 ppm, característico das ressonâncias dos carbonos C-2 e C-18. Assim, foi atribuído ao singuleto a δ 9,11 ppm a ressonância do próton H-18, e ao sinal a δ 119,0 ppm a ressonância do carbono C-18.

Para o assinalamento inequívoco das ressonâncias dos prótons alifáticos recorreu-se ao espectro de HMBC (Figura 31). Neste espectro verificou-se correlação a longa distância entre o singuleto a δ 5,05 ppm respectivo à ressonância de um grupo CH_2 e o sinal referente a C-18, permitindo atribuir ao singuleto a δ 5,05 ppm as ressonâncias dos prótons H-17¹. Observou-se ainda correlação deste singuleto com o sinal a δ 58,1 ppm permitindo atribuir-lhe a ressonância do carbono C-17³. De uma forma geral, foram observadas correlações a longa distância entre os grupos CH_2 e CH_3 de cada grupo metoximetilo, permitindo atribuir as ressonâncias dos prótons H-3¹ e H-3³ aos singuletos a δ 5,02 ppm e δ 3,28 ppm, respectivamente, e as ressonâncias dos prótons H-2¹ e H-2³ aos singuletos a δ 5,79 ppm e a δ 3,74 ppm, respectivamente, assim como, as ressonâncias relativas aos carbonos.

Figura 31 – Espectro de HMBC (detecção inversa) do composto **38**

Os espectros de RMN dos compostos **41** e **44** substituídos com cadeias propoxilo e octiloxilo, respectivamente, apresentaram na zona aromática, o mesmo perfil de sinais que o espectro do composto **38**. Para a correcta atribuição dos sinais relativos às ressonâncias dos prótons das cadeias carbonadas, o cálculo das constantes de acoplamento, assim como a multiplicidade apresentada foram cruciais.

Em relação ao composto **43**, no qual ocorreu tri-substituição, nos carbonos 2, 3 e 18 do núcleo corrólico, por três cadeias octiloxilmetilo, a zona aromática do espectro de RMN de ^1H mostrou-se bastante simples. Nesta zona apresentou três sinais, dois dupletos a δ 8,64 e 8,56 ppm, referentes às ressonâncias de apenas dois prótons β -pirrólicos e um singuleto largo a δ 8,46 ppm correspondente às ressonâncias de três prótons β -pirrólicos. Sabendo que as ressonâncias dos prótons H-3 e H-17 do núcleo corrólico ocorrem a desvios químicos entre δ 8,80 e 8,40 ppm (dependendo do grupo substituinte no carbono adjacente) e atendendo ao espectro HSQC, que indicou a correlação do singuleto largo a δ 8,46 ppm com dois sinais de carbono a δ 126,7 e 121,0 ppm (característico de carbonos da unidade bipirrólica), ao singuleto a δ 8,46 ppm foram atribuídas as ressonâncias do próton H-17 e as de dois prótons β -pirrólicos.

Este espectro apresentou ainda três singuletos a δ 5,89, 5,78 e 5,06 ppm que foram identificados como pertencendo às ressonâncias dos prótons dos grupos CH_2 , sendo que aos singuletos com maior desvio químico foram atribuídas as ressonâncias dos prótons H-2¹ ou H-18¹. Os sinais relativos às ressonâncias dos prótons das cadeias carbonadas dos grupos octilo aparecem entre δ 3,81 e 0,76 ppm.

O espectro de RMN de ^1H do composto **42** evidenciou um composto bastante simétrico. Na zona aromática apresentou dois dupletos a δ 8,49 e 8,36 ppm, com uma constante de acoplamento de J 4.7 Hz, aos quais foram atribuídas as ressonâncias dos prótons β -pirrólicos H-7,13 e H-8,12, respectivamente. A zona alifática deste espectro mostrou-se bastante rica em sinais; a δ 5,77 e 5,05 ppm surgem dois singuletos correspondentes aos grupos CH_2 ligados directamente ao núcleo corrólico e entre δ 3,89 e 0,89 ppm surgem os tripletos e sextetos correspondentes às ressonâncias dos prótons das cadeias propilo. Atendendo, ao espectro de RMN de ^1H do composto **38**, em que as ressonâncias do grupo propoximetilo junto à ligação directa aparecem desviadas para campos mais baixos, o singuleto a δ 5,77 ppm foi identificado como pertencendo às ressonâncias dos prótons H-2¹,18¹ e ao singuleto a δ 5,05 ppm foi atribuído as ressonâncias dos prótons H-3¹,17¹. Os restantes sinais do espectro de RMN de ^1H foram identificados pelo mesmo princípio e tendo em conta as constantes de acoplamento apresentadas. Assim, aos tripletos a δ 3,80 e 3,31 ppm foram atribuídas as ressonâncias dos prótons H-2³,18³ e

H-3³, 17³, respectivamente, aos sextetos a δ 1,79 e 1,55 ppm as ressonâncias de H-2⁴,18⁴ e H-3⁴,17⁴ e aos tripletos a δ 1,02 e 0,86 ppm as ressonâncias de H-2⁵,18⁵ e H-3⁵,17⁵.

O espectro de RMN de ¹³C do composto **42** apresentou na zona aromática entre δ 148,2 e 115,4 ppm os sinais correspondentes às ressonâncias dos carbonos dos anéis pentafluorofenilo e entre δ 145,9-124,9 ppm os sinais correspondentes às ressonâncias dos carbonos do núcleo corrólico. O espectro evidenciou ainda entre δ 72,9 e 10,4 ppm oito sinais referentes às ressonâncias dos carbonos alifáticos das cadeias de propoximetilo, como se pode ver na Figura 32.

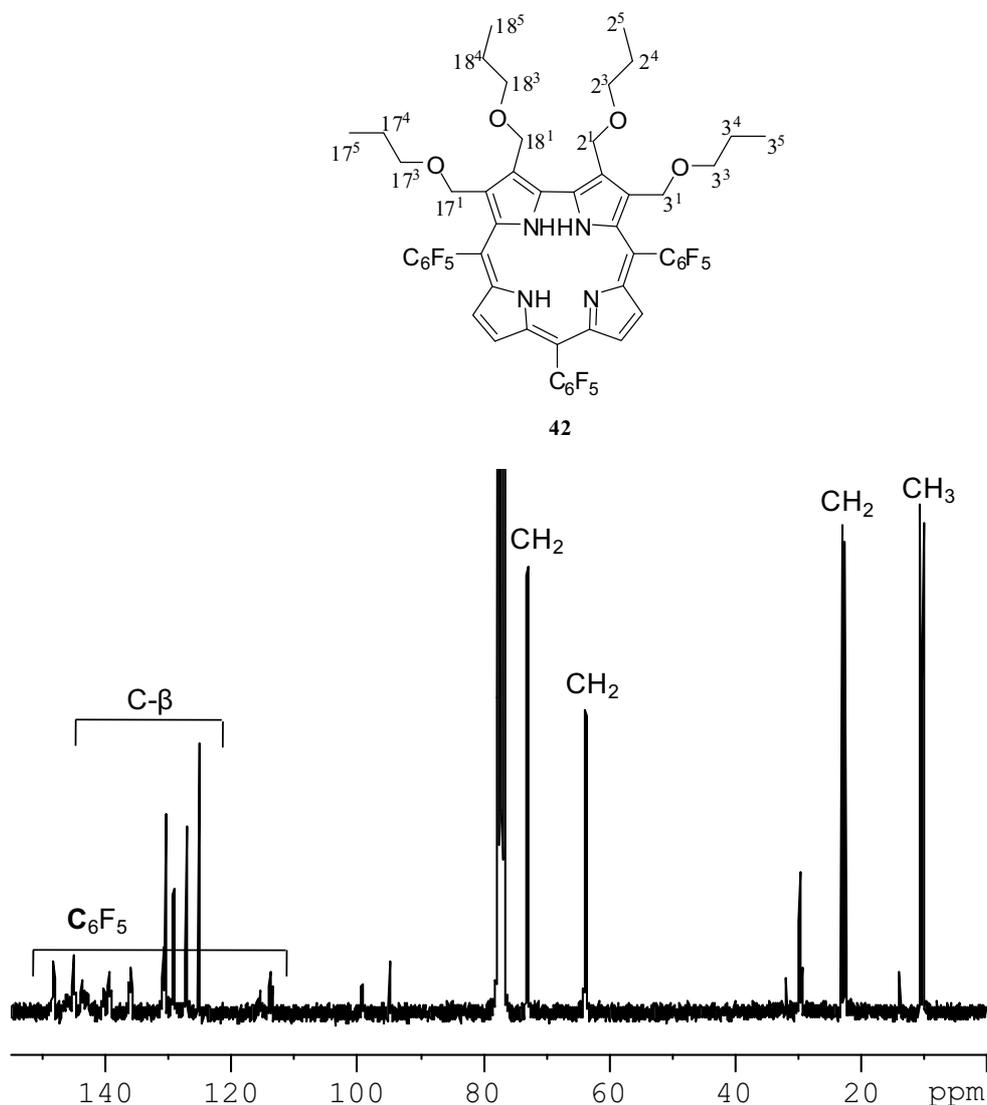


Figura 32 – Espectro de ¹³C do composto **42**

Para assinalar inequivocamente todos os tipos de sinais, foi realizado um espectro DEPT 135 (Figura 33), onde os sinais dos carbonos CH₂ aparecem invertidos. Note-se neste espectro a ausência de sinais aromáticos, indicando que se tratam de ressonâncias de carbonos que não possuem qualquer hidrogénio a eles ligados.

Pelo espectro de DEPT foram atribuídos aos sinais δ 129,1 e 127,0 ppm a ressonância dos carbonos β -pirrólicos C-7,13 e C-8,12. Os sinais a δ 72,9, 72,8, 63,8, 63,5, 23,2 e 22,8 ppm foram identificados como pertencendo às ressonâncias dos carbonos dos grupos CH₂ e aos sinais a δ 10,9 e 10,4 ppm, foram atribuídas as ressonâncias dos carbonos dos grupos metilo. Os assinalamentos respectivos, a cada grupo de carbonos foram efectuados por intermédio de um espectro HSQC.

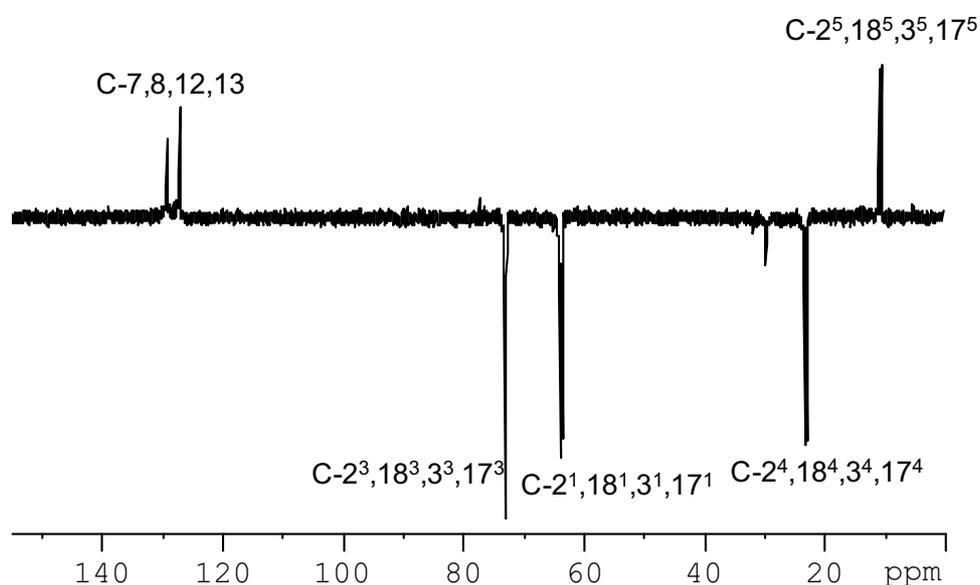


Figura 33 - Espectro DEPT 135 do composto **42**

Mais uma vez, os compostos idênticos a **42**, mas com cadeias metoxilo **40** e octiloxilo **45** apresentaram espectros de RMN semelhantes, variando apenas o número de sinais correspondentes às ressonâncias dos prótons das referidas cadeias alifáticas. Estes compostos foram caracterizados de forma análoga ao composto **42**.

2.3.5 Conclusões

Nas reacções dos corróis com iletos de azometino obtêm-se novos compostos do tipo amina, em vez dos esperados cicloaductos 1,3-dipolares. Face aos resultados obtidos conclui-se que os corróis não reagem com iletos de azometino segundo reacções de cicloadição 1,3-dipolar, mas sim segundo reacções do tipo Mannich. Comparando com o trabalho anteriormente desenvolvido que descreve o uso eficiente de corróis como 1,3-dipolos nas reacções de cicloadição 1,3-dipolar, pode-se concluir que os corróis com função carbaldeído, na presença de *N*-metilglicina podem gerar 1,3-dipolos actuando como componentes 4π nas reacções de cicloadição 1,3-dipolar, mas como componentes 2π na presença de iletos de azometino, o seu mecanismo provavelmente não seguirá o de uma reacção de cicloadição 1,3-dipolar.

Nas reacções efectuadas usando um álcool como solvente, obtiveram-se novos derivados corrólicos do tipo éter, com vários tamanhos de cadeia alifática (dependendo do álcool usado).

Todas as reacções efectuadas na presença de iletos de azometino sugerem novos comportamentos para este tipo de macrociclos tetrapirrólicos que merecem ser explorados num trabalho futuro.

2.4 Parte experimental

2.4.1 Reagentes, solventes e equipamento

Os reagentes comerciais utilizados nas transformações e nas sínteses estudadas foram usados sem qualquer purificação prévia, uma vez que os seus graus de pureza assim o permitiam.

Os solventes utilizados nas transformações e operações de purificação efectuadas eram analiticamente puros ou foram, sempre que necessário, purificados por destilação ou passados, antes de serem usados, por uma coluna de alumina neutra activada.

O metanol foi seco por aquecimento a refluxo com magnésio e iodo e destilado em seguida.

O tolueno encontrava-se acondicionado em fio de sódio.

A piridina foi seca por aquecimento a refluxo sobre hidróxido de sódio e destilada em seguida.

O 1-propanol e o dimetilsulfóxido encontravam-se acondicionados com peneiros moleculares.

A evolução das reacções foi seguida por cromatografia em camada fina (TLC), usando pequenas folhas plastificadas revestidas de sílica gel 60 de espessura de 0,2 mm.

As purificações por cromatografia em camada fina preparativa foram efectuadas em placas de vidro (20x20 cm), previamente revestidas com uma camada de sílica gel 60 com uma espessura de 0,5 mm.

As purificações por cromatografia em coluna foram efectuadas com sílica gel 60 da Merck de granulometria 32-63 ou 63-200 mesh.

Os espectros de massa em FAB (modo positivo) foram registados num espectrómetro VG AutoSpecQ, operando a 70 eV, usando como solvente o CHCl_3 ou CH_2Cl_2 e como matriz o álcool 3-nitrobenzílico (NBA). Os espectros de massa obtidos por MALDI foram efectuados num espectrómetro MALDI/TOF/TOF 4800 Applied Biosystems MDS Sciex, usando como solvente o CHCl_3 ou CH_2Cl_2 e sem matriz.

Os espectros de massa de alta resolução em FAB^+ e ESI^+ foram realizados na Universidade de Vigo, num espectrómetro VG Autospec M.

Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{19}F foram registados em grande maioria num aparelho Bruker Avance 300 operando a 300,13; 75,47 e 282,38 MHz, respectivamente. Outros foram obtidos num aparelho Bruker Avance 500 operando a 500,13 e 125,76 MHz, respectivamente para ^1H e ^{13}C , sendo esse facto devidamente assinalado. Como padrão interno usou-se o tetrametilsilano ($\delta=0$ ppm). Nos espectros de RMN de ^{19}F foi usado como referência o C_6F_6 considerando o correspondente sinal a $\delta -163$ ppm, tendo como referência primária o CFCl_3 ($\delta=0$ ppm). Os desvios químicos (δ , ppm) indicados para cada composto foram obtidos, na sua maioria, em solução de clorofórmio deuterado CDCl_3 .

Os assinalamentos inequívocos das ressonâncias dos protões e carbonos foram efectuados com recurso às técnicas bidimensionais de HSQC e HMBC e em alguns casos também à técnica de COSY e NOESY.

Os espectros de ultravioleta-visível foram obtidos em soluções de clorofórmio, diclorometano ou DMSO num espectrofotómetro Uvikon 922 e num espectrómetro UV-2501-PC Shimadzu utilizando células de vidro ou de quartzo (determinação de $\log \epsilon$) de 1 cm.

2.4.2 Síntese de 5,10,15-triarilcorróis

2.4.2.1 Procedimento Geral para a preparação de 5,10,15-triarilcorróis

Num balão de fundo em pêra de 50 mL com pirrol (0.105 mL, 1,50 mmol) foram adicionados, sob agitação, o aldeído (1,0 mmol) e 10 μ L (0.012 mmol) de uma solução pré-preparada de TFA (10 mL) em CH_2Cl_2 (100 mL), à temperatura ambiente. Após 10 minutos a mistura reaccional foi dissolvida em CH_2Cl_2 (10 mL) e sonicada durante 1-2min. De seguida, adicionou-se uma solução de DDQ (273 mg, 1,20 mmol) em tolueno (1 mL) e THF (2 mL). A mistura resultante manteve-se sob-agitação, à temperatura ambiente durante 5 minutos. A separação e purificação dos macrociclos tetrapirrólicos está descrita para cada caso.

2.4.2.1.1 Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol

Antes de iniciar a síntese do corrol correspondente, o pentafluorobenzaldeído foi previamente aquecido até fundir.

O procedimento de síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol segue os passos do procedimento geral, tendo sido utilizado o dobro das quantidades referidas. No entanto, por se tratar de um aldeído muito reactivo, a ordem de introdução dos reagentes foi diferente. Assim, primeiro é adicionado 0,22 mL (2 mmol) de pentafluorobenzaldeído, seguindo-se 20 μ L (24 μ mol) da solução de TFA e por último a adição de 0,21 mL (3 mmol) de pirrol. A condensação e a oxidação com DDQ (546 mg, 2,40 mmol) decorreram, segundo o procedimento geral. Após a síntese, a mistura reaccional foi aplicada no topo de uma coluna cromatográfica de sílica para coluna ou sílica para TLC preparativa (sob vazio), usando como eluente uma mistura éter de petróleo/diclorometano (3:1) originado o corrol pretendido contaminado com outros produtos. Esta fracção foi, na fase seguinte, purificada por cromatografia em coluna usando como eluente uma mistura éter de petróleo/diclorometano (4:1). À fracção correspondente ao corrol puro foi adicionado

hexano quente e a suspensão permaneceu durante a noite no frigorífico. O corrol pretendido foi obtido com um rendimento de 12% (64 mg).

5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol 1 RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,12 (d, 2H, J 4,4 Hz, H-2,18); 8,77 e 8,59 (2d, 4H, J 4,8 Hz, H-7, 13 ou H-8, 12); 8,58 (2d, 2H, J 4,4 Hz, H-3, 17). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,8 (dd, 2F, J 24,0 e 8,5 Hz, F-2'', 6''); -161,3 (dd, 4F, J 23,3 e 6,4 Hz, F-2', 2''', 6', 6'''); -175,7 (t, 2F, J 21,2 Hz, F-4', 4'''); -176,3 (t, 1F, J 21,2 Hz, F-4''); -185,0 (dt, 4F, J 23,3 e 6,4 Hz, F-3', 3''', 5', 5'''); -185,4 (dt, 2F, J 24,0 e 8,5 Hz, F-3'', 5''). UV-Vis em CH_2Cl_2 λ_{max} (log ϵ): 408 (4,7) 560 (2,9) 602 (2,2).⁷ EM FAB m/z : 797 [$\text{M}+\text{H}$]⁺.

2.4.2.1.2 Síntese do 5,10,15-tris[3,5-bis(trifluorometil)fenil]corrol

O procedimento de síntese segue os passos do procedimento geral, tendo-se usado 0,33 mL de 3,5-bis(trifluorometil)benzaldeído, 0,21 mL pirrol, 20 μL de solução de TFA e 546 mg de DDQ. Após a síntese, a mistura reaccional foi aplicada no topo de uma coluna cromatográfica de sílica para TLC preparativa, sob vazio, usando como eluente uma mistura éter de petróleo/diclorometano (3:1) originado o corrol contaminado com outros produtos. À fracção correspondente ao corrol foi adicionado hexano quente e a suspensão permaneceu durante a noite no frigorífico. O 5,10,15-tris[3,5-bis(trifluorometil)fenil]corrol foi obtido com rendimento de 17% (52 mg).

5,10,15-tris[3,5-bis(trifluorometil)fenil]corrol 16 RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 8,99 (s largo, 2H, H-Ar); 8,76 (slargo, 5H, H-Ar); 8,65 (slargo, 4H, H-Ar), 8,49 (slargo, 2H, H-Ar); 8,36 (s largo, 4H, H-Ar); -2,60 (slargo, 2H, NH). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -85,87 (s, 18F, CF_3). UV-Vis em tolueno λ_{max} (log ϵ): 423 (5,1) 580 (4,3) 615 (4,1).²⁰ EM FAB m/z 934 [M]⁺.

2.4.2.1.3 Síntese do 5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol

O procedimento de síntese segue os passos do procedimento geral, usando 0,12 mL de 2,3,5,6 –tetrafluorobenzaldeído, 0,10 mL de pirrol, 10 µL de solução de TFA e 280 mg de DDQ. Após a síntese, a mistura reaccional foi purificada por cromatografia em coluna, usando como eluente uma mistura éter de petróleo/diclorometano (1:1). À fracção correspondente ao corrol foi adicionado hexano quente e a suspensão permaneceu durante a noite no frigorífico. O 5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol foi obtido com rendimento de 12% (30,2 mg).

5,10,15-tris(2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol 17 RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 9,09 (d, 2H, J 4,3 Hz, H-2,18); 8,79 (2d, 2H, J 4,8 Hz, H-7, 13 ou H-8, 12); 8,62-8,58 (m, 4H, H-3, 17 e H-7, 13 ou H-8, 12); 7,62-7,49 (m, 3H, H ϕ). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -161,3 - -161,5 (m, 2F, F-3',5''' ou F-5',3'''); -161,97 e 161,99 (2s, 8F, F-2',6',2'',3'',5'',6'',2''',6'''); -162,4 - -162,6 (m, 2F, F-3',5''' ou F-5',3'''). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} (%) 410 (100%) 563 (16%) 604 (10%). EM FAB m/z 742 $[\text{M}]^+$.

2.4.2.1.4 Síntese do 5,10,15-tris(4-metilfenil)corrol

Num balão de fundo em pêra de 50 mL colocou-se o 4-metilbenzaldeído (0,24 mL, 2,0 mmol) e de seguida adicionou-se sob agitação, pirrol (0,42 mL, 6,00 mmol) e 40 µL (0,047 mmol) de uma solução pré-preparada de TFA (10 mL) em CH_2Cl_2 (100 mL). Após 10 min à temp. ambiente, a mistura reaccional foi dissolvida em 10 mL de diclorometano e foi adicionado, sob agitação vigorosa, 40 mL de diclorometano simultaneamente com uma solução de DDQ (454 mg, 2,00 mmol) em THF (10 mL) durante 10 min. A mistura resultante manteve-se sob-agitação, à temperatura ambiente, por mais 5 minutos. Após o término da reacção, a mistura reaccional foi aplicada no topo de uma coluna cromatográfica de sílica usando eluente uma mistura de diclorometano/hexano numa proporção de 2:3. A primeira fracção recolhida da coluna corresponde ao corrol pretendido contaminado com outros produtos. A esta fracção foi adicionado hexano quente e a suspensão permaneceu durante a noite no frigorífico.

O 5,10,15-tris(4-metilfenil)corrol foi obtido com rendimento de 2% (20 mg).

5,10,15-tris(4-metilfenil)corrol 18 RMN de ^1H : (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 8,94 (d, 2H, J 4,0 Hz, H-2,18); 8,88 (2d, 2H, J 4,7 Hz, H-7, 13 ou H-8, 12); 8,59 (d, 2H, J 4,0 Hz, H-3,17); 8,55 (2d, 2H, J 4,7 Hz, H-7, 13 ou H-8, 12); 8,26 (d, 4H, J 7,8 Hz, H-2',6',2''',6'''); 8,06 (d, 2H, J 7,8 Hz, H-2'',6''); 7,63 (d, 4H, J 7,8 Hz, H-3',5',3''',5'''); 7,55 (d, 2H, J 7,8 Hz, H-3'',5''). UV-vis em CH_2Cl_2 λ_{max} (log ϵ): 418 (5,1) 518 (4,0) 566 (4,3) 617 (4,2) 648 (4,1).⁶⁴ EM FAB m/z 568 $[\text{M}]^+$.

2.4.2.2 Síntese do 5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol

Num balão de 25 mL preparou-se uma mistura de metanol seco (10 μL , 300 μmol) e carbonato de potássio (41,4 mg, 300 μmol) em DMSO (1,5 mL) e deixou-se a agitar à temp. ambiente durante 10 min., em atmosfera de azoto. Adicionou-se o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (40 mg, 50,2 μmol) e aqueceu-se a mistura resultante a 100°C, durante 24 horas. Foi adicionado mais excesso de metanol seco (10 μL , 300 μmol) e carbonato de potássio (41,4 mg, 300 μmol) e prolongou-se o aquecimento mais 24h. Após o término da reacção, neutralizou-se a mistura reaccional com uma solução aquosa de ácido cítrico, extraíndo a fase orgânica em diclorometano e secando-a com sulfato de sódio anidro. Após evaporação retomou-se o resíduo em diclorometano e purificou-se o corrol pretendido em cromatografia em coluna usando como eluente o diclorometano. O corrol foi obtido com rendimento de 86% (36 mg).

5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol 19. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,06 (d, 2H, J 4,2 Hz, H-2,18,); 8,79 (d, 2H, J 4,8 Hz, H-7,13 ou H-8,12); 8,60 (d, 2H, J 4,8 Hz, H-7,13 ou H-8,12); 8,57 (d, 2H, J 4,2 Hz, H-3,17); 4,39 (s, 9H, OCH_3). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,77 MHz): δ 148,7-147,8 (C_6F_4); 142,3-144,4 (C_6F_4); 130,2; 134,7- 135,1 (C-1,19,4,16); 142,8; 142,7; 142,5; 142,3 (C-6,9,11,14); 139,5-138,9 (C_6F_4); 127,5 (C-7,13 ou C-8,12); 126,1 (C-7,13 ou C-8,12); 121,5 (C-3,17); 116,8 (C-2,18); 62,47 e 62,43 (OCH_3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -162,76 (dd, 2F, J_1 23,9 Hz, J_2 14,1 Hz, F_{orto}); -163,29 (dd, 4F, J_1 21,2 Hz, J_2 8,46 Hz, F_{orto}); -186,02 (dd, 4F,

J_1 21,2 Hz, J_2 8,46 Hz, F_{meta}); -181,74 (dd, 2F, J_1 21,2 Hz, J_2 8,46 Hz, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} (%) 413 (100%) 564 (16%) 604 (10%). EM FAB m/z 832 $[\text{M}]^+$.

2.4.2.3 Síntese de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) foi sintetizado, tendo por base o procedimento descrito por Bendix et al.³⁴

Num balão de 500 mL dissolveu-se 2 g de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol em 150 mL de piridina seca e adicionou-se 5 g de cloreto de gálio(III). A mistura reaccional foi deixada a refluxo durante 2 horas, após as quais o TLC controlo da mistura reaccional revelou a ausência de corrol **1** e a formação quantitativa do complexo esperado. Após arrefecimento da mistura reaccional, procedeu-se à sua lavagem com uma solução de ácido cítrico. Extraíu-se a fase orgânica com diclorometano e lavou-se a mesma com água destilada (duas vezes). Esta foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada à secura. O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) foi cristalizado em diclorometano/-hexano e foi obtido com um rendimento quantitativo.

5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) 27: RMN de ^1H (CDCl_3 + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500,13 MHz): δ 9,24 (d, 2 H, J 3,9 Hz, H-12 e H-18); 8,86 (d, 2 H, J 4,4 Hz, H-7 e H-13); 8,80 (d, 2 H, J 3,9 Hz, H-7, H-3 e H-17); 8,65 (d, 2 H, J 4,4 Hz, H-2, H-8 e H-12); 6,64 (t, 1 H, J 7,5 Hz, $\text{H}_{\text{para-Py}}$), 5,84 (dd não resolvido, 2H, $\text{H}_{\text{meta-Py}}$), 2,91 (d, 2H, J 5,3 Hz, $\text{H}_{\text{orto-Py}}$). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} (log ϵ): 398 (4,8) 420 (5,4) 568 (4,2) 594 (4,4). EM MALDI m/z 863 $[(\text{M}+\text{H})\text{-py}]^+$.

2.4.3 Reacções dos corróis com hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

2.4.3.1 Procedimento Geral

A uma solução de corrol (20 mg) em 1,2,4-triclorobenzeno adicionou-se (1-2) equivalentes de hidrocarboneto policíclico. A mistura obtida foi aquecida, num banho de

óleo, a 200°C, sob atmosfera de azoto purificado por meio de uma solução de Fieser, durante 6 horas. Ao fim desse tempo efectuou-se o controlo da reacção por TLC. Depois de arrefecida à temperatura ambiente, a mistura reaccional foi purificada por cromatografia em coluna usando um gradiente de eluição. A eluição foi iniciada com éter de petróleo, de forma a remover o 1,2,4-triclorobenzeno, seguindo-se a eluição com o eluente apropriado para separar os componentes de cada reacção. Os componentes da mistura foram posteriormente purificados por cromatografia preparativa em camada fina utilizando os eluentes adequados para cada caso. Finalmente, depois de recolhidos e de concentrados, os compostos foram cristalizados em diclorometano/hexano.

2.4.3.2 Reacções de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno

2.4.3.2.1 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno, usando aquecimento clássico

Esta reacção foi efectuada a partir de uma solução em 1,2,4-triclorobenzeno (0,5 mL) de corrol **1** 20,0 mg (10,7 μmol) e 2 equiv. pentaceno (14 mg, 10,7 μmol) de acordo com o procedimento geral. Depois de terminada a reacção, a mistura obtida foi purificada por cromatografia em coluna. A eluição foi iniciada com éter de petróleo, de forma a remover o 1,2,4-triclorobenzeno, seguindo-se a eluição com uma mistura de éter de petróleo/diclorometano (3:1). Com esta mistura obteve-se uma primeira fracção composta por uma mistura de material corrólico e uma segunda fracção composta por material resultante da degradação do pentaceno. A primeira fracção foi, na fase seguinte, purificada por cromatografia preparativa em camada fina usando a mesma mistura como eluente. Desta separação recolheram-se, por ordem decrescente de R_f , o composto **2** (4,2 mg, 16%), o composto **4** (3,5 mg, 13%) e o composto **3** (3,3 mg, 10%).

A reacção realizada com 1 equiv. de pentaceno foi efectuada a partir de uma solução de corrol **1** (20,0 mg, 13,9 μmol) e 1 equiv. pentaceno (7,0 mg, 13,9 μmol) em 1,2,4-triclorobenzeno (0,5 mL), segundo o procedimento geral. Após a separação e purificação dos compostos, de acordo com o procedimento anterior, obteve-se o corrol de partida **1**,

(1,5 mg, 6%), o composto **2** (9,5 mg, 35%), o composto **3** (3 mg, 9%) e o composto **4** (1,3 mg, 4%).

Composto **2**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 9,40 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-18); 8,69 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-17); 8,75 e 8,53 (2d, 2H, J 4,7 Hz, H-7,8 ou H-12,13); 8,60 e 8,41 (2d, 2H, J 4,4 Hz, H-7,8 ou H-12,13); 8,08 (s, 2H, H-2',14'); 7,70 (s, 2H, H-7',9'); 7,68-7,65 e 7,31-7,28 (2m, 8H, H-3',6',10',13' e H-4',5',11',12'); 7,06 (s, 1H, H-1'); 5,69 (s, 1H, H-8'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,68 (dd, 2F, J 24,2 e 8,2 Hz, F_{orto}); -160,83 (dd, 2F, J 17,2 Hz, F_{orto}); -161,07 (dd, 2F, J 23,2 e 7,02 Hz, F_{orto}); -174,03 (t, 1F, J 21,2 Hz, F_{para}); -176,10 (t, 1F, J 20,7 Hz, F_{para}); -176,47 (t, 1F, J 21,0 Hz, F_{para}); -184,44 - -185,66 (m, 6F, F_{meta}). RMN de ^{13}C (baseado nas projecções HSQC e HMBC): δ 141,5 (C-1'a,7'a,8'a,14'a); 131,7 (C-2'a,6'a,9'a,13'a); 129,5 (C- β); 127,9 (C- β); 127,5 (C-3',6',10',13'); 126,1 (C-4',5',11',12'); 125,8 (C- β); 125,2 (C- β); 123,1 (C-17); 122,8 (C-2',14'); 122,4 (C-7',9'); 117,0 (C-18); 49,5 (C-8'); 48,9 (C-1'). UV-Vis em CH_2Cl_2 λ_{max} nm (log ϵ): 411 (5,8) 567 (5,1) 609 (4,9). EMAR FAB m/z 1072,1698 [M] $^{++}$ (calculado para $\text{C}_{59}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{F}_{15}$ 1072,1683).⁷

Composto **4**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 8,64 (d, 2H, J 4,5 Hz, H-7, 13 ou H-8,12); 8,61 (s, 2H, H-3,17); 8,47 (d, 2H, J 4,5 Hz, H-7,13 ou H-8,12); 8,19 (s, 4H, H-2',7',9',14'); 7,72-7,69 e 7,28-7,25 (2m, 8H, H-3',6',10',13' e H-4',5',11',12'); 6,68 (s, 2H, H-1',8'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,81 (dd, 2F, J 22,6 e 8,5 Hz, F_{orto}); -161,14 (dd, 4F, J 50,8 e 16,9 Hz, F_{orto}); -175,9 (m, 2F, F_{para}); -176,28 (t, 1F, J 21,2 Hz, F_{para}); -184,95 (m, 6F, F_{meta}); -185,45 (ddd, 2F, J 22,6, 21,2 e 5,6 Hz, F_{meta}). RMN de ^{13}C (baseado nas projecções HSQC e HMBC): 138,0 (C-1'a,7'a,8'a,14'a); 132,6 (C-2'a,6'a,9'a,13'a); 127,5 (C-2',7',9',14'); 127,2 (C-3',6',10',13'); 126,0 (C-4',5',11',12'); 125,0 e 124,7 (C-7,13 e C-8,12); 115,6 (C-1',8'); UV-Vis em CH_2Cl_2 λ_{max} nm (log ϵ): 424 (5,0) 565 (4,1) 615 (3,9). EMAR FAB m/z 1073,1791 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (calculado para $\text{C}_{59}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{F}_{15}$ 1073,1791).⁷

Composto **3**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 8,66 e 8,43 (2d, 4H, J 4,7 Hz, H-7,13 e H-8,12); 8,39 (s, 4H, H-2',14',7'',9''); 7,81 (s, 4H, H-7',9',2'',14''); 7,82-7,80 (m, 4H, H-6',10',3'',13''); 7,79-7,76 (m, 4H, H-3',13',6'',10''); 7,56 (s, 2H, H-1',8''); 7,47-

7,39 (m, 8H, H-4',12',5'',11'' e H-5',11',4'',12''); 5,78 (s, 2H, H-8',1''). RMN de ^{13}C (baseado nas projecções HSQC e HMBC): 141,7 e 141,6 (C-1'a,7'a,14'a,8'a e C-1''a,7''a,14''a,8''a); 138,0 (C-2,3,17,18); 131,9 e 131,8 (C-6'a,2'a,9'a,13'a e C-6''a,2''a,9''a,13''a); 128,0 (C-7,13 ou C-8,12); 127,7 e 127,5 (C-6',10',3'',13''); 126,9 (C-7,13 ou C-8,12); 126,35 e 126,29 (C-4',12',5'',11'' e C-5',11',4'',12''); 122,7 (C-2',14',7'',9''); 122,6 (C-7',9',2'',14''); 50,4 (C-1',8''); 49,5 (C-8',1''). UV-Vis em CH_2Cl_2 λ_{max} nm (log ϵ): 415 (5,1) 573 (4,4) 612 (4,2). EM FAB m/z 1347 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.4.3.2.2 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com pentaceno, usando radiação de microondas

Num vaso aberto, a uma solução de corrol **1** (40 mg, 50,2 μmol) em 1,2,4-triclorobenzeno (1 mL) adicionou-se 2 equiv de pentaceno (28 mg, 50,2 μmol). A reacção foi efectuada a potência constante de 600 W, a uma temperatura de 190°C, durante 20 min, ao fim dos quais, o TLC controlo revelou bastante corrol por reagir, pelo que se prolongou a reacção mais 20 min. Após a separação e purificação dos compostos, de acordo com o descrito em 2.4.3.1. obteve-se, por ordem decrescente de R_f o composto **5** (18,6 mg, 34%), o corrol **1** (3,5 mg, 9%) e o composto **2** (1 mg, 2%).

A reacção efectuada em 1,2,4-triclorobenzeno (1 mL), mas utilizando apenas 1 equiv. de pentaceno, 1 equiv. de corrol **1** (40 mg, 50,2 μmol) e 2 equiv de pentaceno (28 mg, 50,2 μmol). O procedimento seguido (condições reaccionais no aparelho de microondas e o processo de purificação) foi igual ao anterior. Neste caso obteve-se o composto **5** (17,3 mg, 32%), o corrol **1** (14,1 mg, 36%) e o composto **2** (5,9 mg, 11%).

Na reacção efectuada em 1,2-diclorobenzeno (1 mL) utilizou-se 1 equiv. de corrol **1** (40 mg, 50,2 μmol) e 2 equiv. de pentaceno (28 mg, 50,2 μmol). O procedimento seguido (condições reaccionais no aparelho de microondas e o processo de purificação) foi igual ao anterior. Neste caso obteve-se o composto **5** (23,7 mg, 44%), o corrol **1** (13,7 mg, 34%) e o composto **2** (1,8 mg, 3%).

Composto **5**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 8,66 (d, 1H, J 3,0 Hz, H-18); 8,15 e 7,76 (2s, 2x1H, H-2' e H-14'); 8,06 (d, 2H, J 5,0 Hz, H- β); 8,02 (d, 2H, J 5,0 Hz, H- β); 7,88-7,82 (m, H-Ar + H- β); 7,71-7,70 (m, H-Ar); 7,63-7,59 (m, H-Ar); 7,50-7,47 (m, H-Ar); 7,39 e 7,35 (2s, 2x1H, H-7' e H-9'); 7,18-7,15 (m, H-Ar); 6,93-6,90 (m, H-Ar); 5,81 (d, 1H, J 3,3 Hz, H-1'); 5,59 (dd, 1H, J_1 8,5 Hz, J_2 3,3 Hz, H-2); 5,18 (dd, 1H, J_1 8,5 Hz, J_2 2,8 Hz, H-3); 4,77 (d, 1H, J 2,8 Hz, H-8'); -0,87 e -3,04 (2s, 2x1H, NH). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 392 (100%) 566 (10%) 608 (9%) 701 (8%). EM FAB m/z 1075 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.4.3.3 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com antraceno

Esta reacção foi efectuada a partir de uma solução de corrol (20,3 mg, 25,5 μmol) em 1,2,4-triclorobenzeno (0,5 mL) e 2 equiv. antraceno (10,0 mg, 56,2 μmol) de acordo com o procedimento geral, durante 6 horas. Depois de terminada a reacção, a mistura obtida foi purificada por cromatografia em coluna. A eluição foi iniciada com éter de petróleo, de forma a remover o 1,2,4-triclorobenzeno, seguindo-se a eluição com uma mistura de éter de petróleo/diclorometano (3:1). Com esta mistura obteve-se uma fracção composta pelos derivados corrólicos pretendidos. Esta fracção foi, na fase seguinte, purificada por cromatografia preparativa em camada fina usando a mesma mistura como eluente. Desta separação foram isolados dois compostos maioritários que se identificaram por ordem decrescente de R_f como sendo o corrol **1** (11 mg, 54%) e o composto **7** (2,7 mg, 11%).

Composto **7**. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,36 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18); 8,78 (d, 1H, J 4,9 Hz, H- β); 8,71 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-17); 8,65 (d, 1H, J 4,5 Hz, H- β); 8,58 (d, 1H, J 4,9 Hz, H- β); 8,47 (d, 1H, J 4,5 Hz, H- β); 7,69-7,66 (m, 2H, H-7',2'); 7,33-7,30 (m, 2H, H-5',10'); 7,01-6,96 (m, 4H, H-3',4',8',9'); 6,84 (s, 1H, H-1'); 5,46 (s, 1H, H-6'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,77 MHz): δ 129,8 (C- β); 128,2 (C- β); 125,8 (C- β); 125,6 (C-3',4',8',9'); 125,5 (C- β); 124,3 (C-2',7'); 123,9 (C-5',10'); 123,2 (C-17); 117,0 (C-18); 49,9 (C-6'); 49,4 (C-1'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,62 (dd, 2F, J_2 8,46, J_1 25,38, F_{orto}); -161,02 (dd, 4F, J_2 5,6 J_1 22,6, F_{orto}); -174,16 (t, 1F, J 21,2, F_{para}); -176,12 (t, 1F, J 21,2, F_{para}); -176,47 (t, 1F, J 21,2, F_{para}); -184,57 (dt, 2F, J_2 8,5 e J_1 22,6, F_{meta}); -

185,20 (dt, 2F, J_2 6,6 e J_1 21,9, F_{meta}); -185,55 (dt, 2F, J_2 7.5 e J_1 22.6, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 411 (100%) 567 (18%) 608 (13%). EM FAB m/z 973 $[\text{M}+\text{H}]^+$. EMAR ESI m/z 973,1404 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculado para $\text{C}_{51}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{F}_{15}$ 973,1442).

2.4.3.4 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com tetraceno

Esta reacção foi efectuada a partir de uma solução em 1,2,4-triclorobenzeno (0,5 mL) de corrol **1** (20,0 mg, 25 μmol) e 2 equiv. tetraceno (11,6 mg, 50,8 μmol) de acordo com o procedimento geral, durante 6 horas. Depois de terminada a reacção, a mistura obtida foi purificada por cromatografia em coluna. A eluição foi iniciada com éter de petróleo, de forma a remover o 1,2,4-triclorobenzeno, seguindo-se a eluição com uma mistura de éter de petróleo/diclorometano (3:1). Com esta mistura obteve-se uma fracção composta pelos derivados corrólicos pretendidos. Esta fracção foi, na fase seguinte, purificada por cromatografia preparativa em camada fina usando a mesma mistura como eluente. Desta separação recolheram-se, por ordem decrescente de R_f o corrol **1** (6,4 mg, 32%), o composto **6** (7,9 mg, 31%) e a mistura **11** (4,7 mg, 15%).

Composto **6** RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,40 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18); 8,79 (d, 1H, J 4,8 Hz, H- β); 8,73 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-17); 8,65 (d, 1H, J 4,4 Hz, H- β); 8,58 (d, 1H, J 4,8 Hz, H- β); 8,47 (d, 1H, J 4,4 Hz, H- β); 8,03 (s, 1H, H-2'); 7,76-7,73 (m, 1H, H-12'); 7,66 (s, 1H, H-7'); 7,66-7,63 (m, 2H, H-3' e H-6'); 7,40-7,37 (m, 1H, H-9'); 7,31-7,28 (m, 2H, H-4' e H-5'); 7,05-7,03 (m, 2H, H-10' e H-11'); 6,97 (s, 1H, H-1'); 5,60 (s, 1H, H-8'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,77 MHz): δ 145,2 (C-2 ou C-3); 145,1 (C-1a); 141,97 e 141,91 (C-12a e C-6a); 139,4 (C-2 ou C-3); 134,5 (C-16); 131,5 (C-7a e C-11a); 129,5 (C- β); 129,2 (C-19); 128,0 (C- β); 127,5 e 127,3 (C-3' e C-6'); 126,1 (C-4' e C-5'); 125,9 (C-10' e C-11'); 125,8 (C- β); 125,2 (C- β); 124,4 (C-12'); 124,1 (C-9'); 123,3 (C-17); 122,5 (C-2'); 122,2 (C-7'); 117,1 (C-18); 49,6 (C-8'); 49,1 (C-1'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 470,54 MHz): δ -136,47- -136,57 (m, 2F, F_{orto}), -136,73- -136,93 (m, 4F, F_{orto}); -149,92 - -149,95 (m, 1F, F_{para}); -151,93 - -151,97 (m, 1F, F_{para}); -152,33 (t, 1F, F_{para} , J 21,2 Hz); -160,31- -160,44 (m, 4F, F_{meta}); -161,06- -161,10 (m, 2F, F_{meta}); -160,38- -160,47 (m, 2F, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 412 (100%) 568 (21%) 610 (16%). EM FAB m/z

1023 $[M+H]^+$. EMAR ESI m/z 1023,1555 $[M+H]^+$ (calculado para $C_{55}H_{22}N_4F_{15}$ 1023,1599).

Mistura **11** RMN de 1H ($CDCl_3$, 300,13 MHz): δ 8,66 (d, 2H, H-7,13 ou H-8,12, J 4,8 Hz); 8,44 (d, 2H, H-7,13 ou H-8,12, J 4,8 Hz); 8,25 e 8,22 (2s, 4H, H-2',7'', 2',7''); 8,00 e 7,97 (2d, 4H, J 7,5 Hz e J 8,1 Hz, H-12',9'', 12',9''); 7,74 e 7,72 (2s, 4H, H-7',2'',7',2''); 7,77-7,68 (m, 8H, H-3',6',3'',6'',3',6',3'',6''); 7,48 e 7,47 (2d, 4H, J 6,2 Hz e J 6,9 Hz, H-12'',9',12'',9'); 7,36 (s, 4H, H-1',8'',1',8''); 7,41-7,34 (m, 8H, H-4',5',4'',5'',4',5',4'',5''); 7,22-7,10 (m, 4H, H-10',11',10'',11'',10',11',10'',11''); 5,654 e 5,648 (s, 4H, H-8',1'', 8' 1''); -2.03 (bs, 6H, NH). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 75,77 MHz): δ 145, e 138,8 (C-8'a,12'a,8''a,12''a,8'a,12'a,8''a,12''a); 142,25, 142,19, 142,15 (C-2'a,6'a,2''a,6''a,2'a,6'a,2''a,6''a); 131,7, 131,64, 131,57, 131,54 (C-1'a,7'a,1''a,7''a,1'a,7'a,1''a,7''a); 128,1 (C-7,13 ou C-8,12); 127,4 127,43, 127,36, 126,7, 126,0 (C-3',6',3'',6'',3',6',3'',6''); 127,0 (C-7,13 ou C-8,12); 126,2 (C-4',5',10',11',4'',5'',10'',11'',4',5',10',11',4'',5'',10'',11''); 124,3 (C-9',12',9'',12'',9',12',9'',12''); 122,5 (C-2',7'',2',7''); 122,4 (C-7',2'',7',2''); 121,2 (C-2 ou C-3); 121,1 (C-2 ou C-3); 50,7 (C-1',8'',1',8''); 49,8 (C-8',1'',8',1''). RMN de ^{19}F ($CDCl_3$, 470,54 MHz): δ -136,48 (dd, 12F, J_1 56,4 Hz e J_2 23,5 Hz, F_{orto}); -150,33 (t, 4F, F_{para} , J 18,8 Hz); -152,49 (t, 2F, F_{para} , J 18,8 Hz); -160,57- -160,70 (m, 8F, F_{meta}); -161,49 - -161,58 (m, 4F, F_{meta}). UV-Vis em $CHCl_3$ λ_{max} nm (%): 415 (100%) 574 (22%) 612 (16%). EM FAB m/z 1249 $[M+H]^+$.

2.4.3.4.1 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com 9,10-dimetilantraceno

Esta reacção foi efectuada a partir de uma solução de corrol (20,5 mg, 25,7 μ mol) em 1,2,4-triclorobenzeno (0,5 mL) e 2 equiv. 9,10-dimetilantraceno (10,8 mg, 52,4 μ mol) de acordo com o procedimento geral, durante 6 horas. Depois de terminada a reacção, a mistura obtida foi purificada por cromatografia em coluna. A eluição foi iniciada com éter de petróleo, de forma a remover o 1,2,4-triclorobenzeno, seguindo-se a eluição com uma mistura de éter de petróleo/diclorometano (3:1). Com esta mistura obteve-se uma fracção composta pelos derivados corrólicos pretendidos. Esta fracção foi, na fase seguinte,

purificada por cromatografia preparativa em camada fina usando a mesma mistura como eluente. Desta separação recolheram-se, por ordem decrescente de R_f , o corrol **1** (6,1mg, 30%), o monoadducto **9** (3,0 mg, 12%) e o bis-adducto **10** (3,8 mg, 9%).

Composto **9**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,42 (d, 1H, J 4,3 Hz, H-18); 8,82 (d, 1H, J 4,7 Hz, H- β); 8,77 (d, 1H, J 4,7 Hz, H-17); 8,66 (d, 1H, J 4,7 Hz, H- β); 8,61-8,57 (m, 1H, H- β); 8,47 (d, 2H, J 8,1 Hz, H-2',10'); 8,43 (d, 1H, J 4,3 Hz, H-17); 8,22 (d, 2H, J 8,8 Hz, H-5',7'); 7,55-7,48 e 7,40-7,35 (2m, 2x2H, H-3',4',8',9'); 3,25 (s, 3H, CH_3 -1'); 1,25 (s, 3H, CH_3 -6'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,7 (dd, 2F, J_1 22,6, J_2 5,6 Hz F_{orto}); -160,20 - -160,29 (m, 2F, F_{orto}); -161,81 - -161,87 (m, 2F, F_{orto}); -174,30 - -174,41 (m, 1F, F_{para}); -175,65 - -175,87 (m, 2F, F_{para}); -184,14 - -184,21 (m, 2F, F_{meta}); -184,82 - -185,11 (m, 2F, F_{meta}); -185,28 - -185,52 (m, 2F, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 411 (100%) 564 (15%) 605 (8%). EM FAB m/z 1001 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Composto **10**: EM FAB m/z 1204 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.4.4 Reacções de dimerização

Procedimento geral

Num balão em forma de pêra de 25 mL colocou-se o corrol em 0,2-0,3 mL de 1,2,4-triclorobenzeno. A solução foi aquecida, num banho de óleo, a 200°C, sob atmosfera de azoto purificado por meio de uma solução de Fieser, durante 6 horas. Ao fim desse tempo efectuou-se o controlo da reacção por TLC. Depois de arrefecida à temperatura ambiente, os componentes da mistura reaccional foram separados por cromatografia em coluna. A eluição foi iniciada com éter de petróleo de forma a remover o 1,2,4-triclorobenzeno. Prosseguiu-se com a adição do eluente apropriado para separar os vários componentes da reacção. Os componentes da mistura foram posteriormente purificados por cromatografia preparativa em camada fina utilizando os eluentes adequados para cada caso. Finalmente, depois de recolhidos e de concentrados, os compostos foram cristalizados em diclorometano/ n-hexano.

2.4.4.1 Reacção de dimerização de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol

Esta reacção foi efectuada, num balão em forma de pêra de 25 mL, com uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20 mg, 25 μ mol) em 1,2,4-triclorobenzeno (0,3 mL) foi aquecida a 200°C durante seis horas em atmosfera de azoto. O TLC da mistura reaccional revelou corrol de partida e três novos produtos. A mistura reaccional foi separada por cromatografia em coluna usando como primeiro eluente éter de petróleo para remover 1,2,4-triclorobenzeno, seguindo-se a eluição com uma mistura de éter de petróleo/diclorometano 2:1. Os produtos da reacção foram posteriormente, purificados em cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de éter de petróleo/diclorometano (2:1). Os compostos foram isolados e identificados por ordem decrescente de R_f , como sendo o composto **12** (2,8 mg, 7%), composto **13** (4,4 mg, 11%) e o composto **14** (0,8 mg, 2%).

2,3'-bis[5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol] Composto **12**. RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 9,57 (s, 1H, H-2'); 9,20 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18'); 8,83–8,79 (m, 3H, H- β); 8,66–8,61 (m, 4H, 3H- β + H-17); 8,56 e 8,59 (2d, 2x1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,49 (s, 1H, H-3); 8,38 (bd, 1H, J 4,2 Hz, H-18); 8,26 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-17). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125,77 MHz): δ 127,8 (3xC- β); 127,2 (C- β); 126,5 (C-3', C- β); 125,9 (C- β); 121,8 (C-17); 119,9 (C-2'); 117,3 (C-18, C-18'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -134,59 - -134,63 (m, 4F, F_{orto}); -134,98 - -135,22 (m, 6F, F_{orto}); -135,59 (slargo, 2F, F_{orto}); -149,27 (slargo, 2F, F_{para}); -149,79 - -149,88 (m, 2F, F_{para}); -150,46 (slargo, 2F, F_{para}); -158,60 - -158,76 (m, 6F, F_{meta}); -159,01 - -159,09 (m, 4F, F_{meta}); -160,52 (slargo, 2F, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (log ϵ): 412 (5,3) 572 (4,6) 625 (4,6). EM FAB m/z 1590 $[\text{M}]^{+}$. EMAR ESI m/z 796,0737 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ (calculado para $\text{C}_{74}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{F}_{30}$ 796,0739).

2,2',18,18'-bis[5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol] Composto **13**. RMN de ^1H (CDCl_3 , 500,13 MHz): δ 8,92 (s, 4H, H-3,17,3',17'); 8,66 e 8,49 (2d, 2 x 4H, J 4,7 Hz, H-7,13,7',13' e H-8,12,8',12'). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125,77 MHz): δ 142,6; 136,3; 136,1;

135,7 (C-2 ou C-1); 129,1; 129,0 (C-2 ou C-1); 127,7 e 126,9 (C-7,13,7',13' e C-8,12,8',12'); 118,4 (C-3,17,3',17'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,60 - -160,80 (m, 12F, F_{orto}); -175,01 (t, 4F, J 21,2 Hz, F_{para}); -175,76 (t, 2F, J 21,2 Hz, F_{para}); -184,26 - -184,42 (m, 7F, F_{meta}); -184,85 - -185,03 (m, 5F, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (log ϵ): 396 (5,2) 433 (4,9) 476 (4,9) 723 (5,2). EM FAB m/z 1588 $[\text{M}]^{++}$. EMAR ESI m/z 795,0663 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ (calculado para $\text{C}_{74}\text{H}_{20}\text{N}_8\text{F}_{30}$ 795,0660).

3,3'-bis[5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol] Composto **14**. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,16 (d, 2H, J 4,2 Hz, H-18, 18'); 9,12 (s, 2H, H-2, 2'); 8,76 e 8,44 (2d, 2x2H, J 4,8 Hz, H- β); 8,73 (d, 2H, J 4,2 Hz, H-17, 17'); 8,54 e 8,31 (2d, 2x2H, J 4,6 Hz, H- β). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,77 MHz): δ 128,5 (C- β); 127,9 (C- β); 126,8 (C- β); 125,9 (C- β); 118,1 (C-2,2'); 117,1 (C-18, 18'). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,59 (dd, 3F, J 22,6, 5,6 Hz, F_{orto}); -160,85 - -161,27 (m, 9F, F_{orto}); -175,58 - -175,74 (m, 2F, F_{para}); -176,05 (t, 2F, J 21,2 Hz, F_{para}); -177,43 - -177,65 (m, 2F, F_{para}); -184,79 - -185,03 (m, 4F, F_{meta}); -185,14 - -185,42 (m, 4F, F_{meta}); -186,60 (t, 2F, J 22,6 Hz, F_{meta}); -187,88 (slargo, 2F, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (log ϵ): 414 (5,2) 575 (4,5) 616 (4,4). EM FAB m/z 1591 $[\text{M}+\text{H}]^+$. EMAR ESI m/z 796,0735 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ (calculado para $\text{C}_{74}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{F}_{30}$ 796,0739).

2.4.4.2 Reacção de dimerização de 5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol

Esta reacção foi efectuada, num balão em forma de pêra de 25 mL, com uma solução de corrol **19** (19,7 mg, 23,7 μmol) em 1,2,4-triclorobenzeno (0,2 mL), segundo o procedimento geral. Após eliminação do 1,2,4-triclorobenzeno por eluição com n-hexano em coluna de sílica gel, os produtos maioritários da reacção foram retirados da coluna, com uma mistura de n-hexano/diclorometano (2:3) e os produtos minoritários com diclorometano. Os produtos maioritários da reacção foram separados recorrendo a cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de n-hexano/diclorometano (2:3), tendo-se obtido quatro compostos principais. Os produtos minoritários da reacção foram separados recorrendo à cromatografia preparativa usando

como eluente diclorometano. Os compostos obtidos por ordem decrescente de R_f foram: o corrol de partida **19** (1 mg, 3%), o composto **22** (2 mg, 11%), o composto **23** (1 mg, 5%) e o composto **24** (0,8 mg, 4%).

2,3'-bis[5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol] Composto **22**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,75 (s, 1H, H-2'), 9,22 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18), 8,86 (d, 1H, J 4,8 Hz, H- β), 8,81 (d, 2H, J 4,8 Hz, H- β), 8,69-8,66 (m, 2H, H-17, H- β), 8,64 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β), 8,63 (s, 1H, H-3), 8,60 (d, 1H, J 4,7 Hz, H- β), 8,48 (d, 1H, J 4,7 Hz, H- β), 8,42-8,41 (m, 1H, H- β), 8,26 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-18'), 8,22-8,21 (m, 1H, H- β), 4,44-4,42 (m, 3H, OCH_3), 4,42-4,41 (m, 3H, OCH_3), 4,40-4,37 (m, 6H, OCH_3), 4,39-4,32 (m, 3H, OCH_3), 4,32-4,31 (m, 3H, OCH_3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -162,75 - -160,95 (m, 5F, F_{orto}); -163,19 - -163,38 (m, 7F, F_{orto}); -181,16 - -181,71 (m, 9F, F_{meta}); -183,86 - -183,82 (m, 4F, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 416 (100%) 574 (21%) 621 (20%). EM FAB m/z 1663 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

2,2',18,18'-bis[5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol] Composto **23**. RMN ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 8,93 (s, 4H, H-3,17,3',17'), 8,66 e 8,49 (2d, 2x4H, J 4,8 Hz, H-7,13,7',13'e H-8,12,8',12'), 4,44-4,43 (m, 12H, OCH_3), 4,41-4,30 (m, 6H, OCH_3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -162,69 - -162,90 (m, 12F, F_{orto}); -180,89 (dd, 8F, J_1 21,2 Hz J_2 5,6 Hz, F_{meta}); -181,47 (dd, 4F, J_1 22,6 Hz J_2 8,5 Hz, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 413 (100%) 577 (22%) 619 (21%) 723 (27%). EM FAB m/z 1661 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

3,3'-bis[5,10,15-tris(4-metoxi-2,3,5,6-tetrafluorofenil)corrol] Composto **24**. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,27 (s, 2H, H-2, 2'), 9,19 (d, 2H, J 4,3 Hz, H-18, 18'), 8,77-8,75 (m, 4H, 3H- β , H-17,17'), 8,54 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β), 8,42 (d, 2H, J 4,9 Hz, H- β), 8,25 (d, 2H, J 4,4 Hz, H- β), 4,44-4,43 (m, 9H, OCH_3), 4,38-4,37 (m, 9H, OCH_3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -162,62 - -163,08 (m, 8F, F_{orto}); -163,46 - -163,56 (m, 4F, F_{orto}); -163,51 (dd, 4F, J_1 21,2, J_2 7,0 Hz, F_{orto}); -181,15 (dd, 2F, J_1 22,6, J_2 8,5 Hz, F_{meta}); -181,38 (dd, 2F, J_1 24,0, J_2 7,1 Hz, F_{meta}); -181,68 - -181,83 (m, 5F, F_{meta}); -183,64 -

183,73 (m, 3F, F_{meta}). UV-vis em $CHCl_3$ λ_{max} nm (%): 416 (100%) 576 (20%) 623 (18%). EM FAB m/z 1663 $[M+H]^+$.

2.4.4.3 Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol em vários solventes.

Procedimento geral: Soluções de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20mg, 25,1 μ mol) em diferentes solventes (2 mL) foram mantidas sob agitação à temperatura ambiente, e expostas à luz do dia ou a uma lâmpada de halogéneo de 500 W, durante 30 dias. No caso do uso da lâmpada, a solução de corrol foi irradiada durante 8 horas por dia, num total de 240 h. A evolução das reacções foi monitorizada por TLC ou RMN de 1H , no caso da reacção em clorofórmio deuterado. Os compostos resultantes de cada reacção foram isolados e purificados em cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de clorofórmio/éter de petróleo (2:1). Os rendimentos dos compostos obtidos das várias reacções encontram-se descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Rendimentos obtidos nas reacções de fotodecomposição em diferentes solventes

Solvente	Corrol 1 (%)	Dímero 14 (%)	Trímero 25 (%)
$CHCl_3$	35	28	4
$CHCl_3$, 500W	47	18	1
CH_2Cl_2	50	15	1
$C_6H_5CH_3$	90	10	-----

3,3',3''-tris[5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol] Composto **25**: RMN de 1H ($CDCl_3$, 300,13 MHz): δ 9,20 (d, 2H, J 4,3 Hz, H-18, 18''); 9,13 (s, 4H, H-2', 18' e H-2, 2''); 8,78-8,77 (m, 4H, H- β); 8,61-8,36 (m, 10H, H- β). RMN de ^{13}C (a partir das projecções de HSQC): δ 129,0 (C- β); 126,9 (C- β); 126,8 C- β); 118,0 (C-2,18, C-2',18' e C-2'',18''). RMN de ^{19}F ($CDCl_3$, 282,38 MHz): δ -160,53 - -161,03 (m, 18F, F_{orto}); -175,62 - -176,04 (m, 9F, F_{para}); -176,05 (t, 2F, J 21,2 Hz, F_{meta}); -177,43 - -177,65 (m, 2F, F_{meta}); -184,79 - -185,03 (m, 4F, F_{meta}); -185,14 - -185,42 (m, 4F, F_{meta}); -186,60 (t, 2F, J 22,6 Hz, F_{meta}); -187,88 (m, 2F, F_{meta}). UV-vis em $CHCl_3$ λ_{max} nm (log ϵ): 414 (5,52) 579

(4,92) 618 (4,88). EMAR ESI m/z 1193,1007 $[M+2H]^{2+}$ (calculado para $C_{111}H_{31}N_{12}F_{45}$ 1193,1033) e m/z 795,7373 $[M+3H]^{3+}$ (calculado para $C_{111}H_{31}N_{12}F_{45}$ 795,7379).

2.4.4.3.1 Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol em atmosfera de azoto

Uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (19,7 mg, 24,7 μ mol) em clorofórmio (2 mL), sob atmosfera de azoto (purificado por meio de solução de Fieser), foi mantida sob agitação à temperatura ambiente, e exposta à luz de uma lâmpada de tungsténio de 500W, 9 horas por dia, durante 30 dias, num total de 270 h. Os compostos resultantes foram isolados e purificados de acordo com o descrito no procedimento geral.

Foram isolados corrol **1** (14,5 mg, 73%), dímero **14** (2,2 mg, 11%) e o trímero **25** (0,6 mg, 2%).

2.4.4.4 Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)

Uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) (22,5 mg, 24,0 μ mol) em clorofórmio deuterado (2 mL) foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente e exposta à luz do dia, durante 30 dias. A reacção foi monitorizada por TLC e RMN de 1H . Após o término da reacção, os compostos resultantes da mistura reaccional foram separados e purificados por cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente acetato de etilo/éter de petróleo/piridina numa proporção de 150:50:1. O composto maioritário obtido foi identificado como sendo o composto **27** (12 mg, 54%).

3,3'-bis[5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)] Composto **27**: RMN de 1H ($CDCl_3$ + gotas de C_5D_5N , 300,13 MHz): δ 9,30 (d, 2H, J 4,03 Hz, H-18,18''); 9,212 (s, 1H, H-2 ou H-2'); 9,206 (s, 1H, H-2 ou H-2'); 8,94-8,92 (m, 4H, H- β); 8,84 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 8,70-8,67 (m, 4H, H- β). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 75,47 MHz): δ 117,6 (C-18,18'); 119,8 (C-2, 2'); 124,0 (C- β); 125,3 (C- β); 127,2 (C-17); 127,4 (C- β); 137,0; 140,7;

141,3; 143,2; 143,38. RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -159,28 (dd, 2F, J_1 30,0 Hz, J_2 8,5 Hz, F_{orto}); -161,31 - -161,76 (m, 10F, F_{orto}); -177,42 (t, 2F, J 21,2 Hz, F_{para}); -177,73 (t, 2F, J 21,2 Hz, F_{para}); -179,66 (t, 2F, J 21,2 Hz, F_{para}); -185,88 - -186,49 (m, 8F, F_{meta}); -187,59 - -187,75 (m, 2F, F_{meta}); -189,19 - -189,29 (m, 2F, F_{meta}). UV-Vis em λ_{max} nm (log ϵ) 425 (5,07) 582 (4,16) 616 (4,42). EM-MALDI m/z 1722 $[\text{M}+\text{H}-2\text{py}]^+$. EMAR MALDI m/z 1722,9446 $[\text{M}+\text{H}-2\text{py}]^+$ (calculado para $\text{C}_{74}\text{H}_{15}\text{N}_8\text{F}_{30}\text{Ga}_2$ 1722,9471).

2.4.4.4.1 Reacção de fotodecomposição do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na presença de iodo

A uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (17,8 mg, 24,7 μmol) em clorofórmio (2 mL), foi adicionado 1 equiv. de iodo (6,5 mg, 25,6 μmol). A mistura reaccional manteve-se sob agitação e exposta à luz de uma lâmpada de tungsténio de 500W, 9 horas por dia, durante 8 dias, num total de 64 h. Após o término da reacção, procedeu-se à lavagem da mistura reaccional com uma solução de tiosulfato de sódio e a fase orgânica foi extraída com diclorometano, seca com sulfato de sódio anidro e evaporada até à secura. Os componentes do resíduo obtido foram separados e purificados por cromatografia preparativa em camada fina, usando como eluente uma mistura éter de petróleo/diclorometano (3:1). Os compostos foram isolados e identificados por ordem decrescente de R_f , como sendo o composto **28** (6,0 mg, 29%), corrol **1** (5,0 mg, 25%), dímero **14** (0,6 mg, 3%) e o dímero iodado (0,9 mg, 4%).

2-iodo-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **28**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,48 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18); 8,82 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,77 (s, 1H, H-3); 8,73 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,61 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,57-8,54 (m, 2H, H- β + H-17). RMN de ^{13}C (a partir das projecções de HSQC): δ 126,9 (C- β + C-17); 125,4 (C- β); 120,9 (C-3); 117,1 (C-18). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,7 (2F, dd, J_1 24,0, J_2 8,6 Hz, F_{orto}); -161,0 (2F, dd, J_1 22,6, J_2 8,6 Hz, F_{orto}); -161,35 (2F, dd, J_1 23,5, J_2 10,3 Hz, F_{orto}); -175,1 (t, 1F, J 18,9 Hz, F_{para}); -175,4 (t, 1F, J 20,6 Hz, F_{para}); -175,7 (t, 1F, J 20,9 Hz, F_{para}); -184,46 - -184,83 (m, 4F, F_{meta}); -184,91 - -185,09 (m, 2F, F_{meta}). UV-vis

(CHCl₃) λ_{max} nm (log ϵ): 411 (5,63) 423 (5,63) 561 (4,84) 608 (4,63) 635 (4,41). EM MALDI m/z 922 [M]⁺•

2.4.5 Reacções de Oxidação com PIDA

Procedimento Geral

A uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20 mg) em clorofórmio (20 mL) adicionou-se 0,5 - 1 equiv. de PIDA. A mistura reaccional foi mantida sob agitação, num banho de água a 25°C, sob atmosfera de azoto, na ausência de luz, durante 1 hora. Procedeu-se ao término da reacção, aplicando directamente a mistura reaccional num topo de uma coluna cromatográfica, procedendo-se à eluição dos seus componentes, usando como eluente, uma mistura éter de petróleo/clorofórmio numa proporção de (3:1). Quando necessário, os compostos obtidos foram posteriormente purificados, recorrendo à cromatografia preparativa em camada fina, usando o mesmo eluente.

2.4.5.1 Reacção de Oxidação com PIDA

A uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (16,3 mg, 20,5 μmol) em clorofórmio (20 mL) adicionou-se 1 equiv. PIDA (6,5 mg, 20,1 μmol). A mistura reaccional foi mantida sob agitação, num banho de água a 25°C, sob atmosfera de azoto, na ausência de luz, durante 1 hora. Procedeu-se ao término da reacção, aplicando directamente a mistura reaccional num topo de uma coluna cromatográfica, procedendo-se à eluição dos seus componentes, usando como eluente, uma mistura éter de petróleo/clorofórmio numa proporção de (3:1). Os compostos obtidos foram posteriormente purificados, recorrendo à cromatografia preparativa em camada fina, usando o mesmo eluente

Os compostos foram isolados e identificados por ordem decrescente de R_f como sendo o corrol **1** (4,6 mg, 28%), dímero **14** (2,0 mg, 12%), e o composto **29** (1,6 mg, 9%).

A reacção realizada com 0,5 equiv. de PIDA foi efectuada a partir de uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20,3 mg, 25,5 μmol) em clorofórmio (20 mL) e 0,5 equiv. de PIDA (4,1 mg, 12,7 μmol), de acordo com o procedimento anterior.

Os compostos foram isolados e identificados por ordem decrescente de R_f como sendo o corrol **1** (6,8 mg, 33%), dímero **14** (2,5 mg, 12%), e o composto **29** (1,2 mg, 6%).

Composto **29**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz) δ 8,26 (1H, bs, NH); 6,88 (2H, d, J 5,7 Hz, H-3,17); 6,66 (2H, d, J 4,4 Hz, H-7,13 ou H-8,12); 6,38 (2H, d, J 4,4 Hz, H-7,13 ou H-8,12); 6,32 (2H, d, J 5,7 Hz, H-2,18). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,47 MHz): 170,9 (C=O); 152,9 e 143,2 (C-6,9,11,14); 141,9 (C-2,18); 136,7 (C-3,17); 129,2 e 121,9 (C-7,13 e C-8,12). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,86 (dd, 4F, J_1 19,7 Hz, J_2 6,8 Hz, F_{orto}); -161,03 - -161,14 (m, 2F, F_{orto}); -173,8 (t, 1F, J 20,7 Hz, F_{para}); -174,4 (t, 2F, J 20,6 Hz, F_{para}); -183,25 - -183,44 (m, 8F, F_{meta}). UV-vis (CH_2Cl_2) λ_{max} nm (log ϵ): 318 (4,04) 382 (4,21) 613 (3,89). EM MALDI m/z 829 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.4.6 Reacções de corróis com iletos de azometino

2.4.6.1 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) com ileto de azometino

A uma solução de 1 equiv. de paraformaldeído (0,8 mg, 22,6 μmol) e 1,1 equiv. de *N*-metilglicina (2,3 mg, 25,8 μmol) em tolueno adicionou-se 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) (21,3 mg, 22,6 μmol). A mistura reaccional foi mantida sob aquecimento a uma temperatura de 80°C, sob atmosfera de azoto e sob-agitação, durante 2 horas. A reacção foi monitorizada por TLC. Após as 2 horas de reacção procedeu-se a adição de mais 1 equiv. de sarcosina (2,3 mg, 25,8 μmol) e 1,4 equiv. de paraformaldeído (1,0 mg, 33,3 μmol), permanecendo a mistura reaccional a 80°C por mais 2 horas.

Ao fim de um total de 4 horas terminou-se a reacção e procedeu-se à separação dos componentes da mistura reaccional em cromatografia preparativa em camada fina usando

como eluente uma mistura de acetato de etilo:éter de petróleo:piridina na proporção (50:65:1), respectivamente.

Os compostos obtidos, por ordem decrescente de R_f , foram: o corrol **26** recuperado (13,6 mg, 65%), o composto **30** (2,9 mg, 15%) e o composto **31** (3,1 mg, 17%)

Quando necessário os compostos foram posteriormente purificados em cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de acetato etilo:éter de petróleo:piridina na proporção (50:65:1), respectivamente.

2-[(*N,N'*-dimetilamino)metil]-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)

Composto 30: RMN de ^1H (CDCl_3 + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300,13 MHz): δ 9,32 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-18); 8,86 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 8,80 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-17); 8,75 (s, 1H, H-3); 8,65 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 5,10 (s, 2H, CH_2); 2,70 (s, 6H, $2\times\text{CH}_3$). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , baseado nas projecções de HSQC e HMBC): δ 149,4; 143,2; 140,6; 127,4; 125,0 (C-5,6,9,10,11,14,15); 135,2 (C-1,19); 128,9 (C-4); 127,4 ($2\times\text{C-}\beta$); 125,0 (C-17, C-3); 123,4 ($2\times\text{C-}\beta$); 118,4 (C-18); 56,7 (CH_2); 45,0 ($2\times\text{CH}_3$). UV-Vis em CHCl_3 , λ_{max} nm (%): 422 (100%) 579 (13%) 595 (15%). EM-MALDI m/z 919 875 (NCH_3CH_2) $[\text{M}]^{++}$. EMAR ESI m/z 920,0425 $[\text{M}+\text{H-py}]^+$ (calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{F}_{15}\text{Ga}$ 920,0422).

3-[(*N,N'*-dimetilamino)metil]-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina)

composto 31: RMN de ^1H (CDCl_3 + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300,13 MHz): δ 9,07 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-18); 8,99 (s, 1H, H-2); 8,74 (d, 1H, J 4,5 Hz, H- β); 8,66 (d, 1H, J 4,1 Hz, H-17); 8,62 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,52 (d, 1H, J 4,5 Hz, H- β); 8,48 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 4,03 (s, 2H, CH_2); 2,09 (s, 6H, $2\times\text{CH}_3$). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , baseado nas projecções de HSQC e HMBC): δ 142,6; 140,7; 139,4; 134,7; 133,7; 127,1 ($2\times\text{C-}\beta$); 124,7 (C-17); 123,3 ($2\times\text{C-}\beta$); 120,2 (C-2); 118,0 (C-18); 58,5 (CH_2); 45,3 ($2\times\text{CH}_3$). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -161,40- -161,59 (m, 6F, F_{orto}), -177,60 (t, 1F, J 21,2 Hz, F_{para}), -177,79 (t, 1F, J 21,2 Hz, F_{para}), -178,97 (t, 1F, J 21,2 Hz, F_{para}), -186,02 (dt, 2F, J_1 22,6 Hz, J_2 9,4 Hz, F_{meta}), -186,37 (dt, 2F, J_1 23,3 Hz, J_2 7,5 Hz, F_{meta}), -187,80 - -188,00 (m, 2F, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 421 (100%) 576 (11%) 593 (14%). EM MALDI m/z 919 875 (NCH_3CH_2) $[\text{M}]^{++}$. EMAR ESI m/z 920,0413 $[\text{M}+\text{H-py}]^+$ (calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{F}_{15}\text{Ga}$ 920,0422).

2.4.6.2 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) com a *N*-(Porfirina-2-ilmetil)glicina **32**

A uma solução de 1,5 equiv. paraformaldeído (1 mg, 33,3 μmol) e 0,33 equiv. de *N*-(Porfirina-2-ilmetil)glicina **32** (5,4 mg, 7,1 μmol) em tolueno (0,5 mL) adicionou-se 1 equiv. 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatogálio(III)(piridina) (17,0 mg, 18,0 μmol). A mistura reaccional foi mantida sob aquecimento a uma temperatura de 80°C, sob atmosfera de azoto e sob-agitação, durante 2 horas. A reacção foi monitorizada por TLC. Após 2 horas, terminou-se a reacção e procedeu-se à separação dos componentes da mistura reaccional em cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de acetato etilo:éter de petróleo:piridina na proporção (50:65:1), respectivamente.

Os compostos obtidos, por ordem decrescente de R_f , foram: o corrol **26** recuperado (9,0 mg, 53%), a díade **33** (1,0 mg, 10%) e a díade **34** (3,1 mg, 13%)

Quando necessário os compostos foram posteriormente purificados em cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de acetato etilo:éter de petróleo:piridina na proporção (50:65:1), respectivamente.

Díade **33**: RMN de ^1H (CDCl_3 + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300,13 MHz): δ 9,01 (s, 1H, H-3); 8,90 (d, 1H, J 4,0 Hz, H-18'); 8,85 (d, 2H, J 4,4 Hz, H- β); 8,68-8,64 (m, 5H, H- β); 8,60-8,58 (m, 3H, H- β); 8,62 (s, 1H, H-3'); 8,54 (d, 1H, J 4,0 Hz, H-17'); 8,00-7,91 (m, 10H, 8H-Ar_{orto} + 2H-Ar_{para}); 7,72-7,64 (m, 4H, H-Ar_{meta}); 7,46-7,44 (m, 2H, H-Ar_{para}); 7,16-6,99 (m, 4H, H-Ar_{meta}); 5,24 (s, 2H, H-2³); 4,28 (s, 2H, H-2¹); 2,03 (s, 3H, N-CH₃). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , baseado nas projecções HSQC): 135,5 (C-18, C- β , C-3); 133,49 (C-3'); 133,5-132,5 (C-Ar_{orto}, C-Ar_{para}); 126,9 (C-Ar_{meta}, C-Ar_{para}); 124,6 (C-17); 123,1 (C- β); 49,1 (C-2³); 47,5 (C-2¹); 45,9 (N-CH₃). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -161,41 (dt, 6F, J_1 23,3, J_2 5,6 Hz, F_{orto}), -177,28- -177,66 (m, 3F, F_{para}); -185,84 - -186,27 (m, 6F, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 423 (100%) 532 (8%) 571 (9%) 594 (8%). EM ESI m/z 1590 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Díade **34**: RMN de ^1H (CDCl_3 + gotas de $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300,13 MHz): δ 9,18 (s, 1H, H-3); 8,94 (d, 1H, J 4,0 Hz, H-18'); 8,83 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 8,79 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 8,71 (s, 1H, H-2'); 8,38 (d, 1H, J 4,0 Hz, H-17'); 8,71-8,68 (m, 3H, H- β); 8,63-8,61 (m, 3H, H-

β); 7,96-7,91 (m, 6H, H-Ar_{para}); 7,84-7,81 (m, 2H, H-Ar_{para}); 7,68-7,61 (m, H-Ar_{para} + H-Ar_{meta}); 7,39-7,37 (m, H-Ar_{meta}); 4,95 (s, 2H, H-2³); 3,89 (s, 2H, H-2¹); 2,03 (s, 3H, N-CH₃). RMN de ¹³C (CDCl₃ baseado na projecção HSQC): δ 134,5 (C-3'); 132,5 (C-2); 132,5 (C- β); 135,7, 133,7, 132,6, 132,5, 127,1 (C-Ar_{orto}, C-Ar_{meta}, C-Ar_{para}); 127,1 (C- β); 126,9 (C-Ar_{meta}, C-Ar_{para}); 124,5 (C-17'); 123,4 (C- β); 123,1 (C- β); 119,4 (C-18'); 57,6 (C-2¹); 56,0 (C-2³); 43,7 (N-CH₃). RMN de ¹⁹F (CDCl₃, 282,38 MHz): δ -161,41 (dt, 6F, J_1 23,3, J_2 5,6 Hz, F_{orto}); -177,22- -177,47 (m, 2F, F_{para}); -177,69 (t, 1F, J 21,0 Hz, F_{para}); -185,86 - -186,08 (m, 4F, F_{meta}); -186,19- -186,38 (m, 2F, F_{meta}). UV-Vis em CHCl₃ λ_{\max} nm (%): 423 (100%) 532 (8%) 571 (9%) 594 (8%). EM ESI m/z 1590 [M+H]⁺.

2.4.6.3 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino

A uma solução de paraformaldeído (3-5 equivalentes) e *N*-metilglicina (1-2 equivalentes) em tolueno seco (0,5 mL – 9 mL) adicionou-se 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20 mg, 25,1 μ mol). A mistura reaccional foi mantida sob aquecimento a uma temperatura de 80°C, sob atmosfera de azoto e sob-agitação. A reacção foi monitorizada por TLC. Após cinco horas, a reacção foi dada como terminada e procedeu-se à separação dos componentes da mistura reaccional em cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de acetato etilo:clorofórmio (9:1). O único composto isolado foi um composto verde bastante polar, identificado como sendo o composto **35**. Os rendimentos obtidos encontram-se na Tabela 5.

Composto **35** RMN de ¹H (CD₃COCD₃, 500,13 MHz a 25°C e a 10°C): δ 8,51 (d, 2H, H-7,13 ou H-8,12, J 4,4 Hz); 8,35 (d, 2H, H-7,13 ou H-8,12, J 4,4 Hz); 7,75 (s, 2H, H-3,17); 6,08 (sinal largo, 2H, CH₂ (-10°C)); 5,50 (sinal largo, 2H, CH₂ (-10°C)); 1,15 (s, 6H, CH₃). RMN de ¹³C (CD₃COCD₃, 125,77 MHz): 143,1 e 142,6 (C-9,11 e C-6,14); 140,8 e 134,2 (C-1 e C-19); 126,5 (C-7,13 ou C-8,12); 125,6 (C-7,13 ou C-8,12); 120,1 (C-3,17); 119,4 (C-2 ou C-18); 119,1 (C-2 ou C-18); 69,34 (CH₂); 69,33 (CH₂); 29,0 (CH₃). RMN de ¹⁹F (CD₃COCD₃, 282,38 MHz): -163,6 (dd, 6F, J_1 23,9 Hz e J_2 7,1 Hz, F_{orto}); -181,48 (t, 2F, J 21,2, F_{para}); -181,96 (t, 1F, J 19,7, F_{para}); -189,06 (dt, 4F, J_1 22,6 Hz, J_2 19,7 Hz e J_3

8,5 Hz, F_{meta}); -189,65 (dt, 2F, J_1 21,2 Hz, J_2 19,7 Hz e J_3 8,5 Hz, F_{meta}). UV-Vis em acetona λ_{nm} nm (log ϵ): 426 (4,83) 594 (3,98) 623 (4,42). EM ESI m/z 866 $[M]^+$.

2.4.7 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em álcoois

Procedimento Geral

Num balão de 25 mL em forma de pêra dissolveu-se o paraformaldeído, a *N*-metilglicina em 3 mL do álcool adequado. A essa solução adicionou-se o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20 mg, 25 μmol). A mistura reaccional permaneceu sob atmosfera de azoto e agitação, durante 5 horas a 80° C. Depois de arrefecida à temperatura ambiente, a mistura reaccional foi levada à secura, com a ajuda do evaporador rotativo, o resíduo foi retomado em diclorometano ou clorofórmio. No caso do 1-octanol, procedeu-se à sua remoção do meio reaccional por arrastamento de vapor, num evaporador rotativo. A separação e a purificação dos compostos obtidos foram efectuadas por cromatografia preparativa em camada fina, usando o eluente adequado para cada caso. Os compostos isolados foram cristalizados em diclorometano/*n*-hexano.

2.4.7.1.1 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em metanol

A uma solução de 5,0 equiv. de paraformaldeído (3,8 mg, 127 μmol) e 2,1 equiv. de *N*-metilglicina (4,7 mg, 52,8 μmol) em metanol seco (3 mL), foi adicionado 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20,2 mg, 25,4 μmol), de acordo com o procedimento geral. A separação e purificação dos compostos obtidos foram efectuadas por cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de *n*-hexano/diclorometano (2:1). Os compostos obtidos, por ordem decrescente de R_f , foram: o corrol **1** recuperado (8,4 mg, 42%), o composto **36** (1 mg, 5%), o composto **37** (1,3 mg, 2%), o composto **38** (0,7 mg, 3%) e o composto **39** (0,9 mg, 5%).

2-metoximetil-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **36**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,15 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18); 8,78-8,77 (m, 2H, H- β); 8,60 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 8,56 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-18); 8,48 (s, 1H, H-3); 5,81 (s, 2H, CH_2 , H-3 1); 3,77 (s, 3H, CH_3 , H-3 3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,73- -161,3 (m, 6F, F_{orto}); -175,6 (m, 3F, F_{para}); -184,9 - -185,2 (m, 6F, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 409 (100%) 565 (18%) 605 (12%). EM MALDI m/z 840 $[\text{M}]^{+}$.

Composto **37**: EM -MALDI m/z 884 $[\text{M}]^{+}$.

2,3,17-tris(metoximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **38**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,11 (s, 1H, H-18); 8,62 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,61 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,51 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 5,79 (s, 2H, H-2 1); 5,05 (s, 2H, H-17 1); 5,02 (s, 2H, H-3 1); 3,74 (s, 3H, H-2 3); 3,38 (s, 3H, H-17 3); 3,28 (s, 3H, H-3 3). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , baseado na projecção de HSQC): δ 131,9, 131,2, 128,5 (C-4,16,19); 127,1 (C-1); 126,4 (C- β); 128,5 (C- β); 119,0 (C-18); 68,4 (C-17 1); 66,1 (C-2 1); 65,0 (C-3 1); 58,8 (C-2 3); 58,1 (C-17 3 e C-3 3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 Hz): δ -160,7 (2F, dd, J_1 25,4, J_2 8,5 Hz, F_{orto}); -160,81 - -160,89 (2F, m, F_{orto}); -161,21 - -161,27 (2F, m, F_{orto}); -175,87- -176,06 (m, 2F, F_{para}); -176,20 (2F, dd, J 19,7 Hz, F_{para}); -185,26 - -185,45 (m, 2F, F_{meta}); -185,75 - -186,04 (m, 4F, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 411 (100%) 427 (78%) 573 (21%) 609 (15%). EM MALDI m/z 928 $[\text{M}]^{+}$. EMAR ESI m/z 929,15831 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ (calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{24}\text{F}_{15}\text{N}_4\text{O}_3$ 929,15571).

Composto **39**: EM -MALDI m/z 928 $[\text{M}]^{+}$.

2.4.7.1.2 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em metanol

A uma solução de 9,2 equiv. paraformaldeído (7,1 mg, 237 μmol) e 4 equiv. de *N*-metilglicina (9,0 mg, 101 μmol) em metanol seco (3 mL), foi adicionado 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20,0 mg, 25,1 μmol), de acordo com o procedimento geral. A separação e purificação dos compostos obtidos foram efectuadas por

cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de n-hexano/diclorometano (2:1). Os compostos obtidos, por ordem decrescente de R_f , foram: o composto **39** (3 mg, 13%) e o composto **40** (1 mg, 5%).

2,3,17,18-tetra(metoximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **40**. RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 8,48 (d, 2H, J 4,8 Hz, H- β); 8,34 (d, 2H, J 4,8 Hz, H- β); 5,68 (s, 4H, H-18 1 , H-2 1); 4,97 (s, 4H, H-17 1 , 3 1); 3,71 (s, 6H, H-18 2 , H-2 3); 3,28 (s, 6H, H-17 3 , 3 3). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , baseado na projecção de HSQC): δ 129,3 (C- β); 127,2 (C- β); 65,4 (C-2 1 , 18 1); 65,1 (C-3 1 , 17 1); 58,6 (C-2 3 , 18 3); 58,2 (C-3 3 , 17 3). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,67 - -160,72 (m, 6F, F_{orto}); -176,05 - -176,30 (m, 3F, F_{para}); -185,23 - -185,36 (2F, m, F_{meta}); -186,06 - -186,16 (4F, m, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 409 (100%) 430 (68%) 579 (27%) 610 (24%). EM MALDI m/z 972 $[\text{M}]^{+}$. EMAR ESI m/z 973,18655 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ (calculado para $\text{C}_{45}\text{H}_{28}\text{F}_{15}\text{N}_4\text{O}_4$ 973,18244).

2.4.7.1.3 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em 1-propanol

A uma solução de 5,2 equiv. paraformaldeído (4,1 mg, 137 μmol) e 2,1 equiv. de *N*-metilglicina (4,9 mg, 55,1 μmol) em 1-propanol (3 mL) foi adicionado 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20,7 mg, 26,0 μmol), de acordo com o procedimento geral. A separação e purificação dos compostos obtidos foram efectuadas por cromatografia preparativa em camada fina usando como eluente uma mistura de n-hexano/diclorometano (2:1). Os compostos obtidos, por ordem decrescente de R_f , foram: o composto **41** (2,5 mg, 10%) e o composto **42** (4,2 mg, 15%).

A reacção realizada com maior excesso de paraformaldeído e sarcosina foi efectuada a partir de uma solução de 10,1 equiv. paraformaldeído (9,1 mg, 303 μmol) e 4,1 equiv. de *N*-metilglicina (10,6 mg, 119 μmol) em 1-propanol (3 mL), à qual foi adicionado 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (21,5 mg, 27,0 μmol), de acordo com o procedimento geral. A separação e purificação dos compostos foram efectuadas segundo o

procedimento anterior. Os compostos obtidos foram: o composto **41** (1,1 mg, 4%) e o composto **42** (11,7 mg, 40%).

2,3,17-tris(propoximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **41** RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,17 (s, 1H, H-18); 8,62 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,61 (d, 1H, J 4,6 Hz, H- β); 8,51 (d, 2H, J 4,6 Hz, H- β); 5,87 (s, 2H, H-2 1); 5,11 (s, 2H, H-17 1); 5,09 (s, 2H, H-3 1); 3,89 (t, 2H, J 6,7 Hz, H- H-2 3); 3,41 (t, 2H, J 6,9 Hz, H-17 3); 3,32 (t, 2H, J 6,9 Hz, H-3 3); 1,83 (sex, 2H, J 7,0 Hz, H-2 4); 1,68-1,57 (m, 4H, H-3 4 ,17 4); 1,02 (t, 2H, J 7,4 Hz, H-2 5); 0,91 (t, 2H, J 7,7 Hz, H-17 5); 0,86 (t, 2H, J 7,7 Hz, H-3 5). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,14 Hz): δ 148,2-113,6 (C-anéis pentafluorofenilo); 131,1 (C-19, C-1); 129,02 (C-16); 127,2 (C-17); 126,3 e 127,3 (C-7,13 e C-8,12); 119,5 (C-2); 119,3 (C-18); 72,6 (C-3 3 ,17 3); 70,0 (C-2 3); 66,7 (C-17 1); 64,6 (C-2 1); 63,4 (C-3 1); 23,2 (C-2 4); 22,86 e 22,80 (C-3 4 ,17 4); 10,84 (C-2 5); 10,44 e 10,41 (C-3 5 ,17 5). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,67 (4F, dd, J_1 24,0 e J_2 14,1 Hz, F_{orto}); -161,09 (2F, d, J 22,6, F_{orto}); -176,29 (3F, t, J 21,1, F_{para}); -185,31- -185,50 (2F, m, F_{meta}); -185,64- -185,83 (4F, m, F_{meta}). UV-Vis em CHCl_3 λ_{max} nm (log ϵ): 411 (5,04) 427 (4,93) 569 (4,31) 610 (4,15). EM MALDI m/z 1012 $[\text{M}]^+$.

2,3,17,18-tetra(propoximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **42** RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 Hz): δ 8,49 e 8,36 (2d, 2x2H, J 4,7 Hz, H-7,13 e H-8,12); 5,77 (s, 4H, H-2 1 ,18 1); 5,05 (s, 4H, H-3 1 ,17 1); 3,80 (t, 4H, J 6,6 Hz, H-2 3 ,18 3); 3,31 (t, 4H, J 6,9 Hz H-3 3 ,17 3); 1,79 (sex., 4H, J 7,0 Hz, H-2 4 ,18 4); 1,55 (sex., 4H, J 7,2 Hz, H-3 4 ,17 4); 1,02 (t, 6H, J 7,4 Hz, H-2 5 ,18 5); 0,86 (t, 6H, J 7,44 Hz, H-3 5 ,17 5). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75,77 MHz): δ 148,2-113,4 (C-anéis pentafluorofenilo) 145,9 e 142,9 (C-6,14 e C-9,11); 130,6 (C-2,18); 130,3 (C-4,16); 126,8 (C-3,17); 129,1 e 127,0 (C-7,13 e C-8,12); 124,9 (C-1,19); 72,9 (C-2 3 ,18 3); 72,8 (C-3 3 ,17 3); 63,8 (C-2 1 ,18 1); 63,5 (C-3 1 ,17 1); 23,2 (C-2 4 ,18 4); 22,8 (C-3 4 ,17 4); 10,9 (C-2 5 ,18 5); 10,4 (C-3 5 ,17 5). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 Hz): δ -160,40 (4F, dd, J_1 25,1, J_2 5,6 Hz, F_{orto}); -160,62 (2F, dd, J_1 25,4, J_2 8,5 Hz, F_{orto}); -176,35 (3F, t, J 19,7, F_{para}); -185,38 (2F, dd, J_1 21,2, J_2 8,5 Hz, F_{meta}); -185,92 (4F, dd, J_1 22,6, J_2 5,6 Hz, F_{meta}). UV-Vis em DMF λ_{nm} (log ϵ) 430 (5,19) 442 (5,23) 594 (4,38) 628 (4,69). EM MALDI m/z 1084 $[\text{M}]^+$.

2.4.7.1.4 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com ileto de azometino em 1-octanol

A uma solução de 10 equiv. de paraformaldeído (7,8 mg, 260 μmol) e 4 equiv. de *N*-metilglicina (9,3mg, 140 μmol) em 1-octanol (3 mL), foi adicionado 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (19,5 mg, 24,5 μmol), de acordo com o procedimento geral. Após o término da reacção, adicionou-se à mistura reaccional água destilada e procedeu-se à remoção do 1-octanol por arrastamento de vapor, à pressão reduzida. De seguida, a mistura reaccional foi dissolvida em diclorometano e lavada com água. A fase orgânica foi extraída com diclorometano e seca através de sulfato de sódio anidro. O resíduo obtido após evaporação do solvente foi purificado por cromatografia preparativa, usando como eluente uma mistura de *n*-hexano/diclorometano (4:1). Os compostos obtidos, por ordem decrescente de R_f , foram: composto **43** (17%), composto **44** (16%) e o composto **45** (29%).

A reacção realizada com maior excesso de paraformaldeído e sarcosina foi efectuada a partir de uma solução de 15 equiv. paraformaldeído (15,3 mg, 510 μmol) e 6 equiv. de *N*-metilglicina (12,5 mg, 140 μmol) em de 1-octanol (3 mL), foi adicionado 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20,2 mg, 25,4 μmol), de acordo com o procedimento geral. A separação e purificação dos compostos foram efectuadas segundo o procedimento anterior. Os compostos obtidos foram: o composto **43** (9%), o composto **44** (13%) e o composto **45** (35%).

2,3,18-tris(octiloximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **43**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 Hz): δ 8,64 (d, 1H, J 4,8 Hz, H- β); 8,56 (d, 1H, J 4,8 Hz, H- β); 8,46 (bs, 3H, H-17+2 H- β); 5,89 (s, 2H, H-2 1 ou H-18 1); 5,78 (s, 2H, H-2 1 ou H-18 1); 5,06 (s, 2H, H-17 1); 3,81 (t, 4H, J 6,7 Hz, H-2 3 ,18 3); 3,37 (t, 2H, J 6,9 Hz, H-3 3); 1,73 (sex., 4H, J 7,4 Hz, H-2 4 ,18 4); 1,64 - 1,23 (m, H-cadeia carbonada); 0,92-0,76 (m, ,23 (m, H-cadeia carbonada). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , baseado na projecção HSQC): δ 128,6 (C- β); 126,7 (C- β); 121,0 (C-17); 71,3 (C-2 3 ,3 3 ,18 3); 66,8 (C-2 1 ou C-18 1); 63,5 (C-2 1 ou C-18 1 e C-17 1); 31,7, 29,6, 26,2, 22,6, 19,7 (C-cadeia carbonada). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 Hz): δ -160,45 (2F, dd, J_1 22,6 e J_2 5,6 Hz, F_{orto}); -160,63 (2F, dd, J_1 25,4 e J_2 8,5 Hz, F_{orto}); -

160,92 (2F, dd, J_1 22,6 e J_2 5,6 Hz, F_{orto}); -175,73 (1F, t, J 19,7, F_{para}); -176,17- -176,41 (m, 2F, F_{para}); -184,9 (2F, dd, J_1 19,7 e J_2 5,6 Hz, F_{meta}); -185,4 (2F, dd, J_1 22,6 e J_2 8,5 Hz, F_{meta}); -185,8 (2F, dd, J_1 25,4 e J_2 5,6 Hz, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 411 430(100) 578 (15%) 607 (20%) 665 (15%). EM MALDI m/z 1222 $[\text{M}]^+$.

2,3,17-tris(octiloximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **44**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 Hz): δ 9,18 (s, 1H, H-18); 8,63- 8,60 (m, 2H, H- β); 8,52-8,50 (m, 2H, H- β); 5,86 (s, 2H, H-2 1); 5,11 (s, 2H, H-3 1 ou H-17 1); 5,09 (s, 2H, H-3 1 ou H-17 1); 3,91 (t, 2H, J 6,6 Hz, H-2 3); 3,44 (t, 2H, J 7,0 Hz, H-3 3 ou H-17 3); 3,36 (t, 2H, J 7,1 Hz, H-3 3 ou H-17 3); 1,78-1,73 (m, 7H, H-cadeia carbonada); 1,52-1,43 (m, 14H, H-cadeia carbonada). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 413 429 (100%) 577 (20%) 614 (20%) 657(15%). EM MALDI m/z 1222 $[\text{M}]^+$.

2,3,17,18-tetra(octiloximetil)-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **45**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 Hz): δ 8,49 e 8,36 (2d, 2x2H, J 4,9 Hz, H-7,13 e H-8,12); 5,75 (s, 4H, H-2 1 ,18 1); 5,04 (s, 4H, H-3 1 ,17 1); 3,83 (t, 4H, J 6,7 Hz, H-2 3 ,18 3); 3,43 (t, 4H, J 6,9 Hz, H-3 3 ,17 3), 1,78-1,73 (m, 14H, H-cadeia carbonada); 1,52-1,43 (m, 14H, H-cadeia carbonada). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 Hz): -160,4 (2F, dd, J_1 25,5 e J_2 7,1 Hz, F_{orto}); -160,6 - -160,7 (4F, m, F_{orto}); -176,2 - -176,4 (3F, m, F_{para}); -185,3 - -185,5 (4F, m, F_{meta}); -185,8 - -185,9 (2F, m, F_{meta}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 413 429(100%) 577 (20%) 614 (20%) 657(15%). EM MALDI m/z 1364 $[\text{M}]^+$.

2.4.7.1.5 Reacção de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com paraformaldeído em 1-propanol na presença de TFA

A uma solução de 11 equiv. paraformaldeído (7,1 mg, 237 μmol) e 1 equiv. de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (14,8mg, 18,6 μmol) em 1-propanol (3 mL) foram adicionados 4 equiv. de TFA (7,5 μL , 10,1 mmol). A reacção permaneceu sob agitação, a uma temperatura de 80°C e sob atmosfera de azoto. Após cinco horas de reacção, procedeu-se a uma adição de paraformaldeído (7,1 mg, 237 μmol) e TFA (7,5 μL , 10,1 mmol). Ao fim de um total de 10 horas de reacção, terminou-se a reacção procedeu-se à separação dos componentes da mistura reaccional em cromatografia preparativa em

camada fina, usando como eluente uma mistura de éter de petróleo/diclorometano (3:1). Obteve-se o composto **46** (2,0 mg, 12%), tendo-se recuperado de corrol de partida (9,9 mg, 67%).

2-propoximetil-5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol Composto **46**: RMN de ^1H (CDCl_3 , 300,13 MHz): δ 9,21 (d, 1H, J 4,3 Hz, H-18); 8,76-8,75 (m, 2H, H- β); 8,58 (d, 3H, J 4,6 Hz, H- β +H-17); 8,49 (s, 1H, H-3); 5,87 (s, 2H, H-2 1); 3,88 (t, 2H, J 6,7 Hz, H-H-2 3); 1,85 (sex., 2H, J 7,2 Hz, H-2 4); 1,04 (t, 2H, J 7,4 Hz, H-2 5). RMN de ^{19}F (CDCl_3 , 282,38 MHz): δ -160,69 (dd, 2F, J_1 25,4 e J_2 8,46 Hz, F_{orto}); -161,10- -161,25 (m, 4F, F_{orto}); -175,66 - -179,80 (m, 2F, F_{para}); -176,29 (t, 1F, F_{para}); -184,88 - -185,09 (m, 4F, F_{meta}); -185,40 (dt, 2F, J_1 24,0 e J_2 8,46 Hz, F_{para}). UV-vis em CHCl_3 λ_{max} nm (%): 411 (100%) 568 (21%) 609 (18%). EM MALDI m/z 868 $[\text{M}]^+$.

2.5 Referências Bibliográficas

- 1 Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C. *Arkivoc* **2003**, *xiv*, 107-130.
- 2 Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Arkivoc* **2005**, *ix*, 332-343.
- 3 Tomé, A. C.; Lacerda, P. S. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Chem. Commun.* **1997**, 1199-1200.
- 4 Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3065-3068.
- 5 Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Kappe, C. O. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4723-4726.
- 6 Barata, J. F. B.; Silva, A. M. G.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S. *Synlett* **2004**, 1291-1293.
- 7 Barata, J. F. B. “Estudos de síntese e reactividade de novos derivados do tipo corrol” Tese de Mestrado, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, **2004**, cap.3, 41-63.
- 8 de la Hoz, A.; Díaz-Ortiz, A.; Moreno, A.; Langa, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3659-3673.
- 9 Katritzky, A. R.; Singh, S. K. *Arkivoc* **2003**, *xiii*, 68-86.
- 10 Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225-9283.
- 11 Molteni, V.; Ellis, D. A. *Curr. Org. Synth.* **2005**, *2*, 333-375.
- 12 Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6284.
- 13 Clar, E. “Polycyclic Hydrocarbons” vol.1 ed. por Academic Press, Londres, **1964**, 40-47.
- 14 Balazs, Y. S.; Saltsman, I.; Mahammed, A.; Tkachenko, E.; Golubkov, G.; Levine, J.; Gross, Z. *Magn. Reson. Chem.* **2004**, *42*, 624-635.
- 15 Silva, A. M. G. “Transformações de cicloadição e síntese de novos macrociclos tetrapirrólicos”, Tese de doutoramento, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, **2002**, cap.2, 25-40.
- 16 Tardieux C.; Gros, C. P.; Guillard, R. *J. Heterocyclic Chem.* **1998**, *35*, 965-970.

- 17 Paolesse, R.; Sagone, F.; Macagnano, A.; Boschi, T.; Prodi, L.; Montalti, M.; Zaccheroni, N.; Bolletta, F.; Smith, K. M. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **1999**, *3*, 364-370.
- 18 Geier III, G. R.; Chick, J. F. B.; Callinan, J. B.; Reid, C. G.; Auguscinski, W. P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4159-4169.
- 19 Ding, T.; Alemán, E. A.; Modarelli, D. A.; Ziegler, C. J. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 7411-7417.
- 20 Gryko, D. T.; Koszarna, B. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 350-357.
- 21 Guilard, R.; Gryko, D. T.; Canard, G.; Barbe, J-M.; Koszarna, B.; Brandès, S.; Tasior, M. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4491-4494.
- 22 Gros, C. P.; Barbe, J-M.; Espinosa, E.; Guilard, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5642-5645.
- 23 Wirth, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3656-3665.
- 24 Jin, L-M.; Chen, L.; Chin, J-J.; Guo, C-C.; Chen, Q. Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3994-4001.
- 25 Moreno, I.; Tellitu, I.; Etayo, J.; SanMartín, R.; Domínguez, E. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 5403-5411.
- 26 Tohma, H.; Iwata, M.; Maegawa, T.; Kita, Y. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9241-9244.
- 27 Barata, J. F. B.; Silva, A. M. G.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8171-8174.
- 28 Mahammed, A.; Giladi, I.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 4259-4265.
- 29 Luobeznova, I.; Simkhovich, L.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, *8*, 1724-1732.
- 30 Hiroto, S.; Hisaki, I.; Shinokubo, H.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6763-6766.
- 31 Gryko, D. T.; Koszarna, B. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 350-357.
- 32 Wiesecke, J.; Rehahn M. *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 78-83.
- 33 Fernández, M.-J.; Gude, L.; Lorente, A. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 891-893
- 34 Bendix, J.; Dmochowski, I. J.; Gray, H. B.; Mahammed, A.; Simkhovich, L.; Gross, Z. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4048-4051.

- 35 Saltsman, I.; Mahammed, A.; Goldberg, I.; Tkachenko, E.; Botoshansky, M.; Gross, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7411-7420.
- 36 Barton, D. H. R.; Salgueiro, M. C.; MacKinnon, J. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7417-7428.
- 37 Morrison R.; Boyd, R. Química Orgânica, 8 edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- 38 Carruthers, W. "Cycloaddition reactions in organic synthesis" em *Tetrahedron Organic Chemistry series*, ed. Pergamon Press, **1990**, vol. 8, cap. 6, 269-274.
- 39 Sweeney, J. B. *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 247-258.
- 40 Galliford, C. V.; Beenen, M. A.; Nguyen, S. T.; Scheidt, K. A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3487-3490.
- 41 Garner, P.; Kaniskan, H. Ü. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10868-10871.
- 42 Rizzi, G. P. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 2069-2072.
- 43 Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M.G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Chem. Commun.* **1999**, 1767-1768.
- 44 Silva, A. M. G.; Lacerda, P. S. S.; Tomé, A. C.; Neves, M.G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2306-2314.
- 45 Jiménez-Osés, G.; García, J. I.; Silva, A. M. G.; Santos, A. R. N.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7937-7943.
- 46 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. *Synlett* **2005**, 857-859.
- 47 Vaz Serra, V. I. R. C. "Novos derivados porfirínicos: síntese e potenciais aplicações na detecção de neoplasias", Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, **2005**, cap. 2, 50-61.
- 48 Silva, A. M. G.; Lacerda, P. S. S.; Tomé, A. C.; Neves, M.G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Makarova, E. A.; Lukyanets, E. A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8352-8356.
- 49 Silva, A. M. G.; Lacerda, P. S. S.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 726-732.
- 50 Zhao, S.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 5487-5490.
- 51 Almena, J.; Foubelo, F.; Yus, M. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 8545-8564.

- 52 Khalafa, A. I.; Alvarez, R. G.; Sucklinga, C. J.; Waighb, R. D. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8567-8571.
- 53 Oike, H.; Imamura, H.; Tezuka, Y. *Macromolecules* **1999**, *32*, 8816-8820.
- 54 Kaname, M.; Yoshifuji, S.; Sashida, H. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 2786-2788.
- 55 Tanaka, T.; Nakamura, Y.; Aratani, N.; Osuka, A. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3308-3311.
- 56 Roman, G. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2006**, *3*, 167-184.
- 57 Lacerda, P. S. S. “Síntese de novos macrociclos tetrapirrólicos”, Tese de Doutorado, Universidade de Aveiro, **2007**, cap. 2, 28-30.
- 58 Gonsalves, A. M. d’A.; Varejão, J. M. T. B.; Pereira, M. M. *J. Heterocycl. Chem.* **1991**, *28*, 635-640.
- 59 Bonfantini, E. E.; Burrell, A. K.; Campbell, W. M.; Crossley, M. J.; Gosper, J. J.; Harding, M. M.; Officer, D. L.; Reid, D. C. W. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2002**, *6*, 708-719
- 60 Izquierdo, R. A.; Barros, C. M.; Santana-Marques, M. G.; Ferrer Correia, A. J.; Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2004**, *18*, 2601-2611.
- 61 Lau, K. S. F.; Sadilek, M.; Khalil, G. E.; Gouterman, M.; Brückner, C. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16*, 1915-1920.
- 62 Feng, W.; Satyanarayana, M.; Tsai, Y.-C.; Liu, A. A.; Liu, L. F.; LaVoie, E. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3570-3572.
- 63 Babu, A. R. S.; Raghunathan, R. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 4618-4620.
- 64 Paollesse, R.; Nardis, S.; Sagone, F.; Khoury R. G. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 550-556.

Capítulo 3

3 Estudos de complexação do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol por espectrometria de massa

A reactividade dos grupos presentes na cavidade interna dos macrociclos corrólicos está intimamente ligada à coordenação de metais de transição. Os corróis comportam-se como ligandos trianiónicos e têm a propriedade peculiar de estabilizar metais de transição com estados de oxidação mais elevados do que os que são complexados pelas porfirinas. Esta, e outras propriedades, fazem com que a química de coordenação dos corróis seja actualmente alvo de interesse crescente.

As metodologias mais comuns, descritas na literatura para a síntese de metalocorróis, envolvem o uso de sais metálicos divalentes, obtendo-se o correspondente metalocorrol, com o centro metálico num estado de oxidação (III),^{1,2} ou seja, a formação de metalocorróis, a partir de sais metálicos divalentes ocorre com a oxidação do centro metálico.

A formação de complexos de iões metálicos com ligandos orgânicos, em espectrometria de massa, tem sido alvo de interesse científico nos últimos anos.³⁻⁷ Este tipo de estudos permite estabelecer ligações entre a química de coordenação em solução e em fase gasosa.

Estudos prévios sobre a formação de metaloporfirinas e metaloclorinas na fonte de iões secundários de um espectrómetro de massa, mostraram que a formação de complexos metálicos divalentes, envolvia a substituição dos prótons internos do macrociclo correspondente pelo catião metálico, e que esta complexação era favorecida quando se usavam acetatos metálicos.⁷ Nestes estudos, as reacções de complexação não envolveram alteração do estado de oxidação do centro metálico, no entanto, se se utilizarem os corróis, a complexação na fonte, a partir dos respectivos macrociclos neutros e de sais de metais divalentes, terá que ser acompanhada pela oxidação do metal.

As reacções químicas que podem ocorrer durante a formação de espécies iónicas nas fontes de espectrómetros de massa são importantes, não só porque podem fornecer informações úteis sobre os processos de ionização, mas também devido ao seu interesse intrínseco como sistemas reaccionais. Este é o caso da formação na fonte de metalocorróis sob bombardeamento de iões e electrospray, em que o tipo de iões

formados poderá dar informação sobre as reacções redox que poderão ocorrer durante a ionização, e também contribuir para elucidar o carácter “inocente” ou “não-inocente” dos corrolatos, que é hoje em dia, alvo de controvérsia.^{8,9}

No presente trabalho foram usados dois métodos de ionização: o bombardeamento com iões e o electrospray para estudar a complexação *in situ* do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol com vários iões metálicos de transição seguindo uma metodologia semelhante à descrita para as porfirinas. O uso de dois métodos diferentes de ionização permitiu obter informação complementar e mais alargada sobre a formação de metalocorróis *in situ* e a propor mecanismos gerais e abrangentes para a formação dos iões observados.

3.1 Considerações gerais sobre espectrometria de massa

No último século, a espectrometria de massa revelou-se uma técnica analítica eficaz e largamente usada, com múltiplas aplicações, sendo a mais comum a identificação de compostos desconhecidos, através da razão massa/carga das suas moléculas ionizadas. Foram, no entanto, outras aplicações como a determinação da estrutura de compostos e o estudo da química dos seus iões em fase gasosa, que tornaram a espectrometria de massa uma das técnicas mais usadas na caracterização de compostos químicos, especialmente na caracterização estrutural de biomoléculas.

Como já foi referido, a espectrometria de massa baseia-se na identificação e análise da razão massa/carga (m/z) de iões em fase gasosa.

O espectrómetro de massa é constituído por três partes fundamentais: fonte de ionização, analisador e o detector (Figura 34). A amostra é introduzida na fonte de ionização e as moléculas que a constituem são ionizadas e aceleradas para o analisador. No analisador, os iões são separados, no espaço e no tempo, de acordo com a sua razão massa/carga. Por último, no detector o sinal da intensidade da corrente iónica que é proporcional à abundância dos iões que o atingem, é amplificado de modo a poder ser finalmente traduzido sob a forma de espectro. Num espectro de massa estão representadas em abcissas as razões massa/carga em Th (thomson) e em ordenadas as intensidades relativas dos iões formados, em percentagens relativas do ião mais abundante (100%) .

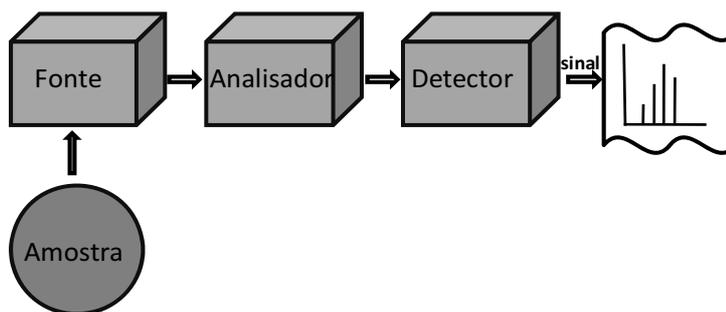


Figura 34 – Principais componentes do espectrómetro de massa

A versatilidade da espectrometria de massa reside na variedade de fontes de ionização e de analisadores que se podem combinar para elucidar e caracterizar determinada amostra.

As moléculas podem ser ionizadas por vários métodos: pela remoção/adição de um electrão para formar os iões $[M]^{\bullet+}$ e $[M]^{\bullet-}$, pela remoção/adição de um protão para formar os iões $[M+H]^+$ e $[M-H]^-$, ou pela adição de outros catiões/aniões. No caso de espécies contendo iões a sua passagem à fase gasosa ocorre através da sua desadsorção ou desolvatação. Dependendo das propriedades físicas e químicas da amostra, podem ser usados diferentes métodos de ionização.

Os primeiros métodos de ionização usados foram o EI (Electron Ionization) e o CI (Chemical Ionization) e requeriam amostras voláteis e termicamente estáveis para que pudessem ser ionizadas em fase gasosa, tanto por colisão de um feixe de electrões acelerados (EI) como por reacções em fase gasosa com um gás reagente (CI).

A técnica de EI era denominada de “ionização dura” por provocar uma fragmentação extensiva da amostra, que embora ajudasse a identificar os seus componentes, muitas vezes devido à ausência do pico referente ao ião molecular não permitia a sua identificação.

As limitações destas técnicas levaram ao aparecimento de técnicas mais “suaves”, tais como LSIMS (Liquid secondary ion mass spectrometry), FAB (Fast Atom Bombardment), ESI (Electrospray Ionization) e MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization).

As técnicas de FAB e LSIMS foram descritas pela primeira vez, em 1982^{10,11} e rapidamente se tornaram técnicas imprescindíveis em espectrometria de massa. Estas técnicas permitem analisar compostos polares, iónicos, termo e energeticamente lábeis e com massa molecular relativamente elevada, quando comparada com as massas dos

compostos susceptíveis de serem ionizados por EI. Na técnica de FAB (Figura 35), a amostra é dissolvida numa matriz líquida com uma pressão de vapor baixa e bombardeada com um feixe de átomos (Ar ou Xe) com energias de 4 a 10 keV.

LSIMS é uma técnica de desadsorção de partículas que apenas difere do FAB na natureza do feixe de partículas usada; neste caso o feixe é constituído por iões (geralmente Cs^+) de elevada energia (10 a 50 keV). Devido à sua carga, os iões podem ter energias cinéticas mais elevadas do que os átomos neutros o que aumenta a sensibilidade de LSIMS para massas maiores, quando comparada com o FAB.

A formação da molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ depende da afinidade protónica da matriz e do analito, pelo que a matriz desempenha um papel importante no processo de ionização. No entanto, e apesar destas técnicas permitirem a análise de uma larga gama de compostos, todas as matrizes produzem um “ruído químico”, o que pode mascarar os sinais provenientes da amostra a analisar.

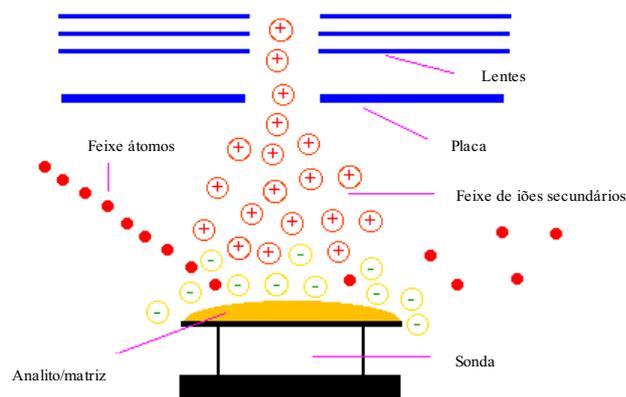


Figura 35 - Representação esquemática do processo de FAB

Apesar do progresso alcançado com a introdução das fontes de FAB e LSIMS foi, no entanto, o método de ionização por electrospray o que mais contribuiu para o desenvolvimento da espectrometria de massa, nos últimos 30 anos. A técnica de electrospray permite a análise directa de compostos em solução, podendo ionizar compostos não voláteis e muito polares.¹² Apresenta ainda, a vantagem de analisar compostos de massa molecular mais elevada quando comparada com as massas dos compostos susceptíveis de serem ionizados por FAB e LSIMS, porque pode produzir iões multicarregados, que são detectados para valores de razão m/z relativamente baixos.

No processo de electrospray, o que geralmente acontece é a transferência do analito, já ionizado, para a fase gasosa mediante a formação de gotículas electricamente carregadas; a divisão dessas gotas em gotas cada vez menores, acompanhada da evaporação do solvente, possibilita a formação de iões em fase gasosa. No entanto a formação de iões a partir de espécies neutras por oxidação (iões positivos) ou redução (iões negativos) pode também ocorrer.

No método de ionização por electrospray, uma solução diluída do analito é introduzida num capilar que está sob um potencial elevado. Quando a amostra atinge a ponta do capilar e assumindo um potencial positivo, os iões positivos em solução acumular-se-ão à superfície, provocando uma deformação na gota emergente (cone de Taylor). Este cone torna-se instável produzindo um filamento com uma superfície carregada. A uma certa distância do fim do capilar, este filamento torna-se instável produzindo pequenas gotículas com excesso de cargas positivas (Figura 36).

A evaporação do solvente das gotas inicialmente formadas, à medida que passam por um gradiente de pressão, em direcção ao analisador, origina uma redução do tamanho da gota. A gota dividir-se-á, quando o excesso de carga à superfície for suficiente para anular a tensão superficial da gota (este limite de carga é denominado de limite de Rayleigh), formando um spray de gotículas carregadas. A evaporação do solvente é facilitada pela utilização de um gás nebulizador. O processo de cisão/evaporação leva finalmente à formação dos iões.

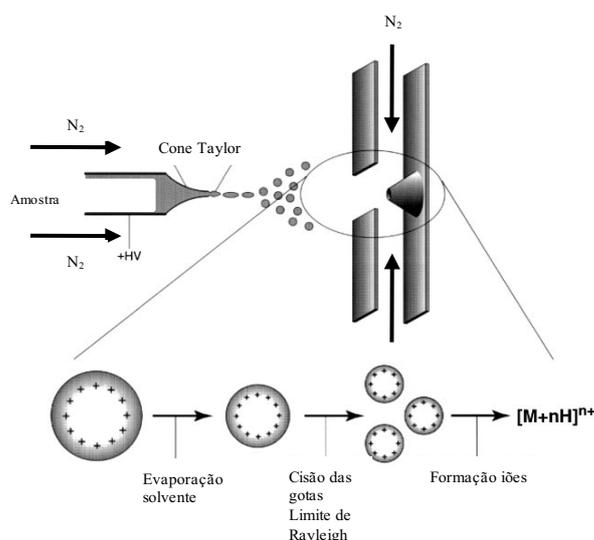


Figura 36 - Representação esquemática do processo de electrospray

A par do electrospray, o MALDI é outra técnica de ionização bastante utilizada nos dias de hoje. O princípio de ionização por MALDI baseia-se na deposição de um analito não volátil disperso numa matriz, co-dissolvidos em solventes orgânicos ou aquosos. A mistura líquida é aplicada numa placa, onde ocorre a evaporação do solvente, formando-se uma camada de cristais matriz/analito. A placa é colocada numa região de alto vácuo e irradiada por um laser, cujo comprimento de onda é escolhido de modo a que a matriz absorva energia e o analito não, o que vai conduzir à desadsorção e ionização deste último.

Os iões formados na fonte são então introduzidos no analisador. Existem diversos analisadores: analisadores eléctricos e magnéticos, trapas de iões, analisadores de ressonância ciclométrica de transformada de Fourier, quadrupolos, e analisadores de tempo de voo. Uma vez os iões separados são conduzidos para o detector do espectrómetro de massa.

No presente trabalho foram utilizados vários analisadores: eléctricos, magnéticos, quadrupolos e tempo de voo. No entanto, dada a crescente preferência dos utilizadores e consequentemente dos fabricantes de instrumentos, pelos dois últimos tipos de analisadores, devido ao seu tamanho e versatilidade, far-se-á apenas uma descrição sumária do modo de funcionamento destes últimos.

O analisador quadrupolo é constituído por quatro barras cilíndricas condutoras; a cada par (cruzado) é aplicado um potencial de corrente directa (dc) e um de corrente alterna (ac), respectivamente, o que vai gerar um campo quadrupolar. Variando os valores do potencial da corrente directa, apenas os iões com determinada razão m/z possuem uma trajectória estável no interior do quadrupolo e atingem o detector. Os restantes iões são eliminados durante a trajectória e não são detectados.

O princípio básico de um analisador de tempo de voo, envolve a medição do tempo que um ião demora a percorrer o tubo de voo, desde a fonte de ionização até ao detector. Os iões, com razões m/z diferentes, saem da fonte de ionização e são acelerados por aplicação de um potencial, de modo a que todos possuam a mesma energia cinética. Como têm massas diferentes vão percorrer o tubo de voo a velocidades diferentes, atingindo o detector em tempos diferentes (os iões de menor massa chegam primeiro ao

detector). No entanto, se os iões têm massas muito semelhantes, o espaço de voo pode não ser suficiente para os separar efectivamente. Por isso, a maioria dos analisadores de tempo de voo possui um sistema de lentes ou anéis de voltagens crescentes, colocado no fim do tubo de voo, chamado reflectrão, que permite uma separação mais eficiente e um aumento da resolução. Os iões penetram no reflectrão até atingirem uma velocidade nula, sendo depois re-acelerados num sentido inverso ao da trajectória inicial. Os iões de maior massa penetram mais no reflectrão o que aumenta a sua trajectória e consequentemente o tempo que demoram a atingir o detector.

No âmbito deste trabalho foram também estudados os iões que resultaram (iões-fragmento) da decomposição de espécies iónicas formadas. Este tipo de aplicação exige o acoplamento de, pelo menos, dois analisadores. No primeiro analisador é seleccionado o ião precursor, cuja fragmentação é induzida por colisão com um gás (geralmente He ou Ar) numa célula de colisões situada entre o primeiro e o segundo analisador. Os iões-produto ou iões-fragmento são então separados no segundo analisador.

Este método permite adquirir informações adicionais sobre os analitos, nomeadamente no que toca à sua análise estrutural. Esta técnica é correntemente usada na caracterização estrutural de diversos compostos tendo sido aplicada com sucesso a outros macrociclos tetrapirrólicos, como várias *meso*-tetra-arilporfirinas.⁶⁻¹³

3.2 Reacções de complexação de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol nas fontes de diferentes espectrómetros de massa

3.2.1 Complexação de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol na fonte de iões secundários

Os estudos de complexação de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (Figura 37) por espectrometria de massa foram iniciados usando como método de ionização o bombardeamento por iões rápidos. A matriz usada foi de NBA (álcool 2-nitro-benzílico) por ser uma matriz que favorece a ocorrência de reacções de oxidação-redução.¹³ Para efectuar a complexação foram seleccionados os seguintes sais metálicos: os acetatos de

zinco(II), cobre(II), cobalto(II), níquel(II), manganês(II) e paládio(II) e acetato de manganês(III) e ainda os cloretos de ferro(II), ferro(III) e ródio(III). Com esta selecção pretendia-se atingir os seguintes objectivos: verificar se ocorria a formação dos iões $M(III)C^{\bullet+}$ por oxidação, a partir de sais de metais divalentes; comparar a complexação de metais divalentes, com estados de oxidação superiores facilmente acessíveis, como é o caso dos iões Mn^{2+} , Co^{2+} , com a complexação de metais divalentes com estados de oxidação superiores dificilmente acessíveis, como é o caso dos iões Ni^{2+} , Pd^{2+} , Zn^{2+} ; averiguar se a formação na fonte do ião $M(III)C^{\bullet+}$ é facilitada pelo uso de sais metálicos trivalentes, como os sais de Fe^{3+} , Mn^{3+} e Rh^{3+} .

Para efectuar os estudos de complexação numa fonte de LSIMS, as amostras foram preparadas na ponta da sonda de introdução por adição de 2 μ L de solução de corrol em clorofórmio à matriz previamente saturada com o sal metálico. A matriz saturada foi preparada por adição de 40,7 μ mol de sal metálico, 60 μ L de metanol e três gotas de 3-NBA.

Antes da descrição dos resultados é de referir que se irá usar a notação CH_4^+ para identificar o corrol livre protonado, $M(III)C^{\bullet+}$ e $M(III)C^{\bullet-}$ para identificar os iões moleculares dos complexos metálicos formados em modo positivo e modo negativo, respectivamente, e $M(III)CH^+$ e $M(II)CH^+$ para identificar os complexos metálicos protonados.

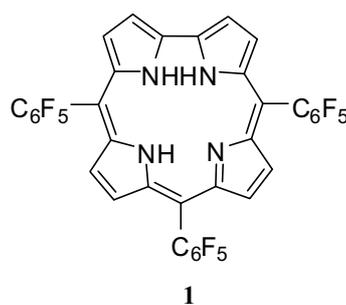


Figura 37 – Estrutura do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol

Nos espectros de massa obtidos em LSIMS observou-se o aparecimento do ião molecular $M(III)C^{\bullet+}$, demonstrando a formação de metalocorróis. Na Tabela 8 encontram-se descritos os iões e respectivas abundâncias relativas, observados nos espectros de massa obtidos com vários sais.

Tabela 8 - Iões observados no espectro de massa em LSIMS e respectivas abundâncias relativas

Contra-ião	Metais	MC
Acetato	Mn(II)	848, M(III)C ^{•+} (86) 796, CH ₃ ^{•+} (100)
	Mn(III)	848, M(III)C ^{•+} (100)
	Co(II)	852, M(III)C ^{•+} (100) 796, CH ₃ ^{•+} (14)
	Cu(II)	856 M(III)C ^{•+} (100) 857 M(II)CH ⁺
	Ni(II)	796, CH ₃ ^{•+} (100)
	Zn(II)	796, CH ₃ ^{•+} (100)
	Pd(II)	901, M(II)CH ⁺ (14) 796, CH ₃ ^{•+} (100)
Cloreto	Fe(II)	797, CH ₄ ⁺ (100)
	Fe(III)	797, CH ₄ ⁺ (100)
	Rh(III)	797, CH ₄ ⁺ (100)

A complexação do corrol **1** na fonte com os acetatos de Mn(II) e Mn(III), originou em ambos os casos, a formação dos mesmos iões Mn(III)^{•+}, verificando-se a oxidação do metal Mn²⁺ a Mn³⁺; com o acetato de Mn(II) também se observou o ião correspondente ao corrol livre CH₃^{•+}. No caso, dos acetatos de Co(II) e Cu(II) também se presenciaram os iões Co(III)C^{•+} e Cu(III)C^{•+}, respectivamente, com 100% de abundância relativa. Para o acetato de Cu(II), foi também observado um ião com valores de *m/z* 1 Th superior ao dos iões Cu(III)C^{•+}.

Quando se usou o acetato de Pd(II), para além do ião molecular correspondente ao corrol CH₃^{•+}, observou-se o ião a *m/z* 901 com baixa abundância relativa. Como o Pd não tem estados de oxidação superiores facilmente acessíveis, esta espécie foi identificada como sendo Pd(II)CH^{•+}.

No caso dos sais de Fe(II), Fe(III) e Rh(III), apenas se observou o ião correspondente ao corrol protonado CH₄⁺ e com os sais de Zn(II) e Ni(II) apenas o ião correspondente ao corrol CH₃^{•+}.

Os padrões isotópicos dos iões $M(III)C^{\bullet+}$ sintetizados na fonte foram comparados com os correspondentes padrões isotópicos calculados, o que permitiu a identificação inequívoca dos vários complexos formados, como se exemplifica na Figura 38.

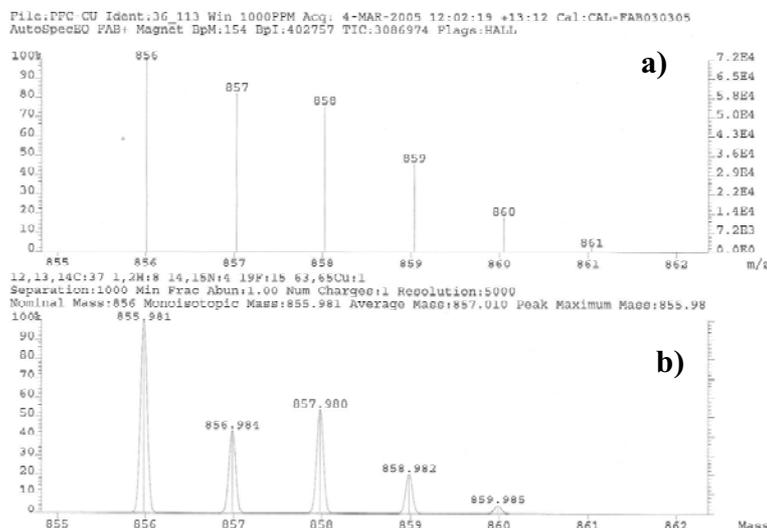


Figura 38 – Padrão isotópico do $Cu(III)C^{\bullet+}$ a) experimental b) calculado

Analisando os resultados obtidos por LSIMS, verificou-se que só se observou a formação dos iões correspondentes aos metalocorróis quando se utilizaram acetatos. No caso dos cloretos de Fe(II), Fe(III) e Rh(III), apenas se presenciou o ião correspondente ao corrol protonado CH_4^+ . O favorecimento da complexação na presença dos iões acetato pode ser devido ao facto do ácido acético ser um ácido fraco: o ião acetato pode aceitar protões formando o correspondente ácido, o que não acontece no caso do ião cloreto. Na ausência de uma base de Brönsted, como o ião acetato os protões formados durante o processo de desadsorção irão favorecer a reacção de protonação do corrol,⁷ desfavorecendo a reacção de metalação que ocorre paralelamente.

Como os melhores resultados em LSIMS foram obtidos para os acetatos de cobre(II), cobalto(II) e manganês(II) e (III), optou-se por continuar o estudo com estes sais.

De forma a confirmar que as espécies formadas na fonte correspondiam aos iões $M(III)C^{\bullet+}$ formados, a partir dos sais metálicos de cobre(II), cobalto(II) e manganês(II) e (III), foram sintetizados os seguintes complexos (Figura 39):

5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobre(III) **1a**,

5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobalto(III) **1b**,
 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatomanganês(III) **1c**, recorrendo a metodologias
 sintéticas já referidas na literatura.^{14,15}

Síntese dos complexos metálicos de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol, **1a**, **1b** e **1c**

A síntese do complexo 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobre(II) foi efectuada adicionando a uma solução de corrol **1** em piridina excesso de acetato de cobre(II). A mistura reaccional manteve-se em agitação, durante 30 min. O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobre(III) **1a** pretendido foi obtido com um rendimento quantitativo e colocado imediatamente no congelador.¹⁴

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobalto(III) **1b** foi sintetizado de acordo com a metodologia anterior, usando uma temperatura de 40°C, e foi também, obtido com rendimento quantitativo.¹⁵

No caso do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatomanganês(III) **1c**, a complexação ocorreu em DMF a refluxo, durante 10 min. O rendimento do complexo **1c** foi quantitativo.

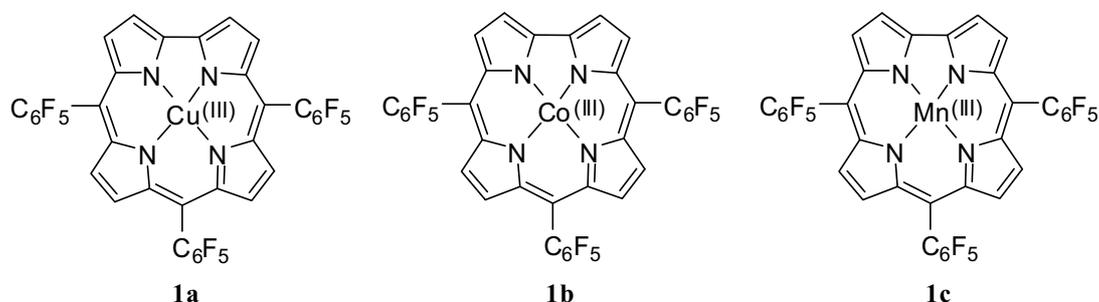


Figura 39 - Estrutura dos complexos de Cu(III), Co(III) e Mn(III) do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol.

Após a síntese dos metalocorróis pretendidos **1a**, **1b** e **1c** foram adquiridos os seus espectros de massa em LSIMS (Tabela 9-B).

Tabela 9 - Iões observados no espectro de massa em LSIMS

A (<i>m/z</i> , formula)	B (<i>m/z</i> , formula)
848, Mn(III)C ^{•+}	848, Mn(III)C ^{•+} 849, Mn(III)CH ⁺
852, Co(III)C ^{•+}	852, Co(III)C ^{•+} 853, Co(III)CH ⁺
856, Cu(III)C ^{•+} 857, Cu(II)CH ^{•+}	856, Cu(III)C ^{•+} 857, Cu(III)CH ⁺

(C denota o trianião do H₃C)

A: espectros de massa obtidos a partir da adição de **1** e diferentes sais metálicos.

B: espectros de massa obtidos a partir dos metalocorróis sintetizados.

Nos espectros de massa dos metalocorróis sintetizados **1a**, **1b** e **1c** foram observados os iões moleculares com valores de *m/z* 848 para Mn(III)C^{•+}, *m/z* 852 para Co(III)C^{•+} e *m/z* 856 para Cu(III)C^{•+}. Para além da presença destes iões M(III)C^{•+}, o envelope isotópico dos complexos **1a**, **1b** e **1c** também revelou a presença de sinais com valor *m/z* 1 Th superior, que foram identificados como os iões M(III)CH⁺. Estes iões forma-se-ão por protonação de um dos átomos de azoto internos do metalocorrol.

Analisando a Tabela 9, verifica-se que os iões M(III)C^{•+} obtidos na fonte ou previamente sintetizados, têm, como era esperado, a mesma razão *m/z*. Sabendo que, nas reacções de complexação “convencionais” do macrociclo corrólico com sais metálicos divalentes, ocorre a oxidação do metal para o estado de oxidação III, pode-se afirmar que na formação dos metalocorróis na fonte de LSIMS, a oxidação do metal também deverá ocorrer. No entanto, a formação de iões com *m/z* 1 Th superior aos iões M(III)C^{•+} pode constituir um indício de que a oxidação M(II)/M(III) poderá ser um processo mais complexo, do que a simples transferência de um electrão.

3.2.2 Complexação do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol numa fonte de Electrospray

O segundo método de ionização usado no estudo da formação de metalocorróis a partir do corrol livre e dos diferentes sais metálicos foi o electrospray. O electrospray é um método de ionização mais suave que o LSIMS e o que melhor traduz o comportamento dos iões em solução.

A natureza electrolítica dos processos que ocorrem em electrospray foi postulada há cerca de uma década^{16,17} e é geralmente aceite que ocorrem reacções de oxidação-redução no capilar, sendo estas as responsáveis pelo balanço de cargas.¹⁸⁻²² No modo positivo o balanço de cargas processa-se através de reacções de oxidação no capilar, enquanto no modo negativo são reacções de redução as que ocorrem.

Tendo em consideração o exposto, as experiências análogas às de LSIMS foram realizadas, nos modos de iões positivos e negativos com a finalidade de se obter informação o mais detalhada possível, sobre o mecanismo das reacções de complexação. Neste caso, o sal metálico foi solubilizado em metanol, e a mistura resultante desta solução com a solução de corrol em clorofórmio, foi injectada no electrospray.

No modo positivo estudou-se a formação dos complexos corrólicos, a partir dos sais de Co(II), Cu(II), Mn(II), Mn(III) e ainda do acetato de Zn(II) (Tabela 10). Tal como nos estudos anteriores, para os acetatos de Mn(II), Co(II) e Cu(II) observou-se predominantemente a formação dos iões $M(III)C^{\bullet+}$ e a presença de $M(II)CH^{\bullet+}$.

Com o acetato de Zn(II), observou-se a formação dos iões a m/z 857 (baixa abundância relativa) e m/z 858 (alta abundância relativa), que foram identificados como $Zn(II)C^+$ e $Zn(II)CH^{\bullet+}$. Uma hipótese para a formação de $Zn(II)C^+$ podia ser um processo em fase gasosa: a perda de um radical hidrogénio a partir do ião $Zn(II)CH^{\bullet+}$. Esta hipótese foi confirmada por obtenção do espectro das fragmentações induzidas por colisão (espectro de iões-produto) do ião $Zn(II)CH^{\bullet+}$, tendo-se verificado que se fragmentava perdendo um radical hidrogénio.

No caso do acetato de Mn(III), não se observou a formação de iões correspondentes à razão m/z do $Mn(III)C^{\bullet+}$.

Os espectros de massa dos metalocorróis sintetizados **1a**, **1b** e **1c**, também foram adquiridos e apresentaram, tal como em LSIMS, iões correspondentes a $M(III)C^{\bullet+}$ e iões com m/z com 1 Th superior correspondentes a $M(III)CH^{\bullet+}$. A formação dos iões $M(III)C^{\bullet+}$

e $M(III)CH^+$ ocorre por remoção de um electrão e protonação dos corróis neutros respectivamente.

No modo negativo, estudou-se a formação de metalocorróis, a partir dos sais metálicos divalentes Co(II), Cu(II), Mn(II) e Zn(II). Neste caso, quando se usaram os referidos acetatos (Tabela 10) observou-se a formação dos iões $M(II)C^-$.

Como já foi referido, quando se usa electrospray no modo negativo não ocorrem reacções de oxidação no capilar pelo que a formação dos iões $M(II)C^-$ era esperada. Em contrapartida para os metalocorróis neutros sintetizados ocorre formação de $M(III)C^{\bullet-}$ com captura de um electrão.

Tabela 10 - Iões observados em electrospray no modo positivo (ESI^+) e no modo negativo (ESI^-)

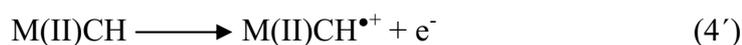
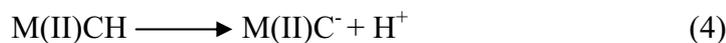
ESI^+		ESI^-	
A (<i>m/z</i> , formula)	B (<i>m/z</i> , formula)	A (<i>m/z</i> , formula)	B (<i>m/z</i> , formula)
848, $Mn(III)C^{\bullet+}$	848, $Mn(III)C^{\bullet+}$	848, $Mn(II)C^-$	848, $Mn(III)C^{\bullet-}$
849, $Mn(II)CH^{\bullet+}$	849, $Mn(III)CH^+$	-----	-----
852, $Co(III)C^{\bullet+}$	852, $Co(III)C^{\bullet+}$	852, $Co(II)C^-$	852, $Co(III)C^{\bullet-}$
853, $Co(II)CH^{\bullet+}$	853, $Co(III)CH^+$	-----	-----
856, $Cu(III)C^{\bullet+}$	856, $Cu(III)C^{\bullet+}$	856, $Cu(II)C^-$	856, $Cu(III)C^{\bullet-}$
857, $Cu(II)CH^{\bullet+}$	857, $Cu(III)CH^+$	-----	-----
857, $Zn(II)C^+$	-----	857, $Zn(II)C^-$	-----
858, $Zn(II)CH^{\bullet+}$	-----	-----	-----

A: espectros de massa obtidos a partir da adição de **1** e diferentes sais metálicos.

B: espectros de massa obtidos a partir dos metalocorróis sintetizados

Analisando a Tabela 10 (ESI^+), verifica-se que, por exemplo para o caso do complexo de Mn, os iões com *m/z* 849 foram identificados *in situ* como $Mn(II)CH^{\bullet+}$, enquanto os mesmos iões foram identificados como $Mn(III)CH^+$, nos espectros de massa obtidos directamente de soluções dos metalocorróis sintetizados. A explicação encontra-se nos mecanismos envolvidos na formação dos iões, nas fontes de ionização.

A formação dos metalocorróis $M(III)C$ pode ser explicada por uma substituição dos prótons internos do corrol pelo ião metálico de acordo com o seguinte mecanismo (Esquema 46).



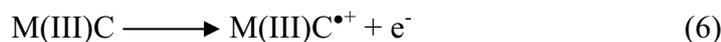
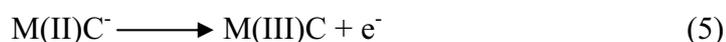
Esquema 46

As espécies correspondentes aos iões M(II)CH_3^{2+} ou M(II)CH_2^+ não são observadas, provavelmente porque o primeiro e segundo passos de desprotonação são processos muito rápidos (2 e 3); no entanto a cinética da última desprotonação (4) pode ser lenta.

No modo positivo, a espécie neutra M(II)CH pode perder um electrão, formando-se o catião radical $\text{M(II)CH}^{\bullet+}$ que é detectado, quando se usa a fonte de electrospray.

Em contrapartida e ainda no modo positivo, a formação dos iões $\text{M(III)C}^{\bullet+}$ ocorre através da oxidação do ião M(II)C^- a M(III)C (5) (Esquema 47). A oxidação destes últimos origina os iões $\text{M(III)C}^{\bullet+}$, que são detectados.

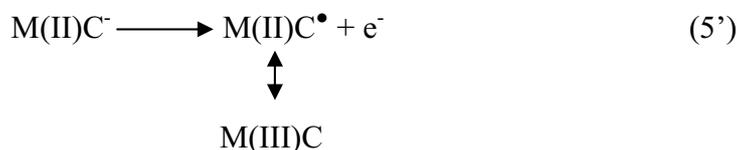
Ainda no modo positivo e no caso específico do acetato de Mn(III) , a formação do ião $\text{Mn(III)C}^{\bullet+}$ pode ser explicada por uma substituição semelhante dos protões pelo metal, passo a passo, levando ao metalocorrol neutro M(III)C (5) que é posteriormente oxidado formando-se o ião $\text{M(III)C}^{\bullet+}$ (6) (Esquema 47).



Esquema 47

Nesta altura deve-se salientar que a formação do metalocorrol neutro M(III)C (5) pode conduzir a uma nova discussão, acerca do estado de oxidação do metal e da “inocência” ou “não-inocência” do ligando corrólico nas reacções de oxidação. Quando

ocorre a oxidação do $M(II)C^-$ para o $M(III)C$ (5') (Esquema 48), de onde sai o electrão?: do metal, oxidando-o ao estado (III) ou do ligando corrólico formando a espécie neutra radicalar $M(II)C^\bullet$ (5')?



Esquema 48

O estado de oxidação dos centros metálicos nos complexos corrólicos é actualmente alvo de controvérsia. Como já foi referido, os corróis livres têm três protões internos ionizáveis e actuam como ligandos trianiónicos, o que fornece uma explicação parcial para a estabilização de metais com estados de oxidação elevados. No entanto, a opinião da comunidade científica está dividida entre as seguintes alternativas: **1)** nos metalocorróis os centros metálicos estão efectivamente num estado de oxidação superior ou **2)** o ligando corrólico está oxidado e o metalocorrol é uma espécie radicalar.

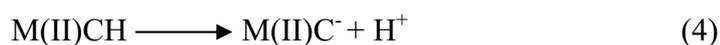
O esclarecimento desta questão está intimamente relacionado com a natureza do metal e dos ligandos axiais, havendo um certo número de artigos que apresentam indícios convincentes de um comportamento “não-inocente” de alguns corróis.²³⁻²⁵

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolato, em particular, é um ligando cujo macrociclo tetrapirrólico tem uma densidade de carga electrónica baixa, devido à presença dos três grupos pentafluorofenilo, o que o torna mais resistente à oxidação e mais “inocente” em termos da oxidação do metal *vs* a do macrociclo.²⁶ Por isso no presente caso, pode-se considerar que os metalocorróis formados na fonte estão efectivamente no estado de oxidação (III) e o corrol não tem um carácter radicalar, comportando-se como ligando “inocente”.

O facto de sinais devidos à formação dos iões dos metalocorróis não serem observados, quando os acetatos de Mn(III) e Zn(II) são usados (para as duas técnicas de ionização), dever-se-á provavelmente à baixa solubilidade desses sais, nas condições experimentais usadas.

No modo negativo, analogamente ao que se passa no modo positivo, após a perda dos três protões internos do corrol (2), (3) e (4) (Esquema 49), há a formação dos iões

$M(II)C^-$ que são, evidentemente, detectados em modo negativo, uma vez que neste modo apenas ocorrem reduções no capilar.



Esquema 49

Os dados obtidos nos dois modos de operação do espectrómetro de massa permitiram-nos propor os mecanismos atrás indicados. Em nosso entender estes explicam, de um modo coerente e satisfatório, a formação das diferentes espécies iónicas observadas nos modos positivo e negativo. Deve-se recordar que em ambos os modos de funcionamento dos espectrómetros de massa ocorre a formação de espécies neutras, de catiões e de aniões. No entanto no modo positivo apenas se detectam os catiões, enquanto no modo negativo só os aniões são detectados.

3.2.3 Estudos das fragmentações em fase gasosa das espécies iónicas formadas

Para uma elucidação mais completa de alguns dos aspectos relativos à formação dos complexos *in situ* e para uma melhor caracterização das espécies correspondentes aos metalocorróis sintetizados, adquiriram-se os espectros de iões-produto de vários iões.

Para o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol livre foram obtidos espectros de iões-produto para o ião CH_4^+ (modo positivo) e para o CH_2^- (modo negativo).

O espectro do ião produto do ião CH_4^+ a m/z 797, está apresentado na Figura 40. Neste espectro foram observados os iões produto a m/z 777, 757, 737, 717, 697, 677 relativos à perda de uma, duas, três, quatro, cinco e seis moléculas de HF. Em menor abundância relativa, foram ainda observados o ião produto a m/z 630 relativo à perda de um radical $C_6F_5^\bullet$ e ainda sinais a m/z 610, 590, 570 e 550 relativos a perdas de um grupo $C_6F_5^\bullet$ com mais uma a quatro moléculas de HF.

No Esquema 50 apresentam-se as estruturas prováveis para alguns dos diferentes íons resultantes da fragmentação do íon CH_4^+ .

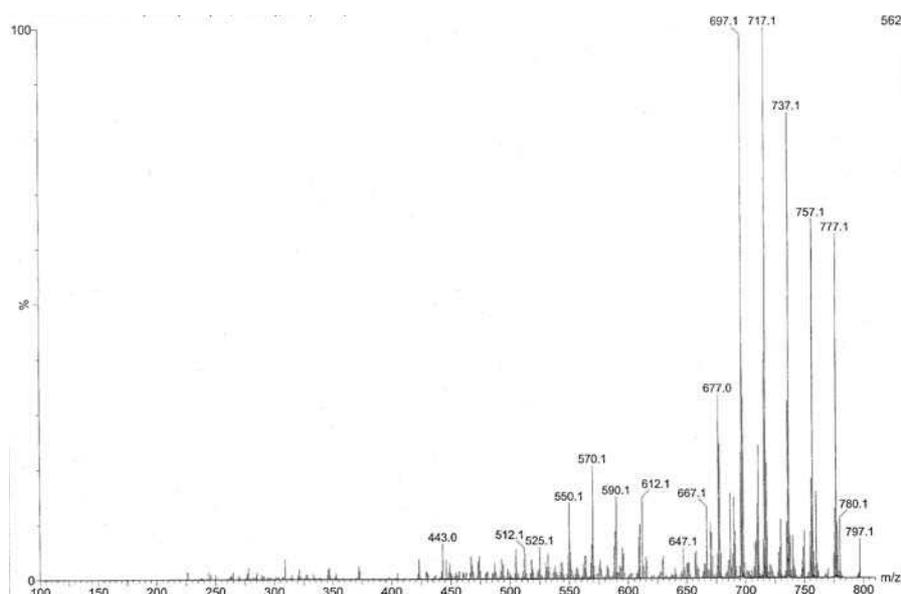
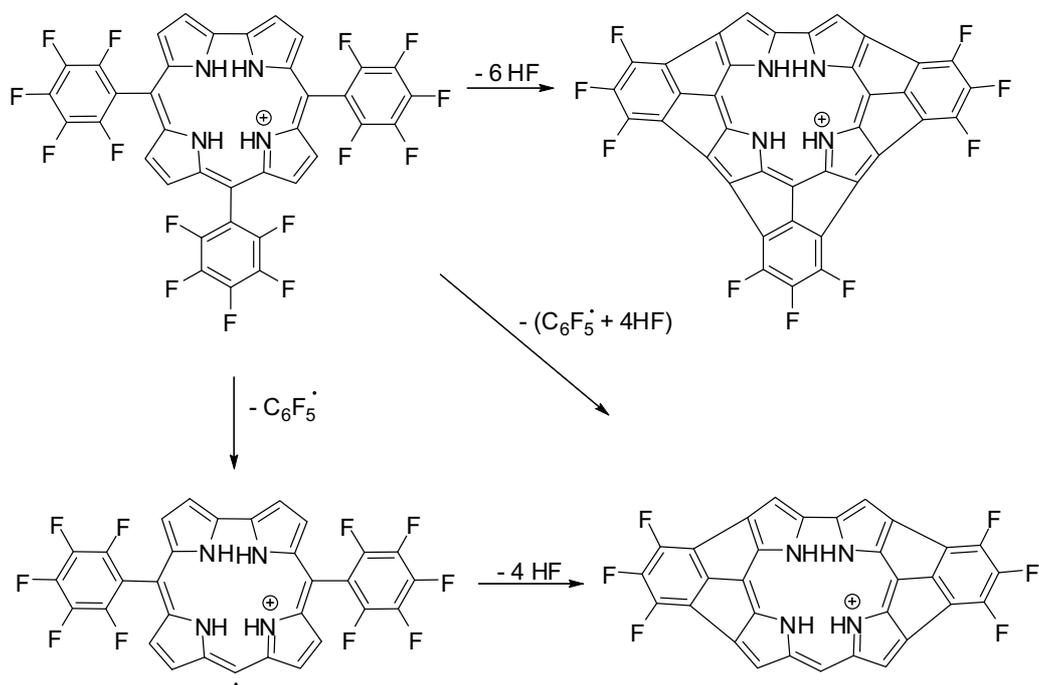


Figura 40 – Espectro de íons-produto do íon CH_4^+ (m/z 797)



Esquema 50

Em estudos anteriores ao presente trabalho as perdas de HF já tinham sido observadas para outros macrociclos (clorinas, isobacterioclorinas e porfirinas fluoradas) e

a formação de estruturas com anéis de cinco e seis lados para os iões resultantes das referidas perdas já tinha sido proposta.^{27,28} Quando o artigo que resultou dos estudos descritos neste capítulo estava a ser escrito²⁹ foi publicado um artigo por outros autores, que relatavam o mesmo padrão de fragmentação para ião CH_4^+ deste mesmo corrol, o que, se por um lado nos retirou a originalidade da descoberta, por outro corroborou os dados aqui apresentados.³⁰

No espectro de iões-produto do ião CH_2^- a m/z 795 (Figura 41) também se observaram perdas de HF mas em menor número que no caso do ião CH_4^+ : observaram-se iões a m/z 775, 755, 735 relativos à perda de uma, duas e três moléculas de HF, respectivamente.

No Esquema 51 apresenta-se a estrutura provável para o ião resultante da fragmentação do ião CH_2^- .

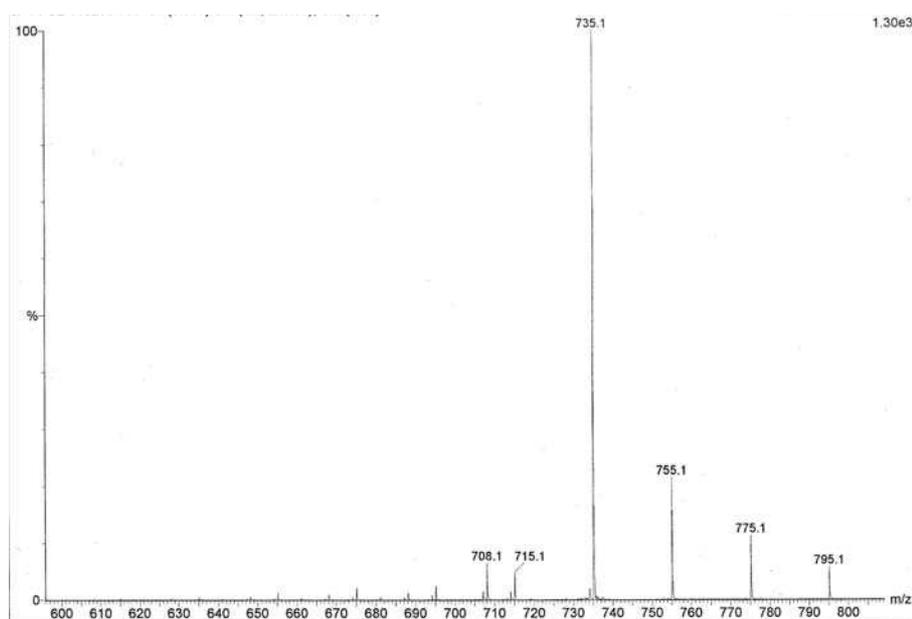
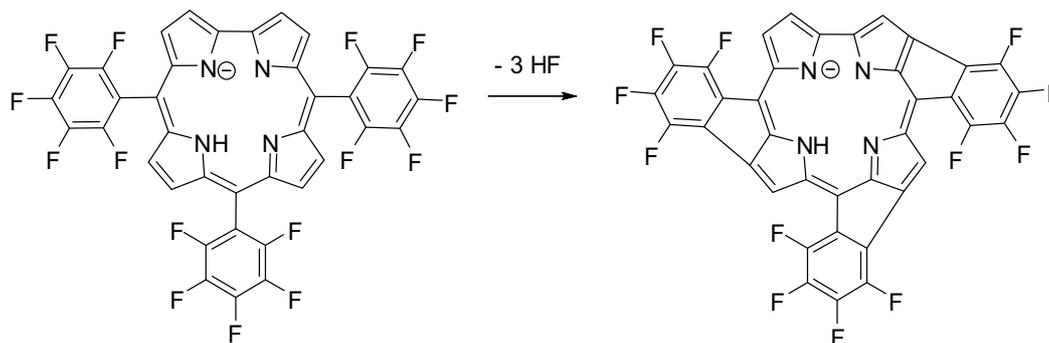


Figura 41 – Espectro de iões-produto do ião CH_2^- a m/z 795



Esquema 51

Comparando os espectros dos dois iões verifica-se que o ião CH_4^+ apresenta maior fragmentação, podendo perder até seis moléculas de HF simples e até quatro moléculas de HF mais um grupo pentafluorofenilo. Este comportamento parece indicar uma estrutura do ião desviada da planaridade.

Por outro lado é possível que a desprotonação do corrol, originando a espécie CH_2^- diminua a sua tensão estereoquímica (em relação ao corrol protonado) e dê origem a uma configuração mais próxima do plano.^{31,32} Perdas até quatro moléculas de HF permitiriam a conservação total ou parcial de uma estrutura planar, sendo o máximo de planaridade e de deslocalização da nuvem electrónica π atingido para a estrutura (ião com maior abundância relativa a m/z 735) formada pela perda de três moléculas de fluoreto de hidrogénio.

Os espectros de iões-produto foram também obtidos para os metalocorróis gerados na fonte e para os metalocorróis sintetizados. Os espectros de massa de iões-produto dos iões $\text{M(III)C}^{\bullet+}$ (ou dos iões com m/z 1 Th maior) dos metalocorróis **1a**, **1b** e **1c** sintetizados foram adquiridos e comparados com os espectros de iões-produto dos iões com os mesmos valores de m/z formados na fonte.

Para os iões $\text{M(III)C}^{\bullet+}$ formados na fonte os espectros obtidos foram idênticos aos obtidos, a partir dos metalocorróis sintetizados. Como exemplo, apresentam-se na Figura 42 os espectros de iões-produto dos iões $\text{Co(III)C}^{\bullet+}$ para os dois casos.

Nestes espectros foram observados iões-produto a m/z 832, 812 e 792, relativos à perda de uma, duas e três moléculas de HF e ainda, em menor abundância relativa, iões-produto a m/z 685, 665 e 645 relativos à perda de $\text{C}_6\text{F}_5^\bullet$ com mais uma e duas moléculas de HF.

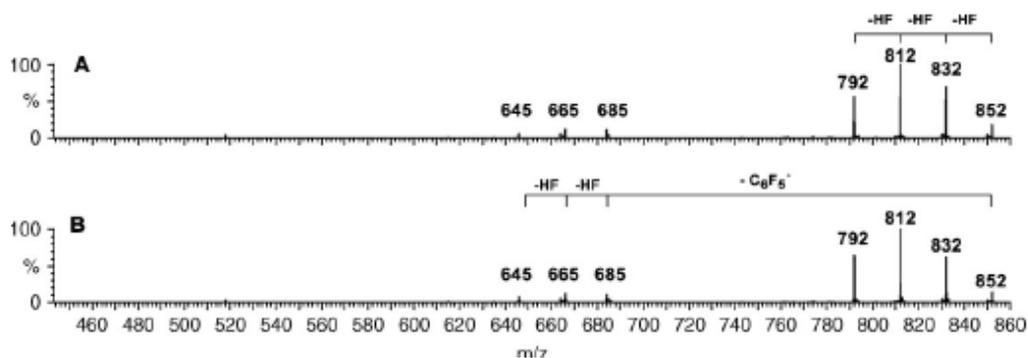
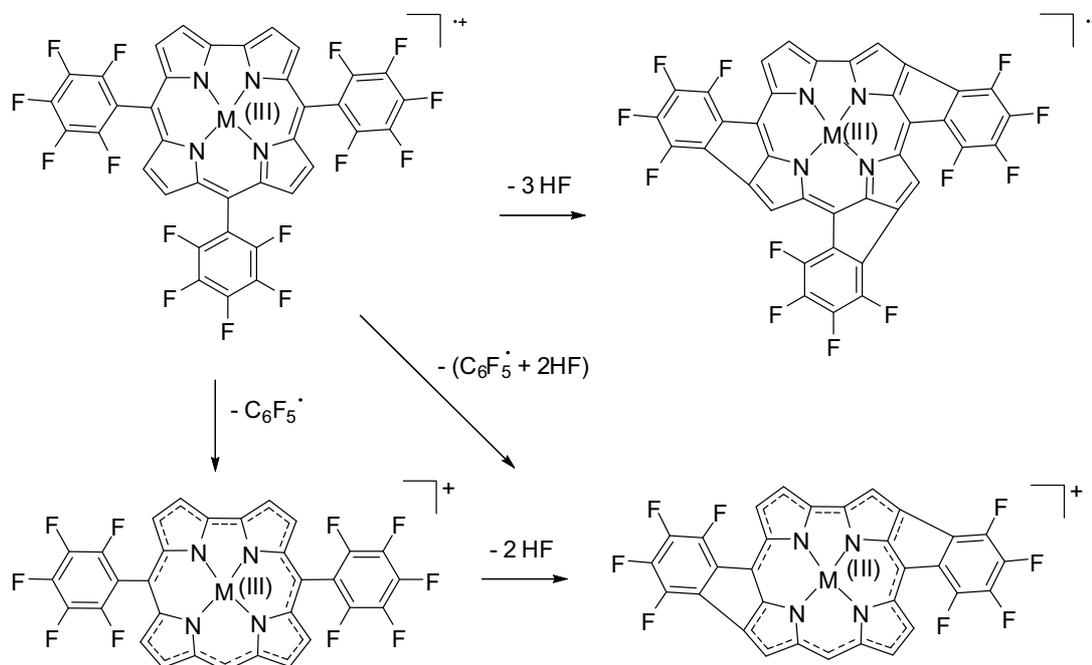


Figura 42 – Espectro de iões-produto dos iões Co(III)C^+ , m/z 852: (A) sintetizados; (B) formados na fonte

A completa semelhança destes espectros confirma a conclusão (estabelecida a partir dos valores das razões m/z e dos padrões isotópicos, obtidos nos espectros de massa) de que os iões dos metalocorróis formados na fonte e os sintetizados por processos clássicos são os mesmos.

No Esquema 52 apresentam-se as estruturas prováveis para os iões resultantes da fragmentação dos metalocorróis no modo positivo.



Esquema 52

Se comparamos os espectros de iões-produto dos iões CH_4^+ e M(III)C^+ , verifica-se que o ião CH_4^+ se fragmenta mais extensamente do que os correspondentes metalocorróis. É possível que a metalação do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (de um modo idêntico à sua desprotonação) diminua a sua tensão estereoquímica e que os metalocorróis apresentem estruturas mais planares e menos distorcidas do que a do corrol protonado.

Os espectros de iões-produto dos metalocorróis sintetizados **1a**, **1b** e **1c** também foram adquiridos e comparados com os espectros de iões-produto dos iões M(II)C^- formados, a partir do corrol **1** e dos acetatos metálicos na fonte. Os espectros de iões-produto dos iões M(III)C^- são muito semelhantes aos obtidos para os iões M(II)C^- , relativos aos metalocorróis formados na fonte. Esta semelhança confirma, embora indirectamente, a “inocência” do corrol enquanto ligando.

Assim no modo negativo, todos os metalocorróis formados na fonte estão efectivamente no estado de oxidação (II) (formação dos iões M(II)C^-), não há oxidação no capilar e o corrol não é radicalar. No caso dos iões M(III)C^- , formados a partir dos metalocorróis neutros, M(III)C , embora o electrão possa ser capturado inicialmente pelo corrol, a semelhança dos espectros de iões produto indica que a forma predominante é M(II)C^- com a transferência do electrão para o centro metálico e a consequente redução deste.

Na Figura 43 apresentam-se, como exemplo, os espectros de iões-produto dos iões Co(III)C^- e dos iões Co(II)C^- . Nestes espectros foram observados iões-produto a m/z 836, 816 e 796, relativos à perda de uma, duas e três moléculas de HF, respectivamente.

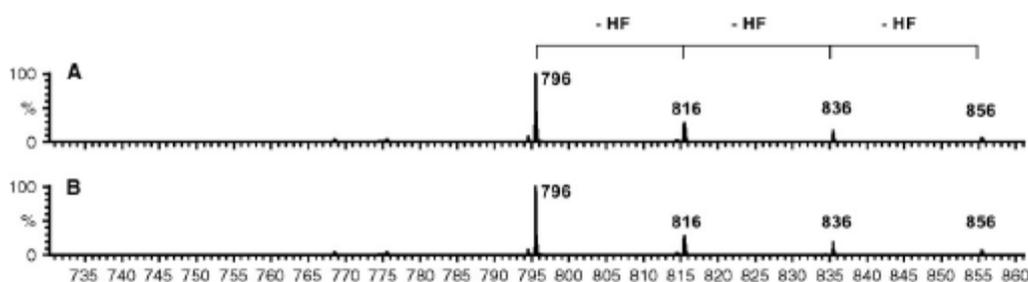
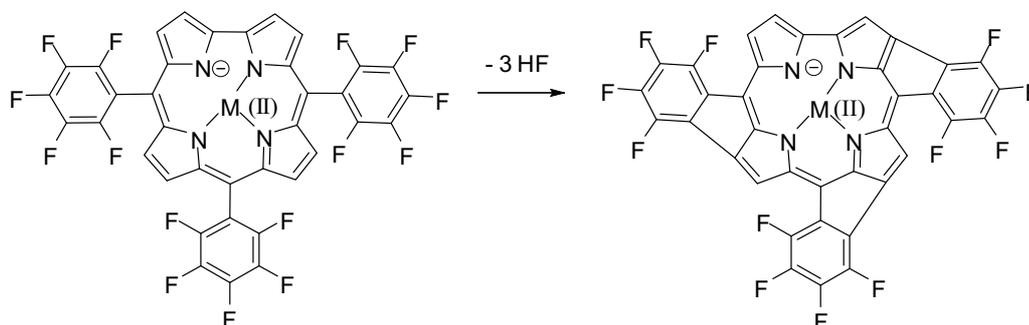


Figura 43 - Espectro de iões-produto dos iões $\text{Cu(III)C}^-/\text{Cu(II)C}^-$, m/z 856: (A) sintetizados; (B) formados na fonte

No Esquema 53 apresenta-se a estrutura provável para o ião resultante da fragmentação dos iões dos metalocorróis no modo negativo.



Esquema 53

É interessante notar, que o espectro de iões-produto para o ião CH_2^- é muito semelhante aos espectros de iões-produto dos iões $\text{M(III)C}^\bullet/\text{M(II)C}^-$: iões-produto formados por perdas de uma, duas, três moléculas de HF, a partir dos iões precusores.

3.3 Conclusões

Neste trabalho, observou-se que nas fontes de ionização estudadas (LSIMS e ESI) ocorre a formação de metalocorróis. Os metalocorróis formados na fonte foram identificados comparando não só os seus espectros de massa (razões massa/carga e padrões isotópicos) como também os seus espectros de iões-produto. Estes revelaram ser equivalentes aos obtidos a partir de metalocorróis sintetizados por vias clássicas.

A formação dos complexos nas fontes de ionização forneceu informações importantes sobre a química de coordenação dos corróis, sobretudo no que toca aos estados de oxidação do centro metálico e sobre os seus mecanismos de formação em fase gasosa.

Esta formação é um processo complexo que envolve passos sucessivos de desprotonação e oxidação/ou captura electrónica.

Os resultados obtidos parecem indicar uma “inocência”, pelo menos parcial, do macrociclo corrólico, com os electrões envolvidos a serem adquiridos preferencialmente pelo centro metálico.

A comparação dos espectros de iões-produto aponta para que os iões $M(III)C^{\bullet+}$ e $M(III)C^{\bullet-}/M(II)C^-$ tenham estruturas predominantemente planares.

3.4 Parte experimental

3.4.1 Reagentes, solventes e equipamento

Os sais metálicos usados para a formação dos metalocorróis na fonte foram acetato de zinco ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Erba), acetato de cobre ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Fluka), acetato de cobalto ($\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, BDH) e acetatos de manganês ($\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Panreac) e ($\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Aldrich). A matriz usada foi o álcool 3-nitrobenzílico (3-NBA, Merck). Todos os reagentes foram usados sem purificação prévia.

Os espectros de massa no modo de iões positivos foram adquiridos com um espectrómetro de massa VG AutospecQ (VG Analytical, Manchester, UK), com o instrumento a trabalhar com uma geometria EBE. O instrumento é equipado com uma fonte de iões cério. A voltagem de aceleração aplicada foi de 8kV e a intensidade do feixe de cério foi 2 μA a 20 kV. Os espectros foram obtidos com uma resolução de 1500 (50% vale) a uma velocidade de scan de 5 s por década.

Outro instrumento, um espectrómetro de massa Micromass Q-ToF 2 (Micromass Manchester, UK), foi também usado nos modos de iões positivos e negativos. O aparelho tem uma fonte “Z-spray”, e a introdução das amostras faz-se através de uma bomba com seringa. As temperaturas da fonte e de dessolvatação foram de 80 e 150 °C, respectivamente. A voltagem do capilar foi de 3000 V no modo positivo e de 2600 V no modo negativo. A resolução usada foi de 9000 (FWHM - full width at half maximum).

Os espectros de massa foram adquiridos numa gama de voltagem de cone de 30 a 40 V. Os espectros de iões-produto foram adquiridos seleccionando o ião precursor com o quadrupolo e usando o hexapolo como célula de colisões (energias de colisão entre 40 a 80 eV). O azoto foi usado como gás nebulizador e o árgon como gás de colisões.

3.4.2 LSIMS

As amostras foram preparadas na ponta da sonda de introdução por adição de 2 μL de solução de corrol em clorofórmio à matriz previamente saturada com o sal metálico.

A matriz saturada foi preparada por adição de 40,7 μmol de solução de sal metálico, 60 μL de metanol e três gotas de 3-NBA. O metanol foi usado como co-solvente para aumentar a solubilidade dos sais metálicos. Após a adição dos reagentes, a mistura com a matriz foi vortexada durante vários segundos. As amostras dos metalocorróis sintetizados foram dissolvidas em clorofórmio e foram-lhe adicionadas algumas gotas de 3-NBA.

3.4.3 Electrospray

O corrol foi dissolvido em clorofórmio e adicionado às soluções de acetatos metálicos em metanol. Uma mistura de 50/50 metanol/água foi usada como eluente. As amostras foram introduzidas a uma velocidade de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. Os espectros de iões-produto foram obtidos seleccionando o ião de interesse com o analisador quadrupolo e usando o hexapolo como célula de colisões, para uma gama de energias de colisão.

3.4.4 Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatomanganês(III)

A uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (5,0 mg, 6,28 μmol) em dimetilformamida (1 mL) foram adicionados 10,8 equivalentes de acetato de manganésio (II) tetra-hidratado (16,7 mg, 68,1 μmol). A mistura reaccional foi sujeita a refluxo, durante 10 minutos. De seguida, procedeu-se à lavagem da mistura reaccional com éter etílico (3 vezes), extraíndo-se a fase orgânica. Esta foi seca através de sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente à securo, com auxílio de um evaporador rotativo.

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatomanganês(III) foi obtido quantitativamente.

3.4.5 Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobre(III)

A uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (5,1 mg, 6,41 μmol) em piridina (1 mL) foi adicionado 2,6 equivalentes de acetato de cobre (II) mono-hidratado (5,9 mg, 16,7 μmol). A mistura reaccional permaneceu à temperatura ambiente, durante 30 min. De seguida, adicionou-se gelo à mistura reaccional e também uma solução aquosa de ácido cítrico. Extraiu-se a fase orgânica com diclorometano e esta foi seca através de sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à securo, com auxílio de um evaporador rotativo.

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobre(III) foi obtido quantitativamente e foi mantido no congelador para minimizar a sua decomposição.

3.4.6 Síntese do 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobalto(III)

A uma solução de 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (40,0 mg, 50,3 μmol) em piridina (4 mL) adicionaram-se 3 equivalentes de acetato de cobalto (II) tetra-hidratado (37 mg, 149 μmol). A mistura reaccional permaneceu a 40°C, sob agitação, durante 1 hora. De seguida, adicionou-se à mistura reaccional gelo e uma solução aquosa de ácido cítrico. Extraiu-se a fase orgânica com diclorometano e esta foi seca através de sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado à securo, com auxílio de um evaporador rotativo.

O 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrolatocobalto(III) foi obtido quantitativamente.^{33,34}

3.5 Referências.

- 1 Licoccia, S.; Paolesse, R. *Struct. Bonding* **1995**, *84*, 71-133.
- 2 Cai, S.; Walker, F. A.; Licoccia, S. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 3466-3478.
- 3 Naylor, S.; Cowan, J. A.; Lamb, J. H.; Hunter, C. A.; Sanders, J. K. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2.* **1992**, *2*, 411-418.
- 4 Blades, A. T.; Jayaweera, P.; Ikonomou, M. G.; Kebarle, P. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1990**, *102*, 251-262.
- 5 Shen, J.; Brodbelt, J. *J. Mass Spectrom.* **1999**, *34*, 137-146.
- 6 Grützmacher, H-F.; Zorić, S.; Wellbroc, C. *Int. J. Mass Spectrom.* **2001**, *210/211*, 311-325.
- 7 Domingues, M. R. M.; Santana-Marques, M. G.; Ferrer-Correia, A. J. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **1997**, *165*, 551-559.
- 8 Ghosh, A.; Steene, E. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *91*, 423-436.
- 9 Zakhariyeva, O.; Schuneman, V.; Gerdan, M.; Licoccia, S.; Cai, S.; Walker, F. A.; Trautwein, A. X. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6636-6648.
- 10 Barber, M.; Bordoli, R. S.; Elliott, G. J.; Sedgwick, R. D.; Tyler, A. N. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 645-657.
- 11 Aberth, W.; Straub, K. M.; Burlingame, A. L. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 2029-2034.
- 12 Gaskell, S. J. *J. Mass Spectrom.* **1997**, *32*, 677-688.
- 13 Reynolds, J. D.; Cook, K. D.; Burn, J. L. E.; Woods, C. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1992**, *3*, 108-112.
- 14 Luobeznova, I.; Simkhovich, L.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 1724-1732.
- 15 Simkhovich, L.; Galili, N.; Saltsman, I.; Goldberg, I.; Gross, Z. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 2704-2705.
- 16 Blades, A.T.; Ikonomou, M.G.; Kebarle, P. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2109-2114.
- 17 Van Berkel G. J. "The Electrolytic Nature of Electrospray" em "Electrospray ionization mass spectrometry, Fundamentals instrumentation and applications" ed. por Cole, R.B. John Wiley and Sons, Nova Iorque, **1997**, 65.
- 18 Van Berkel, G. J.; McLuckey, S. A.; Glish, G. L. *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1098-1109.
- 19 Van Berkel, G. J.; Zhou, F. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 2916-2923.

- 20 Van Berkel, G. J.; Zhou, F. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, *7*, 157-162.
- 21 Van Berkel, G. J.; Quirke, J. M. E.; Tigani, R. A.; Dilley, A. S.; Covey, T. R. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 1544-1554.
- 22 Van Berkel, G. J. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, *11*, 951-960.
- 23 Ghosh, A.; Wondimagegn, T.; Parusel, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5100-5104.
- 24 Roos, B. O.; Veryazov, V.; Conradie, J.; Taylor, P. R.; Ghosh, A. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 14099-14102.
- 25 Steene, E.; Wondimagegn, T.; Ghosh, A. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 11406-11413.
- 26 Wasbotten, I. H.; Wondimagegn, T.; Ghosh, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8104-8116.
- 27 Izquierdo, R. A.; Barros, C. M.; Santana-Marques, M. G.; Ferrer Correia, A. J.; Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2004**, *18*, 2601-2611.
28. Lau, K. S. F.; Sadilek, M.; Khalil, G. E.; Gouterman, M.; Brückner, C. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, *16*, 1915-1920.
- 29 Barata, J. F. B.; Barros, C. M.; Santana-Marques, M. G. O.; Neves, M. G. P. M. S.; Faustino, M. A. F.; Tomé, A. C.; Ferrer Correia, A. J.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Mass Spectrom.* **2007**, *42*, 225-232.
- 30 Lau, K. S. F.; Sadilek, M.; Gouterman, M.; Khalil, G. E.; Brückner, C. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2006**, *17*, 1306-1314.
- 31 Gross, Z.; Galili, N.; Simkhovich, L.; Saltsman, I.; Botoshansky, M.; Bläser, D.; Boese, R.; Goldberg, I. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 599-602.
- 32 Mahammed, A.; Weaver, J. J.; Gray, H. B.; Abdelas, M.; Gross, Z. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2077-2079.
- 33 Gross, Z.; Golubkov, G.; Simkhovich, L. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 4045-4047.
- 34 Simkhovich, L.; Gross, Z. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 6136-6138.

Capítulo 4

4 Estudo da actividade fotodinâmica de corróis em células HeLa

4.1 Terapia Fotodinâmica (PDT)

A Terapia Fotodinâmica (Photodynamic Therapy - PDT) representa uma modalidade terapêutica recentemente aprovada para o tratamento paliativo e curativo de patologias oncológicas e não oncológicas. Esta terapia tem revelado um grande potencial no tratamento e detecção de algumas formas de cancro, lesões pré-cancerosas e também no tratamento oftalmológico da degeneração da mácula da retina.

A PDT baseia-se na combinação de três componentes não tóxicos *per si*: fotossensibilizador (FS), luz e oxigénio molecular. Numa primeira fase é administrado tópicamente ou sistemicamente o agente fotossensibilizador, que após se acumular de forma selectiva em células tumorais é promovido a um estado excitado, mediante a iluminação da lesão, com luz de comprimento de onda adequado ($\lambda \geq 600$ nm). Inicia-se assim uma sequência de processos fotoquímicos e fotofísicos que origina espécies citotóxicas e altamente reactivas, como o oxigénio no estado singuleto $^1\text{O}_2$, que provocam danos irreversíveis nas biomoléculas e conduzem à morte das células tumorais.

Os resultados obtidos após o tratamento com PDT são vários e vão desde o atraso no crescimento do tumor, o que provoca uma melhoria significativa na qualidade e tempo de vida dos doentes até à completa remissão tumoral.

As maiores vantagens da PDT sobre outros tratamentos oncológicos convencionais são: a baixa toxicidade sistémica (que se deve à activação do FS apenas sob acção da luz); a sua habilidade em destruir tumores selectivamente, apresentando um efeito cosmético muito acentuado e a sua possível aplicação em combinação com outras modalidades terapêuticas, como a quimioterapia, cirurgia e radioterapia.

O objectivo do trabalho realizado e descrito neste capítulo foi o de contribuir para o desenvolvimento de novas moléculas de tipo corróico com potencial aplicação em PDT. Procedeu-se ao estudo da síntese, caracterização estrutural e avaliação biológica de novas moléculas resultantes do acoplamento do corrol **1** com β -ciclodextrinas, unidades estruturais com propriedades biológicas conhecidas e relevantes.¹

Depois de uma breve descrição sobre o aparecimento da PDT serão apresentadas algumas definições e considerações importantes sobre esta terapia. Apresentar-se-ão ainda

alguns conceitos básicos sobre biologia celular para facilitar a interpretação dos resultados obtidos.

4.1.1 Antecedentes históricos

As propriedades terapêuticas da luz para o tratamento de várias doenças incluindo psoríase ou vitiligo são conhecidas desde as civilizações mais antigas, mas só no início do séc. XX, a importância da luz para o tratamento de doenças cutâneas foi reconhecida.²

No final do séc XIX, Niels Finsen demonstrou o efeito curativo da luz solar, nomeadamente dos raios ultravioleta que ele denominou de “raios químicos” no tratamento da tuberculose e do lúpus. Esta descoberta valeu-lhe o prémio Nobel da Medicina em 1903.³⁻⁵

Em 1900, Oscar Raab (aluno de von Tappeiner) descreveu o efeito letal induzido pela combinação de luz e de acridina nos protozoários *Paramecium Caudatum*. Nesta altura, Von Tappeiner sugeriu que determinados compostos fluorescentes, em combinação com luz, podiam ter efeitos benéficos em dermatologia. Em 1903, von Tappeiner e Jesionek, entusiasmados com o resultado de Raab, publicaram o uso de uma solução tópica de eosina, em combinação com a luz para tratar tumores cutâneos e verificaram que o oxigénio é um requisito necessário para o processo de fotossensibilização. Deste estudo surgiu, pela primeira vez, o uso do termo “fotodinâmico” descrevendo uma “acção fotodinâmica” ou “efeito fotodinâmico”, em que o oxigénio é um requisito fundamental para o processo.⁶⁻⁸

Em 1911, Hausmann realizou os primeiros estudos biológicos com hematoporfirina (Hp) (Figura 44) e descreveu o seu efeito em combinação com luz nos protozoários *Paramecium*, glóbulos vermelhos e em ratos. Neste último caso, foram observadas alterações cutâneas.

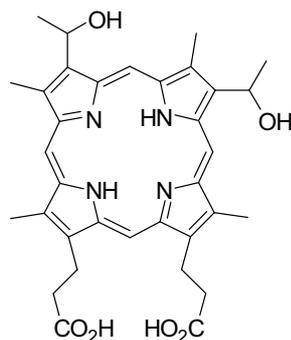


Figura 44 – Estrutura da hematoporfirina (Hp)

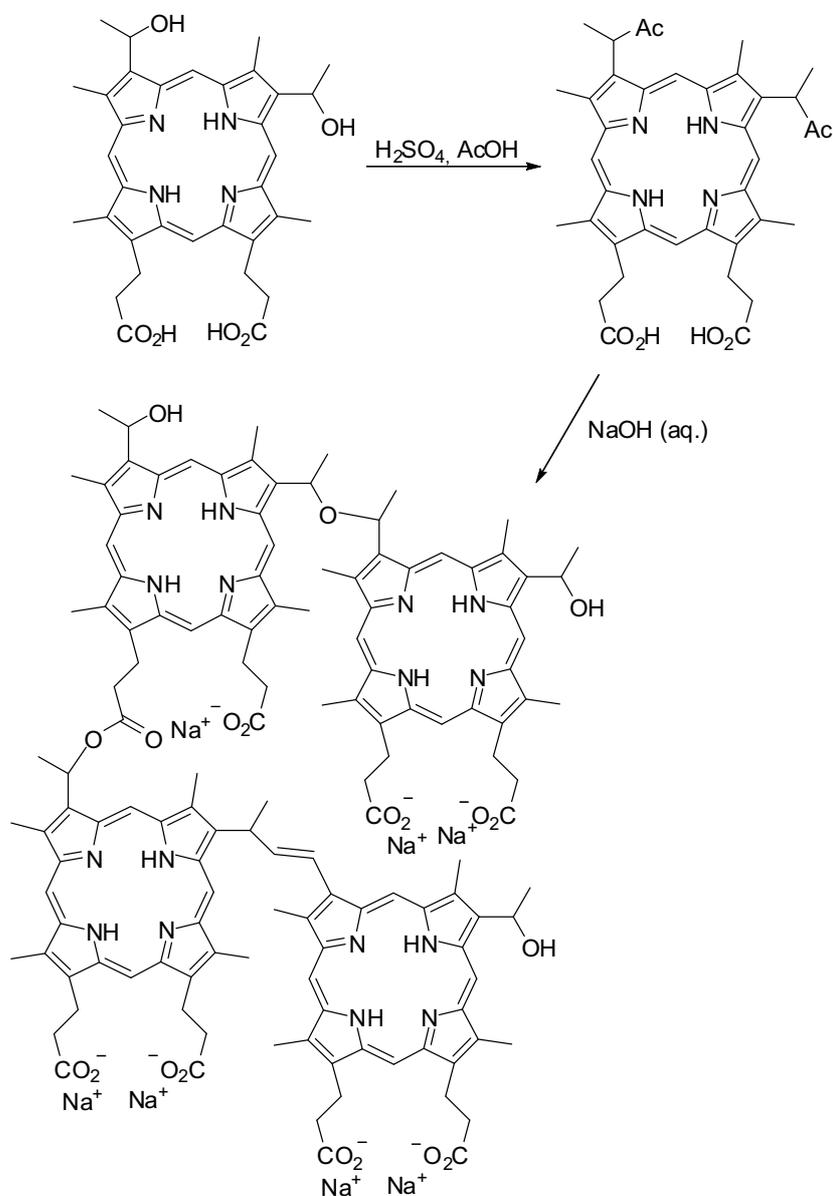
Um ano mais tarde, Meyer-Betz injectou-se com 200 mg de hematoporfirina e após exposição à luz solar, apresentou edema e fotossensibilidade nas zonas directamente expostas à luz. Esta foi a primeira experiência relatada do efeito fotodinâmico das porfirinas em Humanos.⁹

Nos anos 20, Policard observou a fluorescência vermelha característica da hematoporfirina em tumores de rato, aquando da sua irradiação com luz ultra-violeta. A fluorescência foi atribuída à localização da porfirina endógena no tumor. Este facto, levou Figue e Weilland a investigar de que forma as porfirinas se localizam nos tumores, procurando desenvolver a sua aplicação no diagnóstico de tecidos cancerígenos. Após vários ensaios, verificaram que cada porfirina testada se localizava preferencialmente no tumor e não nos tecidos sãos.¹⁰

Em meados dos anos 50, Schwartz descreveu que a hematoporfirina até então utilizada era constituída por uma mistura de porfirinas com diferentes propriedades. Schwartz mostrou, após purificação parcial de Hp, que a hematoporfirina “pura” apresentava baixo poder de localização nos tecidos tumorais, ao contrário do seu resíduo, que exibia grande selectividade para com estes tecidos. Estes novos conhecimentos levaram Lipson a procurar um derivado da hematoporfirina (HpD) que se acumulasse preferencialmente nas células tumorais.¹¹

Estes derivados da Hp foram preparados por reacção da hematoporfirina com uma mistura de ácido acético/ácido sulfúrico. A mistura intermédia foi tratada em seguida com uma solução de hidróxido de sódio. Deste tratamento resultou uma mistura complexa formada por monómeros, dímeros e tetrâmeros, nos quais as unidades de porfirina estão ligadas por ligações éter, éster e carbono-carbono (Esquema 54). Esta nova formulação denominada de HpD - derivado da hematoporfirina revelou ser mais eficiente na

localização tumoral e na diferenciação de tecidos tumorais do que a Hp inicial, sendo também necessária uma menor quantidade para proceder aos ensaios fotodinâmicos.¹²



Esquema 54

Em 1975, Dougherty descreveu a primeira cura completa de um tumor, através da administração de HpD e activação com luz vermelha. Três anos mais tarde, o mesmo investigador descreveu o primeiro caso clínico de tratamento de tumores em humanos com HpD.¹³ Nos anos 80, Dougherty purificou a HpD por ultra-filtração, removendo a parte da fracção monomérica, designando a nova mistura de Photofrin II. Esta mistura de porfirinas, de natureza controversa, está comercialmente disponível e é denominada de Photofrin[®].

Esta formulação está aprovada para uso clínico em vários países como nos Estados Unidos da América, Canadá, Japão, Itália, Portugal e é utilizada para o tratamento do cancro do esófago, pulmão, bexiga, etc.¹⁴

4.1.2 Mecanismo de acção fotodinâmica e fotossensibilizadores

As reacções fotodinâmicas têm a sua origem na absorção de energia (fotões de luz) por parte do fotossensibilizador, o qual a transfere (via cruzamento de intersistemas) a moléculas, como por exemplo o oxigénio molecular originando as espécies responsáveis pelos efeitos citotóxicos, nos tecidos tumorais. Este é o princípio básico do mecanismo da acção fotodinâmica.

Têm sido sugeridos dois processos como sendo os principais responsáveis por provocar ou promover danos nos tecidos tumorais. Esses dois processos são referidos como processos ou mecanismos do tipo I e do tipo II e encontram-se indicados no diagrama de Jablonski modificado e apresentado na Figura 45.¹⁵

Os valores de comprimento de onda da luz absorvida pelo fotossensibilizador, para o seu uso em PDT, devem estar entre 600-800 nm, onde a penetração da luz no tecido é máxima.

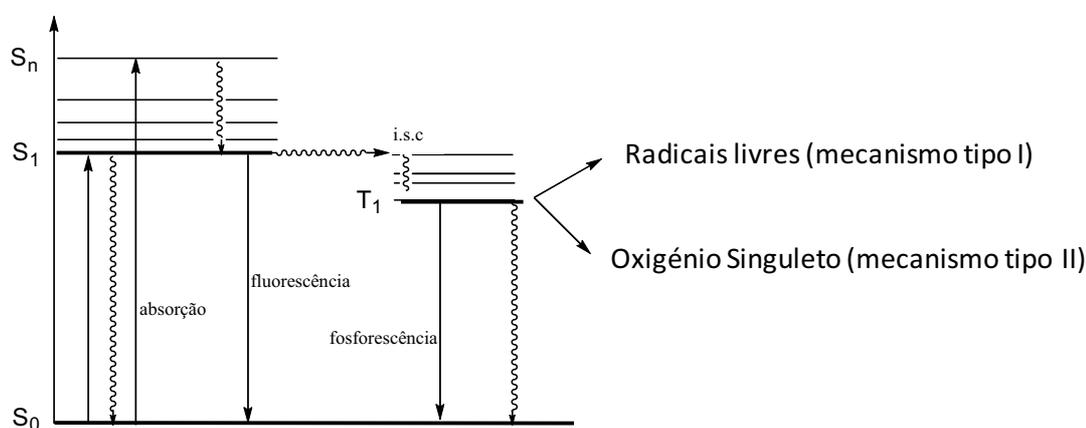


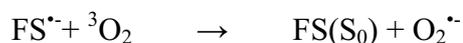
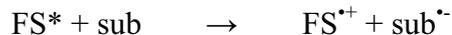
Figura 45- Diagrama modificado de Jablonski

Ambos os processos começam com a absorção de luz de λ adequado por parte do fotossensibilizador, que passa do estado fundamental (S₀) para qualquer um dos estados excitados singuleto (S_n). No entanto, por conversão interna a molécula é conduzida ao estado energético singuleto de mais baixa energia (S₁). O FS pode, então, relaxar

regressando ao seu estado fundamental, por emissão de radiação (fluorescência) ou passar a um estado excitado tripleto isoenergético, por cruzamento intersistemas. Este processo envolve a inversão de spin de um electrão, decaindo em seguida para um estado excitado de tripleto T_1 de menor energia. A partir deste estado, o cromóforo pode, ainda, regressar ao estado fundamental emitindo radiação (fosforescência). No entanto esta é uma transição proibida pelo que o FS neste estado apresenta tempos de vida bastante longos ($\sim 0,5 \mu\text{s}$) o que aumenta a probabilidade de transferência de energia para outras moléculas.

É, a partir do estado tripleto que o fotossensibilizador pode originar as espécies reactivas de oxigénio (ROS) seguindo os mecanismos do tipo I ou do tipo II.¹⁶⁻¹⁷

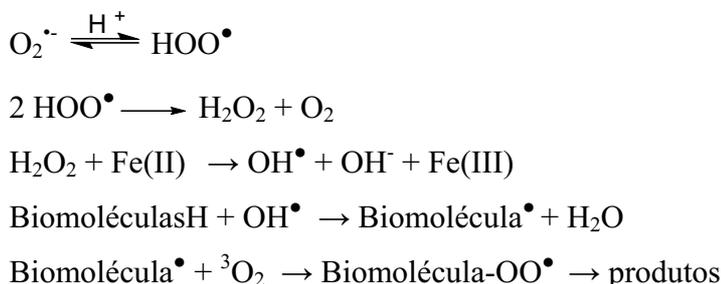
Nas reacções do mecanismo do tipo I, o fotossensibilizador, no estado tripleto, gera espécies radicalares por transferência de um electrão com o substrato e/ou oxigénio no estado fundamental, ou captação de um átomo de hidrogénio da molécula de substrato (Esquema 55). As espécies radicalares formadas são capazes de reagir com oxigénio no estado fundamental, resultando na produção de espécies muito reactivas como aniões superóxido, peróxido ou radicais hidroxilo que atacam, de seguida, biomoléculas presentes nos alvos celulares.^{6,18}



Esquema 55

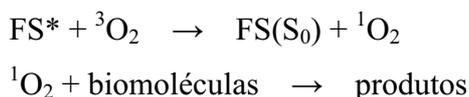
Apesar do ião radical superóxido não ser particularmente reactivo, a sua forma protonada, o radical hidroperóxido, pode sofrer dismutação espontânea ou catalizada por superóxido dismutase, originando oxigénio e peróxido de hidrogénio. Este último, quando gerado num processo fotoquímico *in vivo*, numa situação em que as catalases (ou outras peroxidases) estão ausentes, e na presença de metais de transição vestigiais, originam

radicais hidroxilo. Estas espécies são muito reactivas e promovem reacções radicalares, incluindo processos de autooxidação em biomoléculas (Esquema 56).¹⁵



Esquema 56

As reacções do mecanismo do tipo II envolvem a transferência de energia do estado tripleto do fotossensibilizador para o oxigénio molecular no estado tripleto ${}^3\text{O}_2$ produzindo oxigénio excitado no estado singuleto ${}^1\text{O}_2$ (Esquema 57). O ${}^1\text{O}_2$ é uma espécie altamente reactiva e apesar do seu tempo de vida curto (0,04 μs) e um raio de acção pequeno, cerca de 0,02 μm , crê-se que é o agente chave dos danos causados às células. O ${}^1\text{O}_2$ reage com várias moléculas incluindo lípidos insaturados, colesterol e α -aminoácidos como o triptofano, histidina e metionina.¹⁵



Esquema 57

As contribuições relativas das reacções do tipo I ou do tipo II para a morte celular dependem de vários factores, incluindo os do FS, da localização subcelular, do substrato e da presença de O_2 . No entanto, é geralmente aceite que o mecanismo do tipo II predomina sobre o do tipo I, e que o oxigénio no estado singuleto é o principal responsável pela morte celular.

Os fotossensibilizadores mais usados e estudados em PDT têm por base o núcleo porfirínico e os seus congéneres reduzidos como clorinas (di-hidroporfirinas) e bacterioclorinas (tetra-hidroporfirinas). Outros porfirinóides, tais como as ftalocianinas e

as texafirinas, têm também sido bastante estudados. Actualmente encontram-se já aprovadas para uso clínico várias formulações das quais se destacam o Foscan[®] e o Visudyne[®] (Figura 46).¹⁴

Existe outro tipo de abordagem também com sucesso terapêutico em que não se utiliza directamente o FS, mas o ácido 5-aminolevulínico ALA que é precursor do Heme. Este e derivados na forma de éster encontram-se comercializados com o nome de Levulan[®], Metvix[®], Hexvix[®] e Benzvix[®].

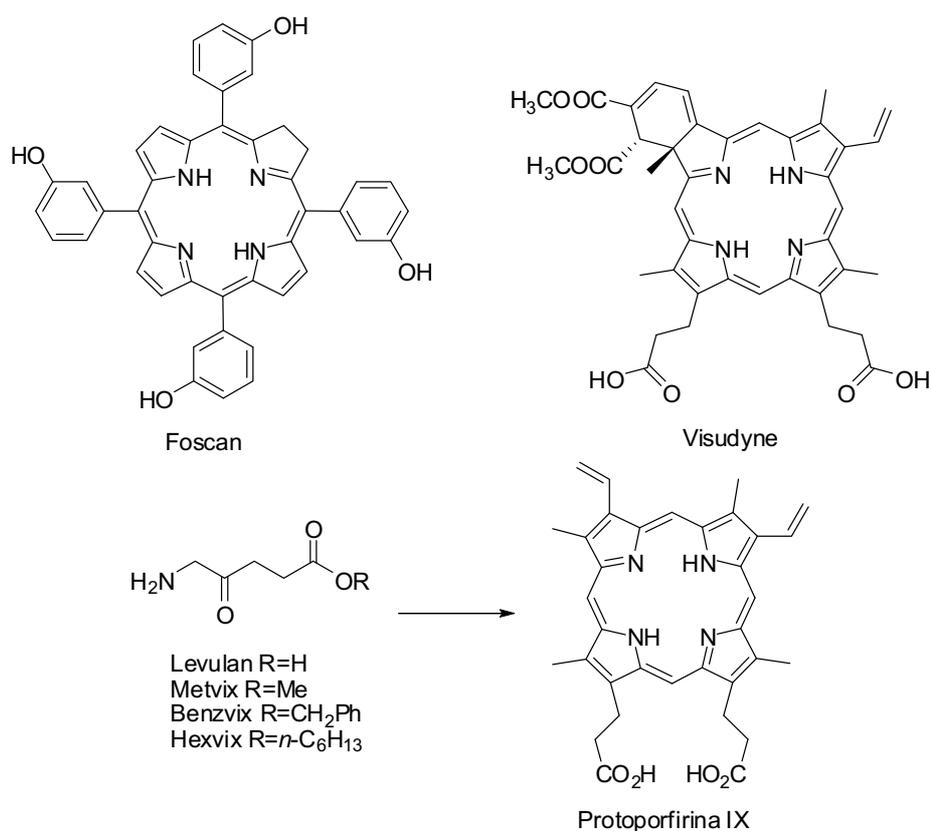


Figura 46 - Fotosensibilizadores comerciais

Os vários estudos já realizados consideram que um fotosensibilizador para ser considerado ideal em estudos de PDT deve apresentar as seguintes propriedades: pureza química, capacidade de se localizar preferencialmente no tecido neoplásico, não apresentar toxicidade na ausência de luz, apresentar elevados rendimentos quânticos de formação de oxigénio singuleto, ter uma forte absorção, com elevados coeficientes de extinção, entre 600-800 nm (onde a penetração da luz nos tecidos é máxima e onde os comprimentos de

onda da luz são ainda suficientemente energéticos para produzir $^1\text{O}_2$), ser anfifílico e ser excretado rapidamente dos tecidos.⁵

4.1.3 Noções básicas de Biologia Celular

A linha celular cancerígena escolhida para desenvolver a avaliação biológica dos novos conjugados sintetizados foi a linha HeLa.

As células HeLa são um exemplo clássico de uma linha celular imortalizada, podendo dividir-se um número ilimitado de vezes, desde que estejam asseguradas as condições básicas de sobrevivência. São células epiteliais humanas de um carcinoma cervical do colo do útero transformada pelo papilomavírus humano.

A denominação HeLa, provém da dadora destas células **Henrietta Lacks** que faleceu em 1951, vítima de cancro do colo do útero.

A acção fotodinâmica dos fotossensibilizadores afecta os componentes celulares e as várias fases do ciclo celular.

Ciclo Celular

O ciclo de divisão celular está dividido em duas partes: a mitose e a interfase.¹⁹

A interfase corresponde ao tempo que a célula passa entre o fim de uma divisão celular até ao início da divisão seguinte. A célula está cerca de 95% do seu ciclo celular em interfase. Nesta fase, os cromossomas encontram-se descondensados e bem distribuídos no núcleo, ocorre a replicação do ADN e a célula está em constante crescimento.

A mitose é um processo de divisão celular, a partir de uma célula-mãe inicial, que origina duas células filhas com a mesma composição genética (mesmo número e tipo de cromossomas), mantendo assim inalterada a composição e teor de ADN característico da espécie (Figura 47). Este processo de divisão celular é comum a todas as células eucariotas que constituem os animais, plantas e alguns organismos unicelulares. É um processo contínuo que se divide em quatro fases: **Profase**, **Metafase**, **Anafase** e **Telofase**.

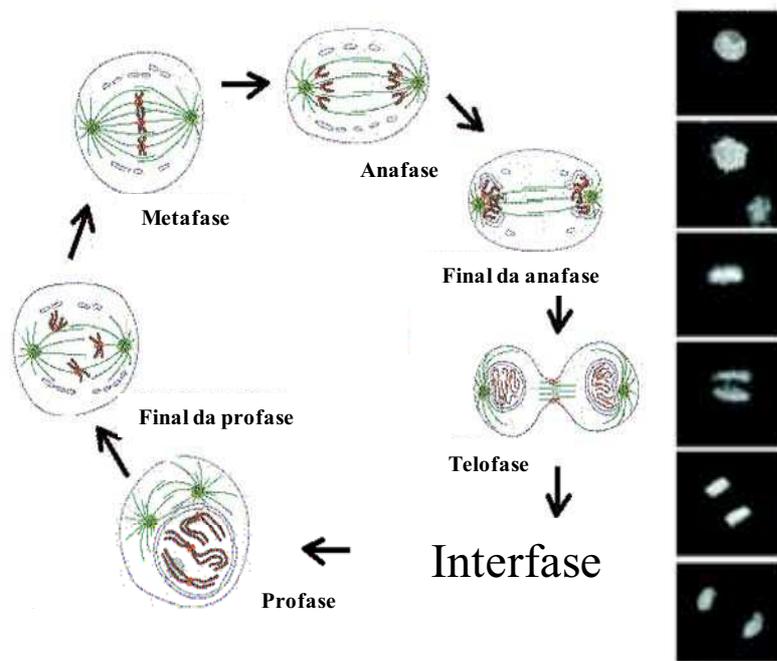


Figura 47 – Divisão Celular -Mitose²⁰

Na **Profase** os cromossomas condensam-se, ficam menores e mais espessos e visíveis. Ao mesmo tempo começa a formação do fuso mitótico, um conjunto de microtúbulos orientados de um pólo ao outro da célula, cuja função é conduzir as cromátides dos cromossomas para os pólos celulares, durante a anafase. Na **Metafase** todos os cromossomas se situam no pólo equatorial do fuso mitótico, formando a placa metafásica. Nesta fase os cromossomas estão mais condensados e são ainda mais visíveis. Na fase seguinte, a **Anafase**, começa a separação simultânea dos centrómeros, separando-se as duas cromátides do cromossoma que passam a formar dois cromossomas independentes. Cada cromátide migra para um dos pólos da célula, orientados pelos microtúbulos. No final da anafase, os cromossomas estão separados e em dois grupos iguais. Na última fase a **Telofase**, ocorre a organização da membrana nuclear em torno dos cromossomas de cada futura célula-filha nos dois pólos da célula e desaparece o fuso mitótico. Os cromossomas dentro de cada núcleo começam a descondensar-se.

A divisão celular termina quando o citoplasma se divide o que leva à individualização das células-filhas (citocinese).

Citoesqueleto

O citoesqueleto é o esqueleto interno das células eucariontes (Figura 48), formado por uma rede de filamentos proteicos que se estendem por todo o citoplasma. O citoesqueleto confere à célula a sua forma e movimento, permitindo-lhe rearranjar os seus organelos no citoplasma à medida que crescem, dividem-se e se adaptam ao meio exterior.

As funções do citoesqueleto dependem de três tipos de filamentos presentes neste: filamentos intermédios, filamentos de actina e filamentos de tubulina, geralmente designados por microtúbulos.

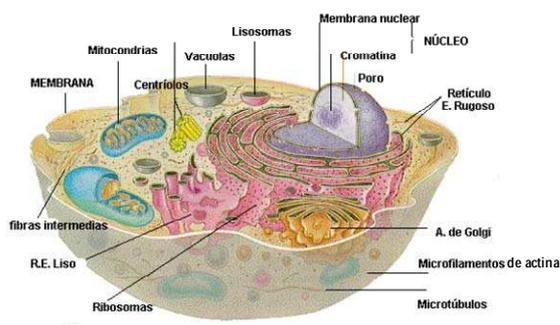


Figura 48 – Célula animal eucarionte²¹

Os filamentos intermédios são fibras proteicas resistentes com 10 nm de diâmetro que desempenham uma função estrutural e mecânica na célula.

Os filamentos de actina representados na Figura 49b) também denominada de actina F são filamentos duplos helicoidais formados por uma proteína globular actina G presente em células musculares. Estes microfilamentos têm de diâmetro 7 a 9 nm.

Os microfilamentos de actina são os responsáveis pela locomoção celular, pela contração muscular e reforçam a membrana citoplasmática.

Os microtúbulos são cilindros ocos constituídos por filamentos proteicos (Figura 49a)) com um diâmetro de 24 nm. Cada filamento é formado por sub-unidades proteicas de tubulina e cada sub-unidade é um dímero formado por duas proteínas globulares denominadas de α - e β -tubulina ligadas por interações electrostáticas.

Os microtúbulos são estruturas dinâmicas envolvidas em várias funções celulares, tais como: a segregação de cromossomas, a determinação da forma celular, a organização intercitoplasmática e o transporte dos organelos no citoplasma. Todos estes processos

baseiam-se na capacidade dos microtúbulos se polimerizarem e despolimerizarem, tornando estas estruturas lábeis e susceptíveis a drogas.

O fuso mitótico é um exemplo da dinâmica dos microtúbulos e é formado após a desorganização dos microtúbulos citoplasmáticos na mitose e é a sua rápida organização que explica a extrema sensibilidade desta estrutura a inibidores de tubulina. Desta forma, o efeito dos inibidores dos microtúbulos no fuso mitótico pode-se traduzir nas alterações da mitose, como bloqueio da metafase e a formação de células multinucleadas.²²

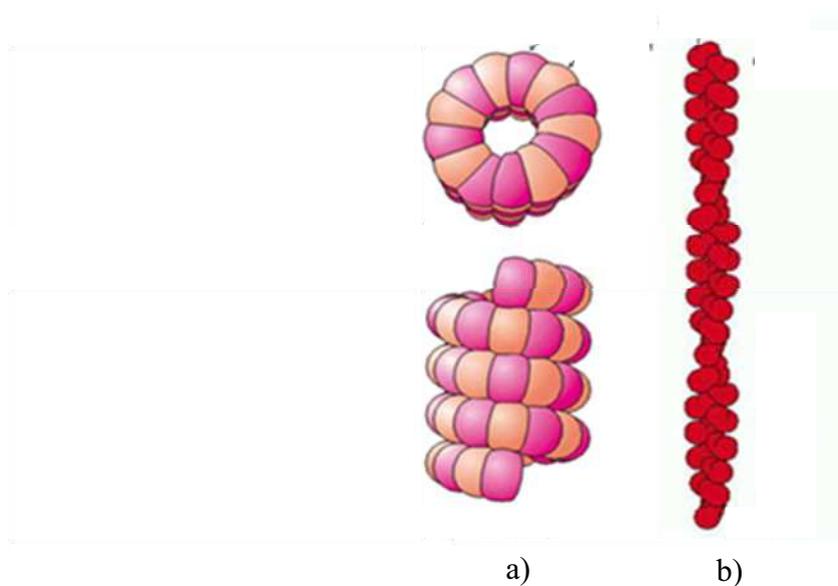


Figura 49- a) Microtúbulos – filamentos de tubulina, b) Filamentos de Actina

4.2 Síntese de novos fotossensibilizadores

Tendo como objectivo a síntese de corróis com potencial aplicação em PDT decidiu-se conferir alguma anfifilia ao corrol **1**, através da sua ligação a moléculas de β -ciclodextrina.

As ciclodextrinas (CD's) são oligómeros cíclicos constituídos por moléculas de α -D-glucopiranosose ligadas por ligações α -(1,4). As ciclodextrinas são classificadas, de acordo com o número de unidades glicosídicas que apresentam, se a ciclodextrina detém seis unidades de açúcar é denominada de α -ciclodextrina, se apresenta sete unidades é denominada de β -ciclodextrina (Figura 50) e se contiver oito unidades é denominada de γ -ciclodextrina.

A estrutura cristalina das CD's foi estabelecida em 1942,²³ por estudos de difracção de raios X. Estes estudos demonstraram que as ciclodextrinas apresentam uma forma cónica com uma cavidade estreita de um lado e mais larga no outro. Na cavidade mais estreita residem os grupos hidroxilo primários e na parte mais larga estão os grupos hidroxilos secundários. Os grupos hidroxilo nas extremidades tornam as ciclodextrinas solúveis em água, devido à possibilidade de formarem ligações de hidrogénio com o solvente. Por outro lado, o interior da cavidade é delimitado pelo alinhamento dos hidrogénios C(3)-H e C(5)-H e pelo oxigénio da ligação C(1)-O-C(4), o que lhes confere carácter hidrofóbico (Figura 50).²⁴

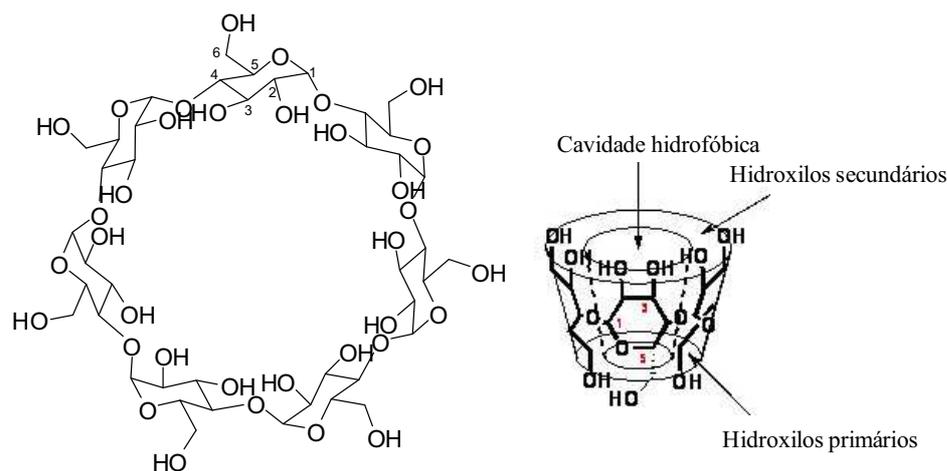


Figura 50 – Estrutura da β -ciclodextrina

Actualmente existem várias aplicações para as ciclodextrinas na indústria alimentar, farmacêutica, química, entre outras. Uma das propriedades mais importantes das CDs é a sua capacidade de formar complexos de inclusão com uma grande variedade de moléculas hóspedes (compostos orgânicos ou inorgânicos) em solução.^{25,26}

Estes complexos de baixa toxicidade são geralmente usados como transportadores de drogas insolúveis ou pouco solúveis em água em muitas aplicações farmacológicas. A complexação da droga com a CD produz um aumento da solubilidade em meios aquosos e modificações significativas nas suas propriedades fotofísicas, fotoquímicas e farmacológicas.²⁵

Na procura de um fotossensibilizador ideal, como já foi referido, a anfifilia é um requisito importante, porque permite uma melhor incorporação na membrana celular.²⁷ Os corróis, as porfirinas e derivados tetrapirrólicos de um modo geral apresentam um carácter lipofílico acentuado exibindo baixa solubilidade em ambientes aquosos e uma tendência elevada para agregarem. Estudos prévios já demonstraram que o acoplamento de uma unidade de β -ciclodextrina a uma ftalocianina torna este macrociclo solúvel em água²⁸ assim como a ligação de duas unidades de β -ciclodextrina à 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina.²⁹

Assim, tendo em conta estes resultados e sublinhando o objectivo principal deste trabalho, encetou-se o acoplamento de unidades de β -ciclodextrina ao 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol.

4.2.1 Síntese de novos conjugados corrol-ciclodextrina

A metodologia usada para acoplar directamente uma unidade de β CD ao corrol foi *via* substituição nucleófila de um átomo flúor (na posição *para* dos anéis pentafluorofenilo) por uma unidade alcóxido de β -ciclodextrina.

Na síntese de novos conjugados corrol-ciclodextrina começou-se por testar a reacção do corrol **1** em DMSO na presença de 4 equivalentes de β CD. Esta mistura foi sujeita a aquecimento a 80°C, durante 30 min. Ao fim deste tempo, o TLC controlo em fase reversa revelou a ausência de corrol de partida e a formação de vários compostos. Após a neutralização da mistura reaccional com ácido cítrico, esta foi aplicada no topo de uma coluna de fase reversa e a eluição dos novos produtos foi efectuada por gradiente

água/acetonitrilo. No entanto, na coluna de fase reversa verificou-se que a mistura dos novos produtos formados era bastante complexa e de difícil separação e purificação. Uma vez que o acoplamento de β CD ao corrol pode formar até 5 compostos (2 compostos mono-conjugados, dois compostos di-conjugados e um composto tri-conjugado), pensou-se em definir duas abordagens sintéticas diferentes; uma que favorecesse a formação dos mono-conjugados e outra que favorecesse a formação do composto tri-conjugado, alterando o número de equivalentes de β CD usados.

Para a formação dos macrociclos mono-substituídos **47** e **48** (rota A) colocou-se a reagir uma solução de corrol **1** em DMSO na presença de 5 equivalentes da β -ciclodextrina (β CD) e de carbonato de potássio. A reacção decorreu sob atmosfera de azoto à temperatura ambiente e sob agitação (Esquema 58). A reacção foi monitorizada por TLC e após 48 h, o TLC controlo de fase reversa revelou a presença de corrol de partida e um novo composto. Optou-se por prolongar o tempo de reacção por mais 24 horas, ao fim das quais o TLC controlo revelou a presença de dois novos produtos, tendo-se terminado a reacção. Procedeu-se à neutralização da mistura reaccional com ácido cítrico e consequente separação dos compostos por cromatografia em coluna em fase reversa usando, como eluente, um gradiente de acetonitrilo/água. Os novos conjugados foram precipitados em acetona.

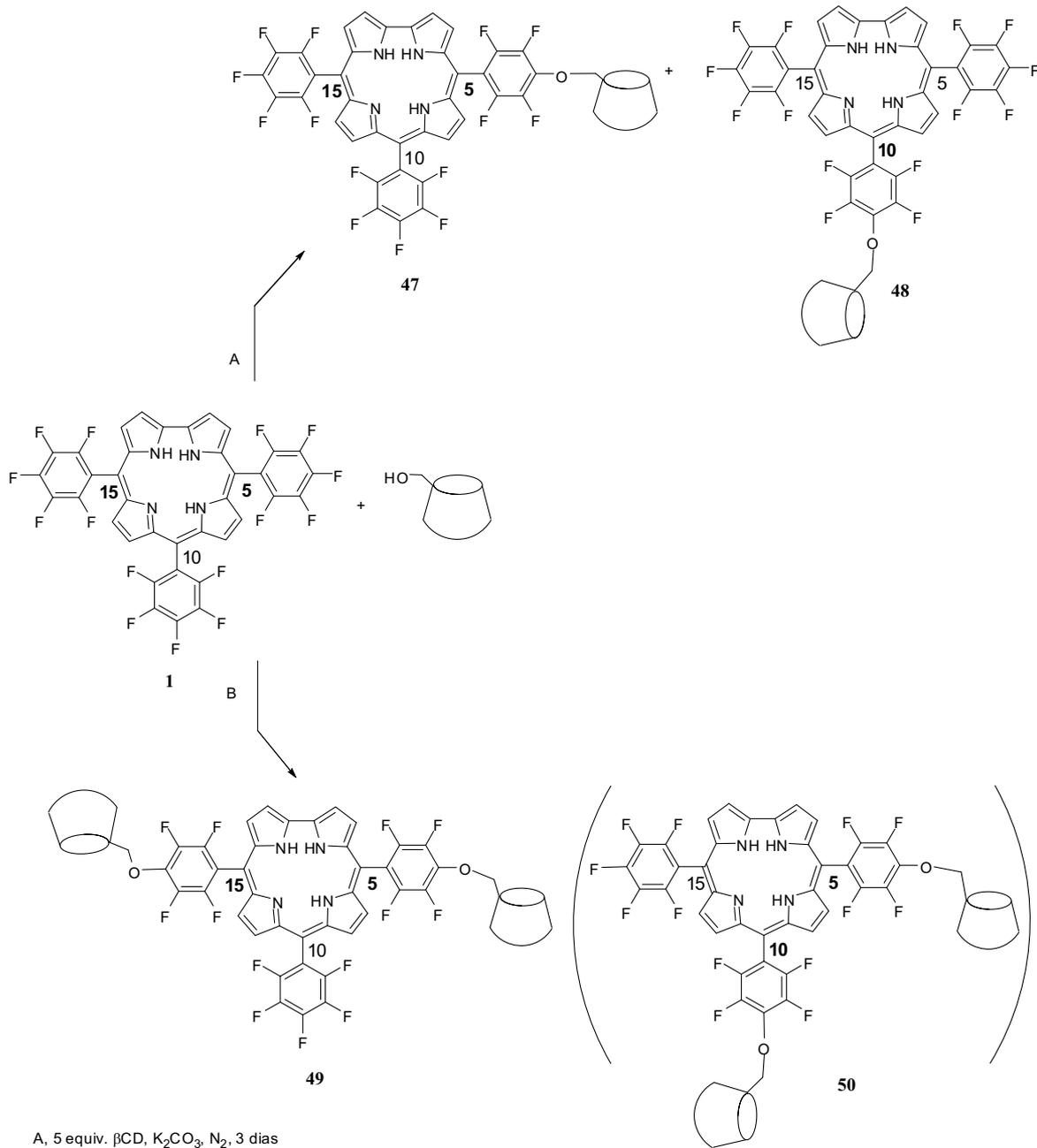
Desta reacção isolaram-se dois compostos, um maioritário e outro minoritário, que foram identificados com base nos seus espectros de massa como sendo o conjugado mono-substituído e um conjugado di-substituído. Recuperou-se 70% de corrol de partida. A análise do espectro de RMN de ^1H do conjugado mono-substituído revelou tratar-se de uma mistura de dois isómeros. De facto, na cromatografia efectuada em HPLC, o cromatograma apresentou dois sinais numa proporção de 7:1, confirmando a presença de dois isómeros. O rendimento global da mistura dos conjugados mono-substituídos foi de 23%.

Considerando a adição de uma molécula de ciclodextrina, verifica-se que existem dois conjugados possíveis **47** e **48**, resultantes da entrada de β CD no anel pentafluorofenilo localizado no carbono 5 ou no carbono 10 do corrol. No entanto, para a obtenção do conjugado **47**, existem dois locais possíveis de reacção, as posições C-5 e C-15, e para a obtenção do conjugado **48** existe apenas um local de reacção, a posição C-10, o que poderá explicar a proporção obtida de cada isómero. Após separação dos dois isómeros por HPLC o composto maioritário foi identificado como sendo o composto **47**.

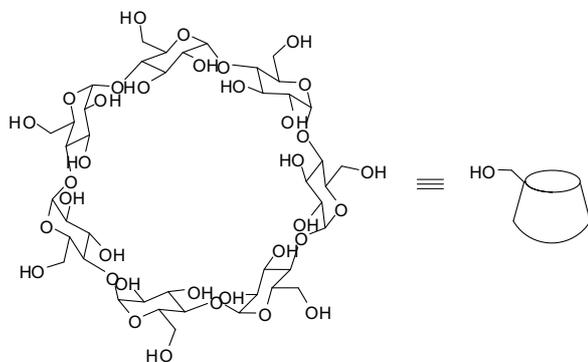
Na tentativa de obter o corrol tri-substituído com três unidades de ciclodextrina adicionou-se o corrol **1** a uma solução em DMSO de 10 equivalentes de β CD e carbonato de potássio em excesso. A mistura reaccional foi mantida sob atmosfera de azoto e agitação, à temperatura ambiente. A evolução da reacção foi seguida por TLC de fase reversa, que ao longo do tempo evidenciou o consumo total do corrol **1** e a formação dos conjugados **47** e **48** e de um conjugado di-substituído. Ao fim de uma semana de reacção optou-se por forçar a reacção adicionando mais excesso de β CD e carbonato de potássio. Ao fim de 3 semanas, por TLC de controlo verificou-se a formação de um composto maioritário (previamente identificado como tratando-se de um conjugado di-substituído) e a mistura de conjugados mono-substituídos em pequena quantidade. Todavia, não se verificou a formação de um composto mais polar, o composto tri-substituído que se pretendia. Optou-se por terminar a reacção, e proceder à separação e purificação dos produtos formados, de acordo com o procedimento anterior. Neste caso, foi isolada a mistura dos conjugados **47** e **48** com um rendimento de 8% e de um conjugado di-substituído com um rendimento de 23%.

O espectro de RMN de ^{19}F do conjugado di-substituído, revelou tratar-se de apenas um composto, que foi identificado como sendo o corrol substituído **49** nas posições 5 e 15 por duas unidades de β CD.

É de realçar que nesta reacção não se isolou o conjugado di-substituído **50**, provavelmente devido ao impedimento estérico, o que também pode explicar o facto de não se ter isolado o composto tri-substituído.



A, 5 equiv. β CD, K_2CO_3 , N_2 , 3 dias
 B, 10 equiv. β CD, K_2CO_3 , N_2 , 3 semanas



Esquema 58

De forma a facilitar a interpretação dos resultados dos estudos biológicos efectuados com os compostos sintetizados, e na caracterização estrutural denominar-se-á o corrol **1** como PFC, o composto **47** como β CD1 e o composto **49** como β CD2. O composto **48** não foi considerado para avaliação biológica, porque não se obteve com o grau de pureza necessário.

4.2.2 Caracterização estrutural

A caracterização estrutural dos compostos β CD1 e β CD2 foi efectuada recorrendo à espectrometria de massa (MALDI-TOF) e aos estudos de ressonância magnética nuclear de ^{19}F e ^1H .

O espectro de massa de β CD1 apresentou o pico do ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 1911 correspondente à adição de um molécula de ciclodextrina a uma unidade corrol com perda de HF.

O espectro de RMN de ^1H de β CD1 apresentou três dupletos e dois multipletos na zona aromática e vários multipletos na zona alifática entre δ 5,85-3,24 ppm. Embora o espectro de RMN de ^1H tenha apresentado baixa resolução, o que não permitiu elucidar concretamente a estrutura, foi possível identificar as ressonâncias devidas aos protões da β CD e do núcleo corrol.

Assim, ao dupletos a δ 9,03 ppm atribuíram-se as ressonâncias dos protões β -pirrólicos H-2,18; aos dupletos a δ 8,66 e a δ 8,52 ppm as ressonâncias dos protões β -pirrólicos H-3 e H-17 e aos multipletos δ 8,60-8,57 ppm e a δ 8,48-8,46 ppm a ressonância dos restantes quatro protões β -pirrólicos do núcleo corrol, H-7,8,12,13. As ressonâncias dos protões da β CD foram atribuídas aos multipletos entre δ 5,85-3,24 ppm.

O espectro de RMN de ^{19}F (Figura 51) foi essencial para a caracterização inequívoca da estrutura do conjugado β CD1.

O correcto assinalamento foi efectuado por analogia com o espectro de RMN de ^{19}F do corrol **1** que apresentou: dois duplos dupletos a δ -160,8 ppm e δ -161,3 ppm correspondentes às ressonâncias dos átomos de flúor das posições *orto*; dois tripletos a δ -175,7 ppm e a δ -176,3 ppm referentes às ressonâncias dos átomos de flúor das posições

para e dois duplos tripletos a δ -185,0 ppm e a δ -185,4 ppm correspondentes às ressonâncias dos átomos de flúor das posições *meta*.

O espectro de RMN de ^{19}F de βCD1 apresentou: na região mais desprotegida, um multipletto entre δ -162,65 e -162,74 ppm e um duplo dupletto a δ -164,81 ppm característico das ressonâncias dos átomos de flúor nas posições *orto*; dois tripletos a δ -179,76 e -179,95 ppm característico das ressonâncias dos átomos de flúor nas posições *para* e dois multiplettos entre δ -186,98 e -187,17 ppm e entre δ -187,55 e -187,74 ppm e um dupletto a δ -180,60 ppm referentes aos átomos nas posições *meta*.

Para a exacta atribuição da posição da βCD no macrociclo corróico, a análise das ressonâncias dos átomos de flúor nas posições *para* e *meta* foi crucial.

A observação de dois tripletos correspondentes à ressonância de dois átomos de flúor nas posições *para* indica que estes não são equivalentes, evidenciando uma estrutura assimétrica, que apenas é consistente com a substituição no anel pentafluorofenilo em C-5. Deste modo, aos tripletos a δ 179,76 e -179,95 ppm foram atribuídas as ressonâncias de F-4'' e F-4'''. Em relação aos átomos de flúor nas posições *meta*, a presença de dois multiplettos entre δ -186,98 e -187,74 ppm confirma a presença de dois anéis pentafluorofenilo não equivalentes e não substituídos. Analisando a estrutura de βCD1 (Figura 51), verifica-se que apenas os anéis B e C são não equivalentes, permitindo atribuir aos referidos multiplettos as ressonâncias dos átomos de flúor *meta* dos anéis B e C.

A ressonância dos F_{meta} do anel A (F-3', 5') foi atribuída ao dupletto a δ -180,60 ppm. Note-se que ocorreu um desvio químico deste sinal de aproximadamente 7 ppm, o que leva a concluir que βCD tem um efeito desprotector sob os átomos de flúor. No caso de complexos host-guest, está descrito na literatura que a inclusão de moléculas aromáticas na cavidade da ciclodextrina se caracteriza pela desprotecção dos protões da molécula hóspede, no entanto, todos os protões do complexo podem sofrer alterações nos seus desvios químicos.³⁰

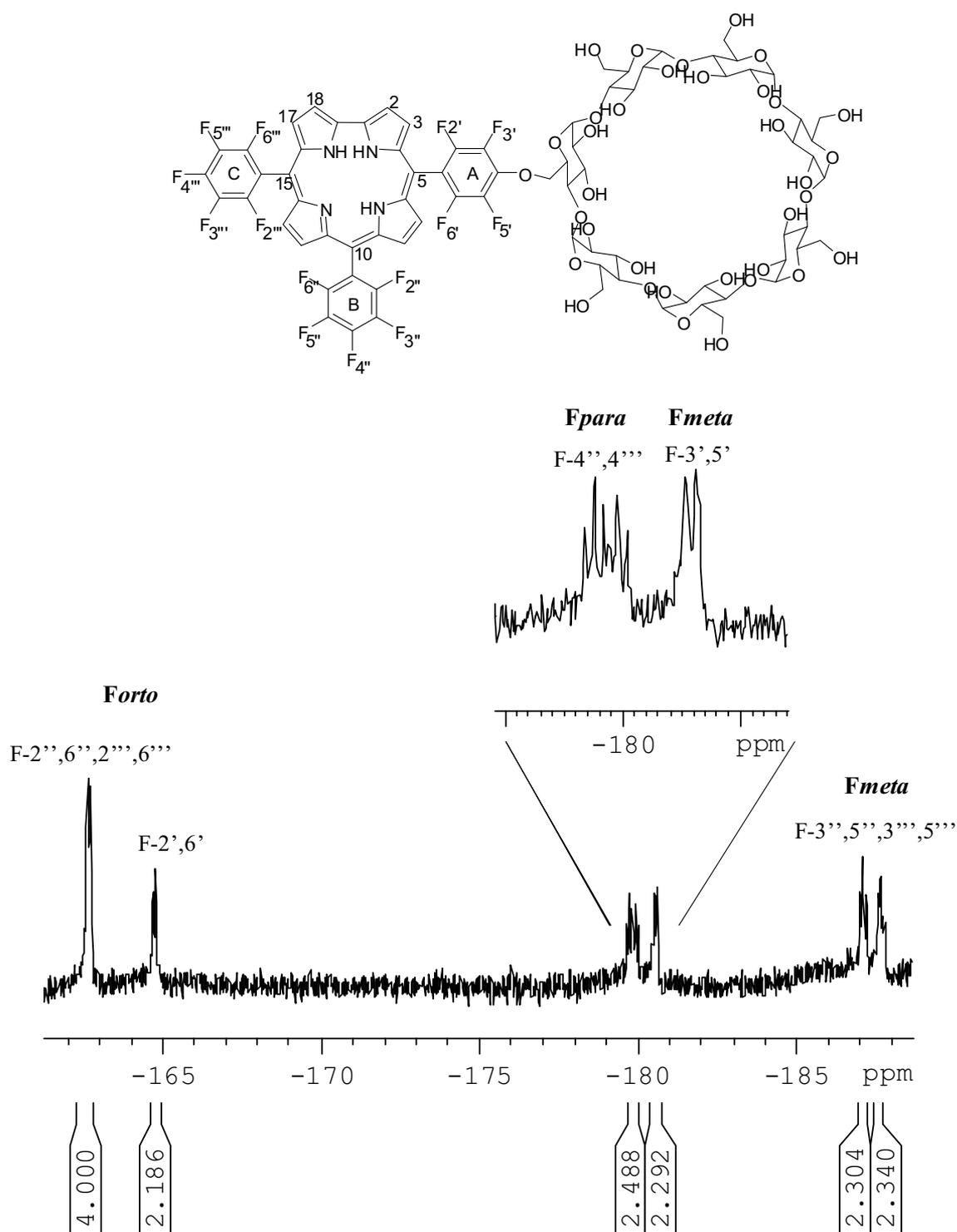


Figura 51 – Espectro total de RMN de ^{19}F de βCD1 , com identificação dos sinais relativos à ressonância dos átomos de flúor nas posições *orto*, *para* e *meta*

O espectro de massa de β CD2 apresentou o ião molecular $[M+H]^+$ a m/z 3048, correspondente à adição de duas moléculas de ciclodextrina a uma unidade corróica, com perda de duas moléculas de HF.

O espectro de RMN de ^{19}F do conjugado β CD2 (Figura 52) apresentou apenas dois sinais em forma de multiplete, evidenciando tratar-se de um composto simétrico. Tendo em conta a caracterização anterior e atendendo à integração de cada sinal, ao multiplete entre δ -164,91 e -165,39 ppm atribuiu-se as ressonâncias dos seis átomos de flúor das posições *orto* e ao multiplete entre δ -179,83 e -180,24 ppm as ressonâncias de seis flúores na posição *meta* e um flúor na posição *para*. Dada a simetria apresentada pelo espectro, este só é consistente com um macrociclo corróico substituído nos átomos de flúor *para* dos anéis pentafluorofenilo dos carbonos 5 e 15. Note-se que o efeito das duas moléculas de β CD, sobre o desvio do sinal relativo aos F_{meta} ainda é mais evidente, as suas ressonâncias aparecem na zona típica de F_{para} , mascarando inclusivé, o sinal relativo a $F_{4''}$.

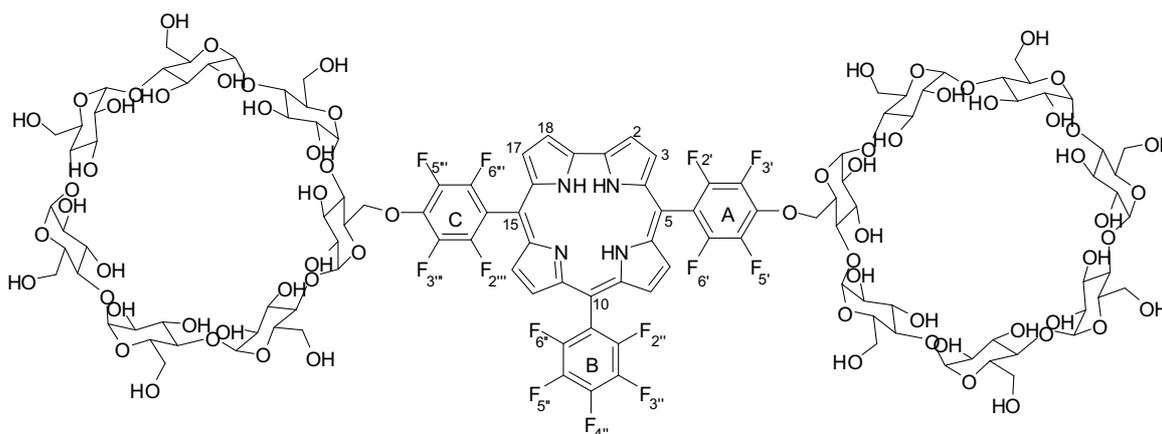


Figura 52 –Estrutura do composto β CD2 e respectiva numeração

4.3 Determinação de parâmetros fotofísicos

Tal como já foi referido, a PDT tira partido da acção conjugada de oxigénio, de um fotossensibilizador e de radiação de determinado λ . Torna-se assim, importante determinar alguns parâmetros fotofísicos que envolvam a absorção de radiação e que são relevantes na avaliação da acção de um fotossensibilizador. Os parâmetros fotofísicos determinados

foram a absorptividade molar, o rendimento quântico de fluorescência, o rendimento quântico de formação de oxigênio singuleto e a fotoestabilidade.

Os espectros de absorção de β CD1 e β CD2 (Figura 53) não apresentaram diferenças significativas entre si, no entanto o seu perfil é diferente do do corrol **1**. A banda Soret dos conjugados sofreu um desvio batocrômico de 20 nm em relação ao corrol precursor e em ambos os conjugados existe uma banda Q de absorção (β CD1, λ 615 nm e β CD2, λ 617 nm) bastante pronunciada, em vez de duas bandas Q de intensidade similar como no corrol **1**.

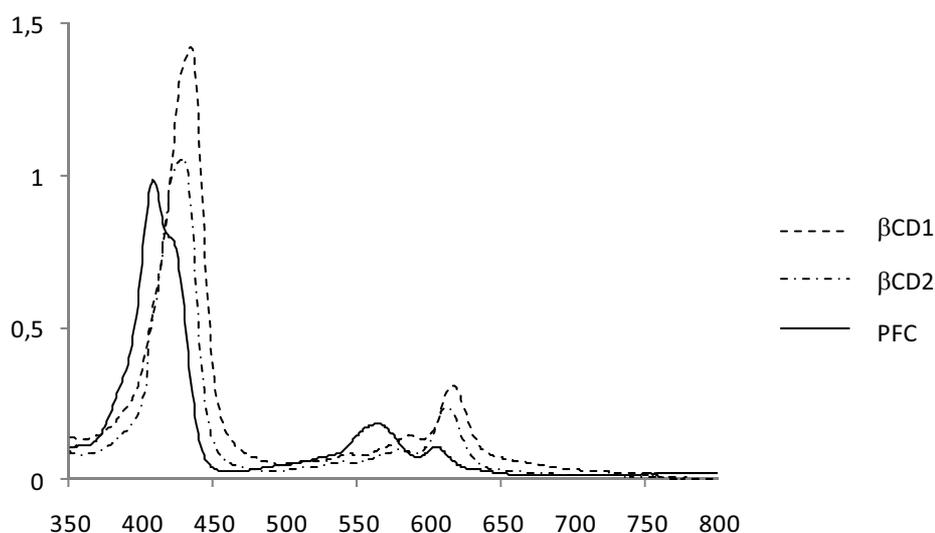


Figura 53 - Espectro de absorção dos compostos β CD1, β CD2 e PFC

A Tabela 11 apresenta os valores obtidos para os rendimentos quânticos de fluorescência (ϕ_F) e de formação de oxigênio singuleto (ϕ_A). Estas determinações foram realizadas pela Prof. M. A. Faustino no grupo da Prof. Beate Röder (Institute of Physics, Humboldt-University of Berlin).

Pode-se verificar que os compostos PFC, β CD1 e β CD2 apresentam rendimentos quânticos de fluorescência superiores à 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (TPP) (entrada 4). Observa-se ainda que o β CD2 apresenta o maior rendimento quântico de fluorescência, 0,30 (entrada 3), e o β CD1 o menor, 0,22 (entrada 2). Relativamente ao (ϕ_A), os valores situam-se entre 0,29 para β CD1 (entrada 2) e 0,54 para PFC (entrada 1). Estes valores, embora se encontrem abaixo do valor da referência (entrada 4), estão acima dos valores encontrados para a Photofrin (0,26). Assim, estão dentro dos encontrados para outros

fotossensibilizadores e são considerados aceitáveis para que possam ser utilizados em PDT.

Tabela 11 - Rendimentos quânticos de fluorescência (ϕ_F) e de oxigénio singuleto (ϕ_Δ) dos diversos compostos, em DMF.

Entradas	Composto [a]	ϕ_F	ϕ_Δ
1	PFC	0,27	0,54
2	β CD1	0,22	0,29
3	β CD2	0,30	0,32
4	TPP	0,12 ³¹	0,65 ³²

[a] densidade óptica para todos os compostos 0,05 a 616 nm

Os rendimentos quânticos de fluorescência ϕ_F e de oxigénio singuleto ϕ_Δ foram determinados usando o método comparativo, com base na seguinte equação:

$$\phi_{amostra} = \phi_{ref} \times \frac{A_{amostra} (1 - 10^{-Abs_{ref}})}{A_{ref} (1 - 10^{-Abs_{amostra}})}$$

Onde, ϕ_{ref} é o rendimento quântico da referência (TPP) em DMF; $A_{amostra}$ e A_{ref} são as áreas das curvas de emissão da amostra e da referência, respectivamente; $Abs_{amostra}$ e Abs_{ref} são as absorvências da amostra e da referência num comprimento de onda de excitação, respectivamente.

4.4 Foto-estabilidade

Antes de se proceder aos ensaios fotodinâmicos é de maior interesse conhecer a fotoestabilidade dos compostos, quando irradiados com luz de comprimento de onda análogo ao da radiação que vai ser usada nos estudos de terapia fotodinâmica. Deste modo, todos os compostos foram sujeitos a ensaios de fotoestabilidade, permitindo determinar a percentagem de fotossensibilizador degradado ao longo do tempo de exposição, à mesma potência de luz usada nos tratamentos fotodinâmicos. Deste modo pode-se verificar se o espectro de absorção de cada composto sofre alteração, quer ao nível de um decréscimo ou deslocamento acentuado das bandas típicas de absorção, quer ao nível de aparecimento de novas bandas.

Estes estudos foram realizados expondo à luz branca ($5\text{mW}/\text{cm}^2$) uma solução de concentração de fotossensibilizador em DMF, mantida em agitação e à temperatura ambiente, numa célula de quartzo.

As leituras de absorção foram efectuadas a tempos definidos de tempo: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7 e 10 minutos. Na Figura 54 apresentam-se, como exemplo, os espectros de absorção de βCD2 .

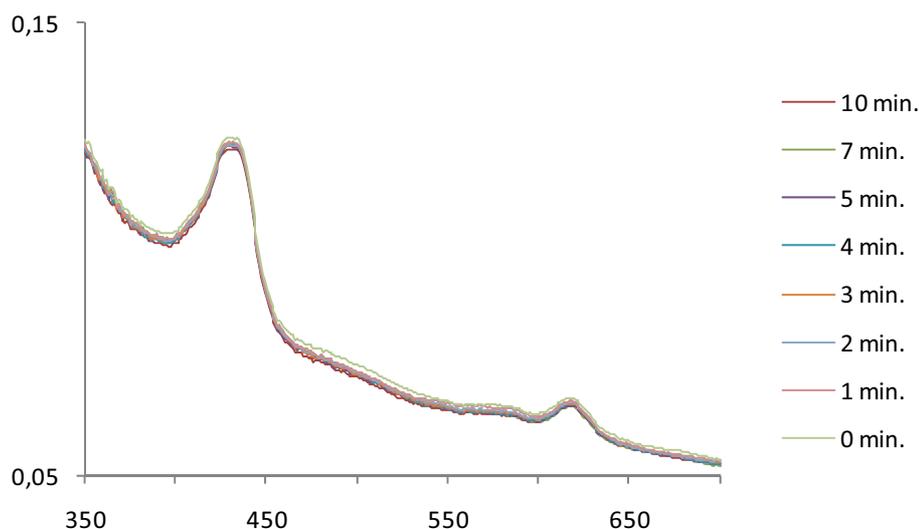


Figura 54 - Espectros de visível de βCD2 a vários tempos de irradiação a $5\text{ mW}/\text{cm}^2$

Da análise dos resultados da Tabela 12 pode-se considerar que, em geral, os compostos são bastante fotoestáveis. Os três compostos mantêm-se praticamente inalterados durante os 10 minutos de irradiação.

Tabela 12 – Resultados de fotoestabilidade dos compostos estudados, a diferentes tempos de irradiação, em percentagem de fotossensibilizador não degradado

Compostos	Tempo de irradiação (min.)							
	0	1	2	3	4	5	7	10
PFC	100	99	99	99	99	99	99	99
βCD1	100	100	99	100	99	99	99	99
βCD2	100	99	99	99	99	99	99	99

4.5 Determinação dos coeficientes de partição

A interacção do fotossensibilizador ou outros fármacos com sistemas biológicos pode ser avaliada pelos coeficientes de partição, i.e, pela proporção da solubilidade de um soluto com a fase orgânica e a fase aquosa. Os coeficientes de partição influenciam as propriedades de transporte dos fármacos que pode estar relacionada com a absorção do fármaco, retenção, distribuição e eliminação. Como os fármacos são distribuídos pelo sangue, eles devem penetrar nas membranas celulares até alcançarem o seu local de acção. Assim, os coeficientes de partição podem estar relacionados com o tipo de tecidos que os compostos podem atingir.³³⁻³⁶

Como os coeficientes de partição são difíceis de medir em sistemas vivos, são geralmente determinados *in vitro* num sistema bifásico orgânico/aquoso.

Os logaritmos dos coeficientes de partição dos compostos PFC, β CD1 e β CD2 foram determinados a 22°C numa mistura 1-butanol/água ($\log P_{B/W}$), de acordo com o procedimento experimental.

Tabela 13 – Coeficientes de partição dos diversos compostos numa mistura 1-butanol/água

Composto	$\log P_{B/W}$
PFC	2,10
β CD1	1,95
β CD2	-1,71

Os resultados presentes na Tabela 13 indicam, tal como esperado, que o carácter hidrofílico aumenta com o número de unidades de ciclodextrina. O corrol precursor PFC é o mais hidrofóbico (2,10) seguindo-se o β CD1 com um $\log P_{B/W}$ de 1,95 semelhante ao do PFC. Apenas o β CD2 (-1,71) se mostrou solúvel em água.

Tendo em conta estes resultados, os compostos β CD1 e PFC serão incorporados em vesículas de lipossomas para se efectuarem os ensaios biológicos e o composto β CD2 será administrado em solução aquosa.

4.6 Ensaios biológicos

A avaliação das propriedades biológicas de determinado composto é um processo moroso, dispendioso e requer uma elevada interdisciplinaridade. Com o objectivo de avaliar a potencial actividade em Terapia fotodinâmica do corrol PFC e dos conjugados corrol-ciclodextrina sintetizados, efectuaram-se alguns ensaios sobre uma linha celular imortal - HeLa. Estes estudos foram realizados no grupo da Prof. Angeles Juarranz do Departamento de Biologia da Universidade Autónoma de Madrid.

Em seguida, serão abordados de forma sucinta, os procedimentos e as técnicas utilizadas nos ensaios biológicos.

Os compostos β CD1 e PFC apresentaram um carácter hidrófobico e a sua administração nas culturas celulares foi efectuada, através da sua incorporação em vesículas de lipossomas de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC). Estudos de desenvolvimento de sistemas transportadores de drogas demonstraram que a lipossomalização de fotossensibilizadores aumenta a acumulação destes e ainda provoca um aumento do efeito terapêutico da PDT, nos vários tipos de neoplasia estudados.³⁷

O composto β CD2 provou ser hidrosolúvel e foi administrado nas culturas celulares em solução aquosa.³⁸

Para a incorporação do fotossensibilizador em lipossomas foram preparadas duas soluções stock, uma de fotossensibilizador (0,5 mg droga em 1 mL de piridina) e outra de DPPC (10,5 mg em 1 mL de etanol absoluto). Posteriormente, misturaram-se as duas soluções stock numa proporção de: 0,265 mL (solução de FS) e 0,735 mL (solução de DPPC). De seguida a um volume de 10 mL de PBS estéril (mantido a 55°C), sob agitação magnética contínua) injectou-se lentamente 0,75 mL desta mistura.

Esta solução mantida à temperatura ambiente, foi submetida a diálise em PBS a 1%.

A concentração de fotossensibilizador existente em cada solução “stock” foi determinada por medição da absorvância no pico máximo de absorção, segundo a lei de Lambert-Beer. As diferentes concentrações que se utilizaram nos tratamentos obtiveram-se por diluição da solução original com meio branco (DMEM/antibiótico).

Como já se referiu, as células a utilizar nos diferentes testes e os testes realizados implicaram a manutenção de uma linha celular HeLa, que foi cultivada em frascos de plástico F25. Quando um desses frascos possuía 70% de confluência procedeu-se à sua

passagem quer para a manutenção da linha celular quer para outros fins, nomeadamente, o de inoculação nas placas de tratamento fotodinâmico.

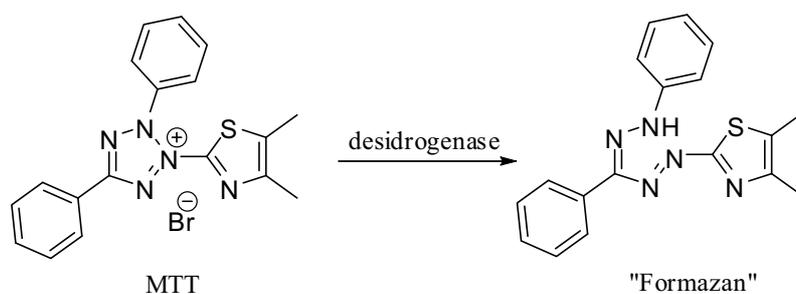
4.6.1 Tratamentos fotodinâmicos

Os tratamentos fotodinâmicos foram realizados em placas P24 e P12. Em cada poço da placa P12 colocou-se uma lamela para permitir o crescimento celular sobre esta. Os tratamentos só foram efectuados quando as células nos poços apresentavam 70% de confluência. Após 5 h de incubação das células no escuro com o fotossensibilizador, as placas de cultivo foram irradiadas directamente, durante os tempos de radiação pretendidos. Após o período de irradiação, o meio de cultivo com fotossensibilizador foi substituído por meio completo e a cultura foi mantida no incubador, durante 24 horas.

Estabeleceram-se em todos os tratamentos realizados, três controlos com o objectivo de:

- avaliar a toxicidade *per si* de cada fotossensibilizador incubando o fotossensibilizador sem irradiar as células – controlo droga.
- Comprovar o efeito da radiação sobre as células não tratadas com o fotossensibilizador e compará-lo com células tratadas com a droga e irradiadas – controlo radiação.
- avaliar a viabilidade celular em células que não foram submetidas nem à presença de droga nem a radiação – controlo total.

A estimativa da viabilidade celular depois dos tratamentos fotodinâmicos foi determinada pelo teste de redução do 4,5-dimetil-3-tiazolil-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Este é um método colorimétrico baseado na redução do MTT (cor amarela) a “formazan”, um precipitado insolúvel de cor azul-escuro (Esquema 59). A redução é catalisada pelas desidrogenases mitocondriais e outras enzimas citoplasmáticas nas células viáveis.³⁹



Esquema 59

Após 24 horas do tratamento fotodinâmico, a cada poço da P24 foi adicionado um volume de 500 μL da solução MTT/meio, e a placa foi incubada a 37° C, durante 3-4 horas. Terminado o período de incubação, aspirou-se o meio de cultura e adicionou-se a cada poço 500 μL de DMSO para dissolver o formazan. De seguida, foi lida a absorvência a 542 nm.

As medições de absorvência dos controlos totais (células que não foram submetidas à presença de composto e radiação) foram tomadas como 100% de viabilidade celular e a partir dessas estimaram-se as percentagens de viabilidade para as células submetidas a tratamento completo.

Os tratamentos fotodinâmicos foram iniciados com o composto βCD1 , usando concentrações de $1 \times 10^{-7}\text{M}$ e $5 \times 10^{-7}\text{M}$. Verificou-se que a proliferação celular se mantinha independentemente da dose de luz aplicada. Optou-se por aumentar a concentração de βCD1 para $1 \times 10^{-5}\text{M}$. Com esta concentração e após tratamento fotodinâmico houve uma diminuição do número de células vivas. A sobrevivência celular com doses de luz de 9 e 12 J/cm^2 é semelhante e está compreendido no intervalo de valores sub-letais (40-70%), tomando-se a concentração de βCD1 a $1 \times 10^{-5}\text{M}$ como dose sub-letal.⁴⁰

Tendo em conta os resultados anteriores, os tratamentos fotodinâmicos com βCD2 foram iniciados com a concentração de $1 \times 10^{-5}\text{M}$. No entanto, verificou-se que esta concentração de βCD2 não induzia alterações na sobrevivência celular. Assim, optou-se por testar a concentração de $1 \times 10^{-4}\text{M}$. Na Tabela 14 encontram-se os resultados obtidos e verificou-se que quanto maior a dose de luz aplicada, menor a percentagem de sobrevivência celular. Com uma dose de luz de 12 J/cm^2 a percentagem de sobrevivência celular diminuiu consideravelmente para 58%. Este valor também está compreendido no intervalo de valores sub-letais (40-70%), tomando-se a concentração de βCD2 a $1 \times 10^{-4}\text{M}$ como dose sub-letal.

O corrol PFC foi testado a uma concentração de $1 \times 10^{-5}\text{M}$ permitindo comparar a sobrevivência celular dos três compostos testados, à mesma concentração. Assim, verificou-se que a concentração de $1 \times 10^{-5}\text{M}$ induz alterações significativas na sobrevivência celular das células HeLa (Tabela 14). Após 9 e 12 J/cm^2 , a percentagem de células vivas foi de 44% e 38%, respectivamente, valores que também estão compreendidos dentro do intervalo de valores sub-letais. Desta forma, foi considerada a concentração de $1 \times 10^{-5}\text{M}$ para o PFC como dose sub-letal.

Note-se que a administração dos fotossensibilizadores sobre células HeLa no escuro e empregando as máximas concentrações estudadas para os fotossensibilizadores, não ocasionaram efeitos citotóxicos e a radiação também não teve qualquer efeito sobre as células.

Tabela 14 - Efeitos citotóxicos induzidos pelos fotossensibilizadores em célula HeLa.

FS	[FS] (M)	Dose de luz (J/cm ²)	Sobrevivência celular (%)
βCD1	1x10 ⁻⁵	3	83,3±23,1
		6	82,2±4,5
		9	72,7±9,8
		12	72,6±10,2
βCD2	1x10 ⁻⁵	6	110,8±7,5
		9	112,3±9,5
		12	110,4±4,0
βCD2	1x10 ⁻⁴	6	85,9±3,1
		9	77,4±5,5
		12	57,6±2,3
PFC	1x10 ⁻⁵	6	75,0±8,8
		9	44,2±10,4
		12	37,6±6,0

A diferente eficiência dos três fotossensibilizadores à mesma concentração de 1x10⁻⁵ M é facilmente confirmada na Figura 55. Nesta figura pode-se observar que o composto βCD2 não teve qualquer efeito sobre a cultura celular, o βCD1 mostrou ter um efeito suave e o PFC provou ter um efeito agressivo.

A aplicação dos três fotossensibilizadores à mesma concentração de 1x10⁻⁵M com uma dose de luz de 12 J/cm² provocou efeitos diferentes na viabilidade destas células. Segundo a percentagem de sobrevivência das células HeLa obtida pelos ensaios de redução de MTT, observou-se que o PFC foi a droga mais eficiente apresentando uma sobrevivência de apenas 38%, o que corresponde a uma dose sub-letal. O βCD1 e o βCD2 apresentaram uma sobrevivência celular de 73% (dose sub-letal) e proliferação celular de 110%, respectivamente. Contudo, o composto βCD2 a 1x10⁻⁴M mostrou ter um efeito moderado na viabilidade celular.

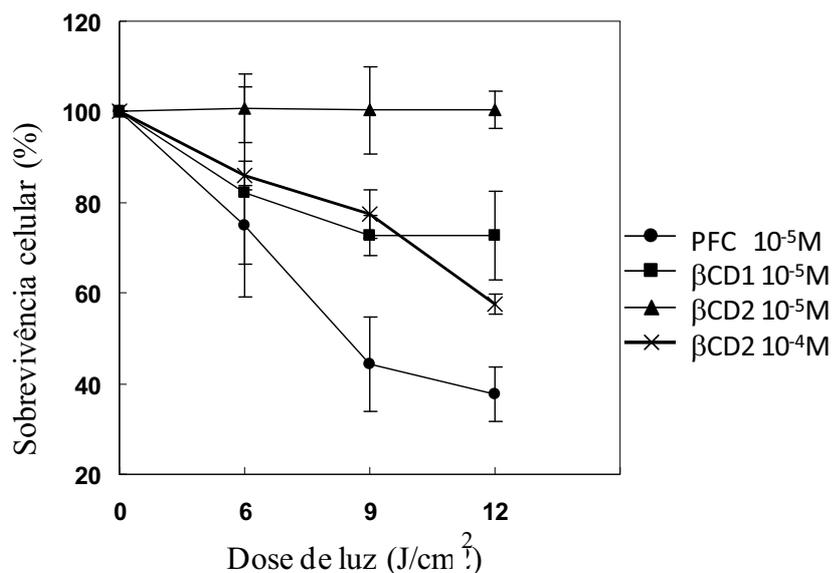


Figura 55- Comparação dos três fotossensibilizadores

4.6.2 Alterações morfológicas causadas pelo tratamento fotodinâmico - azul de toluidina

Nestes estudos, após tratamento das células HeLa com as concentrações dos fotossensibilizadores que apresentaram maior percentagem de morte celular, foram analisadas as alterações morfológicas nas células, por meio de azul de toluidina. Este método permite efectuar uma primeira avaliação global dos danos causados à cultura celular pelo fotossensibilizador.

Estes ensaios foram efectuados apenas para as culturas celulares tratadas com βCD2 à concentração de 1×10^{-4} M e PFC à concentração de 1×10^{-5} M, sujeitas à dose de luz máxima 12 J/cm². Após 24 horas do tratamento fotodinâmico, as células aderidas às lamelas foram fixadas com metanol absoluto a -20°C e depois de secas, foram coradas com azul de toluidina (Figura 56).

Nestes ensaios também se efectuou um controlo do fotossensibilizador, onde as células foram tratadas com a dose sub-letal do composto, mas não foram irradiadas, com o objectivo de avaliar a toxicidade *per si* dos compostos usados.

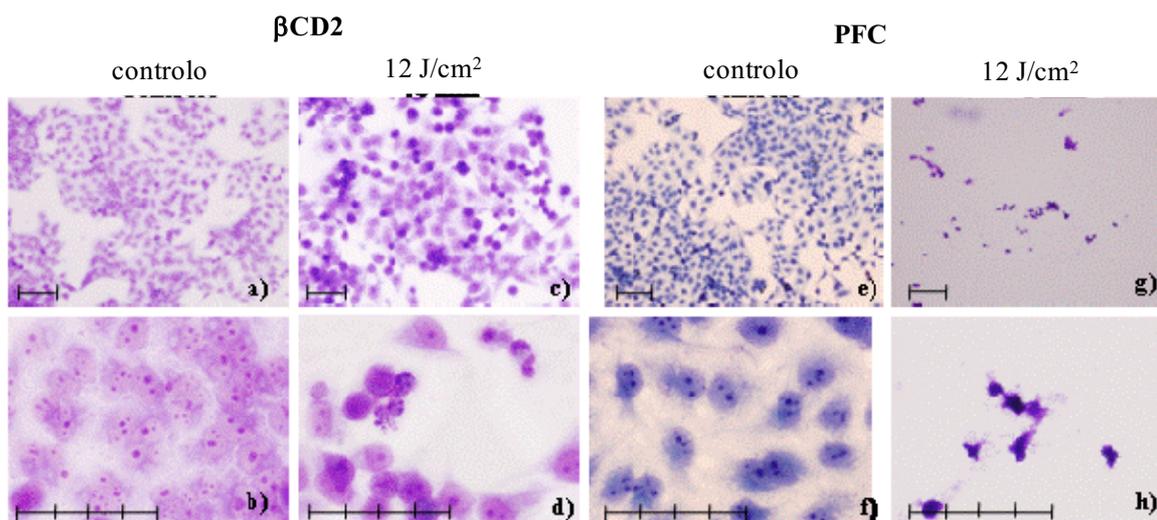


Figura 56- Alterações morfológicas induzidas por tratamento fotodinâmico, observadas 24h depois dos tratamentos: a), b) – células tratadas com a dose sub-letal de β CD2, sem irradiação; c) e d) - células tratadas com a dose sub-letal de β CD2, após 12 J/cm^2 de luz; e), f) – células tratadas com a dose sub-letal de PFC, sem irradiação; g) e h) - células tratadas com a dose sub-letal de PFC, após 12 J/cm^2 de luz. Escala: cada divisão corresponde a $2,5\mu\text{m}$.

Como podemos ver na Figura 56 as alterações morfológicas provocadas pelo composto PFC, foram mais pronunciadas que os danos causados pelo β CD2. Em relação ao PFC observou-se uma menor densidade celular relativo ao controlo, evidenciando um elevado número de morte celular, o que está de acordo com o ensaio de MTT. No ensaio realizado com β CD2 a cultura celular apresentou células mortas e células com uma forma redonda, indicando perda de adesão celular.

4.6.3 Efeitos da PDT sobre o citoesqueleto e núcleo

A localização dos fotossensibilizadores na célula determina as estruturas celulares que serão afectadas pelo efeito fotodinâmico. Desta forma, antes de se iniciarem os estudos de imunofluorescência procurou-se identificar em que compartimentos celulares os fotossensibilizadores se localizavam.

As concentrações usadas para este estudo foram as que provocaram uma menor sobrevivência celular (teste MTT); para os compostos β CD1 e PFC foi usada uma

concentração de $1 \times 10^{-5} \text{M}$ e para o composto βCD2 a concentração de $1 \times 10^{-4} \text{M}$. Desta forma, as culturas celulares foram incubadas com cada fotossensibilizador, por um período de 24 horas. Após este período as preparações celulares de HeLa, foram analisadas por microscopia de fluorescência usando luz de excitação azul. A Figura 57 apresenta a localização subcelular dos compostos testados.

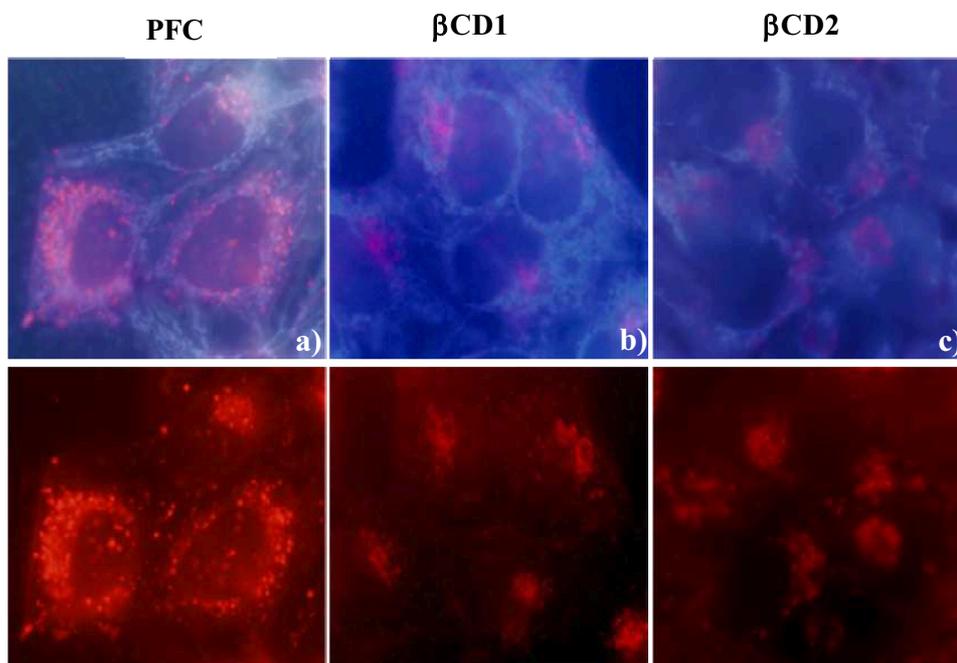


Figura 57 - Localização subcelular nas células HeLa dos compostos a) PFC, b) βCD1 e c) βCD2 , após 24 horas de incubação das células na presença de cada FS

As estruturas celulares identificadas onde os fotossensibilizadores βCD1 e PFC se acumularam preferencialmente, foram o complexo de Golgi (Figura 57b) e os lisossomas (Figura 57a), respectivamente, o que indica que estas duas drogas se comportam como a maioria dos fotossensibilizadores que se localizam em sistemas de membranas intracelulares.²

No caso do composto βCD2 , embora a incorporação na célula seja difusa, acumulou-se com alguma selectividade no complexo de Golgi (Figura 57c).

4.6.3.1 Alterações da estrutura geral da actina nas células HeLa

As alterações provocadas na estrutura geral da actina, após tratamento fotodinâmico foram analisadas recorrendo a ensaios imunológicos com faloidina, que é uma toxina que se liga à actina impedindo a sua despolimerização.

Para todos os compostos foram empregues as condições de tratamento sub-letais (β CD1 e PFC a 1×10^{-5} M, e β CD2 a 1×10^{-4} M). Após 24 horas do tratamento fotodinâmico, as células crescidas sobre lamelas foram fixadas em formol (solução aquosa de formaldeído a 3,7%), lavadas com PBS e permeabilizadas com Triton X-100, durante 30 min à temperatura ambiente. Em seguida, depois de uma nova lavagem com PBS, as células foram incubadas em câmara húmida, durante 20 minutos a 37° C, com 50 μ L da solução de TRITC-faloidina. Seguindo-se nova lavagem com PBS 1% e coloração dos núcleos das células com Hoechst-33258.

De uma forma geral, foi observado que após os tratamentos fotodinâmicos com os diferentes compostos, os filamentos de actina sofreram redução, perda de organização e perda das propriedades de adesão ao substrato.

Comparando com os filamentos de actina das células controlo (Figura 58a), no caso, dos compostos β CD1 (Figura 58b) e β CD2 (Figura 58c) as células apresentaram uma forma redonda, evidenciando a perda de adesão dos filamentos de actina ao substrato. No caso, do PFC (Figura 58d), para além da perda das propriedades já referidas, observou-se ainda fluorescência relativa a actina livre, o que indicou, mais uma vez um elevado número de morte celular.

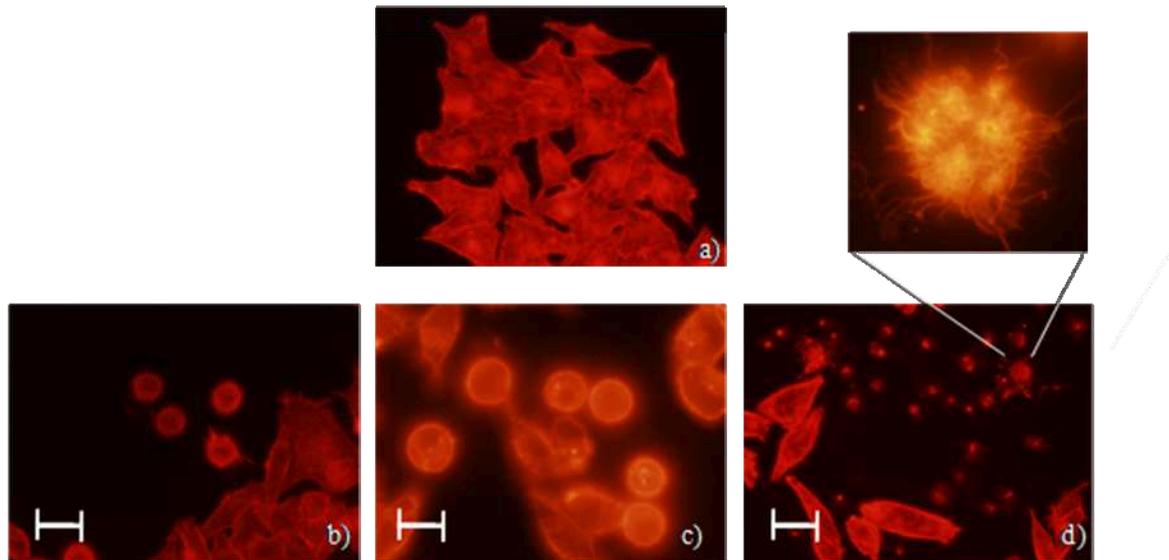


Figura 58 – Fotomodificações induzidas pelos compostos nos filamentos de actina , marcadas com faloidina: a) células controlo; b-d) após 24 h do tratamento fotodinâmico b) β CD1; c) β CD2; d) PFC (fluorescência da actina livre está evidenciada)

4.6.3.2 Alterações da estrutura geral dos microtúbulos nas células HeLa

Os efeitos fotodinâmicos dos três compostos sobre os microtúbulos também foram analisados por ensaios imunológicos. Tal como nos ensaios anteriores foram empregues as condições de tratamento sub-letais (β CD1 e PFC a $1 \times 10^{-5} \text{M}$ e β CD2 a $1 \times 10^{-4} \text{M}$).

O procedimento seguido foi semelhante ao anterior. Após 24 horas do tratamento fotodinâmico, as células crescidas sobre as lamelas foram fixadas em metanol absoluto e lavadas com PBS. De seguida, as preparações foram incubadas com uma solução de anticorpo primário anti α -tubulina em câmara húmida, durante 1 h a 37°C . Seguidamente lavaram-se as células com PBS e procedeu-se à incubação com o anticorpo-secundário, seguindo o mesmo procedimento. Após se proceder à lavagem das preparações com PBS, os núcleos celulares foram corados com Hoechst-33258 durante 4-7 min.

A Figura 59 apresenta as imagens de microscopia de fluorescência captadas após tratamento imunológico.

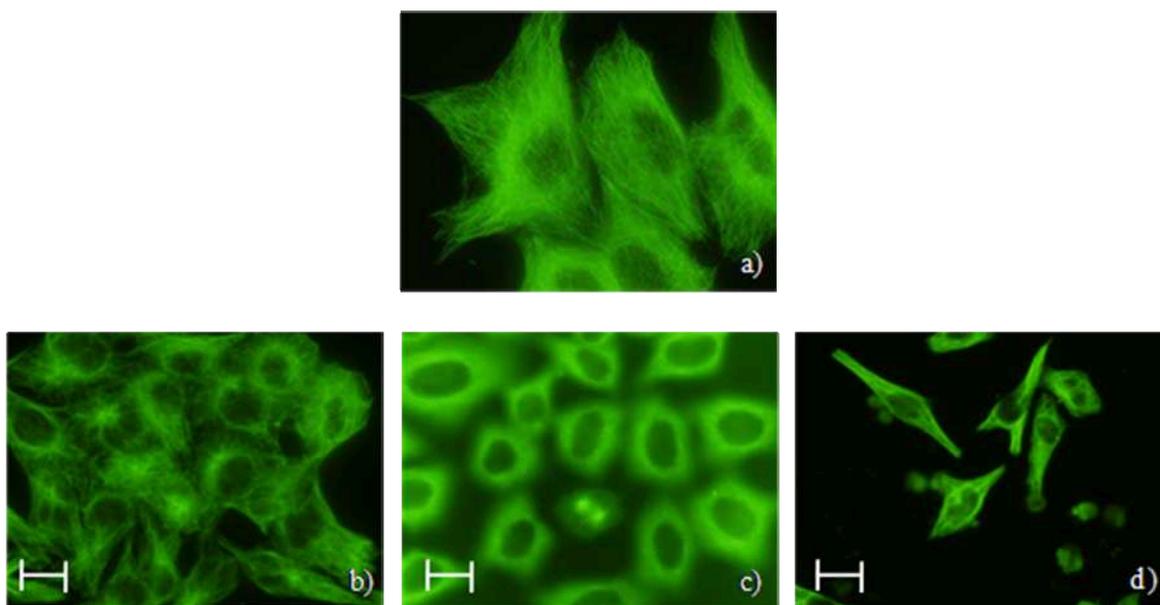


Figura 59 – Ensaio imunológico de α -tubulina em células HeLa: a) células controlo; b-d) após 24 h do tratamento fotodinâmico de: b) β CD1; c) β CD2; d) PFC. Escala: cada divisão corresponde a 10 μ m

De uma forma geral, após tratamento fotodinâmico com os diferentes compostos a rede dos microtúbulos perdeu a sua organização. Comparando com os microtúbulos das células controlo (Figura 59a), observou-se que as alterações mais significativas tiveram lugar com o composto PFC (Figura 59d). Com a acção deste composto, os efeitos na rede dos microtúbulos foram mais pronunciados e a maioria das células apresentou uma forma redonda, com acumulação de tubulina e uma quantidade variável de vácuolos perinucleares.

No caso de β CD2, os efeitos fotodinâmicos sobre a rede de microtúbulos foram também evidentes, ocorrendo a formação de células poliplóides (Figura 59c), ou seja, foi visível a formação de células com mais que um núcleo.

Em relação às células tratadas com β CD1 (Figura 59b), os filamentos de tubulina também se apresentaram desorganizados e com perda de adesão nas células vizinhas.

Recordando o espectro de absorção do composto β CD1 (Figura 60) é claro que a radiação de luz vermelha λ 635 nm, com que se irradiam as culturas celulares não corresponde ao máximo de absorção de β CD1. Desta forma, propôs-se avaliar as alterações

provocadas nos microtúbulos das células HeLa, sob acção de luz azul λ 360-460 nm, permitindo irradiar no máximo de absorção do composto.

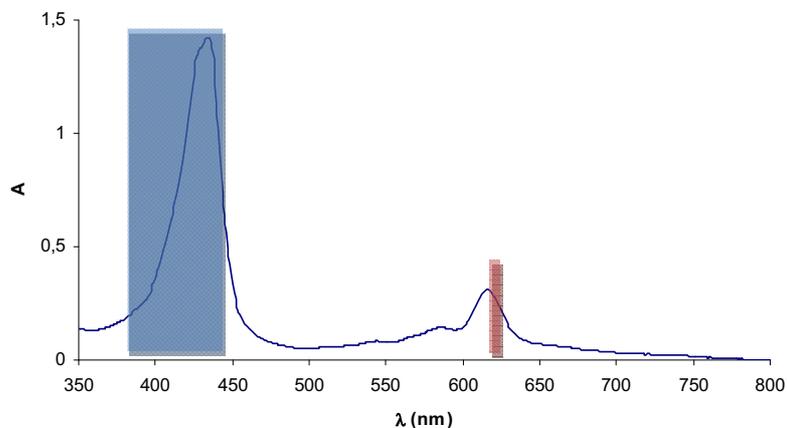


Figura 60 – Espectro de absorção do composto β CD1, indicando os comprimentos de onda da região do azul e do vermelho, utilizados nos tratamentos fotodinâmicos

O procedimento seguido foi igual ao anterior, no entanto devido à forma da fonte de luz (irradiador) azul, as células foram cultivadas sob lamelas, em caixas de Petri de 35 mm. Os ensaios imunológicos (Figura 61) foram efectuados, após 24 h do tratamento fotodinâmico com β CD1 a $1 \times 10^{-5} \text{M}$ com um tempo de irradiação de 30 minutos.

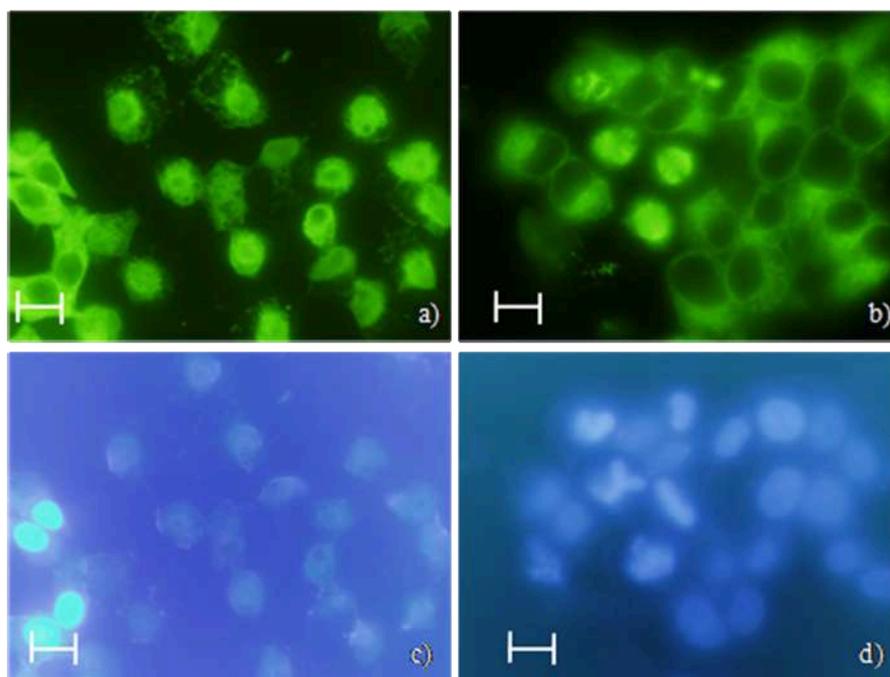


Figura 61 – Ensaio imunológico de α -tubulina em células HeLa tratadas com β CD1 $1 \times 10^{-5} \text{M}$, após 24h do tratamento fotodinâmico e irradiadas com luz azul a) e c) e com luz vermelha b) e d). Em a) e b) estão apresentados os filamentos de tubulina; em c) e d) estão apresentados os respectivos núcleos corados com Hoescht. Escala: cada divisão corresponde a $10 \mu\text{m}$

A Figura 61 ilustra os danos provocados às células com os dois tipos de luz, onde está patente que a radiação com luz azul (Figura 61a) produziu um maior efeito nos microtúbulos que a radiação com luz vermelha (Figura 61b). Com luz azul os microtúbulos encontravam-se mais acumulados nas células e houve um aumento qualitativo de morte celular (Figura 61c), enquanto com luz vermelha os microtúbulos apresentaram-se apenas bastante desorganizados. Como já se havia referido para β CD2 com radiação de luz vermelha, também neste caso com radiação de luz azul houve a formação de células poliplóides (Figura 61d).

4.6.3.2.1 Bloqueio mitótico

O eixo mitótico é um exemplo da dinâmica dos microtúbulos. É formado após a desorganização dos microtúbulos citoplasmáticos na mitose e é a sua rápida organização e

desorganização, que explica a extrema sensibilidade desta estrutura a inibidores de microtúbulos. Desta forma o efeito dos inibidores dos microtúbulos no eixo pode-se traduzir nas alterações das células mitóticas, como bloqueio da metafase e a formação de células multinucleadas.

Para avaliar o bloqueio mitótico provocado pelos compostos anteriores analisaram-se os centrômeros dos cromossomas por microscopia de fluorescência. O procedimento foi em todo semelhante ao seguido nos ensaios imunológicos com a tubulina, mas neste caso utilizou-se também o anticorpo ACA.

Estes ensaios apenas foram efectuados para os compostos β CD1 e β CD2 por apresentarem maiores taxas de sobrevivência aos valores de concentração sub-letais. Para o composto PFC que apresentou uma menor taxa de sobrevivência à concentração tomada como sub-letal, efectuou-se um ensaio TUNEL (ver 4.6.3.3).

A Figura 62 apresenta as imagens de microscopia de fluorescência captadas após tratamento imunológico.

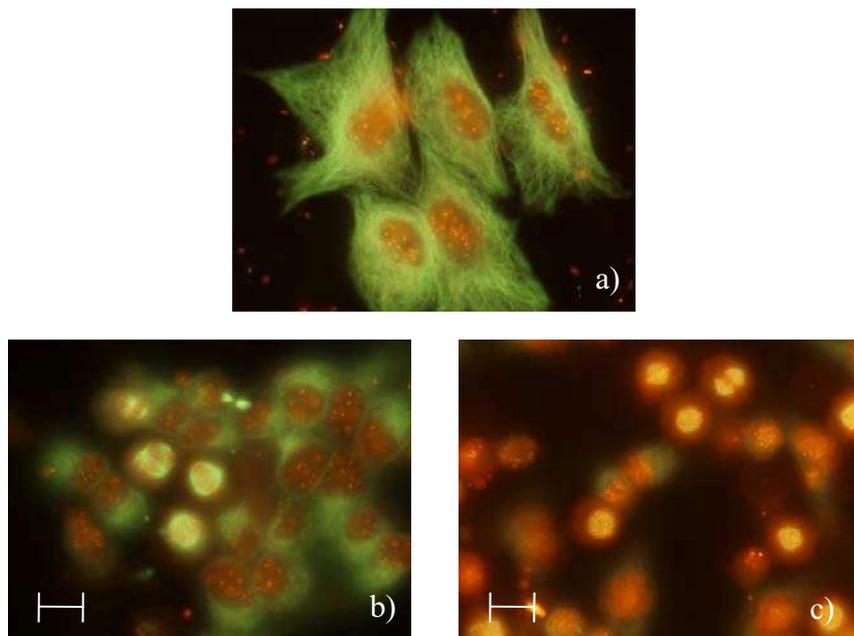


Figura 62 - Marcação dos centrômeros: a) células controlo; b-c) após 24 h do tratamento fotodinâmico b) β CD1; c) β CD2. Escala: cada divisão corresponde a 10 μ m

De uma forma geral para os dois compostos (Figura 62) observaram-se várias células em metafase multipolar, evidenciando um número de centrômeros (número de pontos fluorescentes vermelhos) consideravelmente superior em comparação às células controlo.

Este maior número de centrómeros evidenciou metafases multipolares a que correspondem células poliplóides (com mais que um núcleo).

De modo a avaliar a quantidade de células em bloqueio mitótico procedeu-se à sua contagem em cada fase da mitose, para os compostos β CD1 a 1×10^{-5} M e β CD2 a 1×10^{-4} M (Figura 63).

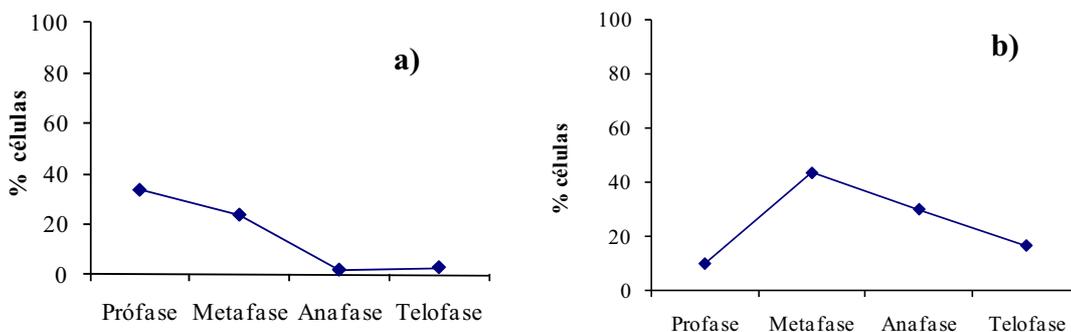


Figura 63 - Percentagem de células nas diferentes fases da mitose, após 24h do tratamento fotodinâmico de a) β CD1 à concentração de 1×10^{-5} M; b) β CD2 à concentração de 1×10^{-4} M

Para as células sujeitas a tratamento fotodinâmico com β CD1 a mitose foi bloqueada na profase e na metafase, no entanto com β CD2 foi a segunda fase do ciclo da divisão celular a mais afectada.

4.6.3.3 Ensaio TUNEL

Como já foi referido, o composto PFC a 1×10^{-5} M quando sujeito a radiação vermelha e uma dose de 12 J/cm^2 apresentou uma elevada taxa de mortalidade celular (63%). De forma a determinar o mecanismo de morte celular envolvida foi efectuado um ensaio TUNEL, que permite distinguir quais as células mortas por apoptose.

Assim, após 24 horas dos tratamentos fotodinâmicos, as células crescidas sobre as lamelas foram fixadas em formol e permeabilizadas em Triton, Em cada lamela foi adicionado um volume de $33,75 \mu\text{L}$ de TUNEL Label e de $5 \mu\text{L}$ de TUNEL enzyme. As preparações foram incubadas em câmara húmida, durante 1 h a 37°C .

A Figura 64 apresenta as imagens de microscopia de fluorescência captadas após o tratamento imunológico.

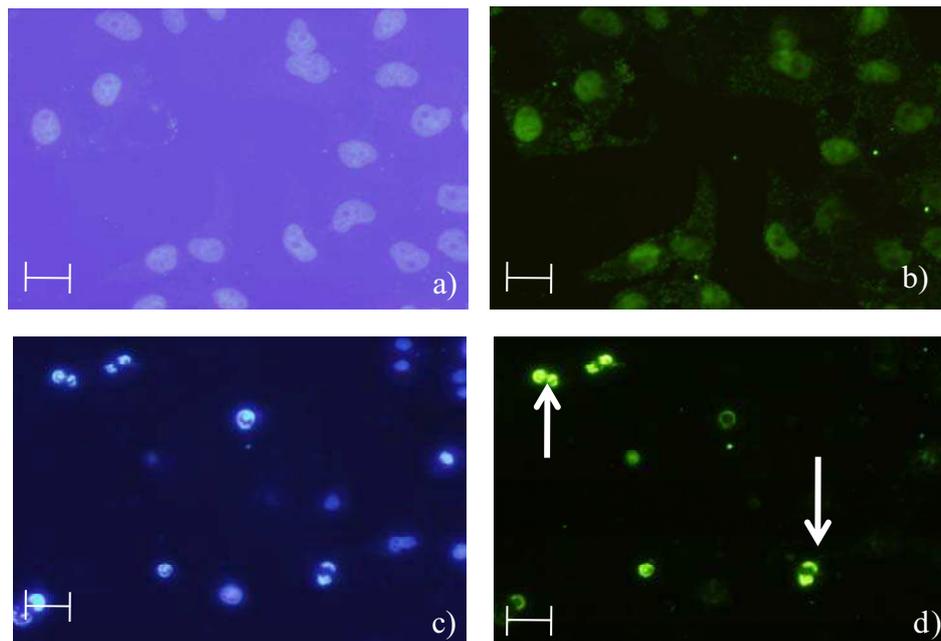


Figura 64 – Mecanismos de morte celular determinado após tratamento fotodinâmico com PFC: microscopia de fluorescência após marcação com H-33258 em células: (a) controle; (c) sujeitas a tratamento fotodinâmico com PFC a $1 \times 10^{-5} \text{M}$; microscopia de fluorescência após ensaio TUNEL de células: (b) controle; (d) sujeitas a tratamento fotodinâmico com PFC a $1 \times 10^{-5} \text{M}$. As setas a branco indicam células em apoptose. Escala: cada divisão corresponde a $10 \mu\text{m}$.

O ensaio TUNEL, efectuado 24 horas depois do tratamento fotodinâmico, revelou a presença de várias células em apoptose, caracterizadas pela fluorescência verde. Procedeu-se à contagem das células apoptóticas e verificou-se que apenas 44% das células HeLa apresentavam morte por apoptose. Este resultado não está consistente com o ensaio MTT, que evidenciou 63% de células mortas. Para esta diferença de valores sugerem-se as seguintes hipóteses: ou após as 24 horas do tratamento fotodinâmico, poderia existir um elevado número de células mortas em suspensão nos poços das placas P12, que como não estavam aderidas às lamelas, não foram contabilizadas ou para além da apoptose estão envolvidos outros mecanismos de morte celular que não são revelados pelo ensaio TUNEL.

4.7 Conclusões

Os novos conjugados corrol-ciclodextrina foram sintetizados com rendimentos moderados, por meio de uma substituição aromática nucleófila. Face aos conjugados obtidos pode-se concluir que o ataque do alcóxido formado por desprotonação de uma molécula de ciclodextrina ocorre preferencialmente nos anéis pentafluorofenilo localizados nos carbonos 5 e 15 do macrociclo corróico. Embora na síntese do mono-conjugado o ataque também ocorra no carbono 10, o ataque no carbono 5 é preferencial. No conjugado di-substituído, as moléculas de ciclodextrina encontram-se em anéis pentafluorofenilo opostos, provavelmente devido ao impedimento estéreo, razão essa que provavelmente será a responsável por não se ter conseguido obter o corrol tri-substituído.

Antes de avançar para a dedução das informações retiradas dos diferentes estudos, convém sublinhar que esta parte do trabalho foi sobretudo um trabalho biológico, não se dispondo na altura dos dados fotofísicos destes compostos. Após o estabelecimento das doses sub-letais dos três compostos analisados e em relação aos resultados obtidos da avaliação da actividade fotodinâmica, conclui-se que a presença da ciclodextrina altera as propriedades biológicas do PFC. Assim, dos compostos analisados o que apresentou um potencial mais promissor foi o PFC, seguindo-se o β CD1 e depois o β CD2 o que curiosamente segue a ordem de hidrofilicidade.

Os ensaios imunológicos efectuados permitiram concluir quais os reais efeitos que os fotossensibilizadores testados têm nas células HeLa. Assim, verificou-se que todos os fotossensibilizadores têm um efeito moderado a grave nos filamentos de tubulina e actina, provocando-lhes de forma geral, perda de desorganização e de adesão entre as células vizinhas e de substracto.

Os resultados obtidos com β CD1 sob radiação de luz azul denunciaram um maior efeito sob as células, o que permite concluir que a fonte de irradiação e o comprimento de onda da radiação é um aspecto a ter em consideração neste tipo de compostos. Quando se irradiou na região que compreende o máximos de absorção do composto (banda Soret), a eficiência na absorção e na transferência de energia foi maior e consequentemente os danos causados à linha celular mais severos.

A análise do ensaio TUNEL permitiu ainda concluir que o tipo de morte predominante provocado pelo PFC é a apoptose, seguindo o padrão de muitos dos compostos em estudo para PDT.

A localização de um fotossensibilizador na célula influencia os mecanismos fotodinâmicos do mesmo e a sua eficiência terapêutica. Verificou-se que os compostos β CD1 e β CD2 localizaram-se no complexo de Golgi e o PFC localizou-se preferencialmente nos lisossomas, o que também poderá justificar a diferença observada na viabilidade celular, após irradiação e nos diferentes efeitos causados às células.

Em relação aos parâmetros fotofísicos determinados, verificou-se que o corrol precursor **1** foi o que apresentou maior rendimento de formação de oxigénio singuleto (0,54), o que também poderá estar na origem dos melhores resultados apresentados sob as células HeLa.

Pelos resultados obtidos verificou-se que a presença de β -ciclodextrinas no corrol infere um menor poder fotodinâmico ao macrociclo, mas uma maior solubilidade em água, como é o caso de β CD2. Provavelmente, uma das causas envolvidas para esta diferença poderá envolver uma menor entrada destas macromoléculas nas células, sendo importante estudar, num trabalho futuro, o “uptake” celular.

Os resultados obtidos são fundamentais para a compreensão do mecanismo de acção dos corróis sobre as células HeLa e permitir-nos-ão desenvolver novos derivados corrólicos com melhor efeito fotodinâmico.

4.8 Procedimentos Experimentais

4.8.1 Parte Experimental da síntese

A descrição dos reagentes e equipamento utilizados neste capítulo é similar à do capítulo anterior.

A separação cromatográfica HPLC dos conjugados mono-substituídos foi efectuada num cromatógrafo Merck-Hitachi L6200A usando o detector Merck-Hitachi UV-vis L-4250, o integrador Merck-Hitachi D2500 e uma coluna Waters Sep-Pak Vac 35cc tC₁₈ – 10g. Foi usado como eluente uma mistura 1:1 de acetonitrilo/água com fluxo 0,2 mL/min.

4.8.1.1 Síntese do novo conjugado **47**

A uma solução de β -ciclodextrina (4,7 equiv. 143,6 mg, 0,13 mmol) e carbonato de potássio (5,1 equiv., 19,2 mg, 0,14 mmol) em DMSO seco (5 mL) adicionou-se o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (21,6 mg, 0,27 μ mol). A mistura reaccional permaneceu sob agitação e sob atmosfera de azoto à temperatura ambiente. A reacção foi monitorizada por TLC em fase reversa; após 48 h, TLC de controlo revelou a presença de corrol de partida e um novo composto. Optou-se por prolongar o tempo de reacção por mais 24 horas, ao fim das quais novo controlo revelou a presença de dois novos produtos, tendo-se terminado a reacção. Procedeu-se à neutralização da mistura reaccional com uma solução aquosa de ácido cítrico. Esta nova solução neutra foi introduzida numa coluna de fase reversa, sob vazío. A eluição foi iniciada com água destilada, de forma a remover a β -ciclodextrina que não reagiu, seguindo-se um gradiente de eluição, usando como eluentes acetonitrilo e água. A primeira mistura de eluentes utilizada foi uma mistura de acetonitrilo:água (2:8) que permitiu a separação do conjugado di-substituído **49**, de seguida aumentou-se a proporção de acetonitrilo, usando como eluente uma mistura de acetonitrilo:água (4:6) afim de separar os conjugados mono-substituídos **47** e **48**, por fim eluiu-se apenas com acetonitrilo permitindo a eluição do corrol **1**.

A mistura dos conjugados mono-substituídos foi isolada com rendimento global de 23%, tendo-se recuperado 70% de corrol de partida.

A separação dos conjugados mono-substituídos **47** e **48** foi efectuada por HPLC, usando uma coluna C18 e tendo como eluente uma mistura 1:1 de acetonitrilo/água.

Composto 47 β CD1 RMN de ^1H (DMSO-d, 300,13 MHz): δ 9,03 (d, 2H, J 3,9 Hz, H-2,18); 8,66 (d, 1H, J 4,2 Hz, H-3 ou H-17); 8,60-8,57 (m, 2H, H- β); 8,52 (d, 1H, J 3,8 Hz, H-3 ou H-17); 8,48-8,46 (m, 2H, H- β); 5,85-5,60 (m, 19H, OH- β CD); 4,97-4,85 (m, 10H, H- β CD); 4,70-4,45 (m, 16H, OH- β CD + H- β CD); 4,14-4,13 (m, 2H, H- β CD); 3,65-3,24 (m, 33H, H- β CD). RMN de ^{19}F (DMSO-d, 282,38 MHz): δ -162,65- -162,74 (m, 4F, F_{orto}); -164,81 (dd, 2F, J_1 21,2 J_2 14,1 Hz, F_{orto}); -179,76 (t, 1F, J 19,7 Hz, F_{para}); -179,95 (t, 1F, J 25,4 Hz, F_{para}); -180,60 (d, 2F, J 25,4 Hz, F_{meta}); -186,98- -187,17 (m, 2F, F_{meta}); -187,55 - -187,74 (m, 2F, F_{meta}). UV-Vis λ_{max} nm (log ϵ) em DMSO: 434 (5,09) 615 (4,42). EM-MALDI m/z 1933 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. EMAR ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 1911,44583 (Calculado para $\text{C}_{79}\text{H}_{81}\text{N}_4\text{F}_{14}\text{O}_{35}$ m/z 1911,44523; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 1933,43152 (Calculado para $\text{C}_{79}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{F}_{14}\text{Na}_1\text{O}_{35}$ m/z 1933,42718).

4.8.1.2 Síntese do conjugado di-substituído **49 β CD2**

A uma solução de β -ciclodextrina (10,1 equiv. 288 mg, 0,25 mmol) e carbonato de potássio (11,1 equiv., 38,5 mg, 0,28 mmol) em DMSO seco (5 mL) adicionou-se 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol (20,4 mg, 0,25 μmol). A reacção decorreu de forma análoga, durante 3 semanas. A separação cromatográfica dos compostos da mistura reaccional foi efectuada, sob vazio, numa coluna de fase reversa, como descrito em 4.8.1.1. Nesta reacção obteve-se a mistura dos conjugados mono-substituídos **47** e **48** com rendimento global de 8%, e o conjugado **49** com rendimento de 23%.

Composto 49 β CD2 RMN de ^{19}F (DMSO-d, 282,38 MHz): δ -164,91 - -165,39 (m, 6F, F_{orto}); -179,83 - -180,24 (m, 7F, 6 F_{meta} + 1 F_{para}). UV-Vis λ_{max} nm (log ϵ) em DMSO: 435 (4,91) 617 (4,26). EM-MALDI m/z 3048 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. EMAR ESI: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z 3047,7811 (Calculado para $\text{C}_{121}\text{H}_{149}\text{N}_4\text{F}_{13}\text{Na}_1\text{O}_{70}$ m/z 3047,7907).

4.8.1.3 Determinação da Foto-estabilidade

Para cada composto foi preparado uma solução em DMF numa célula de quartzo, cuja absorvência não excedesse 0,1.

As medições foram realizadas numa sala com a menor quantidade de luz possível, sendo as soluções, nas células de quartzo, irradiadas com luz branca de potência ($4,0 \text{ mW.cm}^{-2}$) e comprimento de onda 350-800 nm. Entre a fibra e a célula de quartzo colocou-se uma lente convergente seguida de um filtro laranja, que delimita o comprimento de onda da radiação para 550-800nm.

A absorvência de cada solução foi medida entre 350-700 nm nos intervalos de tempo: 0,1,2,3,4,5,7 e 10 minutos.

Todos os ensaios foram efectuados em células de quartzo de 1 cm de largura e à temperatura ambiente.

4.8.1.4 Determinação dos coeficientes de partição

Os coeficientes de partição foram determinados a 22°C numa mistura de 1-butanol e água ($\log P_{B/W}$) de acordo com o método de shake-flask. Essencialmente os compostos foram solubilizados individualmente com água saturada com 1-butanol para dar origem à solução stock (absorvência de $\approx 0,8$ na banda Soret). Em seguida, em tubos “vial” fechados, foram adicionados diferentes volumes de água saturada com 1-butanol e a solução stock de fotossensibilizador, de forma a obter pelos menos três proporções diferentes de 1-butanol/água. Cada tubo foi vigorosamente vortexado, e depois centrifugado para permitir separação de fases e mantido em equilíbrio térmico durante 2 horas antes da análise. A absorvência da banda Soret foi medida em ambas as fases e o $\log P_{B/W}$ determinado usando a expressão $\log P_{B/W} = \log (Abs_B * V_W / Abs_W * V_B)$, onde Abs_W e Abs_B são as absorvências da banda Soret em água e 1-butanol, respectivamente e V_W e V_B são os volumes das fases aquosa e de 1-butanol.³³

4.8.2 Parte Experimental dos ensaios biológicos

4.8.2.1 Meios, reagentes, solventes, material e equipamento utilizado

O meio de cultura utilizado foi o DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) de Gibco. O soro fetal bovino (SFB), a tripsina (0,25%)-EDTA(0,02%), os antibióticos (penicilina G-sulfato de estreptomicina, 10.000 unidades/mL-10.000 µg/mL) e o PBS (Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline) empregados foram também de Gibco.

A linha celular utilizada foi cultivada em meio DMEM com 10% de SFB e 1% de antibióticos (penicilina-estreptomicina).

A cultura das células realizou-se em monocamada e em condições de esterilidade, mediante um incubador termostático de CO₂ (Heraus Hera Cell), a uma temperatura de 37°C e com 5% CO₂. O meio de cultivo foi renovado a cada 24 horas.

O meio de cultura utilizado para a manutenção das células durante os tratamentos fotodinâmicos foi preparado a partir de meio DMEM ao qual se adiciona 1% de antibióticos (penicilina-estreptomicina).

As culturas para manutenção celular efectuaram-se em frascos de culturas celulares de 25 cm² e boca angular (F25) e para congelação e armazenamento celular utilizaram-se criotubos de 2 mL (Costar). Foram ainda utilizados para culturas celulares tubos roscados de capacidade de 12 e 30 mL (Dismadel) e filtros de 0,22 µm de diâmetro de poro (Milipore).

Os meios de cultura foram adquiridos estéreis assim como o material de plástico descartável. O material que não se encontrava estéril foi esterilizado por autoclavagem.

O ambiente estéril necessário para a realização do trabalho com as células, foi criado no interior de uma câmara de fluxo laminar vertical.

Os espectros de visível das placas de 24 poços foram registados num espectrofotómetro modelo Espectra fluor 4 (TECAN).

A concentração de fotosensibilizador foi determinada num espectrofotómetro Shimadzu UV-1601 de duplo feixe de luz.

4.8.2.2 Culturas celulares

4.8.2.2.1 Tipo celular

A linha celular usada neste trabalho foi a linha celular HeLa. As células HeLa são células epiteliais humanas procedentes de um cancro cervical transformadas por um papilomavírus humano 18 (HPV18).

4.8.2.2.2 Condições de cultura e manutenção das células

A linha celular utilizada foi cultivada em meio DMEM com 10% de SFB e 1% de antibióticos (penicilina-estreptomicina).

A cultura das células realizou-se em monocamada e em condições de esterilidade, mediante um incubador termostatzado de CO₂ (Heraus Hera Cell), a uma temperatura de 37°C e com 5% CO₂. O meio de cultivo foi renovado a cada 24 horas.

Para a manutenção celular, as células cresceram em frascos de cultura F25 e para efectuar os tratamentos as células cresceram em placas de 24 poços (P24), placas de 12 poços (P12) e em placas de Petri de 35 mm de diâmetro. Nas placas P12 e nas caixas de Petri foram colocadas lamelas esterilizadas, permitindo o crescimento celular na lamela.

Sempre que num frasco (F25) de cultivo de células se observa pouco espaço entre elas, isto é, sempre que a maioria da área disponível esteja ocupada, diz-se que a camada celular atingiu 70% de confluência, é neste ponto que se procede à sua passagem para outro frasco de cultivo ou para as placas de tratamento.

As células em cultura encontram-se ancoradas à matriz polimérica que faz parte do frasco de cultura, como tal, para se proceder à sua passagem, é necessário descolá-las. Para este propósito foi aspirado o meio de cultivo do F25-mãe e adicionado um volume de 600 µL de tripsina/EDTA que permanece em contacto com a monocamada celular breves segundos. Depois de aspirado foi adicionado outro volume de tripsina/EDTA e o F25-mãe foi colocado de imediato no incubador, durante 2-3min. Após se verificar por observação ao microscópio, que todas as células se encontravam suspensas, adicionaram-se 2 mL de meio completo.

Para passar para um novo F25, adicionaram-se um volume de 4 mL de meio de cultura completo ao novo F25 e 500 μ L da suspensão celular anterior, homogeneizando lenta e cuidadosamente. A cultura foi colocada na estufa a 37°C.

Para passar para placas de tratamento P12 e P24, preparou-se uma solução mais diluída de suspensão celular (1-2 mL de suspensão celular para 25 mL de meio completo) e adicionou-se a cada poço: para P12 700-800 μ L de suspensão celular; P24 300-500 μ L de suspensão celular e para uma caixa de Petri (35mm de diâmetro) adicionou-se 1300 μ L de suspensão celular.

4.8.2.3 Administração dos fotossensibilizadores em culturas celulares.

Os compostos β CD1 e PFC apresentaram um carácter hidrófobico e a sua administração nas culturas celulares foi efectuada, através da sua incorporação em vesículas de lipossomas de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC). A droga β CD2 foi administrada nas culturas celulares em meio aquoso.³⁸

4.8.2.3.1 Preparação de Lipossomas

Para a incorporação dos compostos em lipossomas foram preparadas duas soluções stock, uma de fotossensibilizador (0,5 mg de fotossensibilizador em 1 mL de piridina) e outra de DPPC (10,5 mg em 1 mL de etanol absoluto).

Posteriormente, misturaram-se as duas soluções stock numa proporção de: 0,265 mL (solução de droga) e 0,735 mL (solução de DPPC). De seguida a um volume de 10 mL de PBS estéril, mantido a 55°C (temperatura de transição dos lipossomas) em banho maria, sob agitação magnética contínua, injectou-se gota a gota 0,75 mL desta mistura.

Esta solução após arrefecer à temperatura ambiente, foi submetida a diálise em PBS a 1%. A diálise decorreu em 4 horas e em quatro intervalos de tempos de 30 minutos e dois intervalos de tempo de uma hora, a solução de PBS 1% foi substituída em todos os intervalos. A mistura dialisada foi depois esterilizada, segundo uma filtração com filtro Milipore de 0,22 μ m de diâmetro de poro. A solução esterilizada foi armazenada a 4°C e no escuro.

A concentração de fotosensibilizador foi determinada por medição da absorvência na banda Soret, segundo a lei de Lambert-Beer. Utilizou-se um espectrofótopmetro Shimadzu UV-1601 de duplo feixe de luz. As células de quartzo utilizadas tinham um comprimento óptico de 10 mm.

As diferentes concentrações que se utilizaram nos tratamentos obtiveram-se por diluição da solução original com meio branco (DMEM/antibiótico). Todas as soluções foram mantidas até à sua administração, no escuro e a 4°C.

4.8.2.4 Localização celular dos fotossensibilizadores

A localização dos fotossensibilizadores nas células foi efectuada em placas P12, depois de 48 horas do cultivo, as células foram incubadas com cada um dos fotossensibilizadores durante 24 horas. Os fotossensibilizadores foram administrados na máxima concentração utilizada nestes estudos. Posteriormente, as lamelas foram lavadas e montadas com PBS em lâminas, sendo depois examinadas por microscopia de fluorescência de baixa luz de excitação ultravioleta e verde.

4.8.2.5 Tratamentos fotodinâmicos

4.8.2.5.1 Procedimento geral do tratamento fotodinâmico

Os tratamentos fotodinâmicos foram realizados em placas P24 e P12 e os tratamentos só foram efectuados quando as células apresentavam 50%-70% de confluência. Para se aplicar o FS, o meio foi aspirado e a solução de FS em meio branco foi administrada. Após 5 h de incubação das células no escuro com o fotossensibilizador, as placas de cultivo foram irradiadas directamente, durante os tempos de radiação pretendidos. Após o período de irradiação o meio de cultivo com fotossensibilizador foi substituído por meio completo e a cultura foi mantida no incubador, durante 24 horas.

A fonte de luz (irradiador) que se utilizou para os tratamentos consta de uma placa de 233,4x160 mm, com uma superfície útil de irradiação de 192,5 cm². A placa está composta por 1512 elementos radiantes, formando uma matriz de 72 colunas x 21 filas. A matriz de

LED's está dividida em 18 grupos de quatro colunas, estando cada grupo controlado por um circuito integrado. Cada elemento luminoso tem como principais características: 635 nm de comprimento de onda dominante com uma potência de 5 mW/cm². O irradiador está provido de um ventilador para evitar aquecimento da cultura celular, durante o período de radiação. A intensidade de luz mediu-se com um densitômetro Universal Energy/Power Meter.

O irradiador de cor azul consistia num retroprojector de slides Reflecta equipado com uma lâmpada de 150 W. A luz foi filtrada através de um filtro de água de 0,3 cm (para absorver o calor) e um filtro azul com uma gama de comprimentos de onda seleccionada 360-460 nm. A intensidade da luz no local do tratamento foi de 31 mW/cm².

Tanto as células de controlo de radiação como as de controlo total foram incubadas em meio branco com o fotossensibilizador durante 5 horas.

4.8.2.5.2 Tratamentos fotodinâmicos com os fotossensibilizadores sintetizados

As condições de tratamento fotodinâmico escolhidas foram idênticas às estabelecidas para os fotossensibilizadores tetrapirrólicos estudados no grupo da Prof. Angeles Juarranz.

As concentrações de β CD1 usadas foram preparadas por diluição da solução mãe em lipossomas, em meio branco. Para este composto foram utilizadas concentrações de 1×10^{-7} , 5×10^{-7} e 1×10^{-5} M.

Para avaliar o efeito da droga sobre as células foram usadas uma placa P12 e uma placa P24 para cada concentração. Foram efectuados três controlos: controlo total, controlo droga e controlo radiação. As doses de radiação foram de 3, 6, 9 e 12 J/cm². À concentração 1×10^{-5} M foram ainda irradiadas com luz azul duas placas de Petri, com uma dose de luz de 9 J/cm², procedendo-se de acordo com o procedimento geral.

As concentrações de β CD2 usadas foram preparadas por diluição em meio branco da solução-mãe aquosa de β CD2. Para este composto foram utilizadas concentrações de 1×10^{-5} e 1×10^{-4} M.

Para avaliar o efeito da droga sobre as células foram preparadas uma placa P24 e uma placa P12 para cada concentração. Neste caso, e depois de avaliar o efeito da radiação nas células com β CD1, não se efectuou controlo de radiação. Foram efectuados dois

controles: controlo total e controlo droga e as doses de radiação utilizadas foram de 3, 6, 9 e 12 J/cm².

A concentração de 1x10⁻⁵ M de PFC foi preparada por diluição da solução mãe de PFC em lipossomas.

Para avaliar o efeito da droga sobre as células foram preparadas duas placas P12 e P24. Foram efectuados dois controles: controlo total e controlo droga e as doses de radiação utilizadas foram de 3, 6, 9 e 12 J/cm².

4.8.2.6 Estimativa de viabilidade celular – Teste MTT

Foi preparada uma solução mãe de MTT – PBS (1 mg de MTT em 1 mL PBS 1%). De seguida e após esterilização da solução mãe foi preparada uma segunda solução de 10% MTT-PBS em meio completo.

A cada poço da P24 foi adicionado um volume de 500 µL da solução MTT/meio, e a placa foi incubada a 37° C, durante 3-4 horas. Terminado o período de incubação, aspirou-se o meio de cultura e adicionou-se a cada poço da placa P24, 500 µL DMSO para dissolver o formazan.

De seguida, foi lida a absorvência a 542 nm de forma automática num leitor de placas, modelo Espectra fluor 4 (TECAN).

As medições de absorção dos controlos totais foram tomadas como 100% de viabilidade celular e a partir dessas estimaram-se as percentagens de viabilidade para o resto dos controlos e para as células submetidas a tratamento completo.

4.8.2.7 Análise dos efeitos do tratamento fotodinâmico na morfologia celular

4.8.2.7.1 Alterações morfológicas

Para avaliar os efeitos do tratamento fotodinâmico na morfologia das células, corou-se a preparação celular presente nas lamelas, com azul de toluidina.

As células aderidas às lamelas foram fixadas com metanol absoluto a -20°C , durante 7 min. e a 4°C . Após este período de tempo, eliminou-se o metanol e deixaram-se secar as lamelas à temperatura ambiente.

As células fixadas nas lamelas foram coradas com azul de toluidina (0,1 g em 100 mL), durante 2-5 min. lavando-se, em seguida, cuidadosamente, cada lamela com água destilada. As lamelas foram montadas usando como meio de montagem o DePEX, após desidratação das lamelas com xilol.

4.8.2.7.2 Determinação da actina filamentosa

As células crescidas sobre as lamelas foram fixadas em formol (solução aquosa de formaldeído a 3,7%), durante 30 min, a 4°C . Depois de fixadas foram lavadas duas vezes com PBS e permeabilizadas com Triton X-100 (0,1% em PBS), durante 30 min à temperatura ambiente. Após nova lavagem com PBS, as células foram incubadas em câmara húmida, durante 20 minutos a 37°C , com 50 μl da solução de TRITC-faloidina (1:100 em PBS/BSA 0,5%). Seguidamente lavaram-se as células com PBS 1% e os núcleos celulares foram corados com Hoechst-33258 durante 4-7 min. Após serem lavadas com PBS, as lamelas foram montadas numa lâmina com uma gota de Vectashield.

4.8.2.7.3 Imunofluorescência directa α -tubulina

As células crescidas sobre as lamelas foram fixadas em metanol absoluto a -20°C , durante 7 min. e no frio e de seguida, lavadas duas vezes com PBS. Aplicou-se sobre cada lamela 50 μl da solução de anticorpo primário anti α -tubulina (1:50 em PBS-BSA 0,5%) e as preparações foram incubadas em câmara húmida, durante 1 h a 37°C . Seguidamente lavaram-se as células com PBS 1% e procedeu-se à incubação com o anticorpo-secundário (Alexa 488 anti-mouse, diluição 1:250 em PBS-BSA 0,5%), seguindo cada procedimento. Após se proceder à lavagem das preparações com PBS, os núcleos celulares foram coradas com Hoechst-33258 durante 4-7 min. Por fim, procedeu-se a várias lavagens com PBS e as lamelas foram montadas numa lâmina com uma gota de Vectashield.

4.8.2.7.4 Dupla imunofluorescência de α -tubulina e soro ACA

O procedimento experimental é idêntico ao anterior, variando apenas os anticorpos primários e secundários utilizados.

Como anticorpos primários utilizou-se uma mistura de anti α -tubulina numa diluição de 1:300 em PBS-BSA 0,5% e do anticorpo ACA (anti-centrómero), numa diluição 1:50 em PBS-BSA 0,5%. Como anticorpos secundários utilizou-se uma mistura de “anti-mouse” numa diluição de 1:200 e “anti-human” numa diluição de 1:50 em PBS-BSA 0,5%.

4.8.2.7.5 Ensaio TUNEL

O ensaio TUNEL (Terminal deoxynucleotide transferase dUTP Nick End Labeling), foi efectuado apenas para o composto PFC.

As células foram fixadas em formol e permeabilizadas em Triton X-100 como descrito anteriormente. Em cada lamela foi adicionado um volume de 33,75 μ L de TUNEL Label e de 5 μ L de TUNEL enzyme. As preparações foram incubadas em câmara húmida, durante 1 h a 37°C. Após este período de tempo lavou-se com PBS 3 vezes durante 1-2 minutos e as lamelas foram montadas numa lâmina com 1 gota de Vectashield.

4.8.2.8 Observações ao microscópio de fluorescência

As preparações foram analisadas num microscópio de fluorescência Olympus BX61 acoplado a uma câmara fotográfica digital. As preparações coradas com azul de toluidina foram observadas em microscopia de campo claro.

Para se observarem as células sujeitas a ensaios de imunofluorescência e de TUNEL utilizou-se luz de excitação ultravioleta para Hoechst-33258 (365 nm) luz verde para rodamina (filtro de excitação DM 570 e filtro de barreira BA 590) e luz de excitação azul (filtro de excitação BP 460-490 e filtro de barreira BA 520IF).

4.9 Referências

- 1 Szente, L.; Szejtli, J. *Adv. Drug Delivery Review*. **1999**, *36*, 17–28.
- 2 Juarranz, A.; Jaén, P.; Sanz-Rodríguez, F.; Cuevas, J.; González, S. *Clin Transl Oncol*. **2008**, *10*, 148-154.
- 3 http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1903/finsen-bio.html 1/10/2008
- 4 Pervaiz, S.; Olivo, M. *Clin. Exp. Pharm. Physio*. **2006**, *33*, 551-556.
- 5 Bonnet, R. *Chem. Soc. Rev*. **1995**, 19-33.
- 6 Živilė Lukšienė *Medicina*, **2003**, *39*, 1137-1150.
- 7 Ackroyd, R.; Kelty, C.; Brown, N.; Reed, M. *Photochem. Photobio*. **2001**, *74*, 656-669.
- 8 From editors *Med. Laser Appl*. **2003**, *18*, 5-6.
- 9 Bonnett, R. “Chemical Aspects of Photodynamic Therapy” ed por Gordon and Breach Science Publishers, Londres, **2000**, 58-60.
- 10 Moan, J.; Peng, Q. “An Outline of the History of PDT” em ”Comprehensive Series in Photochemistry and in Photobiology – Photodynamic Therapy”, ed. Patrice, T. RSC, Cambridge, **2003**, vol. 2, cap. 1, 5-8.
- 11 Pandey, R. V.; Zheng, G. “Porphyrins as Photosensitizers in Photodynamic Therapy” em “The Porphyrin Handbook – Applications: Past, Present and Future” ed. por Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. Academic Press, Nova Iorque, **2000**, vol. 6, cap. 13, 158-159.
- 12 Sternberg, E. D.; Dolphin, D.; Brückner C. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4151-4202.
- 13 Dougherty, T. J.; Kaufman, J. E.; Goldfarb, A.; Weishaupt, K. R.; Boyle, D.; Mittleman, A. *Cancer Res*. **1978**, *38*, 2628-2635.
- 14 Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbélik, M.; Moan, J.; Peng, Q. *J. Natl Cancer Inst*. **1998**, *90*, 889-905.
- 15 Bonnett, R. “Chemical Aspects of Photodynamic Therapy” Gordon and Breach Science Publishers, Londres, **2000**, 70-75.
- 16 Sharman, W. M.; Allen, C. M.; Van Lier, J. E. *DDT* **1999**, *4*, 507-517.
- 17 MacDonald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 105-129.
- 18 Nowis, D.; Makowski, M.; Stokłosa, T.; Legat, M.; Issat, T.; Gołąb, J. *Acta Biochim. Polon*. **2005**, *52*, 339–352.

- 19 “Molecular Biology of the Cell” – 3 ed. Alberts, B.; Bray, D.; Lewis J.; Raff M.; Roberts, K.; Watson, J. D. ed. por Garland Publishing, Nova Iorque, **1994**, cap. 18, 911-946.
- 20 www.nature.com/cr/journal/v15/n3/thumbs/7290284f2th.gif 22/10/2008
- 21 html.rincondelvago.com/teoria-celular_2.html 24/4/2009.
- 22 “Molecular Biology of the cell” – 3 ed. Alberts, B.; Bray, D.; Lewis J.; Raff M.; Roberts, K.; Watson, J. D. ed. por Garland Publishing, Nova Iorque, **1994**, cap. 16, 787-861.
- 23 French, D.; Rundle, R. E. *J. Am. Chem. Soc* **1942**, 1651-1653.
- 24 Engeldinger, E.; Armspach, D.; Matt, D. *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 4147-4174.
- 25 Guo, X.; An, W.; Shuang, S.; Cheng, F.; Dong, C. J. *Photochem. Photobio. A: Chem.* **2005**, *173*, 258-263.
- 26 Agostiano, A.; Catucci, L.; Castagnolo, M.; Colangelo, D.; Cosma, P.; Fini, P.; Monica, M. D. *J. Therm. Anal. Cal.* **2002**, *70*, 115-122.
- 27 Bonneau, S, Morlière, P, Brault, D, *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 1443–1452.
- 28 Ribeiro, A. O.; Tomé, J. P. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Serra, O. A.; Torres, T. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 6129–6132.
- 29 Kralova, J.; Synytsya, A.; Pouckova, P.; Koc, M.; Dvorak, M.; Kral, V. *Photochem. Photobiol.*, **2006**, *82*, 432-438.
- 30 Ali, S. M.; Upadhyay, S. K. *Magn. Reson. Chem.* **2008**, *46*, 676–679.
- 31 Milanesio, M. E.; Moran, M. S.; Yslas, E. I.; Alvarez, M. G.; Rivarola, V.; Durantini, E. N. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1943–1949.
- 32 Dzhagarov, B. M.; Salokhiddinov, K. I.; Egorova, G. D.; Gurinovich, G. P. *Russ. J. Phys. Chem.* **1987**, *61*, 1281–1283.
- 33 Engelmann, F. M.; Rocha, S. V. O.; Toma, H. E.; Araki, K.; Baptista, M. S. *Int. J. Pharm.* **2007**, *329*, 12-18.
- 34 Harris, F.; Sayed, Z.; Hussain, S.; Phoenix, D. A. *Photodiag. Photodyn. Ther.* **2004**, *1*, 231-239.
- 35 Engelmann, F. M.; Mayer, I.; Gabrielli, D. S.; Toma, H. E.; Kowaltowski, A. J.; Araki, K.; Baptista, M. S. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2007**, *39*, 175-185.
- 36 Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525-554.

- 37 Igarashi, A.; Konno, H.; Tanaka, T. ; Nakamura, S.; Sadzuka, Y.; Hirano, T.; Fujise, Y. *Toxicol. Lett*, **2003**, *145*, 133-141.
- 38 Juarranz, A.; Espada, J.; Stockert, J. C.; Villanueva, A.; Polo, S.; Domínguez, V.; Cañete, M. *Photochem. Photobio.* **2001**, *73*, 283–289.
- 39 Rello-Varona, S.; Gámez, A.; Moreno, V.; Stockert, J. C.; Cristóbal, J.; Pacheco, M.; Cañete, M.; Juarranz, A.; Villanueva, A. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2006**, *38*, 2183-2195.
- 40 Juarranz, A.; Villanueva, A.; Díaz, V.; Cañete, J. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1995**, *27*, 47-53.

Capítulo 5

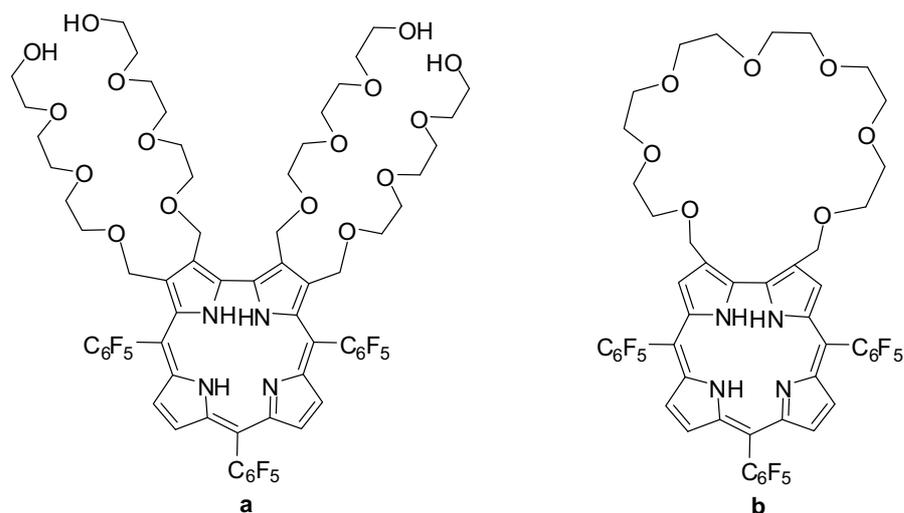
5 Considerações gerais e perspectivas de trabalho futuro

O trabalho científico desenvolvido nesta tese permitiu adquirir um maior conhecimento da química dos corróis. É agora sabido que os corróis participam em reacções de cicloadição de Diels-Alder com dienos e com os mais reactivos podem participar também em reacções de cicloadição [4+4], constituindo a primeira evidência peculiar deste macrociclo. Estes estudos levaram ainda à análise da decomposição térmica do macrociclo corrólico, tendo-se obtido espécies diméricas, nomeadamente um dímero conjugado em que as duas unidades estão ligadas por duas ligações C-C.

No decorrer do trabalho experimental, verificou-se que o 5,10,15-tris(pentafluorofenil)corrol e o seu complexo de gálio(III) em solução também sofriam dimerização, o que levou ao primeiro estudo efectivo da decomposição deste macrociclo sob a acção da luz. O estudo do mecanismo envolvido nesta reacção sugeriu trabalho que levou à síntese do primeiro corrol mono-halogenado. Este composto será certamente um excelente ponto de partida para a funcionalização de corróis envolvendo todo o potencial do uso de metais de transição como catalisadores.

Prosseguindo o estudo das reacções de cicloadição, explorou-se a reactividade dos corróis em reacções de cicloadição 1,3-dipolar na presença de iletos de azometino. Constatou-se que os corróis, na presença de iletos de azometino, originam derivados aminados, em vez dos esperados cicloadductos e nas reacções efectuadas em solventes do tipo álcool obtêm-se derivados do tipo éter. Este tipo de comportamento é um resultado bastante inovador e promissor.

As reacções com iletos de azometino na presença de éteres do tipo polietileno glicol deverão vir a ser exploradas, de modo a permitir obter corróis funcionalizados com vários tipos de PEG (**a**) e até sintetizar corróis com éteres coroados acoplados do tipo (**b**).



Os estudos de espectrometria de massa desenvolvidos levaram a um maior conhecimento acerca da química de coordenação dos corróis e aos seus mecanismos de complexação.

O estudo do potencial fotodinâmico dos corróis assim como a síntese de novos conjugados anfífilicos, originaram resultados encorajadores para o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores eficazes baseados no macrociclo corrólico.

Por tudo isto, considera-se que a química dos corróis, embora seja por vezes muito pouco previsível, tem grandes potencialidades e é uma área recente que merece continuar a ser investigada.