

UFG  
IQ

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE QUÍMICA

K  
A  
M  
I  
L  
L  
A

*meso*-TETRA-(PIRIDIL)-PORFIRINAS COM  
COMPLEXOS PERIFÉRICOS DE PALÁDIO: BUSCA  
POR NOVOS COMPOSTOS COM AÇÃO  
FOTODINÂMICA

M  
O  
R  
A  
E  
S

A  
L  
V  
E  
S

KAMILLA MORAES ALVES

ORIENTADOR: PROF. DR. PABLO JOSÉ GONÇALVES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

2020

GOIÂNIA - 2020



UFG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES  
E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

**1. Identificação do material bibliográfico**

[ X ] Dissertação [ ] Tese

**2. Nome completo do autor**

Kamilla Moraes Alves

**3. Título do trabalho**

meso-TETRA-(PIRIDIL)-PORFIRINAS COM COMPLEXOS PERIFÉRICOS DE PALÁDIO: BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS COM AÇÃO FOTODINÂMICA

**4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)**

Concorda com a liberação total do documento [ X ] SIM [ ] NÃO\*

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por Pablo José Gonçalves, Professor do Magistério Superior, em 29/12/2020, às 14:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por KAMILA MORAES ALVES, Discente, em 29/12/2020, às 16:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orcao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orcao_acesso_externo=0), informando o código verificador 1780425 e o código CRC 25CAAAE3.

**Kamilla Moraes Alves**

***meso*-TETRA-(PIRIDIL)-PORFIRINAS COM  
COMPLEXOS PERIFÉRICOS DE PALÁDIO: BUSCA POR  
NOVOS COMPOSTOS COM AÇÃO FOTODINÂMICA**

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do título  
de mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Pablo José Gonçalves

Co-orientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

Goiânia 2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Moraes Alves, Kamilla  
meço-TETRA-(PIRIDIL)-PORFIRINAS COM COMPLEXOS  
PERIFÉRICOS DE PALÁDIO: BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS  
COM AÇÃO FOTODINÂMICA [manuscrito] / Kamilla Moraes Alves. -  
2020.  
cvii, 108 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Pablo Jose Gonçalves; co-orientador Dr. Alzir  
Azevedo Batista.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto  
de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2020.  
Bibliografia. Anexos. Apêndice.  
Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista  
de tabelas.

1. TFD. 2. porfirinas. 3. paládio. I. Jose Gonçalves, Pablo, orient.  
II. Título.

CDU 548



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

INSTITUTO DE QUÍMICA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 338 da sessão da Defesa de Mestrado de Kamilla Moraes Alves, que confere o título de Mestra em Química, na área de concentração em Química.

Aos 16 (dezesesseis) dias do mês de dezembro de 2020 (dois mil e vinte), a partir das 14h00m, via Videoconferência, realizou-se a sessão pública da Defesa de Mestrado intitulada "meso-TETRA-(PIRIDIL)-PORFIRINAS COM COMPLEXOS PERIFÉRICOS DE PALÁDIO: BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS COM AÇÃO FOTODINÂMICA". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Prof. Dr. Pablo José Gonçalves (IF-UFG), com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista (UFSCar) coorientador, Prof. Dr. Felipe Terra Martins (IQ-UFG) e Prof. Dr. Bernardo Almeida Iglesias (UFMS). Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Defesa de Mestrado, tendo sido a candidata aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Prof. Dr. Pablo José Gonçalves, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao(s) 16 (dezesesseis) dias do mês de dezembro de 2020 (dois mil e vinte).

#### TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por Felipe Terra Martins, Coordenador de Pós-graduação, em 16/12/2020, às 17:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Bernardo Almeida Iglesias, Usuário Externo, em 16/12/2020, às 17:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Pablo José Gonçalves, Professor do Magistério Superior, em 16/12/2020, às 17:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Alzir Azevedo Batista, Usuário Externo, em 16/12/2020, às 17:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orcao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orcao_acesso_externo=0), informando o código verificador 1756286 e o código CRC 734A11A2.

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, por sempre me apoiarem e fazer com que esse mestrado se realizasse.

Ao Prof. Alzir, que abriu as portas do seu laboratório para os meus experimentos, sem ele esse projeto não poderia ser realizado, e por todos os seus ensinamentos nesse tempo em que passei com ele.

Ao Prof. Pablo por sempre me ajudar e ter me dado essa oportunidade. Com ele aprendi inúmeras coisas que vou levar comigo.

Aos meus colegas de todos os laboratórios em que estive, especialmente ao João que me ajudou em tudo o que eu precisei em São Carlos.

A minha amiga Gabriela, pelas conversas engraçadas e pelos momentos divertidos e estressantes que tivemos juntas.

A Capes pelo apoio financeiro.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

{TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>; (Pd-dppb): hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,4-bis(difenilfosfina)butano, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirinan paládio(II)

{TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>; (Pd-dppe): hexafluorofosfato de tetra-cloro-1,2-bis(difenilfosfina)etano, 5,10,15,20 tetrakis-piridilporfirina paládio(II)

{TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>; (Pd-dppf): hexafluorofosfato de tetra-cloro, 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno, 5,10,15,20-tetrakis-piridil porfirina paládio(II)

{TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>; (Pd-dppp): hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,2-bis(difenilfosfina)propano, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II)

μ: micro (10<sup>-6</sup>)

<sup>1</sup>O<sub>2</sub>: oxigênio singlete

<sup>3</sup>O<sub>2</sub>: oxigênio triplete

CDCl<sub>3</sub>-d: clorofórmio deuterado

CI: conversão interna

CIS: cruzamento intersistema

DMSO: dimetilsulfóxido

DMSO-d<sub>6</sub>: dimetilsulfóxido deuterado

DNA: ácido desoxirribonucleico

dppb: 1,4-bis(difenilfosfina)butano

dppe: 1,2-bis(difenilfosfina)etano

dppf: 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno

dppp: 1,3-bis(difenilfosfina)propano

DRX: difração de raios X

EROs: espécies reativas de oxigênio

FS: fotossensibilizador

HMBC: correlação heteronuclear de múltiplas ligações

HpD: derivado de hematoporfirina

HSQC: correlação heteronuclear de ligação simples

IC<sub>50</sub>: concentração inibitória do crescimento celular em 50 %

IV: infravermelho

J: constante de acoplamento (hz)

K<sub>b</sub>: constante de interação das porfirinas

MCF-10A: células sadias de mama

MDA-MB-231: células cangerígenas, de mama

MTT: brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

PBS: tampão fosfato salino

ppm: partes por milhão

RMN <sup>13</sup>C(<sup>1</sup>H): ressonância magnética nuclear de carbono desacoplado do <sup>1</sup>H

RMN <sup>31</sup>P(<sup>1</sup>H): ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado do <sup>1</sup>H

RMN: ressonância magnética nuclear

RPE: ressonância paramagnética eletrônica

S<sub>0</sub>: estado singleto fundamental

S<sub>1</sub>: estado singleto excitado de menor energia

S<sub>n</sub>: estado singleto de maior energia

$S_n-1$ : estado singleto excitado de menor energia

$T_1$ : estado tripleto excitado

TFD: Terapia Fotodinâmica

TPP: tetrafenilporfirina

TPyP: *meso*-tetra(4-piridil)porfirina

*trans*-[Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]: *trans*-dicloro-bis(trifenilfosfina)paládio (II)

UV-vis: ultravioleta-visível

$\delta$ : deslocamento químico

$\epsilon$ : coeficiente de absorvidade molar

$\lambda$ : comprimento de onda

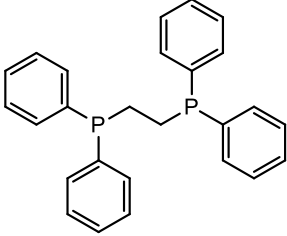
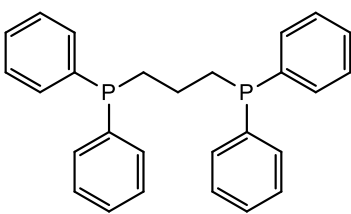
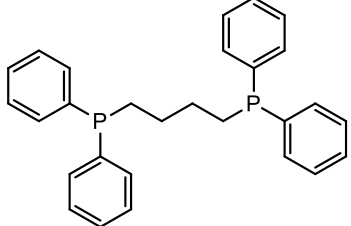
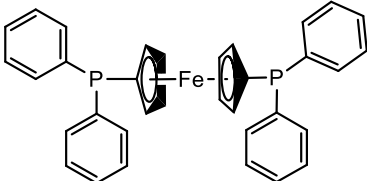
$\tau_T$ : tempo de vida do estado tripleto

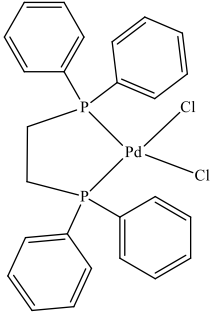
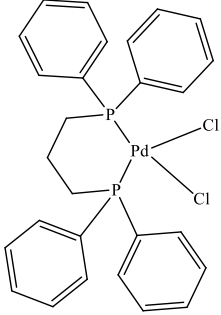
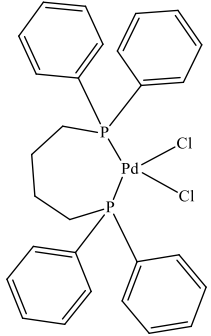
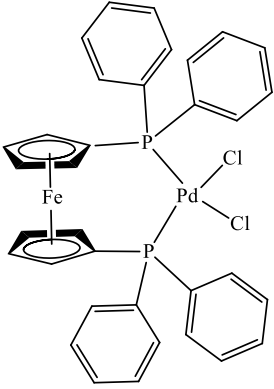
$\Phi_f$ : rendimento quântico de fluorescência

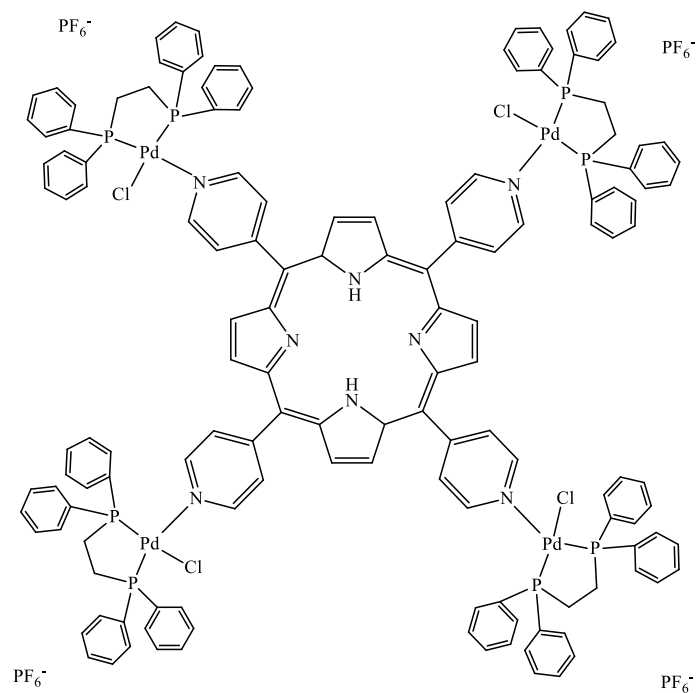
$\Phi_{\Delta}$ : rendimento quântico de oxigênio singleto

## ESTRUTURA DOS PRECURSORES E DAS PORFIRINAS

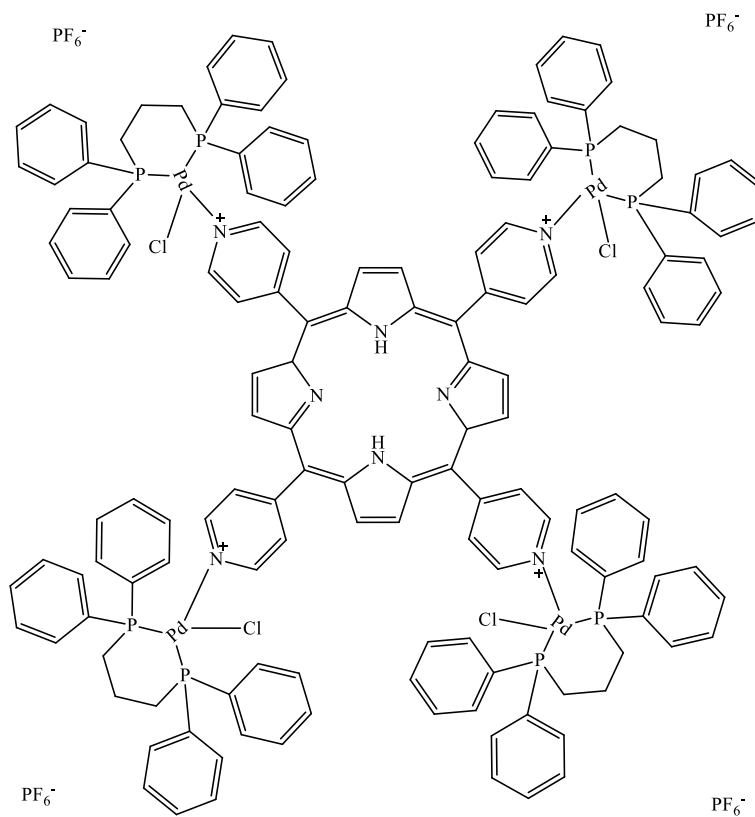
Abaixo estão representadas as estruturas e seus respectivos nomes dos compostos utilizados neste trabalho.

	1,2-bis(difenilfosfina)etano (dppe)
	1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp)
	1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb)
	1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf)

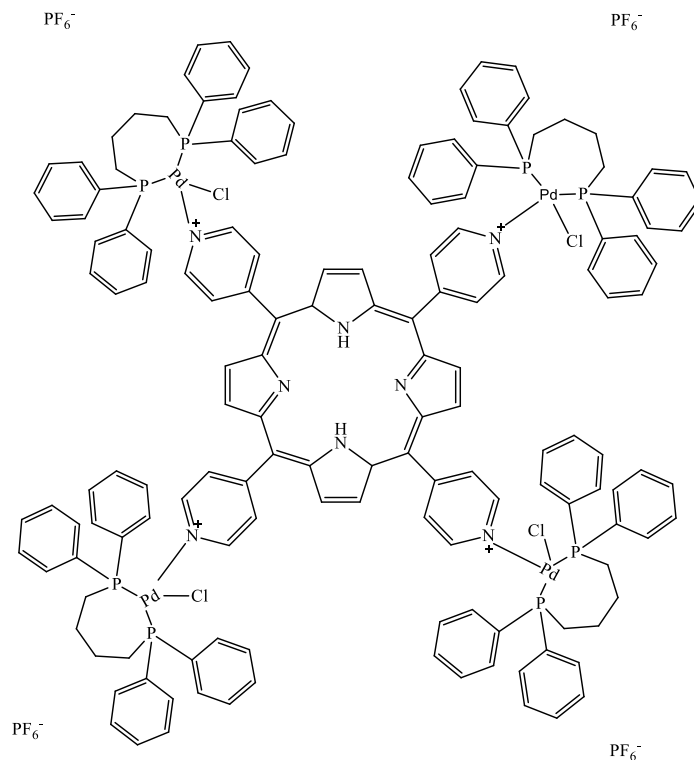
	<p>Cis-dicloro,1,2-bis(difenilfosfina)etano paládio(II) ([PdCl<sub>2</sub>(dppe)])</p>
	<p>Cis-dicloro,1,3-bis(difenilfosfina)propano paládio(II) ([PdCl<sub>2</sub>(dppp)])</p>
	<p>Cis-dicloro,1,4-bis(difenilfosfina)butano paládio(II) ([PdCl<sub>2</sub>(dppb)])</p>
	<p>Cis-dicloro,1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno paládio(II) ([PdCl<sub>2</sub>(dppf)])</p>



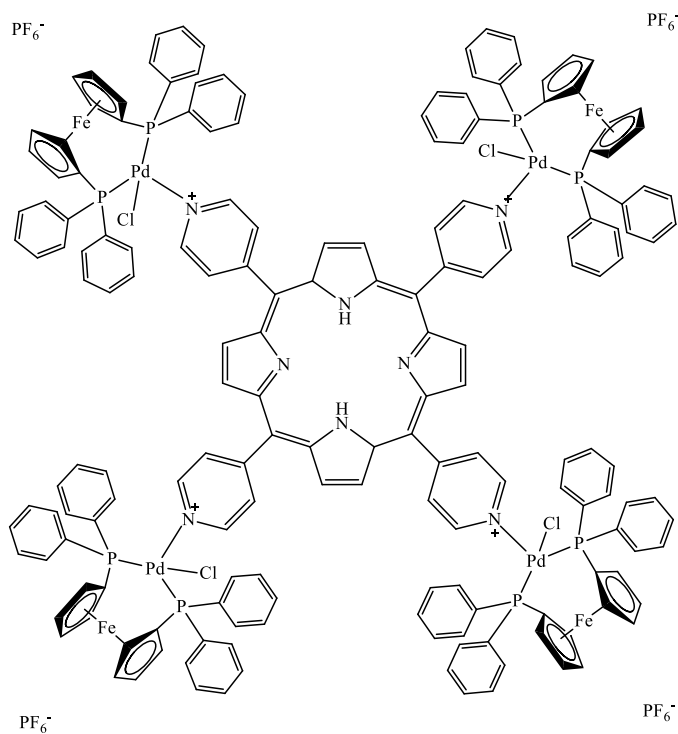
**{TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>:** hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,2-bis(difenilfosfina)etano, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II)



**{TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>:** hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,3-bis(difenilfosfina)propano, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II);



**{TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>:** hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,4-bis(difenilfosfina)propano, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II);



**{TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>:** hexafluorofosfato de 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II).

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1. 1:</b> Taxas estimadas (por 100.000) de incidência padronizadas no mundo em 2018; todos os cânceres, ambos os sexos, todas as faixas etárias [2].....	2
<b>Figura 1. 2:</b> Taxas de incidência estimadas e padronizadas no mundo em 2018, para os tipos de cânceres mais recorrentes [2].....	2
<b>Figura 1. 3:</b> Diagrama de Jablonski, representado de forma esquemática os processos fotofísicos [7].....	5
<b>Figura 1. 4:</b> Representação esquemática da ocupação dos elétrons nos orbitais moleculares para o oxigênio em seu estado triplete ( $^3\text{O}_2$ ) e do estado singlete ( $^1\text{O}_2$ ). ....	6
<b>Figura 1. 5:</b> As três vias mais notadas de morte celular [10]. ....	7
<b>Figura 1. 6:</b> Representação estrutural da hematoporfirina (a) e do derivado de hematoporfirina (HpD) (b) [12].....	10
<b>Figura 1. 7:</b> Representação estrutural do Levulan [15]. ....	11
<b>Figura 1. 8:</b> Representação estrutural da verteporfina [14]. ....	12
<b>Figura 1. 9:</b> Representação estrutural da termoporfina [14].....	12
<b>Figura 1. 10:</b> Exemplos de aplicações para porfirinas. ....	14
<b>Figura 1. 11:</b> Esquema da ligação metal-fosfina [19]. ....	16
<b>Figura 1. 12:</b> Ângulo de cone R-P-R [19]. ....	16
<b>Figura 1. 13:</b> Estrutura do DNA [21]. ....	18
<b>Figura 4. 1:</b> Espectros vibracionais na região do infravermelho para (a) $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , (b) $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , (c) $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ e (d) $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ .....	32
<b>Figura 4. 2:</b> Estrutura cristalina da $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}\text{BF}_4$ .....	33

<b>Figura 4. 3:</b> Empacotamento cristalino exibido na estrutura de raios X obtida para o complexo {TPyP[PdCl(dppb)] <sub>4</sub> }BF <sub>4</sub> . Cada unidade assimétrica foi representada por uma cor e o plano formado pelas ligações Pd-ligante são destacados em cada molécula.....	36
<b>Figura 4. 5:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H obtido para a porfirina {TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> } (PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> , em CDCl <sub>3</sub> -d. ....	39
<b>Figura 4. 6:</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} {TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> } (PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> em CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O. ....	40
<b>Figura 4. 7:</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} {TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> } (PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> em CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O. ....	41
Figura 4. 8: Espectros de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} antes e depois da irradiação por 90 min da {TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> } (PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> , em DMSO <sub>2</sub> -d <sub>6</sub> .....	42
<b>Figura 4. 9:</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} antes e depois da irradiação por 90 min da {TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> } (PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> , em DMSO <sub>2</sub> -d <sub>6</sub> .....	43
<b>Figura 4. 10:</b> Espectros da amostra [PdCl <sub>2</sub> (dppf)] medidos como função do tempo de irradiação. ....	44
<b>Figura 4. 11:</b> Cinética de geração de uma espécie paramagnética desconhecida como função do tempo de irradiação. A concentração de SPINS gerado no processo de irradiação tem dependência linear com o tempo de irradiação. ....	44
<b>Figura 4. 12:</b> Espectros da amostra {TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> } (PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> medidos como função do tempo de irradiação. ....	45
<b>Figura 4. 13:</b> Cinética de geração de uma espécie paramagnética desconhecida como função do tempo de irradiação. a concentração de SPINS aumenta até 60 min de irradiação e a partir de então se verifica um processo de decaimento na geração de SPINS. ....	46

<b>Figura 4. 14:</b> Espectro eletrônico de absorção UV-vis da $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ , em DMSO (caminho óptico: 0,2 cm). O inset refere-se a curva obtida pela relação entre os valores de absorvância da banda de Soret e as diferentes concentrações utilizadas..	48
<b>Figura 4. 15:</b> Espectros de emissão normalizados das porfirinas em DMSO ( $\lambda_{exc} = 511$ nm).....	50
<b>Figura 4. 16:</b> Perfil de decaimento do estado tripleto para $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ na presença e ausência de $O_2$ (caminho óptico: 1,0 cm). .....	51
<b>Figura 4. 17:</b> Degradação do ácido úrico, irradiado com um laser 532 nm. O <i>inset</i> refere-se à cinética de degradação das porfirinas TPP e $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ em DMSO (caminho óptico: 1,0 cm). .....	53
<b>Figura 4. 18:</b> Espectros de absorção na região do UV-Vis do complexo $\{TPyP[PdCl(dppf)]_4\}(PF_6)_4$ com a adição de sucessivas alíquotas de DNA. ....	57
<b>Figura 4. 19:</b> Gráfico de viscosidade para as porfirinas e o tiazol. ....	60

## Lista de Esquemas

**Esquema 4. 1:** Esquema da rota sintética da porfirina  $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ . ... 29

**Esquema 4. 2:** Foto-oxidação do ácido úrico. .... 52

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 3. 1:</b> Volumes ( $\mu\text{L}$ ) utilizados das soluções de porfirina, DNA, DMSO e tampão. ....	27
<b>Tabela 4. 1:</b> Dados de análise elementar para as porfirinas. ....	30
<b>Tabela 4. 2:</b> Atribuição das bandas características ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos precursores $[\text{MCl}_2(\text{P})_2]$ , em KBr. ....	31
<b>Tabela 4. 3:</b> Atribuição das bandas características ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de absorção na região do infravermelho para a TPyP em KBr [29-30]. ....	31
<b>Tabela 4. 4:</b> Atribuição das bandas características ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de absorção na região do infravermelho das porfirinas em KBr. ....	32
<b>Tabela 4. 5:</b> Dados de cristal e refinamento de estrutura para $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}\text{BF}_4$ . ....	33
<b>Tabela 4. 6:</b> Comprimento de ligação ( $\text{\AA}$ ) para $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}\text{BF}_4$ . ....	35
<b>Tabela 4. 7:</b> Ângulos de ligação ( $^\circ$ ) para $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}\text{BF}_4$ . ....	35
<b>Tabela 4. 8:</b> Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm dos precursores referentes aos sinais no RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ . ....	37
<b>Tabela 4. 9:</b> Deslocamentos químicos e atribuição dos possíveis sinais de hidrogênio para a porfirina $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ . ....	39
<b>Tabela 4. 10:</b> Valores de $\delta^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (ppm), para as porfirinas e J (Hz). ....	41
<b>Tabela 4. 11:</b> Valores de $\epsilon(\lambda)$ obtidos para as bandas B e Q apresentados em unidades de $10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ , os respectivos comprimentos de ondas (entre parênteses) em nm. ....	49
<b>Tabela 4. 12:</b> Valores de $\Phi_f$ , $\Phi_\Delta(\%)$ e $\tau_T$ ( $\mu\text{s}$ ). ....	53
<b>Tabela 4. 13:</b> Valores de $\log P$ . ....	55
<b>Tabela 4. 14:</b> Valores de $K_b$ ( $10^5 \text{ mol}^2 \text{ L}^{-2} \text{ cm}$ ) para as porfirinas. ....	58

<b>Tabela 4. 15:</b> Valores médios de IC <sub>50</sub> .....	60
---	----

## Resumo

A presente dissertação teve como objetivo a síntese de novos compostos fotossensibilizadores para uso na Terapia Fotodinâmica através da modificação da porfirina *meso*-tetra(4-piridil) (TPyP). Para isso foram inseridos ligantes fosfínicos contendo átomos de paládio: 1,2-bis(difenilfosfina)etano (dppe), 1,3-bis(difenilfosfina)propano (dppp), 1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb) e 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf), resultando nas porfirinas: {TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub> e {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, respectivamente. Após a síntese, foi realizada a caracterização estrutural utilizando as técnicas espectroscópicas de infravermelho (FTIR), análise elementar e ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} e <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}. A difração de raios X (DRX) foi utilizada para comprovar a estrutura do monocrystal obtida da porfirina {TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}BF<sub>4</sub>. Através das técnicas espectroscópicas de absorção UV-Vis, emissão fluorescente e flash-fotólise foi possível determinar a lipofilicidade das amostras, os coeficientes de absorção molar ( $\epsilon$ ), o tempo de vida do estado tripleto e os rendimentos quânticos de fluorescência ( $\Phi_f$ ) e de produção de oxigênio singleto ( $\Phi_\Delta$ ). Além disso, foi avaliada a interação com o DNA através da titulação espectrofotométrica e pela viscosidade. Por fim, foi avaliada a fototoxicidade e citotoxicidade na linhagem celular tumoral MDA-MB231 e das sadias HACAT. Os testes biológicos foram realizados em duas linhagens celulares: MDA-MB231 e MCF-10A. Os experimentos foram feitos no escuro e na presença de irradiação, para determinar a eficiência fotodinâmica dos compostos sintetizados. Os complexos derivados da porfirina exibiram valores de IC<sub>50</sub> similares ao apresentado pela cisplatina, na célula de mama MDA-MB231, entretanto, com respeito à célula de mama não tumoral, MCF-10A, os mesmos foram mais citotóxicos que o fármaco comercial, de forma que os valores de índice de seletividade foram bem mais baixos para as porfirinas que o apresentado pela cisplatina.

**Palavras-chave:** TFD, porfirina, paládio, câncer.

## Abstract

The present dissertation had as objective at the synthesis of new photosensitizing compounds for use in Photodynamic Therapy through the modification of *meso*-tetra (4-pyridyl) porphyrin (TPyP). For that, phosphine binders containing palladium atoms were inserted: 1,2-bis(diphenylphosphine)ethane (dppe), 1,3-bis(diphenylphosphine) propane (dppp), 1,4-bis(diphenylphosphine)butane (dppb) and 1,1'-bis(diphenylphosphine)ferrocene (dppf), dating in porphyrins: {TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>} (PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>} (PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>} (PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub> e {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>} (PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, respectively. After synthesis, structural characterization was performed using infrared spectroscopic techniques (FTIR), elemental analysis and <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} e <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} nuclear magnetic resonance (NMR). X-ray diffraction (XRD) was used to prove a structure for obtaining monocrystal porphyrin {TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}BF<sub>4</sub>. Through spectroscopic UV-Vis absorption, fluorescent emission and flash-photolysis techniques, it was possible to determine the lipophilicity of the molar absorption coefficients (ε), the lifetime of the triplet state and the fluorescence (Φ<sub>f</sub>) and oxygen production quantum singlet (Φ<sub>Δ</sub>). In addition, an interaction with DNA was evaluated through spectrophotometric titration and viscosity. Finally, phototoxicity and cytotoxicity in the tumor cell line MDA-MB231 and healthy HACAT were evaluated. Biological tests were performed on two cell lines: MDA-MB231 and MCF-10A. The experiments were carried out in the dark and in the presence of irradiation, to determine the photodynamic efficiency of the synthesized compounds. The porphyrin-derived complexes exhibited IC<sub>50</sub> values similar to that presented by cisplatin, in the MDA-MB231 breast cell, however, with respect to the non-tumoral breast cell, MCF-10A, they were more cytotoxic than the commercial drug, so that the selectivity index values were much lower for porphyrins than that presented by cisplatin.

**Keywords:** PDT, porphyrin, palladium, câncer.

## Sumário

1. Introdução.....	1
1.1. Terapia Fotodinâmica .....	1
1.2. Histórico.....	3
1.3. Mecanismo de ação.....	4
1.4. Vias de morte celular na TFD.....	7
1.5. Fontes de luz .....	8
1.6. Fotossensibilizadores .....	9
1.6.1. Primeira geração de fotossensibilizadores .....	9
1.6.2. Segunda geração de fotossensibilizadores .....	10
1.6.2.1. Ácido 5-aminolaevulínico (ALA) .....	10
1.6.2.2. Verteporfina.....	11
1.6.2.3. Temoporfina .....	12
1.6.3. Terceira geração de fotossensibilizadores.....	13
1.7. Porphirinas.....	13
1.8. Paládio .....	14
1.9. O estudo da interação com alvos moleculares biológicos DNA.....	17
2. Objetivos.....	20
2.1. Objetivo geral .....	20
2.2. Objetivos específicos .....	20
3. Parte Experimental .....	22
3.1. Síntese dos precursores e modificação da TPyP.....	22
3.1.1. Tratamento do argônio para síntese .....	22
3.1.2. Solventes .....	22
3.1.3. Síntese dos precursores: [PdCl <sub>2</sub> (P-P)] (P-P = dppe, dppp, dppb e dppf) .....	22
3.1.4. Modificação das porfirinas: {TPyP[PdCl(P-P)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> .....	22
3.4. Caracterização estrutural dos compostos .....	23

3.4.1. Análise elementar (C, H, N e S).....	23
3.4.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ .....	23
3.4.3. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....	23
3.4.4. Difração de Raios X.....	23
3.4.5. Fotoestabilidade.....	24
3.4.6. Ressonância Paramagnética Eletrônica.....	24
3.5. Caracterização Fotofísica.....	24
3.5.1 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-visível (UV-vis).....	24
3.5.2. Rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ).....	24
3.5.3. Determinação do tempo de vida do estado tripleto.....	24
3.5.4 Determinação do rendimento quântico de oxigênio singleto ( $\Phi_\Delta$ ).....	25
3.6. Estudo da lipofilicidade.....	26
3.6.1. Determinação do coeficiente de partição (log P).....	26
3.7. Estudo da interação com DNA.....	26
3.7.1. Titulação espectroscópica.....	26
3.7.2. Viscosidade.....	26
3.8. Testes de citotoxicidade.....	27
4. Resultados e discussão.....	29
4.1. Caracterização estrutural.....	29
4.1.1. Síntese das porfirinas.....	29
4.1.1. Análise elementar.....	29
4.1.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	30
4.1.3. Difração de raios-X.....	32
4.1.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	37
4.1.4.1. Precursores.....	37
4.1.4.2. Porfirinas.....	37
4.1.5. Fotoestabilidade.....	42

4.2. Caracterização fotofísica e fotoquímica.....	46
4.2.1. Espectroscopia de absorção UV-Visível .....	46
4.2.2. Rendimento quântico fluorescência ( $\Phi_f$ ), Tempo de vida do estado tripleto ( $\tau_T$ ) e Rendimento quântico de oxigênio singleto ( $\Phi_\Delta$ ) .....	49
4.3. Coeficiente de partição .....	54
4.4. Estudos da interação das porfirinas com o DNA .....	55
4.4.1. Titulações espectroscópicas .....	55
4.4.2. Medidas de viscosidade.....	58
5. Conclusões.....	62
6. Referências .....	64
7. Apêndice.....	70

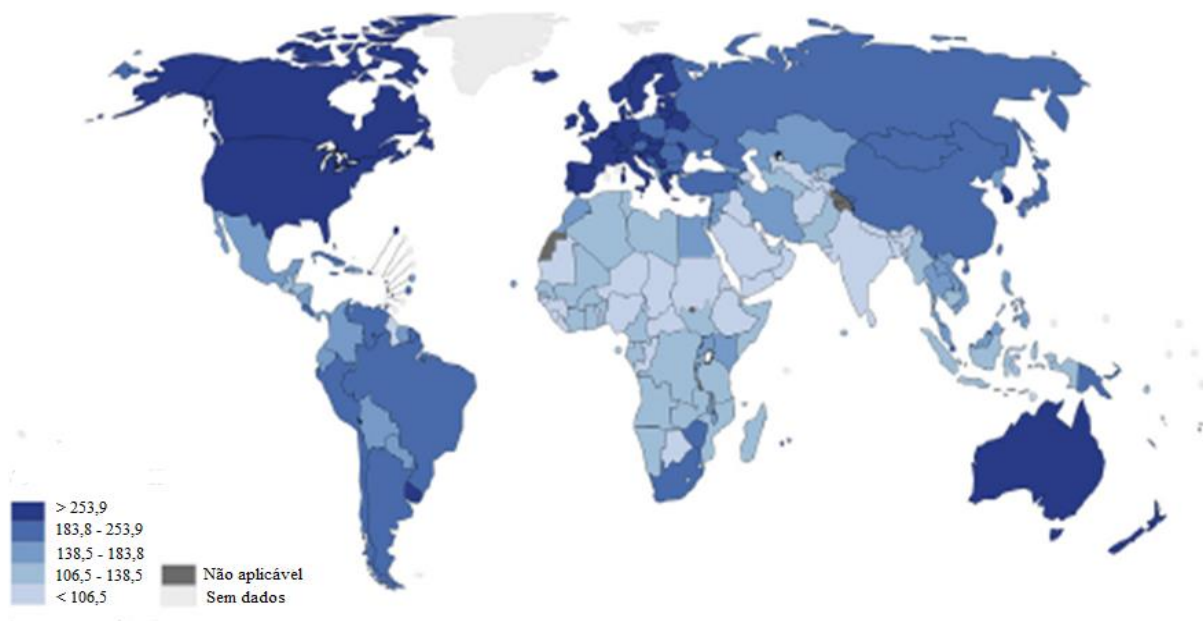
# 1. Introdução

## 1.1. Terapia Fotodinâmica

O câncer é uma das principais causas de mortalidade em todo mundo, perdendo apenas para as doenças cardíacas isquêmicas. Sua característica principal é o crescimento desordenado de células, quando estas se dividem rapidamente, passam a se tornar extremamente agressivas, formando tumores, que podem alcançar diversas regiões do corpo [1].

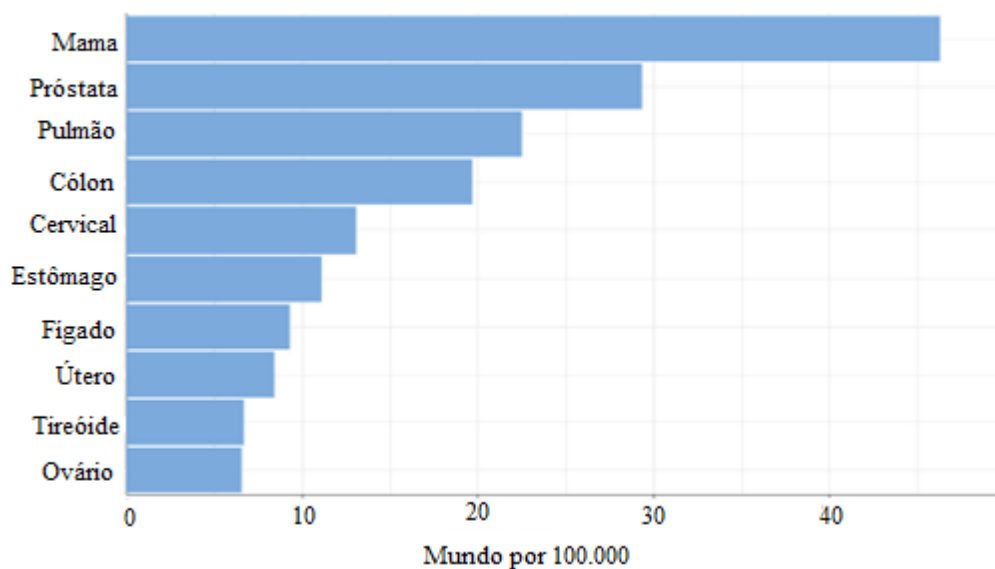
É uma doença que surge quando há uma modificação na informação do DNA celular, ocasionando padrões anormais de expressão gênica. Há mais de cem tipos de cânceres conhecidos, porém nem todos são malignos. Quando as células se multiplicam lentamente e semelhante ao tecido normal, o tumor formado é classificado como benigno, porém quando este crescimento é rápido, além de serem agressivos e capazes de infiltrar em outros órgãos, este passa a ser considerado como maligno. [2]

Uma pesquisa realizada pela GLOBOCAN (Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer do Observatório Mundial do Câncer, Organização Mundial da Saúde), prevê que em 2040 haja um aumento de 61,7% nos casos de câncer do mundo todo. Isto irá ocorrer graças a fatores demográficos, como o grande crescimento populacional além de uma alta taxa de envelhecimento. Na Figura 1.1, é possível verificar que os países de alta renda possuem maiores taxas de incidência em relação ao câncer, porém como possuem tratamentos mais eficazes a taxa de mortalidade é baixa, ao contrário dos países de baixa renda, onde esta mortalidade é mais alta devido à falta de recursos suficientes para o tratamento [2]



**Figura 1. 1:** Taxas estimadas (por 100.000) de incidência padronizadas no mundo em 2018; todos os cânceres, ambos os sexos, todas as faixas etárias [2].

Na Figura 1.2, temos a representação por tipo de câncer e as taxas de incidência padronizadas por idade estimadas em todo o mundo em 2018 [2].



**Figura 1. 2:** Taxas de incidência estimadas e padronizadas no mundo em 2018, para os tipos de cânceres mais recorrentes [2].

Em relação ao Brasil, de acordo com o INCA, para 2020, há uma previsão de 309.230 novos casos de câncer em homens, sendo que 29,2 % dos casos são referentes ao câncer de próstata. Já nas mulheres tem-se 316.140 novos casos, e o tipo mais predominante é o de mama com 29,7% [3].

Para o tratamento do câncer, o primeiro fator mais importante é o seu diagnóstico, que pode se dar através de uma biópsia ou por um processo cirúrgico, para que se possa determinar o quanto esse tumor se propagou no organismo do indivíduo, além de classificá-lo como benigno ou maligno. Após esta investigação, determina-se o tratamento que será utilizado, podendo ser algum dos métodos mais clássicos como, a quimioterapia, radioterapia ou cirurgia. No entanto, estes métodos de tratamento são extremamente agressivos para o paciente, causando uma grande debilidade [1]. Dessa forma, a terapia fotodinâmica (TFD) tem se mostrado uma atrativa opção tão eficiente ou até melhor do que os métodos convencionais de tratamento [4].

## **1.2. Histórico**

As civilizações egípcias, indianas e chinesas, já tinham o conhecimento de que poderiam combinar diferentes tipos de plantas com a utilização da luz solar para tratar doenças de pele, como o vitiligo. Porém, a história da TFD começa em 1900 quando Oscar Raab combinou uma fonte de luz com a acridina e verificou que essa combinação se tornava tóxica para as culturas de *Paramecium caudatum* [5].

Assim, Raab e seus professores Jodlbauer, Jesionick e von Tappeiner chegaram à conclusão de que a acridina era um agente fotossensibilizador, e trouxeram um novo tipo de terapia, que apresentou excelentes resultados para tumores cutâneos. Nas décadas de 1950 e 1960, os fotossensibilizadores à base de porfirina foram capazes de alcançar sucesso clínico intermitente. Lipson investigou como se dava o acúmulo da hematoporfirina em tumores localizados em ratos e camundongos, verificando que juntamente com a incidência da luz havia uma regressão destes tumores. Mas seu sucesso mesmo, foi atingido quando Lipson utilizou a TFD no tratamento de uma paciente portadora de câncer de mama. Este acontecimento fez com que a TFD fosse utilizada como um novo método para o tratamento do câncer [6].

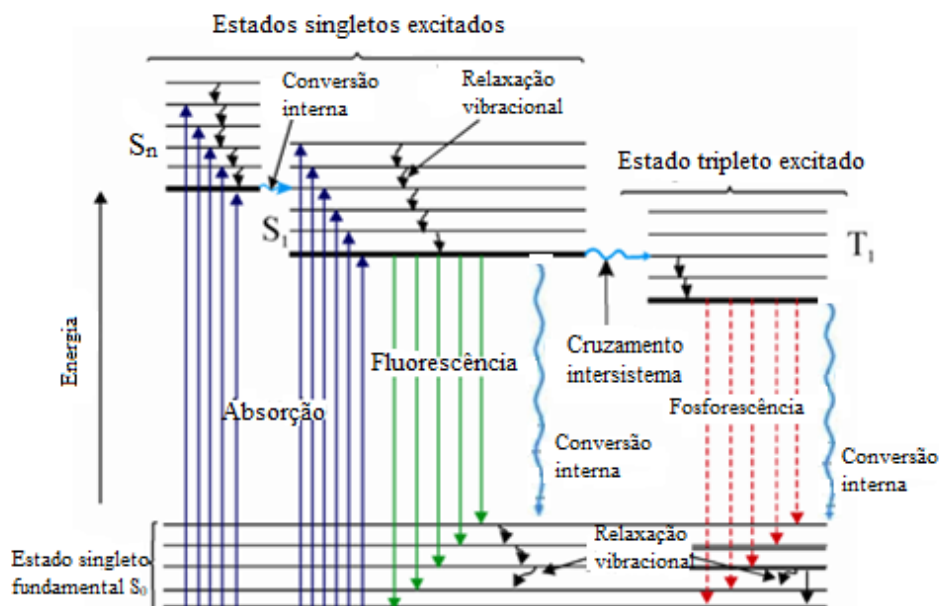
Thomas Doughert, no final da década de 1970 e início da década de 1980, procurou novos tipos de fotossensibilizadores, que pudessem ser eficazes, além de comercializáveis. Seus esforços, resultaram em compostos que tinham uma alta eficiência no tratamento do câncer utilizando a TFD. Devido a isso, Dougherty é referido como o pai da PDT, embora existam muitos outros membros distintos que contribuíram [6].

### **1.3. Mecanismo de ação**

Para que a TFD ocorra, é necessária a presença de três componentes: um fotossensibilizador (FS), luz e oxigênio presente nos tecidos. É a ação conjunta destes três fatores que desencadeiam o efeito desejado da TFD, que ocorre através de reações fotoquímicas e fotofísicas, que resultará na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o oxigênio singlete e radicais oxigenados, e a ação destes, leva a morte celular [7]

O procedimento da TFD consiste na administração de um FS por via intravenosa ou tópica. Em seguida, espera-se um intervalo de tempo (chamado de intervalo fármaco-luz), para que o FS se acumule no alvo a ser tratado. Após este intervalo, o tumor é irradiado com luz de comprimento de onda adequado [7].

O mecanismo fotofísico e fotoquímico da ação da TFD, pode ser explicado através de um diagrama de níveis de energia conhecido por Diagrama de Jablonski (Figura 1.3) [7].



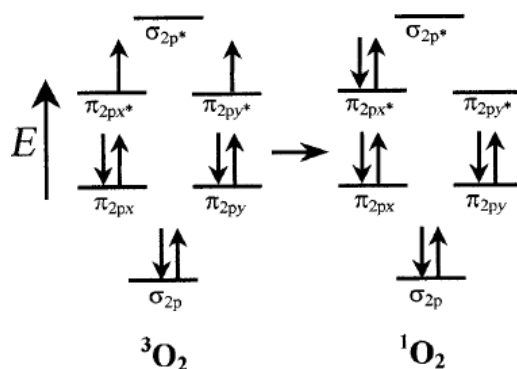
**Figura 1. 3:** Diagrama de Jablonski, representado de forma esquemática os processos fotofísicos [7].

Quando o FS é irradiado, este pode absorver um fóton da radiação incidente e um elétron sofre uma transição eletrônica do estado fundamental ( $S_0$ ) para um estado eletrônico excitado de maior energia ( $S_1$  ou  $S_n$ ). Mas a fim de generalizar, iremos considerar que essa absorção leve o elétron para o estado  $S_n$ . Esta excitação leva o elétron a um determinado nível de energia vibracional dentro desta banda  $S_n$ . Em seguida, o elétron sofre processos de relaxação até atingir seu nível vibracional de menor energia. A partir daí, pode ocorrer o processo não radiativo de conversão interna (CI), onde o elétron passa do estado eletrônico excitado,  $S_n$ , para um estado eletrônico excitado de menor energia  $S_{n-1}$ , seguido por rápida relaxação até atingir seu nível vibracional de menor energia. Esse processo se repete até o elétron atingir nível vibracional de menor energia no estado eletrônico excitado  $S_1$  [8].

No estado  $S_1$ , a molécula pode perder energia por três processos: radiativo de fluorescência, e pelos processos não radiativos CI e cruzamento intersistemas (CIS). O elétron pode passar do estado  $S_1$  para o  $S_0$  pelo processo de CI ou por um processo radiativo, via emissão de fótons, chamado de fluorescência. No CIS o elétron sofre uma inversão de spin passando a um estado tripleto excitado ( $T_1$ ). No estado  $T_1$ , o elétron pode retornar ao estado  $S_0$ , perdendo energia pelo processo de fosforescência (processo radiativo), ou sofrendo um novo CIS seguido por uma CI [8].

No estado  $T_1$ , podem ocorrer dois tipos de reações fotodinâmicas, caracterizando os mecanismos tipo I e tipo II. No mecanismo fotodinâmico do tipo I, ocorre a retirada de átomos de hidrogênio, ou reações de transferência de elétrons, entre o estado excitado do fotossensibilizador e algum tipo de substrato biológico, um solvente ou até mesmo outra molécula de fotossensibilizador, produzindo radicais livres e íons radicalares. Estas espécies possuem uma alta reatividade e dessa forma, podem reagir com o oxigênio molecular originando as espécies reativas de oxigênio (EROs), como radicais hidroxila e superóxidos, que causam danos irreversíveis nas células [8].

Já o mecanismo tipo II consiste na transferência de energia do estado  $T_1$  do fotossensibilizador para o oxigênio molecular em estado fundamental triplete ( $^3O_2$ ), gerando seu estado excitado, o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). O  $^1O_2$  surge então devido a inversão do spin de um dos elétrons mais externos. Para o  $^3O_2$ , os dois elétrons que possuem a maior energia estão localizados separadamente com o mesmo spin, nos orbitais antiligantes ( $\pi_{2px}^*$  e  $\pi_{2py}^*$ ), ao contrário do  $^1O_2$ , onde os dois elétrons de maior energia estão no mesmo orbital antiligante ( $\pi_{2px}^*$ ) com spins opostos (Figura 1.4) [9].

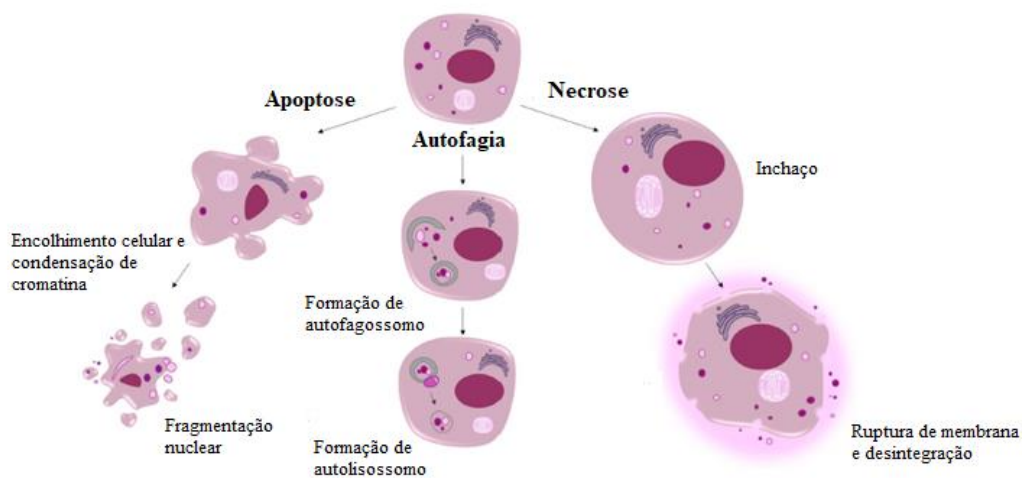


**Figura 1. 4:** Representação esquemática da ocupação dos elétrons nos orbitais moleculares para o oxigênio em seu estado triplete ( $^3O_2$ ) e do estado singlete ( $^1O_2$ ).

A grande reatividade do  $^1O_2$ , está relacionada com o emparelhamento dos dois elétrons em um dos orbitais antiligantes. No estado fundamental, os elétrons mais externos se distribuem de acordo com a regra de Hund, ocupando dois orbitais antiligantes ( $\pi_{2px}^*$  e  $\pi_{2py}^*$ ). Durante a interação com o FS excitado, ocorre uma inversão do spin do elétron, permitindo que este se emparelhe no orbital antiligante ( $\pi_{2px}^*$ ) que já contém um elétron, resultando em uma desestabilização da molécula, e por isso a sua maior reatividade [9].

#### 1.4. Vias de morte celular na TFD

Com a produção das EROs e do  $^1\text{O}_2$ , estes podem atacar organelas celulares levando à morte celular por algumas vias como a necrose, apoptose ou autofagia (Figura 1.5). Porém, o FS pode levar a morte celular por mais de uma via. Sabe-se que altas concentrações de FS e uma alta dose de luz induz a morte por necrose. Quando estes parâmetros são utilizados em doses menores podem ocorrer a autofagia ou a apoptose [10].



**Figura 1. 5:** As três vias mais notadas de morte celular [10].

A necrose é a forma de morte celular mais rápida, que leva a falha das bombas iônicas que estão presentes na membrana plasmática [10]. Além disso, ocorre um aumento de permeabilidade da membrana, resultando em um aumento da quantidade de água e de alguns íons, que ocasiona o inchaço da célula e de suas organelas. A necrose também está relacionada com o tempo de incubação do FS com as células. Quando este tempo é curto (1-3 h), o FS irá se acumular mais facilmente na membrana plasmática ocasionando a morte por necrose, ao contrário de quando se tem um tempo de incubação de 24 h que há um maior acúmulo no aparelho de Golgi [10].

A apoptose ocorre quando há alterações intracelulares ou extracelulares que envolvem contato direto com organelas essenciais à célula, como a mitocôndria. Neste caso, não há alterações na membrana plasmática e ocorre uma autodigestão dos constituintes celulares, e é considerada uma morte programada, já que a própria célula causa a sua morte [10].

A autofagia pode ocorrer como um mecanismo de sobrevivência devido a liberação de material celular danificado ou como um mecanismo de morte que levam a danos nas organelas. Neste, ocorre a formação de uma vesícula de membrana de dupla camada que tem a função de envolver o material que está danificado, separando-o do citoplasma. Assim, ocorrerá a degradação deste material e os nutrientes obtidos passam a ser reutilizados. Dependendo do dano que a TFD provocar, isto irá determinar se a morte se dará apenas por um meio de sobrevivência ou a levará a morte celular de fato [10].

## **1.5. Fontes de luz**

A escolha da fonte de luz é de extrema importância na TFD, já que esta, irá ativar o FS. Portanto, deve-se escolher o comprimento de onda e a intensidade mais viáveis para o FS empregado. Caso as lesões a serem tratadas sejam mais profundas, é necessário utilizar comprimentos de onda maiores para que haja uma maior penetração no tecido (630-700 nm). Entretanto, para órgãos internos, a luz pode ser aplicada de forma direta ou ser levada ao alvo através de dispositivos chamados difusores, geralmente à base de fibra óptica.

As primeiras fontes de luz utilizadas na TFD foram as lâmpadas de descarga de gás, cuja saída da luz poderia ser filtrada para que só houvesse o comprimento de onda escolhido. Porém, estas lâmpadas entraram em desuso, já que produziam um grande aquecimento nos tecidos e não tinha uma boa distribuição de luz [6]. Com isso, houve o desenvolvimento dos lasers que passaram a ser as fontes de luz mais utilizadas. Como é uma luz monocromática, permite uma dosimetria mais fácil, pode ser acoplada a uma fibra óptica, e o comprimento de onda pode ser escolhido a depender do FS utilizado e do local a se tratar. Entretanto, nos últimos anos fontes de luz policromáticas tem se mostrado viáveis devido sua eficiência e baixo custo inclusive o uso da luz solar vem sendo também avaliada (*day light*) [11].

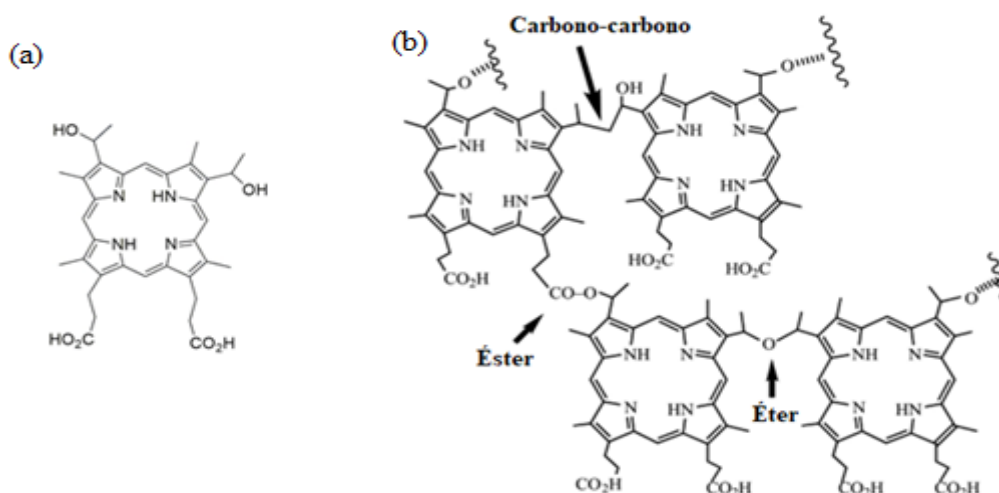
## 1.6. Fotossensibilizadores

Os FSs são compostos que devem absorver luz em um comprimento de onda específico, para que haja as reações do tipo I e II. Assim, para que se tenha um bom FS que seja viável para a TFD, este deve ter [12]:

- Alto grau de pureza química;
- Ser de baixo custo;
- Boa estabilidade para permitir o armazenamento;
- Não apresentar toxicidade no escuro;
- Fácil solubilidade nos tecidos do organismo;
- Síntese simples;
- Deve se acumular de maneira efetiva no tecido tumoral;
- Ter uma alta produção de EROs e/ou  $^1\text{O}_2$ ;
- Possuir, de preferência, um alto coeficiente de absortividade molar na faixa de 600 a 800 nm, já que nesta faixa há energia suficiente para que ocorra maior penetração nos tecidos.

### 1.6.1. Primeira geração de fotossensibilizadores

Na década de 1970 Thomas Dougherty e colaboradores, introduziram os primeiros FSs para serem comercializados. Inicialmente, eles utilizaram uma porfirina solúvel em água conhecida como “derivado de hematoporfirina” (HpD), que apresentou uma maior seletividade aos tecidos tumorais quando comparada com a hematoporfirina (Hp) (Figura 1.6) [12].



**Figura 1. 6:** Representação estrutural da hematoporfirina (a) e do derivado de hematoporfirina (HpD) (b) [12].

Logo em seguida, isolou-se uma mistura de dímeros e oligômeros da HpD, tendo esta o nome comercial de “Photofrin”. Porém, devido a sua baixa pureza química, baixa penetração tecidual, pois absorve em comprimentos de onda menores que 630 nm, e o seu alto acúmulo na pele durante várias semanas, resultaram na necessidade do desenvolvimento de novos FSs que apresentassem menores desvantagens [12].

### 1.6.2. Segunda geração de fotossensibilizadores

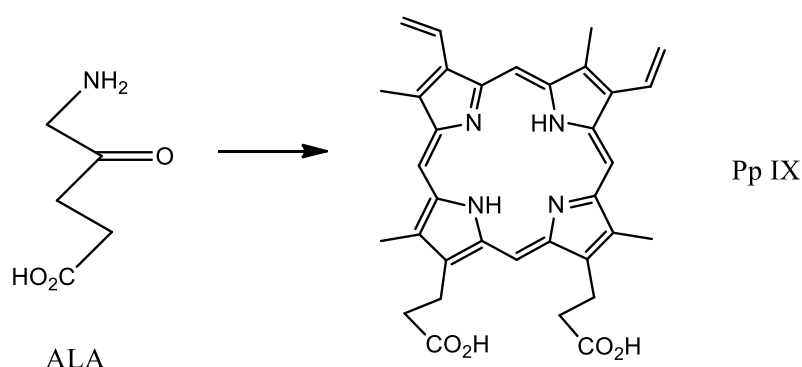
Os estudos para esta nova geração, começaram a partir da década de 1980, tendo muitos compostos aprovados para o uso clínico na TFD. Nesta geração temos FSs sintéticos, como: ácido 5-aminolevulínico (ALA), porfirinas, benzoporfirinas, texafirinas, derivados de tiopurina, clorina, bacterioclorina e ftalocianinas. Estes compostos possuem uma maior pureza, uma maior penetração nos tecidos e maior produção de  $^1\text{O}_2$ . Porém, dependendo dos substituintes destes compostos, causa uma limitação em sua solubilidade em água, o que prejudica seu uso [12,13].

#### 1.6.2.1. Ácido 5-aminolaevulínico (ALA)

O ALA é um pró-fármaco, que é convertido em um FS ativo, a protoporfirina IX (PPIX), que em seguida é convertida em heme. Quando há um excesso de ALA, a PPIX se acumula levando ao dano celular quando irradiado. É um FS que permite aplicação oral, intravenosa ou tópica. Por via tópica a aplicação se dá apenas na área em que se

deseja tratar. As outras vias demandam uma espera de 48 h para o seu acúmulo. O ALA, permite a utilização de comprimentos de onda no azul (410 nm), verde (510 nm) ou vermelho (635 nm). Porém, a luz azul permite uma maior produção de  $^1\text{O}_2$ , por isso é o comprimento de onda mais utilizado [6].

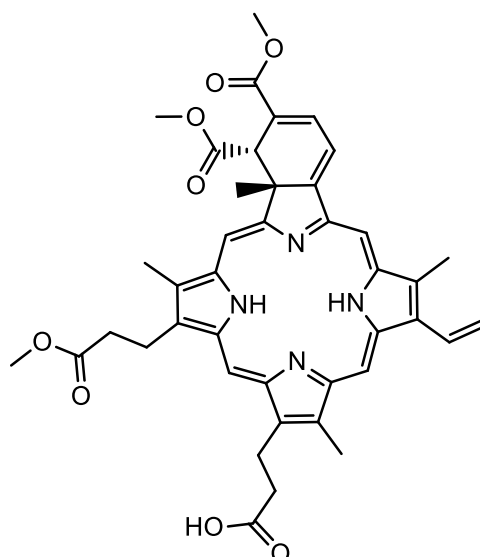
Comercializado sob o nome de levulan (Figura 1.7), é um dos compostos mais eficazes na TFD, utilizado principalmente no tratamento de doenças malignas de pele, dentre elas a queratose actínica e lesões superficiais de células basais. Também apresentou resultados promissores em tumores de cabeça, pescoço, esôfago, bexiga e próstata [14].



**Figura 1. 7:** Representação estrutural do Levulan [15].

#### 1.6.2.2. Verteporfina

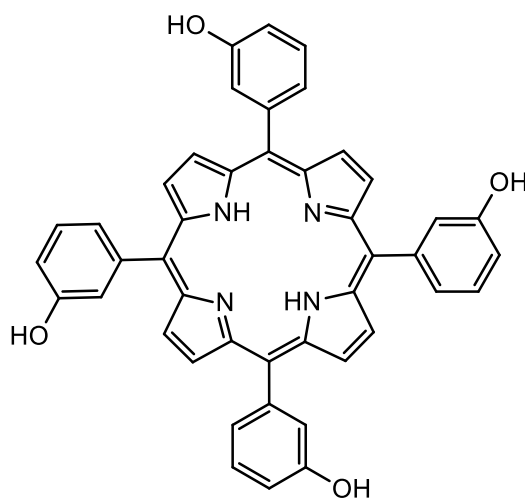
A comercializada verteporfina possui uma estrutura derivada de uma benzoporfirina (Figura 1.8). Comercializado com o nome de visudyne, é muito utilizado no tratamento da degeneração macular, já que é uma das principais doenças causadoras de cegueira em pessoas acima de 50 anos. Esta doença causa um rápido crescimento dos vasos sanguíneos anormais sob a retina. Como a TFD induz a perda de vascularização, a verteporfina, passa a ser um composto promissor para este tipo de tratamento [6].



**Figura 1. 8:** Representação estrutural da verteporfina [14].

### 1.6.2.3. Temoporfina

Conhecido comercialmente como foscan (Figura 1.9), é um dos FSs com maior capacidade de acumulação nos tumores, além de uma grande fotocitotoxicidade. Obtido através da redução da diimida de 5,10,15,20-tetraquis(3-hidroxifenil)porfirina, teve os seus primeiros estudos realizados em 1989. Na TFD, pode ser administrada via intravenosa, e após 24-96 h pode ser feita a irradiação em um comprimento de onda de 652 nm. Porém, uma das suas desvantagens é um longo tempo de depuração, sendo este de 4 a 6 semanas. Muito utilizada para câncer de esôfago, pulmão, gástrico, próstata, pele, além de cabeça e pescoço [6].



**Figura 1. 9:** Representação estrutural da termoporfina [14].

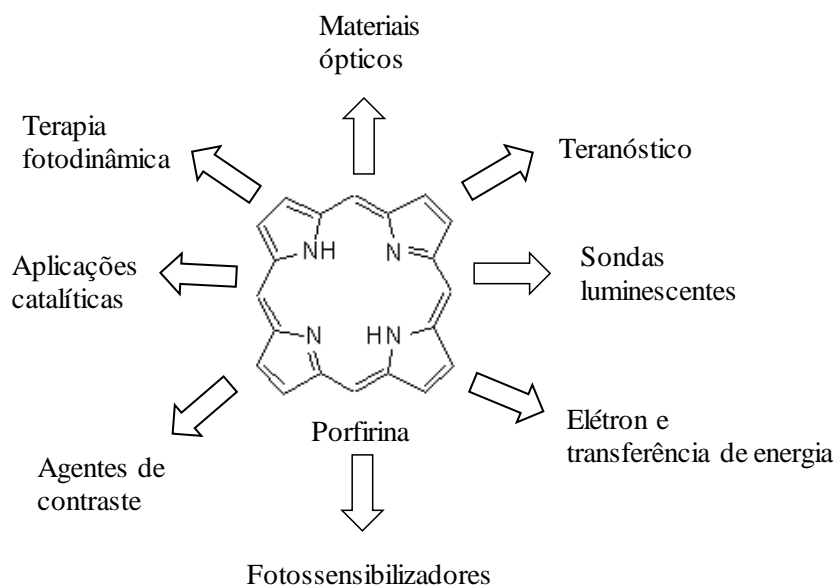
### **1.6.3. Terceira geração de fotossensibilizadores**

Esta geração visa principalmente compostos que possuam uma maior afinidade com o tecido tumoral, evitando danos as células saudáveis. Assim, algumas modificações estão sendo realizadas para atingir este objetivo. Dentre elas combinar FSs de segunda geração, acoplar anticorpos e proteínas a estrutura do FS, dentre outras. Isto possibilita uma maior seletividade destes compostos ao alvo desejado [12].

## **1.7. Porfirinas**

As porfirinas são compostos que possuem quatro anéis de pirrol que estão dispostos em círculo que vem sendo amplamente utilizadas na TFD. Possuem um total de 22 elétrons  $\pi$ , dos quais destes 18 elétrons estão em um macrociclo contínuo e plano. Além disso, os átomos de carbono denominados como  $\alpha$  do pirrol, estão conectados por pontes metileno [16].

Devido a sua estrutura versátil as porfirinas passaram a ser utilizadas e exploradas em diversas áreas e como soluções para o desenvolvimento tecnológico. Além disso, suas propriedades físico-químicas podem ser modificadas, dependendo dos substituintes que são ligados ao macrociclo tetrapirrólico [16]. A figura 1.10 ilustra o grande potencial de aplicação das porfirinas.



**Figura 1. 10:** Exemplos de aplicações para porfirinas.

Além disso, a utilização de complexos metálicos para se coordenar ao macrociclo tetrapirrólico também afeta as propriedades, já que há uma alteração nos ângulos e na distância das ligações. De maneira geral, utilizar metais que estão localizados na primeira linha de metais de transição pode diminuir expressivamente a toxicidade da porfirina resultante [17].

Assim, o planejamento e desenvolvimento de novos compostos FSs com maior eficácia para TFD tem se tornado um importante ramo de pesquisa científica. Para isso, diferentes estratégias vêm sendo empregadas, dentre elas destacam-se a incorporação de íons ou complexos metálicos à estrutura das porfirinas ou de compostos com potencial atividade anticancerígena.

## 1.8. Paládio

Em 1978, a cisplatina (cis-diaminodicloridoplatina) (II) foi aprovada para uso clínico na terapia contra o câncer. Os fármacos que possuem platina (II) em sua estrutura, conseguem agir se ligando ao DNA, formando ligações cruzadas estáveis que impedem que haja a replicação. Porém, depois de muito tempo de uso, verificou-se que estes compostos contendo platina possuíam desvantagens significativas, como: graves efeitos colaterais, além de agirem somente para alguns tipos de cânceres [17].

Assim, houve uma busca de novos metais que pudessem substituir a platina (II), visando reduzir tais desvantagens. Devido a semelhança entre a química de coordenação da platina (II) com o paládio (II), estudos envolvendo o paládio (II) tiveram início. Muitos compostos contendo paládio (II) apresentaram atividade antitumoral muito superior quando comparado com a cisplatina e até mesmo outros medicamentos comumente usados [18].

O primeiro composto contendo paládio (II), que apresentou uma excelente atividade contra células de sarcoma 180J, foi o  $[\text{Pd}(\text{bpy})(\text{ONO}_2)_2]$  (bpy = 2,2'-bipiridina). Em 1989, Mital e colaboradores obtiveram os complexos:  $[\text{Pd}(\text{bpy})(\text{ddtc})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Pd}(\text{fen})(\text{ddtc})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (ddtc = dietil ditiocarbamato; fen = fenantrolina), que comparados com a cisplatina tinham uma atividade antitumoral cerca de 10 vezes maior, já que por conterem anéis planares em sua estrutura, estes podem se intercalar com o DNA [18].

Navarro-Ranninger e Quiroga e colaboradores sintetizaram três complexos contendo paládio (II) com ligantes de tiossemicarbazona [18]. Estes compostos se mostraram ativos em vários tipos de câncer, até mesmo aqueles em que a cisplatina não conseguia combater. Em relação a células de glioma estes compostos apresentaram melhor resposta em comparação com o fármaco que é usado clinicamente para o tratamento de tumores cerebrais [18].

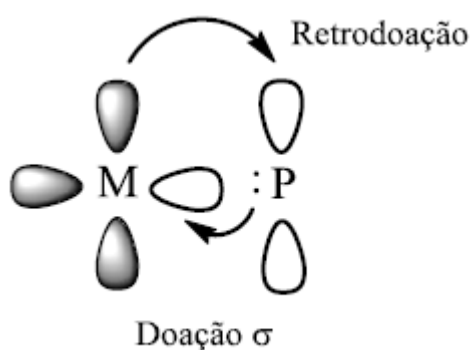
Assim, compostos contendo paládio (II) apresentam uma boa atividade contra linhagens celulares tumorais. Porém, vários fatores devem ser levados em consideração para a síntese de novos compostos, como orientação dos ligantes, volume dos ligantes, propriedades eletrônicas, solubilidade, lipofilicidade, e uma boa interação com o DNA e proteínas.

A síntese de novos compostos de paládio, ainda é um grande desafio, já que estes compostos podem possuir uma alta labilidade, uma alta taxa de troca dos ligantes e uma baixa solubilidade. Assim, deve-se ter grupos ligados ao paládio que minimizem estes efeitos, tornando os compostos viáveis para uso clínico.

Spencer em 2009, propôs a utilização do ligante difenilfosfina (dppe) associado ao paládio para o tratamento do câncer. Com este composto obtiveram valores de  $\text{IC}_{50}$  menores que a cisplatina utilizando diferentes linhagens celulares (K562, Vero e B116).

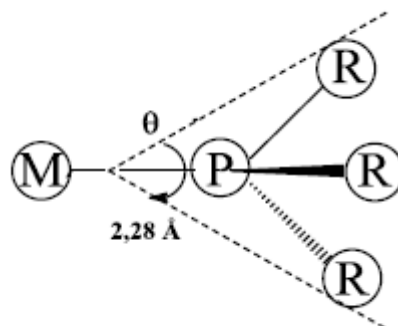
Assim, as fosfinas começaram a ser investigadas como grupos promissores para o tratamento do câncer [18].

Uma das principais características dos ligantes fosfínicos é a sua capacidade de estabilizar centros metálicos, devido a sua propriedade de retrodoação (Figura 1.11). As fosfinas possuem um par de elétrons que é capaz de formar ligações  $\sigma$  estáveis e orbitais híbridos do tipo  $3p\sigma^* d\pi$  vazios, e por isso conseguem receber elétrons [19].



**Figura 1. 11:** Esquema da ligação metal-fosfina [19].

Além disso, permitem a variação dos grupos substituintes que estão ligados ao átomo de fósforo, podendo ser estes grupos doadores ou receptores, que irão influenciar na ligação P-M-R (P = fósforo; M = metal; R = ligante). O impedimento estérico também é um outro fator que deve ser levado em consideração, já que isto afetará diretamente nos ângulos de ligação R-P-R (Figura 1.12) (ângulo de cone), influenciando drasticamente em suas propriedades [19].



**Figura 1. 12:** Ângulo de cone R-P-R [19].

Na busca por uma maior eficiência terapêutica e um efeito sinérgico, o presente trabalho buscou sintetizar novas moléculas que empregam a combinação de compostos com potencial atividade biológica e agentes FSs utilizados na TFD. O projeto foi idealizado e realizado em parceria com o Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), liderado pelo prof. Dr. Alzir A. Batista. O LERCI tem desenvolvido nos últimos anos complexos fosfínicos, para tratamento de diversas doenças como malária, leishmania, câncer, entre outras. Neste grupo, Wilmer e colaboradores, sintetizaram complexos de paládio associados a ligantes fosfínicos visando utilização em linhagens de células tumorais. Assim, complexos fosfínicos foram utilizados neste trabalho como substituintes no macrociclo tetrapirrólico.

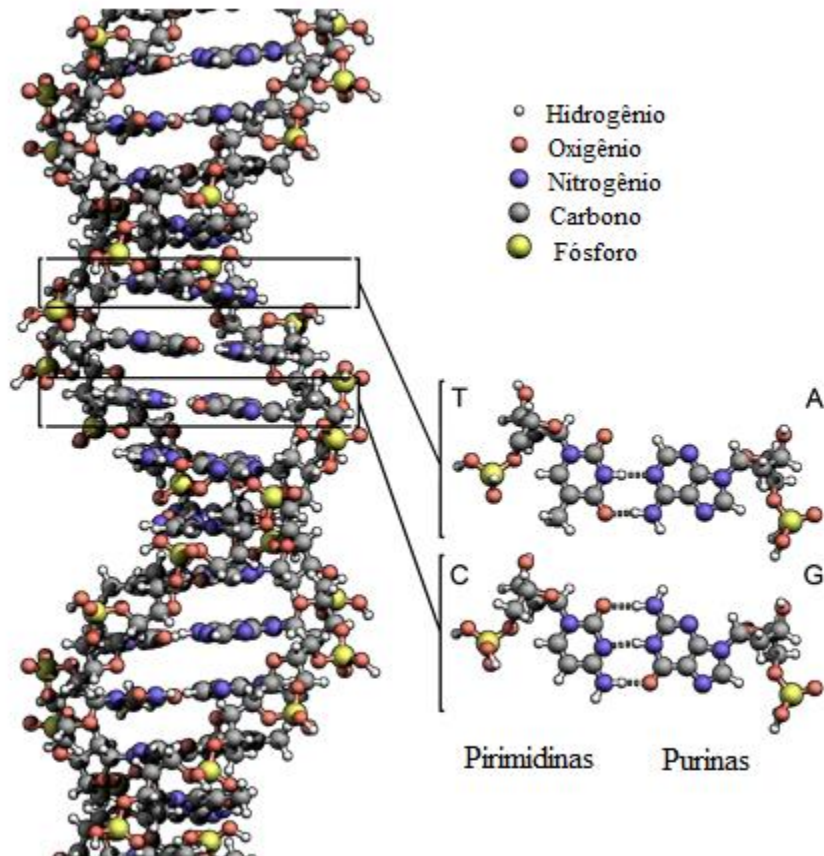
Tendo em vista que estes novos compostos serão utilizados na TFD, é importante investigar não somente as propriedades eletrônicas, químicas e fotofísicas, mas também a interação com biomoléculas (como DNA). Sabendo deste tipo de interação é possível estudar design de novos fármacos, além de determinar qual o tipo de mecanismo de dano ao DNA, como mecanismos de quebra e de interação.

## **1.9. O estudo da interação com alvos moleculares biológicos DNA**

O DNA (ácido desoxirribonucleico) é uma substância polimérica, na qual contém todas as informações genéticas de um determinado indivíduo. É constituído por nucleotídeos, dos quais são compostos por três partes: uma pentose, uma base nitrogenada, um ou mais grupos fosfato [20].

As bases nitrogenadas, são classificadas em dois grupos: as pirimidinas e purinas. As pirimidinas (citosina, timina e uracila) possuem apenas um anel de seis átomos, sendo ele composto de carbono e nitrogênio. Já as purinas (adenina e guanina) possuem dois anéis, sendo um anel de seis átomos ligado a um anel de cinco átomos [20].

Os nucleotídeos se ligam entre si, formando uma cadeia de desoxinucleotídeos, que através de ligações de hidrogênio interage com outra cadeia de desoxinucleotídeos, formando uma dupla fita de DNA. Entre as fitas de DNA, as ligações de hidrogênio são formadas pela combinação de interação entre as bases nitrogenadas: adenina-timina e citosina-guanina (Figura 1.13).



**Figura 1. 13:** Estrutura do DNA [21].

O DNA desempenha um papel importante nos processos biológicos, além de controlar a estrutura e a função da célula, este carrega também os códigos de informação genética, que são utilizados para sintetizar proteínas e enzimas. Assim, o interesse em compostos que atinjam a estrutura do DNA causando algum dano, vem sendo cada vez mais buscado, já que atingindo o DNA, haveria dano a célula, levando a morte de um determinado tipo de tumor.

A interação com o DNA pode ocorrer de maneira covalente e não-covalente, ou seja, a molécula se liga reversivelmente a estrutura do DNA. As interações covalentes são as que mais causam danos ao DNA, já que se ligam de maneira irreversível, podendo causar a fragmentação do DNA [21].

Já as interações não covalentes são divididas em: eletrostáticas, ligação de sulcos e ligação intercalativa. A ligação eletrostática ocorre devido à interação entre o esqueleto fosfato do DNA que possui carga negativa e as extremidades com carga positiva de uma

determinada molécula. A ligação do sulco se baseia nas ligações de hidrogênio ou interações de van der Waals de moléculas com bases de ácidos nucléicos [22-23]

A última interação que também tem sido explorada são as interações intercalativas, que ocorre quando pequenas moléculas se intercalam dentro dos pares de bases de ácidos nucléicos formando interações do tipo de Van der Waals e  $\pi$ -stacking. Estas interações levam ao aumento do volume do DNA, ocasionando a desnaturação do mesmo e consequente perda da função [22-23].

Com o auxílio de técnicas espectroscópicas, como espectroscopia de absorção na região do UV-Visível, ressonância magnética nuclear, dicroísmo circular, dentre outras, pode-se determinar esses tipos de interações. Outras técnicas são também amplamente empregadas, como as técnicas eletroquímicas, eletroforese em gel e viscosidade [24].

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo geral

O principal objetivo deste trabalho foi a síntese de novos compostos fotossensibilizadores para uso na Terapia Fotodinâmica utilizando complexos de paládio com potencial atividade anticancerígena, com a porfirina *meso*-tetra(4-piridil) (TPyP).

### 2.2. Objetivos específicos

A fim de alcançar o objetivo geral, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Sintetizar os complexos de paládio associados a ligantes fosfínicos (precursores):
  - **[PdCl<sub>2</sub>(dppe)]** (Cis-dicloro,1,2-bis(difenilfosfina)etano paládio(II));
  - **[PdCl<sub>2</sub>(dppp)]** (Cis-dicloro,1,3-bis(difenilfosfina)propano paládio(II));
  - **[PdCl<sub>2</sub>(dppb)]** (Cis-dicloro,1,4-bis(difenilfosfina)butano paládio(II));
  - **[PdCl<sub>2</sub>(dppf)]** (Cis-dicloro,1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno paládio(II)).
- Reagir a *meso*-tetra(4-piridil)porfirina (TPyP), com os respectivos precursores para a obtenção dos seguintes compostos porfirínicos:
  - **{TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>** (hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,2-bis(difenilfosfina)etano, 5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II));
  - **{TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>** (hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,3-bis(difenilfosfina)propano,5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II));
  - **{TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>** (hexafluorofosfato de tetra-cloro,1,4-bis(difenilfosfina)butano,5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II));
  - **{TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>** (hexafluorofosfato de,1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno,5,10,15,20-tetrakis-piridilporfirina paládio(II));
- Caracterização estrutural dos compostos obtidos, pelas técnicas de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, HSQC, HMBC, <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, IV, análise elementar e difração de raios X de monocristal;
- Caracterização fotofísica e fotoquímica dos compostos sintetizados;

- Avaliar a interação destes compostos com *calx thymus* – DNA, por titulação espectrofotométrica e viscosidade;
- Avaliar a citotoxicidade nas linhagens: MDA-MB-231 (tumoral de mama) e MCF-10A (sadia de mama), sem e com a irradiação, para determinar o potencial fotodinâmico.

## 3. Parte Experimental

### 3.1. Síntese dos precursores e modificação da TPyP

#### 3.1.1. Tratamento do argônio para síntese

As sínteses dos precursores e a modificação da TPyP foram realizadas sob atmosfera de argônio, para que não se tenha a presença de umidade e oxigênio. O argônio passa por uma coluna de sílica gel e, em seguida uma coluna contendo o catalisador BTS-R-3-11, mantida a 60° C (para que a eficiência do catalisador fosse máxima) para a eliminação do oxigênio presente no argônio.

#### 3.1.2. Solventes

Os solventes utilizados foram da marca Synth P.A, sem purificação prévia. O DMSO deuterado (Merck), também foi usado sem purificação prévia.

#### 3.1.3. Síntese dos precursores: [PdCl<sub>2</sub>(P-P)] (P-P = dppe, dppp, dppb e dppf)

Os precursores foram sintetizados via método descrito por Dopke e colaboradores, com pequenas adaptações [25]. Em um frasco Schlenck contendo 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> desaerado dissolveu-se 1,85 mmol (1,30 g) de *trans*-[Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] e em seguida adicionou-se 2 mmol de dppe (0,80 g), dppp (0,90 g), dppb (1,00 g) ou dppf (1,10 g). Após a adição, agitou-se durante 24 h. Concentrou-se a mistura (20 mL) e esta foi precipitada com hexano e filtrada. O produto resultante foi secado sob vácuo, obtendo os seguintes rendimentos: 90% para [PdCl<sub>2</sub>(dppe)], 88% para [PdCl<sub>2</sub>(dppp)], 80 % para [PdCl<sub>2</sub>(dppb)] e 85 % para [PdCl<sub>2</sub>(dppf)].

#### 3.1.4. Modificação das porfirinas: {TPyP[PdCl(P-P)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>

Em um frasco Schlenk contendo 200 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> desaerado dissolveu-se 0,16 mmol de TPyP. Em seguida, adicionou-se os respectivos precursores [PdCl<sub>2</sub>(P-P)] em uma razão estequiométrica de 1:4 (TPyP:[PdCl<sub>2</sub>(P-P)]). Deixou-se em refluxo por um período de 2h. Em seguida, adicionou-se uma solução de AgBF<sub>4</sub> em metanol, em uma razão estequiométrica de 1:1 ([PdCl<sub>2</sub>(P-P)]:AgBF<sub>4</sub>), e deixou-se sob agitação durante 48 h. Essa mistura foi filtrada em uma coluna de celite. Concentrou-se a mistura (5 mL) e adicionou-se 15,5 mmol de NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub>, e precipitou-se com hexano. O produto resultante foi secado sob vácuo, obtendo um rendimento entre 60-80% para as porfirinas.

### **3.4. Caracterização estrutural dos compostos**

#### **3.4.1. Análise elementar (C, H, N e S)**

A determinação do teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, para todos os compostos sintetizados foram realizados em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISOONS, no laboratório de análise elementar do departamento de Química da UFSCar.

#### **3.4.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$**

Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , foram obtidos em um espectrômetro Bruker DRX 400 MHz, do Departamento de Química da UFSCar.

#### **3.4.3. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho**

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro PerkinElmer, Spectrum 400, na Central Analítica do Instituto de Química da UFG, em uma faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , utilizado pastilhas de KBr.

#### **3.4.4. Difração de Raios X**

O monocristal foi obtido através da evaporação lenta de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e para a realização dos experimentos de difração de raios X foram utilizados dois difratômetros diferentes para a resolução das estruturas cristalinas: um pertencente ao grupo de cristalografia do IFSC-USP do tipo automático NONIUS KAPPA CCD e o outro localizado no Departamento de Química da USP de São Carlos da marca Bruker APEX DUO, ambos utilizando radiação da linha  $K\alpha$  do molibdênio (0,71070 Å).

As estruturas foram refinadas usando o programa SHELXS 97 usando métodos diretos, sucessivos mapas de Fourier-Diferença permitiram a localização dos átomos não hidrogênios. Excetuando-se os átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Os refinamentos foram feitos pelo método dos mínimos quadrados através do programa SHELXL 97. Detalhes específicos sobre coleta de dados e os parâmetros para cada complexo são fornecidos nos apêndices apropriados.

### **3.4.5. Fotoestabilidade**

A fotoestabilidade das porfirinas foi verificada com a utilização de espectros de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , que foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance III 500 RMN, localizado no Instituto de Química da UFG. As amostras das porfirinas foram solubilizadas em DMSO. Em seguida, foram irradiadas por 90 min com uma fonte de luz branca, constituída por uma lâmpada halógena emitindo na faixa de 400 a 900 nm a uma irradiância de  $100 \text{ mW/cm}^2$ . Foram obtidos espectros antes, logo após a irradiação e depois de 1 dia de irradiadas.

### **3.4.6. Ressonância Paramagnética Eletrônica**

Os espectros foram obtidos no Laboratório de Biofísica no Instituto de Física da UFG. O equipamento utilizado foi um espectrômetro Bruker ESP300 com uma cavidade ressonante ER4102 ST. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Os parâmetros utilizados foram: potência de microonda, 10mW; frequência de modulação, 100 KHz; amplitude de modulação, 1,024 G; varredura de campo magnético, 100 G.

## **3.5. Caracterização Fotofísica**

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

Os espectros referentes a absorção na região do ultravioleta-visível foram obtidos em um espectrofotômetro Hitachi U-2900, localizado no Laboratório de Biofotônica do Instituto de Física da UFG.

### **3.5.2. Rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ )**

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos em um espectrofotômetro FL F-7000, localizado no Laboratório de Biofísica do Instituto de Física da UFG. As soluções das porfirinas em DMSO foram diluídas até que a absorvância no comprimento de onda de excitação da amostra (511 nm) fosse menor que 0,05, para evitar o efeito de filtro interno.

### **3.5.3. Determinação do tempo de vida do estado tripleto**

A técnica de flash-fotólise permite determinar os valores de  $\tau_T$ . Esta técnica é baseada num sistema de bombeio e prova (*pump-probe*), em que a amostra é irradiada ortogonalmente por dois feixes de luz. Um intenso feixe laser pulsado (*pump*) transfere uma considerável população eletrônica do estado fundamental ( $S_0$ ) para o estado excitado que relaxam e se acumula brevemente no estado tripleto ( $T_1$ ). Um feixe contínuo (*probe*) monitora a absorção transiente devido a diferença de população entre os estados fundamental e tripleto. A absorção transiente  $\Delta A(\lambda, t)$  é dada pela relação:

$$\Delta A(\lambda, t) = \Delta A_0(\lambda) \exp(-t/\tau) = [\varepsilon_T(\lambda) - \varepsilon_S(\lambda)] C_T(t) \ell \text{ (Equação 4.2)}$$

onde  $\Delta A_0(\lambda)$  é a absorção transiente inicial ( $t = 0$ ),  $\tau$  o tempo de vida do estado tripleto. A equação traz ainda a relação entre  $\Delta A(\lambda)$  e os coeficientes de absorção do estado fundamental  $\varepsilon_S$ , do estado tripleto  $\varepsilon_T$ , a concentração molar do estado tripleto  $C_T(t)$  e o caminho óptico da cubeta  $\ell$ . Uma vez que os coeficientes de absorção são constantes ao longo do tempo (Equação 4.2), a absorção transiente permite determinar o tempo de vida do estado tripleto, pois é proporcional ao termo  $C_T(t)$ .

Para as medidas de tempo de vida do estado tripleto foi utilizada a técnica de Flash-fotólise. O sistema da Flash-fotólise encontra-se instalado no Grupo de Biofotônica do Instituto de Física da UFG e utiliza como bombeio um laser Brillant da Quantel de Nd:YAG emitindo pulsos de 5-7 ns no segundo harmônico (532 nm) e uma lâmpada de xenônio como prova. Após passar por um monocromador, o sinal é então coletado por uma fotomultiplicadora e digitalizado por um osciloscópio Tektronix 500 MHz e coletado num computador.

Utilizou-se uma cubeta de quartzo (caminho óptico: 1 cm) para acondicionar as amostras. Os perfis de decaimento da absorção transiente foram monitorados em 470 nm. Para fins de analisar o efeito do oxigênio da solução, as amostras foram desoxigenadas através do borbulhamento de nitrogênio na solução por 30 min.

### 3.5.4 Determinação do rendimento quântico de oxigênio singleto ( $\Phi_\Delta$ )

Para a determinação do  $\Phi_\Delta$ , monitorou-se a degradação do ácido úrico por UV-vis [26]. Onde, 1 mL da solução de ácido úrico em DMSO foi misturada com 1 mL da solução de porfirina ( $5 \mu \text{ mol L}^{-1}$ ), também em DMSO. A mistura foi irradiada com um módulo

laser (iZi - LaserLine) emitindo em 532 nm por um período total de 30 s, sendo obtidos espectros de absorção a cada 5s.

### 3.6. Estudo da lipofilicidade

#### 3.6.1. Determinação do coeficiente de partição (log P)

O coeficiente de partição foi determinado utilizando volumes de 3 mL de octanol e 3 mL de água. Adicionou-se 0,5 mg de porfirina na mistura e agitou-se vigorosamente durante 24 h, a temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se a mistura para a separação da fase aquosa e da orgânica. As concentrações das porfirinas nessas duas fases foram determinadas por UV-vis. O valor do log P foi calculado a partir da Equação 3.1. Nesta,  $A_{org}$  e  $A_{aq}$  são os valores de absorvância da fase orgânica e da fase aquosa, na banda de Soret,  $V_{aq}$  e  $V_{org}$  são os volumes finais da fase aquosa e orgânica, respectivamente [27].

$$\log P = \log\left(\frac{A_{org}}{A_{aq}} \times \frac{V_{aq}}{V_{org}}\right) \text{ (Equação 3.1)}$$

### 3.7. Estudo da interação com DNA

#### 3.7.1. Titulação espectroscópica

Preparou-se as soluções das porfirinas em uma concentração de  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  em DMSO. O CT-DNA (*Calf Thymus*) foi preparado em tampão PBS (pH 7,4). A concentração foi determinada através de UV-vis, sabendo que a absorvidade molar do DNA é de  $6600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  em 260 nm [28]

As titulações foram feitas, utilizando concentrações de DNA de: 10; 20; 30; 40; 50 e  $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Adicionou-se, em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm, 20  $\mu\text{L}$  da solução de porfirina e 1980  $\mu\text{L}$  de solução tampão. Em seguida, adicionou-se 10  $\mu\text{L}$  da solução de DNA.

#### 3.7.2. Viscosidade

Preparou-se 10 soluções, em tubos de ensaio, descritas na Tabela 3.1, com a concentração do composto analisado em  $1,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  solubilizado em DMSO, e

utilizou-se o tampão trizma-HCl. As medidas foram feitas em um viscosímetro de Oswald, mergulhado a um banho a uma temperatura de 25°C e com auxílio de um cronômetro para aferir o tempo de escoamento. Os experimentos foram feitos em triplicata.

**Tabela 3. 1:** Volumes ( $\mu\text{L}$ ) utilizados das soluções de porfirina, DNA, DMSO e tampão.

<b>Tubos</b>	<b>porfirina</b>	<b>DNA</b>	<b>DMSO</b>	<b>tampão</b>
<b>1</b>	0	0	0	4000
<b>2</b>	0	0	200	3800
<b>3</b>	0	500	0	3500
<b>4</b>	0	500	200	3300
<b>5</b>	50	500	350	3100
<b>6</b>	100	500	300	3100
<b>7</b>	200	500	200	3100
<b>8</b>	300	500	100	3100
<b>9</b>	400	500	0	3100
<b>10</b>	400	0	0	3600

### **3.8. Testes de citotoxicidade**

Os testes de citotoxicidade foram feitos no Laboratório de Genética do ICB da UFG. Utilizou-se duas linhagens celulares, sendo uma de célula tumoral MDA-MB231 (adenocarcinoma de mama humana) e uma sadia de mama, MCF-10A.

As células foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM ou RPMI, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10%. As culturas foram mantidas a 37 °C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Para a realização dos ensaios de citotoxicidade, as células foram tripsinizadas para a contagem e ajuste da concentração. Em seguida, aplicou-se as células em placas de cultura de 96 poços (estéril). As placas foram armazenadas em estufa (37°C/5% CO<sub>2</sub>) por 24 h para a adesão celular. Em seguida, as soluções das porfirinas, em DMSO, em diferentes concentrações, foram adicionadas as placas, que foram deixadas na estufa por mais 24 h. As placas que sofreriam irradiação, após 24 h de adição das porfirinas, foram irradiadas com uma fonte

de luz branca ( $25,52 \text{ mW/cm}^2$ ,  $34,22 \text{ J/cm}^2$ ) por um tempo de 20 min. Em seguida foram mantidas na estufa por mais 24 h.

Após este período, retirou-se todo o meio de cultura das placas e lavou-se duas vezes com PBS (pH 7,4) e, em seguida, adicionou-se 50  $\mu\text{L}$  de MTT. As mesmas foram deixadas em estufa por um período de 3-4 horas e adicionou-se DMSO para solubilizar os cristais formados e mediu-se espectrofotometricamente. A absorbância das placas, foram medidas em um espectrofotômetro de microplacas.

Os dados coletados foram tratados em planilha no Excel e no programa GraphPad Prism 5, e assim foi possível calcular o IC50 (concentração inibitória de 50% das células).

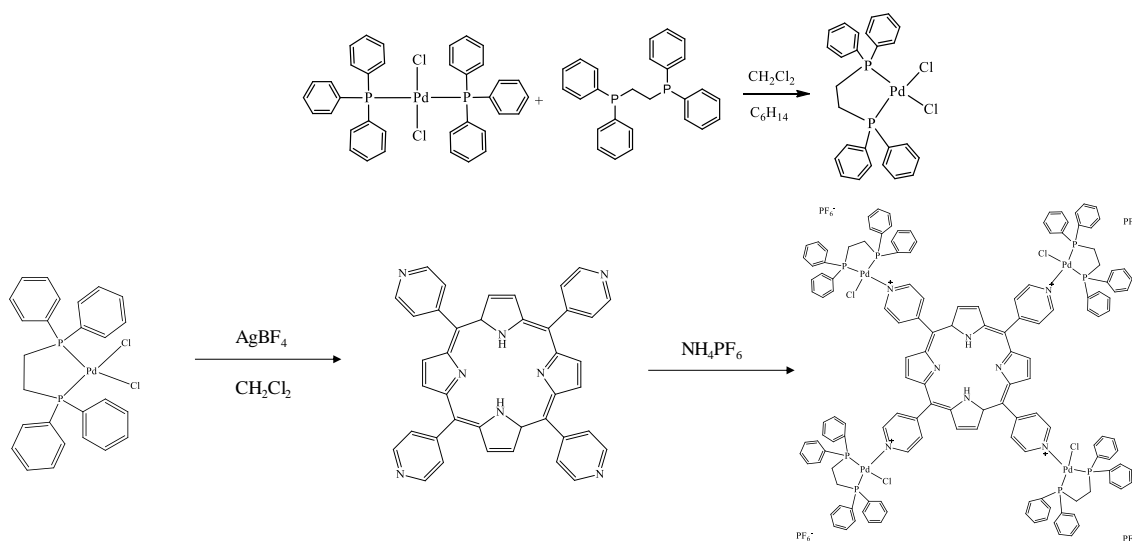
## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Caracterização estrutural

#### 4.1.1. Síntese das porfirinas

A TPyP foi modificada utilizando os precursores  $[\text{PdCl}_2(\text{P-P})]$ , que foram sintetizados. Utilizou-se inicialmente a *trans*- $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2]$ , reagindo com a dppe, dppp, dppb e dppf. Após essa reação, os compostos adquiridos foram:  $[\text{PdCl}_2(\text{dppe})]$ ,  $[\text{PdCl}_2(\text{dppp})]$ ,  $[\text{PdCl}_2(\text{dppd})]$  e  $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$  (Esquema 4.1).

Com os precursores sintetizados, estes foram reagidos com o  $\text{AgBF}_4$ , para a formação do  $\text{AgCl}$ , que precipitou. Dessa forma, os precursores perderam um átomo de cloro, ficando com um sítio livre para reagir com a TPyP. Logo após a reação, foi adicionado  $\text{NH}_4\text{PF}_6$ , que resultou na formação do contra-íon das porfirinas, no caso o  $\text{PF}_6^-$  (Esquema 4.1).



**Esquema 4. 1:** Esquema da rota sintética da porfirina  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ .

#### 4.1.1. Análise elementar

A análise elementar é uma técnica útil para saber a pureza dos compostos, a partir do que se é esperado teoricamente. A partir da análise dos dados obtidos, verificou-se que os teores de carbono, hidrogênio e oxigênio foram condizentes com a estrutura proposta.

**Tabela 4. 1:** Dados de análise elementar para as porfirinas. Valores experimentais seguidos dos valores teóricos entre parênteses.

Porfirina	C (%)	N (%)	H (%)
{TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> C <sub>144</sub> H <sub>122</sub> N <sub>8</sub> P <sub>12</sub> Cl <sub>4</sub> F <sub>24</sub> Pd <sub>4</sub>	51,76 (51,48)	3,17 (3,34)	3,50 (3,66)
{TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> C <sub>148</sub> H <sub>130</sub> N <sub>8</sub> P <sub>12</sub> Cl <sub>4</sub> F <sub>24</sub> Pd <sub>4</sub>	51,95 (52,04)	3,10 (3,28)	3,68 (3,83)
{TPyP[PdCl(dppb)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> C <sub>152</sub> H <sub>138</sub> N <sub>8</sub> P <sub>12</sub> Cl <sub>4</sub> F <sub>24</sub> Pd <sub>4</sub>	52,30 (52,58)	3,15 (3,23)	3,70 (4,00)
{TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub> C <sub>176</sub> H <sub>138</sub> N <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub> F <sub>24</sub> P <sub>12</sub> Fe <sub>4</sub> Pd <sub>4</sub>	53,21 (53,07)	3,00 (2,81)	3,53 (3,49)

#### 4.1.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Com a utilização de espectros de absorção na região do infravermelho, é possível obter informações sobre a complexação dos precursores na estrutura da porfirina. Para isso, analisou-se, separadamente, os espectros dos precursores e da porfirina (TPyP) utilizados para a complexação, para fins de comparação. Assim, os valores característicos das bandas dos precursores e da TPyP foram obtidos na literatura presentes na Tabela 4.2 e 4.3 [29-30].

Para os precursores, foi possível verificar uma banda em 3450 cm<sup>-1</sup> referente ao O-H, da presença de H<sub>2</sub>O do KBr. Há a presença de bandas C=C na região de 1490 e 1430 cm<sup>-1</sup> e C-H aromático presente em 3053 cm<sup>-1</sup> referentes aos anéis ligados ao átomo de P. Além disso, há uma banda em 1100 cm<sup>-1</sup> da ligação P-C e em 695 cm<sup>-1</sup> das deformações das ligações Ph-P-Ph. Na Tabela 4.2 encontram-se todas as atribuições que foram obtidas para os precursores.

**Tabela 4. 2:** Atribuição das bandas características ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos precursores  $[\text{MCl}_2(\text{P})_2]$ , em KBr.

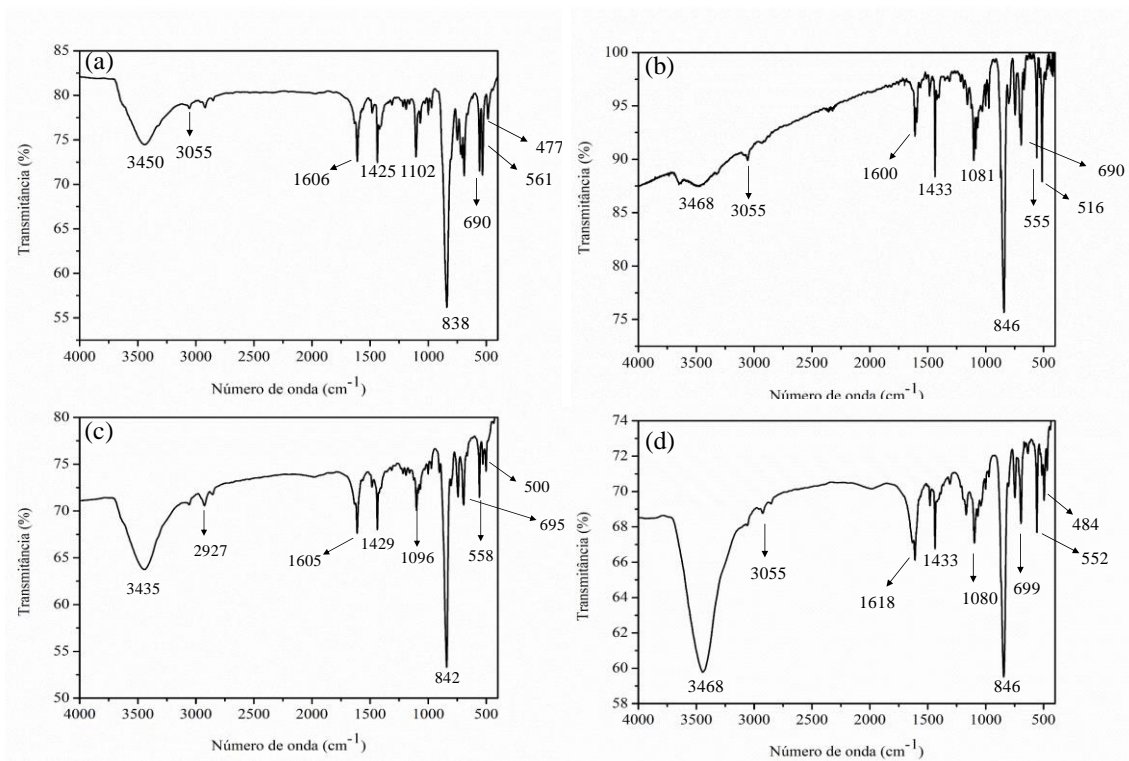
Precusores	C-H	C-H	C=C	P-C	P-Ph	M-P
	(aromático)	(alifático)				
<b>[PdCl<sub>2</sub>(dppe)]</b>	3053	2923	1482; 1453	1104	688	531
<b>[PdCl<sub>2</sub>(dppp)]</b>	3054	2922	1484; 1435	1101	692	515
<b>[PdCl<sub>2</sub>(dppb)]</b>	3054	2922	1484; 1434	1100	690	530
<b>[PdCl<sub>2</sub>(dppf)]</b>	3054	2923	1481; 1435	1097	694	514

Para a TPyP, temos bandas características da ligação C=C presente no anel porfirínico em 1345; 1475  $\text{cm}^{-1}$ . As deformações referentes a ligação C-H, encontram-se nas frequências de 1345, 1475  $\text{cm}^{-1}$ . A banda referente a ligação C=N encontra-se em 1587  $\text{cm}^{-1}$  e das ligações C-H aromáticas em 3022, 3061 e 3095  $\text{cm}^{-1}$ . Estes dados estão organizados na tabela 4.3.

**Tabela 4. 3:** Atribuição das bandas características ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de absorção na região do infravermelho para a TPyP em KBr [29-30].

Atribuição	Frequência ( $\text{cm}^{-1}$ )
C-H	653; 712; 797; 990
C=C	887; 1345; 1393; 1475
C=N	1587
C-H (aromático)	3022; 3061; 3095

Para as porfirinas sintetizadas neste trabalho, os espectros de infravermelho apresentaram bastante semelhança entre si (Figura 4.1), já que todas foram substituídas com ligantes fosfínicos. Além disso, houve uma sobreposição das bandas presentes nos precursores e na TPyP. Assim, as atribuições das bandas dos espectros, estão organizados na Tabela 4.4.



**Figura 4. 1:** Espectros vibracionais na região do infravermelho para (a)  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , (b)  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , (c)  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  e (d)  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ .

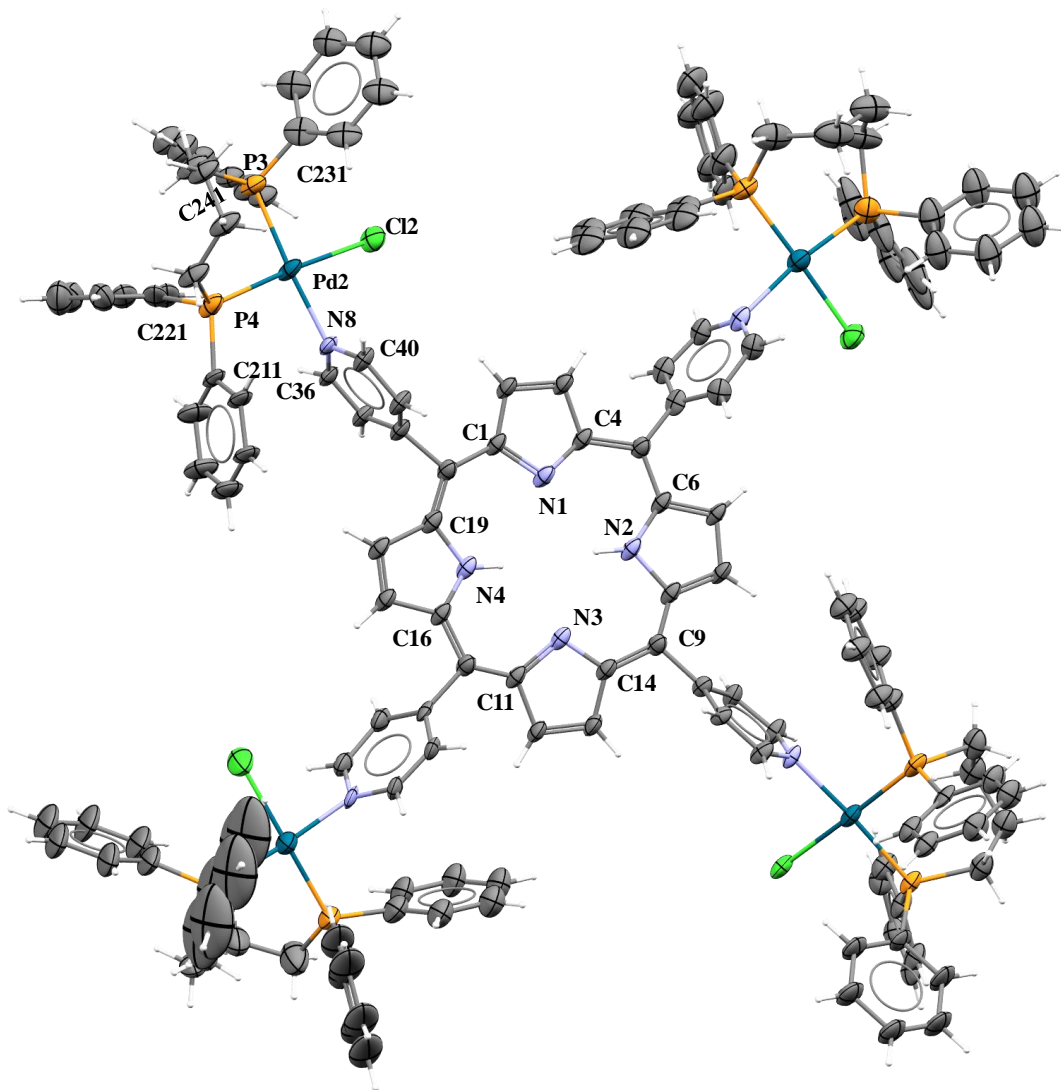
**Tabela 4. 4:** Atribuição das bandas características ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros de absorção na região do infravermelho das porfirinas em KBr.

Porfirinas	P-C	C-H	C=N	C-H	P-F
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	1102	1425	1425	3055	838
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	1081	1433	1433	3055	846
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	1096	1429	1429	2927	842
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	1080	1432	1430	2945	846

#### 4.1.3. Difração de raios-X

Para a porfirina  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{BF}_4)_4$ , foi possível a obtenção de monocristais, e empregando a técnica de difração de raios-X obtivemos uma estrutura cristalina que exemplifica e confirma as estruturas propostas nesta série (Figura 4.2). Todas as porfirinas deste trabalho, como contra-íon foi utilizado o  $\text{PF}_6^-$ , com exceção do

monocristal, cujo contra-íon utilizado foi o  $\text{BF}_4^-$ . Estas estruturas são o primeiro relato de ligantes porfirínicos do tipo TPyP contendo o paládio coordenado em seus periféricos, os relatos na literatura concentram-se em estruturas metaladas ao centro e/ou contendo metais como Ru, Pt, Cu, Zn, dentre outros nos periféricos [31-34].



**Figura 4. 2:** Estrutura cristalina da  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}\text{BF}_4$ .

A porfirina cristalizou com a adição do sal  $\text{NaBF}_4$ , apresentando 4 íons  $\text{BF}_4^-$  como contra-íons. Por se tratar de uma molécula muito grande e cheia de espaços acessíveis a solventes, observou-se a presença de várias pequenas moléculas desordenadas ao redor do complexo, como  $\text{CHCl}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , que para a obtenção de dados cristalográficos mais consistentes foram removidos do refinamento final empregando a técnica SQUEEZE [35]. A presença de desordem nos átomos de carbono, em alguns anéis dos ligantes dppb, levou a exibição de elipsóides com dimensões maiores que o comum, não se adequando

em modelos de refinamento de desordem em duas ou mais posições, representando o resultado obtido o melhor modelo de refinamento dentre as tentativas. O modo de coordenação da porfirina ao paládio via átomo de nitrogênio foi inequivocamente confirmado, apresentando o paládio uma geometria quadrado planar distorcida, conforme evidenciado pelos ângulos de ligação ( $\neq 90^\circ$ ) exibidos pelas ligações P4-Pd2-P3, P3-Pd2-Cl2 e N8-Pd2-P4, além da confirmação da presença do cloreto também ligado ao paládio. Os dados de refinamento estruturais dos comprimentos e ângulos de ligação são apresentados nas Tabelas 4.5, 4.6 e 4.7.

**Tabela 4. 5:** Dados de cristal e refinamento de estrutura para  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}\text{BF}_4$ .

Fórmula empírica	$\text{C}_{152}\text{H}_{138}\text{B}_2\text{Cl}_4\text{F}_8\text{N}_8\text{P}_{24}\text{Pd}_4$
Peso molecular	3065,48
Temperatura/K	150,03
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	$\text{P2}_1/\text{a}$
$a/\text{Å}$	21,2707(11)
$b/\text{Å}$	23,0586(12)
$c/\text{Å}$	31,8123(19)
$\beta/^\circ$	93,226(4)
Volume/ $\text{Å}^3$	15578,3(15)
Z	4
$\rho_{\text{calc}}/\text{cm}^3$	1,307
$\mu/\text{mm}^{-1}$	5,546
F(000)	6240,0
Tamanho do cristal/ $\text{mm}^3$	$0,113 \times 0,08 \times 0,012$
Radiação	$\text{CuK}\alpha$ ( $\lambda = 1.54178$ )
Faixa de $2\Theta$ para coleta de dados/ $^\circ$	4.736 a 87.996
Intervalo de índices	$-18 \leq h \leq 19, -20 \leq k \leq 20, -28 \leq l \leq 28$
Reflexões coletadas	98363
Reflexões independentes	11913 [ $R_{\text{int}} = 0,2499, R_{\text{sigma}} = 0,1049$ ]
Dados/restrições/parâmetros	11913/1824/1411
Qualidade do ajuste em $F^2$	1,589
Índices R final [ $I \geq 2\sigma(I)$ ]	$R_1 = 0,1578, wR_2 = 0,4087$

Índices R (todos os dados)	$R_1 = 0,2062$ , $wR_2 = 0,4478$
Maiores picos e valores de difração	3,23/-1,09

**Tabela 4. 6:** Comprimento de ligação (Å) para  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}BF_4$ .

Ligação	Comprimento de ligação (Å)	Ligação	Comprimento de ligação (Å)
Pd2-Cl2	2,357(9)	N1-C1	1,37(3)
Pd2-P3	2,267(7)	N1-C4	1,45(3)
Pd2-P4	2,253(10)	N2-C6	1,33(3)
P3-C231	1,838(16)	N2-C9	1,44(3)
P3-C241	1,855(17)	N3-C11	1,44(3)
P4-C221	1,839(16)	N3-C14	1,44(3)
P4-C211	1,857(17)	N4-C19	1,47(3)
Pd2-N8	2,088(18)	N4-C16	1,40(3)

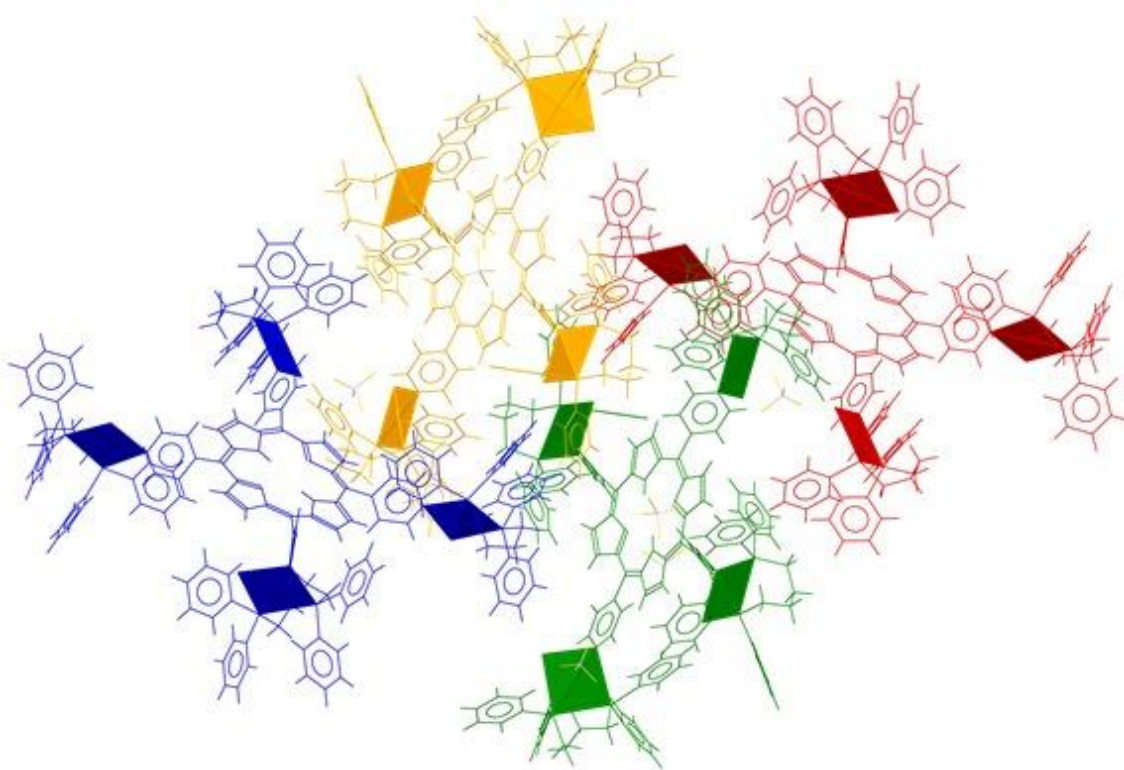
**Tabela 4. 7:** Ângulos de ligação (°) para  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}BF_4$ .

Átomos	Ângulos (°)
P4-Pd2-Cl2	178,5(3)
P4-Pd2-P3	92,3(3)
P3-Pd2-Cl2	89,2(3)
N8-Pd2-P4	92,3(6)
N8-Pd2-P3	175,3(6)
C6-N2-C9	112(2)
C1-N1-C4	105(2)
C14-N3-C11	104(2)
C16-N4-C13	104(2)

Em relação aos substituintes, o efeito *trans* provocado pelo ligante fosfínico pode ser observado nas distâncias das ligações Pd-Cl para os ligantes da porfirina, já que estes ligantes estão em posição *trans* a ligação Pd-P. O ligante fosfínico desloca a densidade eletrônica do átomo de Pd para mais próximo dele. Uma vez que o ligante Cl é um ligante

doador de elétrons, o átomo de P que está em posição *trans* a ele fica mais carregado eletronicamente e isso ocasiona um encurtamento na ligação Pd-P (Tabela 4.6) [35].

A porfirina cristalizou no grupo espacial monoclinico  $P2_1/a$ , apresentando uma molécula por unidade assimétrica ( $Z'=1$ ), e quatro moléculas por cela unitária ( $Z = 4$ ). O empacotamento cristalino estabilizou-se formando interações intermoleculares fracas com os contraíons, do tipo F...H-C, interações C...H, e interações do tipo Cl...H-C entre ligante cloreto coordenado e hidrogênios dos anéis da bifosfina de moléculas vizinhas. Estas interações são importantes na formação do empacotamento cristalino, pois mesmo sendo fracas são numerosas e conferem estabilidade a rede cristalina formada. Na Figura 4.3 pode-se observar o empacotamento cristalino resultante do arranjo das moléculas.



**Figura 4. 3:** Empacotamento cristalino exibido na estrutura de raios X obtida para o complexo  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}BF_4$ . Cada unidade assimétrica foi representada por uma cor e o plano formado pelas ligações Pd-ligante são destacados em cada molécula.

#### 4.1.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) é extremamente útil para a elucidação estrutural dos precursores e das porfirinas obtidas, já que se pode analisar vários núcleos fornecendo o número de átomos não equivalentes do isótopo estudado. Combinando dados de RMN com a espectroscopia vibracional na região do infravermelho, é possível determinar estruturalmente um composto.

##### 4.1.4.1. Precursores

Os espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos precursores  $[\text{PdCl}_2(\text{P-P})]$  (P-P – dppe, dppp, dppb ou dppf), apresentaram apenas um singlete, o que indica que os átomos de fósforo presentes nos ligantes fosfínicos, são magneticamente equivalentes. A tabela 4.8, apresenta os respectivos deslocamentos químicos referente a cada precursor. Para os precursores, apenas o RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  foi obtido, já que para estes compostos a sua caracterização já consta na literatura [36].

**Tabela 4. 8:** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm dos precursores referentes aos sinais no RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .

Precursor	Deslocamento químico (ppm)
$[\text{PdCl}_2(\text{dppe})]$	64,5
$[\text{PdCl}_2(\text{dppp})]$	11,2
$[\text{PdCl}_2(\text{dppb})]$	29,3
$[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$	33,8

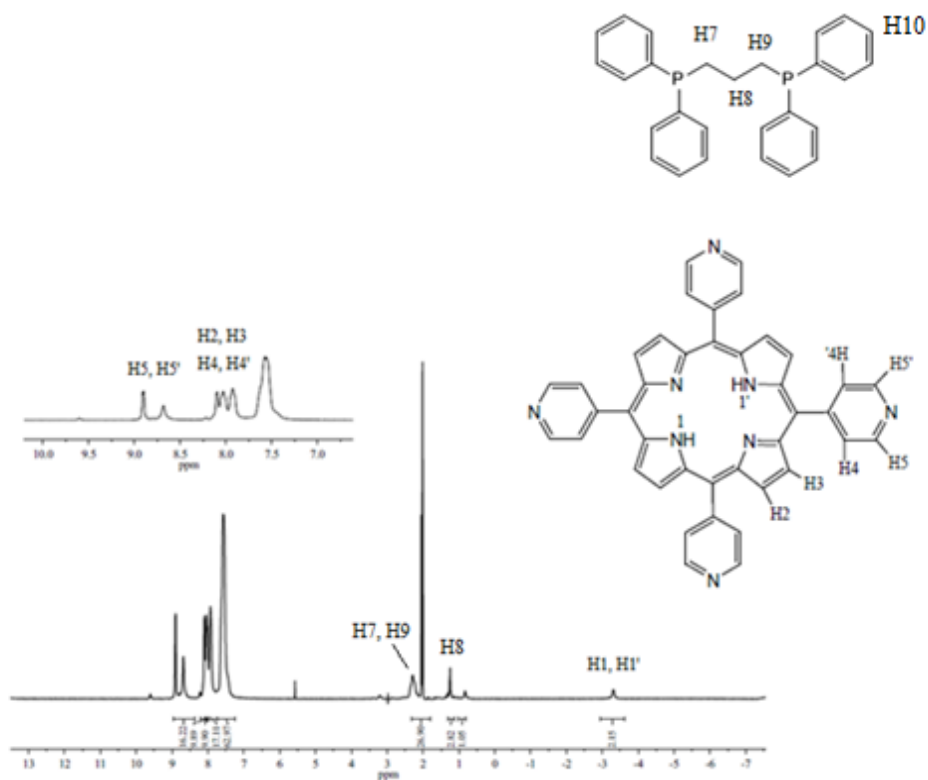
O precursor que contém o ligante dppe apresenta um maior deslocamento químico, quando comparado aos demais, devido à formação de um anel de cinco membros, o que causa uma maior desblindagem dos átomos de fósforo, efeito conhecido como “ring contribution”. Já os precursores que possuem os ligantes dppp ( $\text{pKa} = 4,50$ ), dppb (4,72) e dppf ( $< 3,81$ ) o deslocamento químico passa a estar relacionado com os valores de pKa. Como, a dppp é mais básica que a dppf, esta apresenta um deslocamento químico em uma frequência menor [36, 37].

##### 4.1.4.2. Porphirinas

A partir da técnica de RMN  $^1\text{H}$ , foi possível determinar alguns sinais característicos das porfirinas. No entanto, a atribuição se tornou bastante difícil devido à alta complexidade destes compostos. Como as porfirinas modificadas possuem uma grande quantidade de anéis aromáticos, os sinais estão em uma mesma região do espectro (7-9 ppm) (Figura 4.4).

Os sinais referentes aos hidrogênios do macrociclo tetrapirrólico ligados aos átomos de nitrogênio estão localizados em  $\delta$  -3,26 ppm como um singlete largo (Figura 4.4). Este deslocamento nessa região, indica uma grande blindagem proveniente do efeito de corrente de anel, ou seja, quando um anel aromático é submetido em um campo magnético, os elétrons  $\pi$  circulam de modo a gerar um campo magnético local, o que faz com que a região localizada acima ou abaixo do anel sofra uma grande blindagem, já que nesta região o campo magnético local é contrário ao  $B_0$ .

Além disso, como a TPYP foi utilizada na modificação utilizando os precursores, é possível determinar alguns deslocamentos característicos desta estrutura. Por exemplo, os deslocamentos em 9,1 ppm, se referem aos átomos de hidrogênio que estão próximos ao nitrogênio do anel. O deslocamento em 7,5 ppm, possui uma banda alargada, referente aos hidrogênios presentes nos anéis dos ligantes. As demais atribuições, estão presentes na Tabela 4.9.



**Figura 4. 4:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido para a porfirina  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .

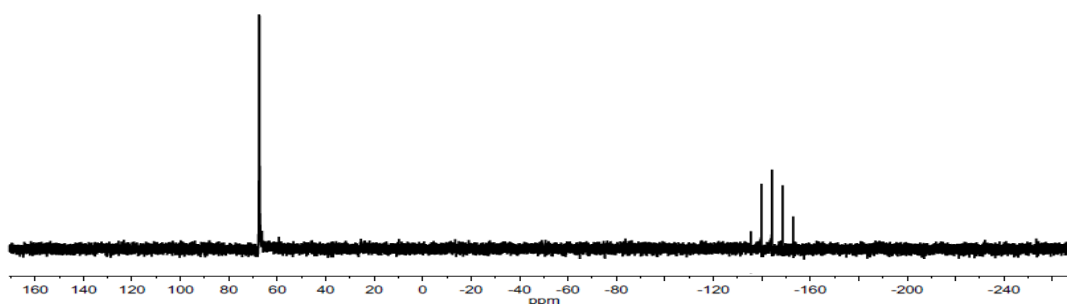
**Tabela 4. 9:** Deslocamentos químicos e atribuição dos possíveis sinais de hidrogênio para a porfirina  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ .

$\delta$ (ppm)	Atribuições
-3,26	H1 e H1'
1,30	H8
2,34	H7 e H9
8,09	H2 e H3
8,09	H4 e H4'
8,95	H5 e H5'
7,63	H10

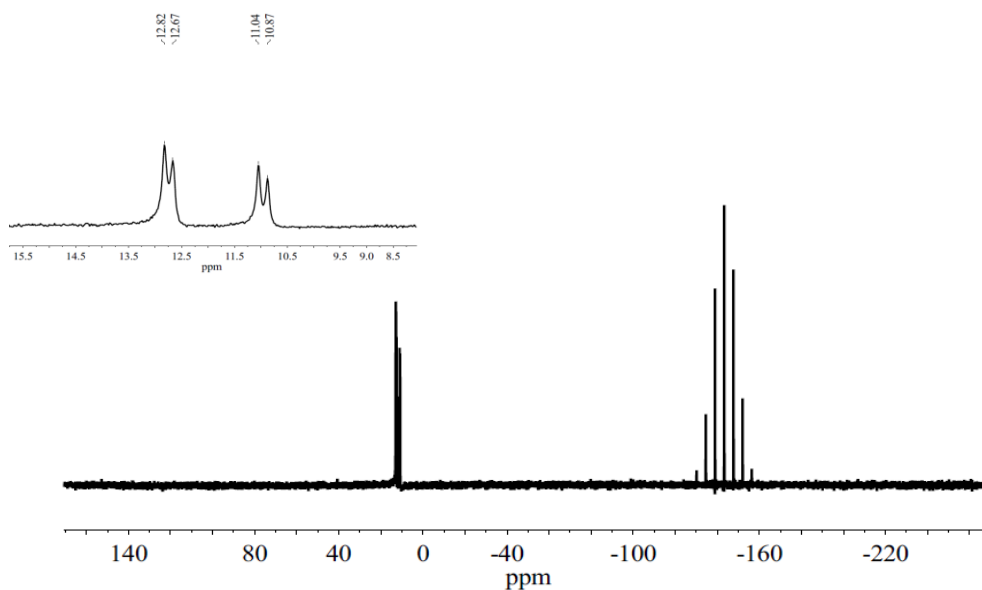
Foi utilizado também para comprovar a estrutura o RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , já que proporciona espectros mais simples para as atribuições. Em relação as porfirinas, para as

$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ ,  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , e  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , os espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  apresentaram dois dubletos, referentes aos átomos de fósforo dos ligantes fosfínicos, que possuem um ambiente químico diferente (Figura 4.6). Isso ocorre, pois um dos átomos de fósforo está *trans* ao átomo de cloro e como o átomo de cloro atrai menos os elétrons da ligação, isto resulta em uma maior blindagem, o que causa um menor deslocamento químico. Já o outro átomo de fósforo está *trans* ao átomo de nitrogênio, que atrai mais os elétrons para si, já que este é  $\pi$  acceptor de elétrons, resultando em uma maior desblindagem deste átomo de fósforo, e um maior deslocamento químico.

A  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  apresentou no espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , um singlete em 68 ppm, indicando que houve uma sobreposição dos dois dubletos que eram esperados [38,39] (Figura 4.5). Os deslocamentos químicos para as porfirinas estão na Tabela 4.10. Além disso, há a presença de um septeto em -144 ppm, designado para o contra-íon  $\text{PF}_6^-$  presente em todas as porfirinas.



**Figura 4. 5:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .



**Figura 4. 6:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .

Como esperado, os dubletos das porfirinas foram levados para regiões de maior frequência em relação aos precursores, pois o nitrogênio localizado no anel da porfirina desblindam os átomos de fósforo mais eficientemente que os cloretos presentes nos precursores, o que é possível constatar nos deslocamentos químicos presentes na Tabela 4.10 [39].

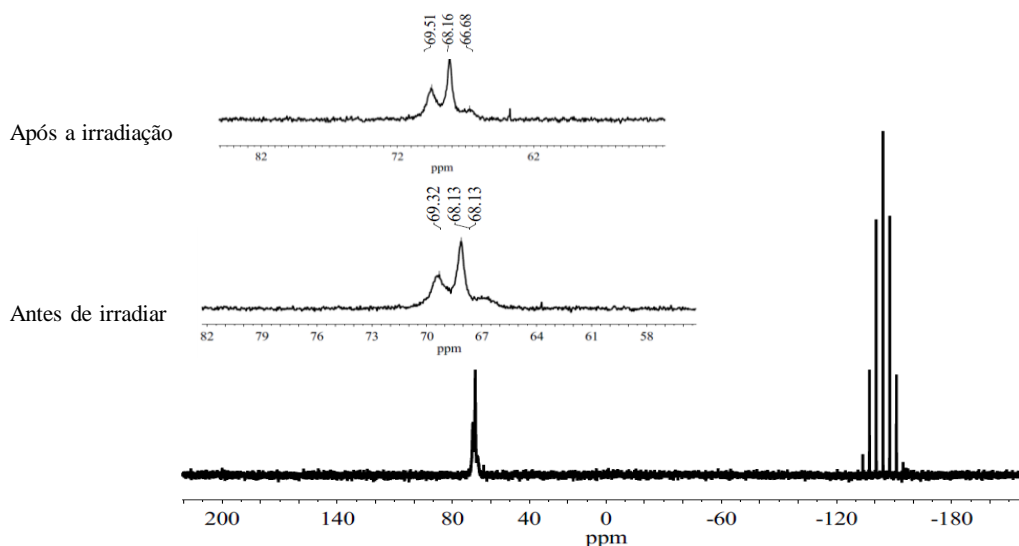
**Tabela 4. 10:** Valores de  $\delta^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (ppm), para as porfirinas e J (Hz).

Porfirina	$\delta^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (ppm)	J (Hz)
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	68,0	-
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	10,9;12,7	10,9
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	34,18; 34,4	35,2
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$	34,3; 37,4	34,3

Com todos os dados referentes a caracterização estrutural dos precursores e das porfirinas, foi possível constatar que se obteve as estruturas desejadas, ou seja, a rota sintética utilizada foi eficaz, além de apresentar um alto rendimento do produto resultante, o que é extremamente interessante, já que se obtém baixos valores de rendimento seja na síntese ou na modificação de macrociclos tetrapirrólicos.

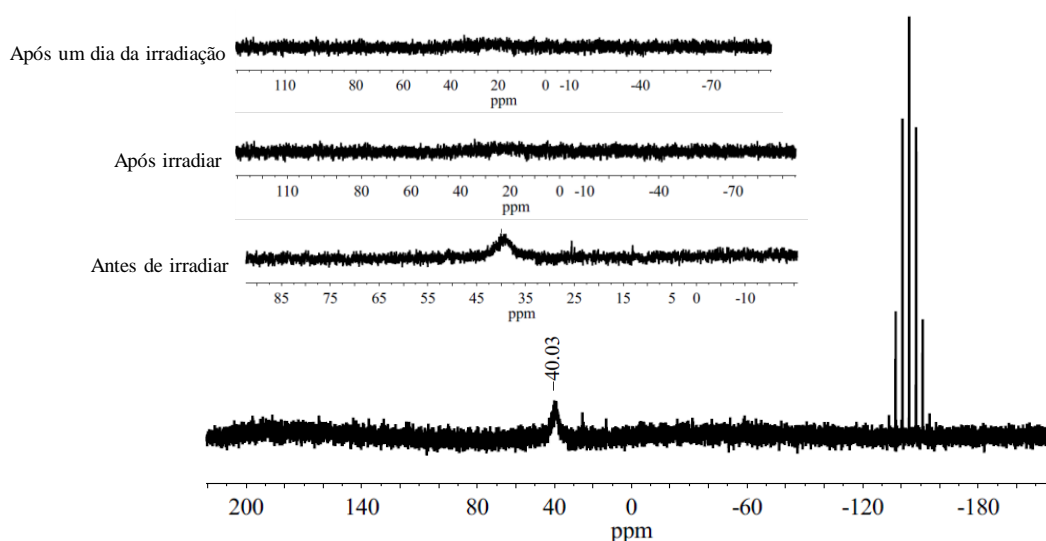
#### 4.1.5. Fotoestabilidade

Para o monitoramento da estabilidade das porfirinas, foram obtidos espectros em DMSO, antes e após a irradiação por 90 min (Figura 4.6). Verificou-se que para todas as porfirinas houve uma modificação do espectro feito em DMSO, quando comparado com os espectros obtidos em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Assim, percebeu-se que o solvente foi capaz de alterar as características físicas dos átomos de fósforo, ocorrendo uma coalescência dos dois dubletos que eram esperados inicialmente. Uma das possibilidades desta ocorrência é a variação no ângulo de cone e de solvatação dos ligantes fosfínicos. Além disso, para compostos fosfínicos o tempo de relaxação de spin pode variar de acordo com o solvente e a temperatura, por causa de mudanças na rotação da ligação de fósforo [40, 41].



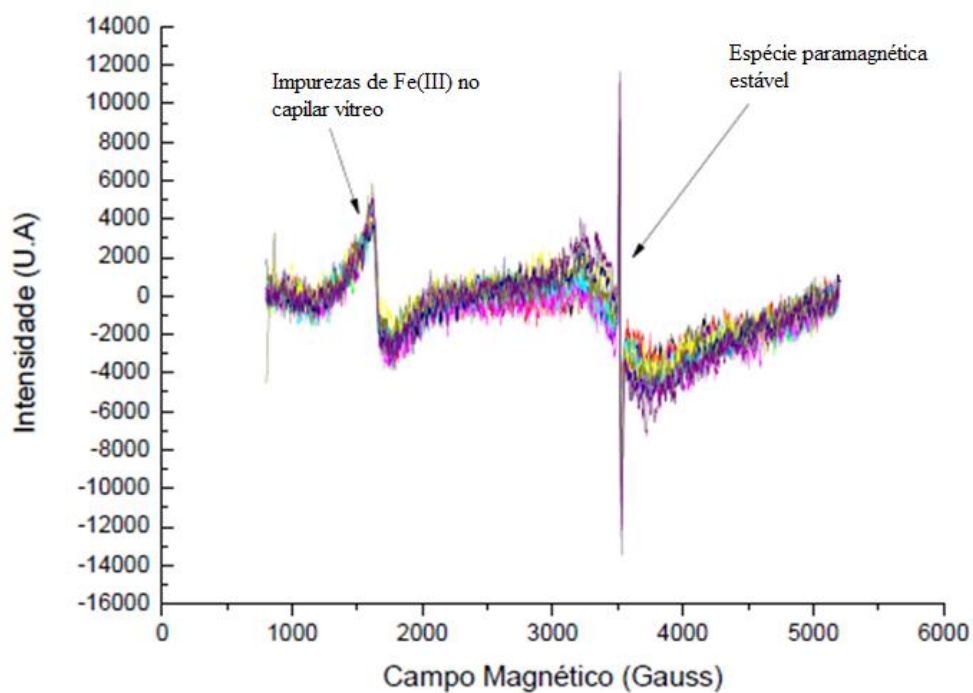
**Figura 4. 7:** Espectros de RMN <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} antes e depois da irradiação por 90 min da {TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, em DMSO<sub>2</sub>-d<sub>6</sub>.

Para as porfirinas {TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub> e {TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, após 90 min de irradiação e o monitoramento após um dia, não houve modificação no espectro de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, sendo, portanto estáveis. Porém, para a {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, houve uma grande modificação no espectro, já que após 90 min, houve o desaparecimento do pico em 40,03 ppm. A medida foi realizada novamente para esta porfirina, após um dia mantida no escuro, e o espectro continuou não apresentando o pico em 40,03 ppm (Figura 4.8). Isso pode ter ocorrido, devido a mudança no estado de oxidação do ferro presente no ligante 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno, que passou de 2+ para 3+.

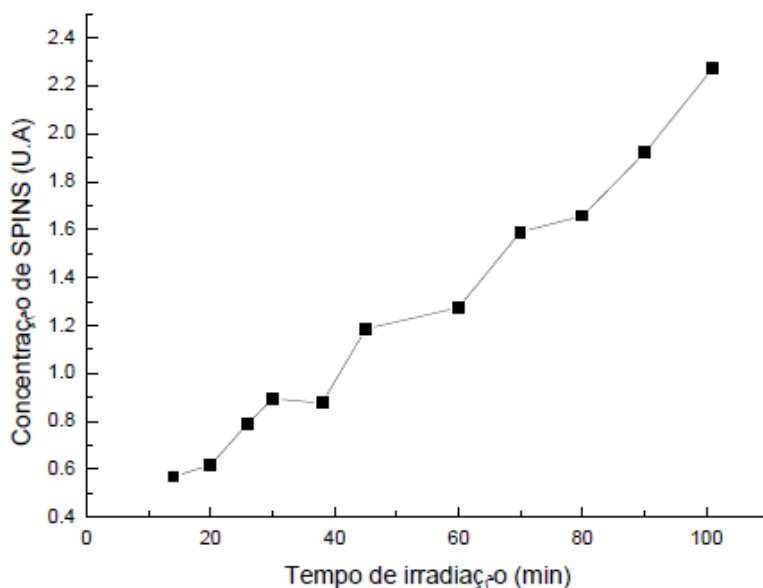


**Figura 4. 8:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  antes e depois da irradiação por 90 min da  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{DMSO}_2\text{-d}_6$ .

Para verificar se de fato, há a formação do Fe (III) na  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , utilizou-se a técnica de RPE, já que nesta é possível verificar a existência de espécies paramagnéticas que não são vistas quando se utiliza o RMN. Primeiro analisou-se somente o precursor  $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$ , já que a sua anexação a estrutura da TPyP, poderia causar alguma alteração nos espectros de RPE. Os espectros (Figura 4.9) exibem transições características de impurezas de Fe (III) estruturadas no tubo de vidro e apresenta a formação de espécie paramagnética ou radical livre estável, com fator  $g = 1.9992$  (62) e largura de linha pico-à-pico  $\Delta B_{pp} = 13,89$  (0,83) Gauss. A cinética de geração desta espécie paramagnética desconhecida é mostrada na Figura 4.10. Como mostrado, a concentração de SPINS gerados em função do tempo de irradiação tem dependência linear. Ademais, não se verificou um aumento na geração de espécie de Fe (III), pois a intensidade de transição na região de impurezas de Fe (III) estruturadas no tubo de vidro porta amostras permanece constante durante todo o processo de irradiação.

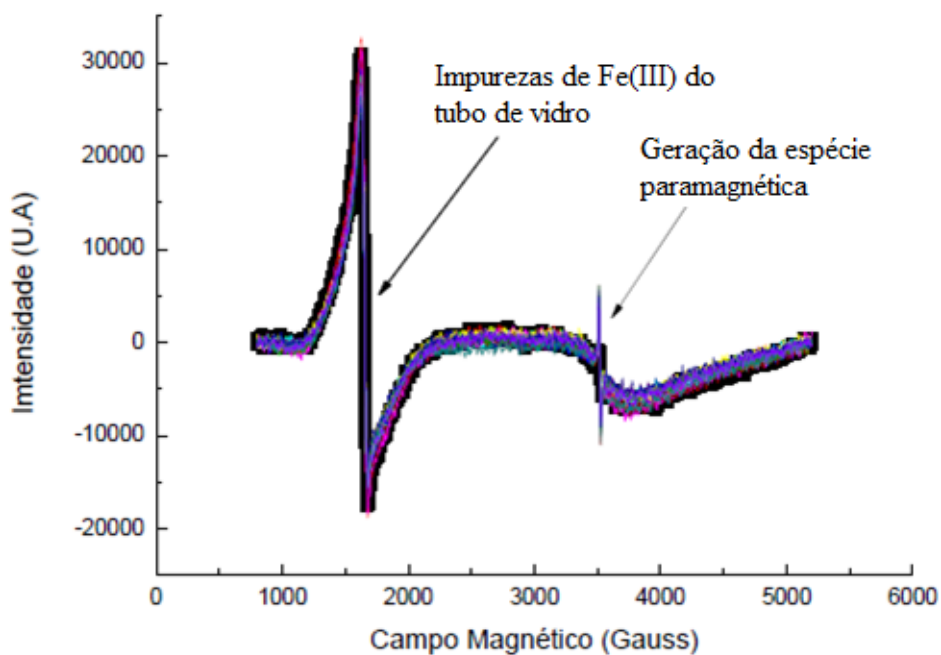


**Figura 4. 9:** Espectros da amostra  $[PdCl_2(dppf)]$  medidos como função do tempo de irradiação.

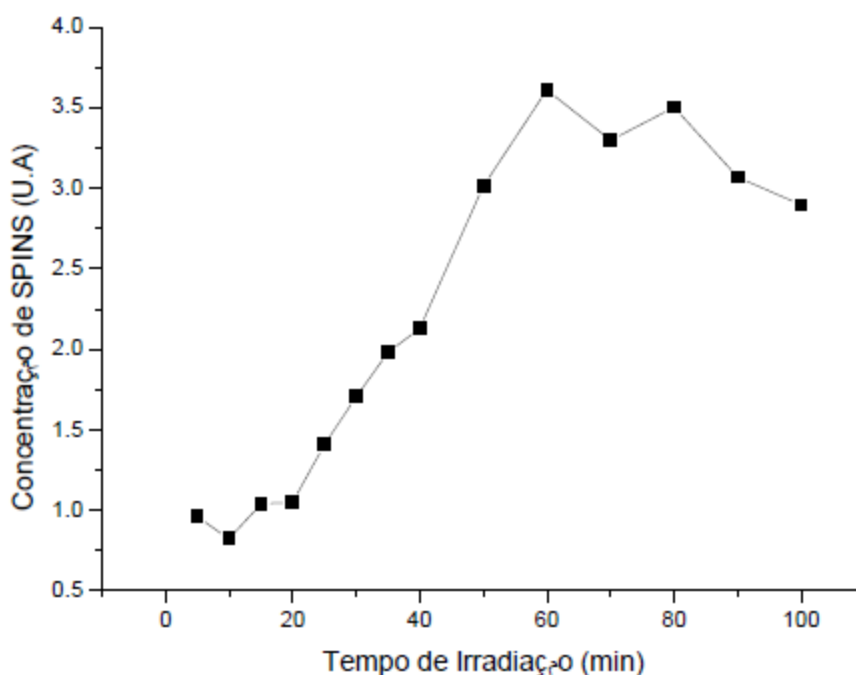


**Figura 4. 10:** Cinética de geração de uma espécie paramagnética desconhecida como função do tempo de irradiação. A concentração de SPINS gerado no processo de irradiação tem dependência linear com o tempo de irradiação.

As Figuras 4.11 e 4.12 mostram os espectros medidos da amostra  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  e a cinética de geração de uma espécie paramagnética desconhecida com fator- $g = 1,9997$  (53) e largura de linha pico-a-pico de  $\Delta B_{pp} = 14,44$  (0,50). Gauss. A amostra foi irradiada durante uma hora e meia e os coletados neste intervalo de tempo. Diferentemente da cinética de geração do precursor a concentração de SPINS aumenta até 60 min de irradiação e a partir de então se verifica um processo de decaimento na geração de SPINS. Similarmente a amostra  $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$ , a intensidade de transição na região de impurezas de Fe (III) estruturadas no tubo de vidro porta amostras permanece constante durante todo o processo de irradiação.



**Figura 4. 11:** Espectros da amostra  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  medidos como função do tempo de irradiação.



**Figura 4. 12:** Cinética de geração de uma espécie paramagnética desconhecida como função do tempo de irradiação. a concentração de SPINS aumenta até 60 min de irradiação e a partir de então se verifica um processo de decaimento na geração de SPINS.

Dessa forma, é possível comprovar que não houve a oxidação do Fe (II), porém outra espécie é formada com o processo de irradiação. O que ocorreu foi a fragmentação do 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno levando a formação do radical ciclopentadienila, que foi verificado através do espectro de EPR, tanto do precursor, como da porfirina. Devido a potência da fonte de irradiação utilizada, foi possível causar a fragmentação, o que ocasionou o seu não aparecimento nos espectros de RMN após o processo de irradiação.

## 4.2. Caracterização fotofísica e fotoquímica

### 4.2.1. Espectroscopia de absorção UV-Visível

A absorção de fótons com frequência na faixa do ultravioleta e visível por moléculas é comumente denominada de absorção eletrônica, já que provoca transições eletrônicas, onde um elétron localizado em um orbital no estado fundamental é promovido até um orbital excitado não ocupado.

O espectro de absorção das porfirinas exibe uma intensa absorção em aproximadamente 400 nm, chamada de banda de Soret ou B e a outra região consiste na faixa entre 450 a 700 nm, conhecida como bandas Q. Esse espectro é bastante característico das porfirinas, sendo explicado pelo modelo dos quatro orbitais de Gouterman.

Para isso Gouterman utilizou como modelo, inicialmente, o espectro de uma metaloporfirina. De acordo com o modelo, as bandas surgem através da promoção de um elétron dos orbitais de maior energia (HOMO), designados como  $a_{2u}$  e  $a_{1u}$  referente a simetria  $D_{4h}$  de uma metaloporfirina, e os dois orbitais vazios de menor energia (LUMO) que possuem simetria  $e_g$ .

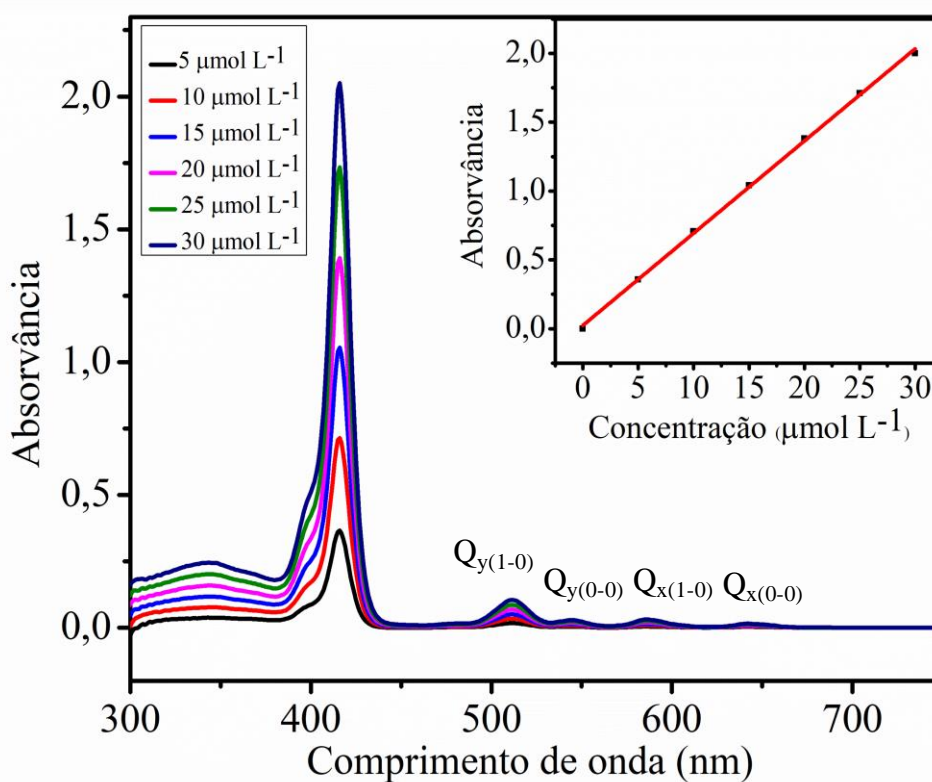
Através de cálculos referentes as densidades eletrônicas sobre todos os átomos do macrociclo tetrapirrólico, foi possível obter uma representação da distribuição da nuvem eletrônica dos quatro orbitais envolvidos.

As transições  $a_{2u} \rightarrow e_g$  e  $a_{1u} \rightarrow e_g$  nas metaloporfirinas, gera estados excitados de simetria  $E_u$ . Esta degenerescência é consequência da equivalência dos dipolos nas direções x e y no plano da molécula. Gouterman estabeleceu que as interações de configuração entre estes estados eram importantes para compreender os espectros eletrônicos das porfirinas. Dessa maneira, a interação resulta em bandas de comprimento de onda e intensidades diferentes. A interação construtiva resulta na banda de maior intensidade (banda de Soret) com menor comprimento de onda, e a interação destrutiva resulta nas bandas que apresentam menor intensidade, que são as bandas Q, com maiores comprimentos de onda [42].

Nas metaloporfirinas, verifica-se somente duas bandas Q, sendo uma delas referente a transição para o estado singleto excitado de menor energia e a outra, a transição envolvendo o nível vibracional  $v_0$  do estado fundamental e o nível  $v_1$  do estado singleto excitado [42].

Para as porfirinas de base livre, a simetria passa a ser  $D_{2h}$ , e os estados  $E_u$  passam a ser não degenerados e desdobram-se em dipolos de transição nas direções x e y. Com isso, surgem duas outras transições, dando ao todo quatro bandas:  $Q_y(1,0)$ ,  $Q_y(0,0)$ ,  $Q_x(1,0)$  e  $Q_x(0,0)$  em ordem decrescente de energia e intensidade [42].

Para o cálculo do valor do  $\epsilon$ , as porfirinas foram solubilizadas em DMSO, cuja concentrações eram de 5, 10, 15, 20, 25 e 30  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . A partir dos espectros de absorvância foi possível calcular os valores de  $\epsilon$  para a banda de Soret e as bandas Q, para todas as porfirinas estudadas (Figura 4.13). O valor de  $\epsilon(\lambda)$ , para um dado comprimento de onda, pode ser obtido pelo coeficiente angular da curva da absorvância  $A(\lambda)$  em função da concentração  $C$ . De acordo com a Lei de Lambert-Beer,  $A(\lambda) = \epsilon(\lambda)Cl$ , onde  $l$  é o caminho óptico da cubeta, o produto  $\epsilon(\lambda)l$  será a inclinação da reta no gráfico  $A(\lambda) \times C$  (inset Figura 4.13). Os valores obtidos de  $\epsilon(\lambda)$  estão apresentados na Tabela 4.11.



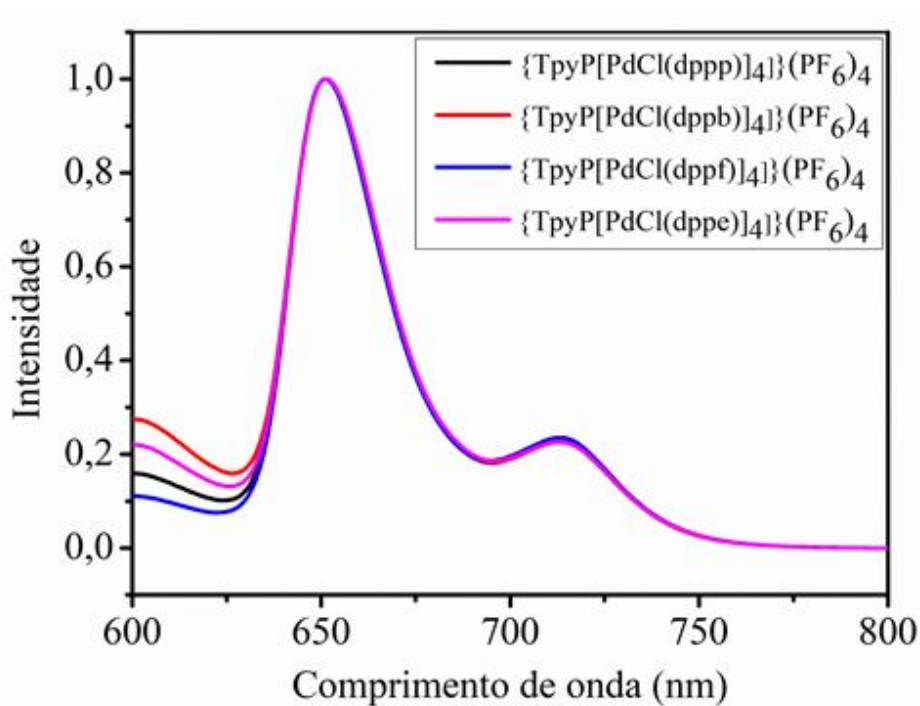
**Figura 4. 13:** Espectro eletrônico de absorção UV-vis da  $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ , em DMSO (caminho óptico: 0,2 cm). O inset refere-se a curva obtida pela relação entre os valores de absorvância da banda de Soret e as diferentes concentrações utilizadas.

**Tabela 4. 11:** Valores de  $\epsilon(\lambda)$  obtidos para as bandas B e Q apresentados em unidades de  $10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ , os respectivos comprimentos de ondas (entre parênteses) em nm.

Porfirinas	B	$Q_{x(1-0)}$	$Q_{y(1-0)}$	$Q_{x(0-0)}$	$Q_{y(0-0)}$
{TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	3,20	0,160	0,463	0,0492	0,0246
	(416)	(511)	(544)	(585)	(643)
{TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,30	0,106	0,302	0,0344	0,0161
	(416)	(510)	(544)	(585)	(641)
{TPyP[PdCl(dppb)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	3,48	0,182	0,506	0,0585	0,0567
	(416)	(510)	(545)	(585)	(641)
{TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,98	0,185	0,508	0,0608	0,0288
	(416)	(510)	(542)	(585)	(639)

#### 4.2.2. Rendimento quântico fluorescência ( $\Phi_f$ ), Tempo de vida do estado tripleto ( $\tau_T$ ) e Rendimento quântico de oxigênio singleto ( $\Phi_\Delta$ )

Espectros de fluorescência são geralmente apresentados como espectros de emissão, que nada mais é do que uma curva de intensidade de fluorescência versus comprimento de onda. O comportamento do espectro de emissão é altamente sensível à estrutura química do composto em solução e da polaridade do solvente. Os espectros referentes as porfirinas, estão representados na Figura 4.14.



**Figura 4. 14:** Espectros de emissão normalizados das porfirinas em DMSO ( $\lambda_{exc} = 511$  nm).

Este espectro surge quando ocorre uma transição de um nível vibracional excitado de menor energia ( $e_g$ ), para um nível vibracional de mais alta energia ( $b_1$ ), e com isso ocorre o aparecimento de uma banda  $Q(0,0)$ , sendo esta a de maior energia. Já as transições que ocorrem para níveis superiores vibracionais sendo designados por  $n$ , originam a banda  $Q(0,n)$ , onde  $n$  pode ser  $0,1,2,\dots$ , sendo esta a banda de menor energia, que possui um formato semelhante a banda  $Q(0,0)$  [43].

Tendo o espectro de emissão e absorção das porfirinas (Figura 4.14), foi possível calcular os valores de  $\Phi_f$  (Tabela 4.12) através da equação 4.1:

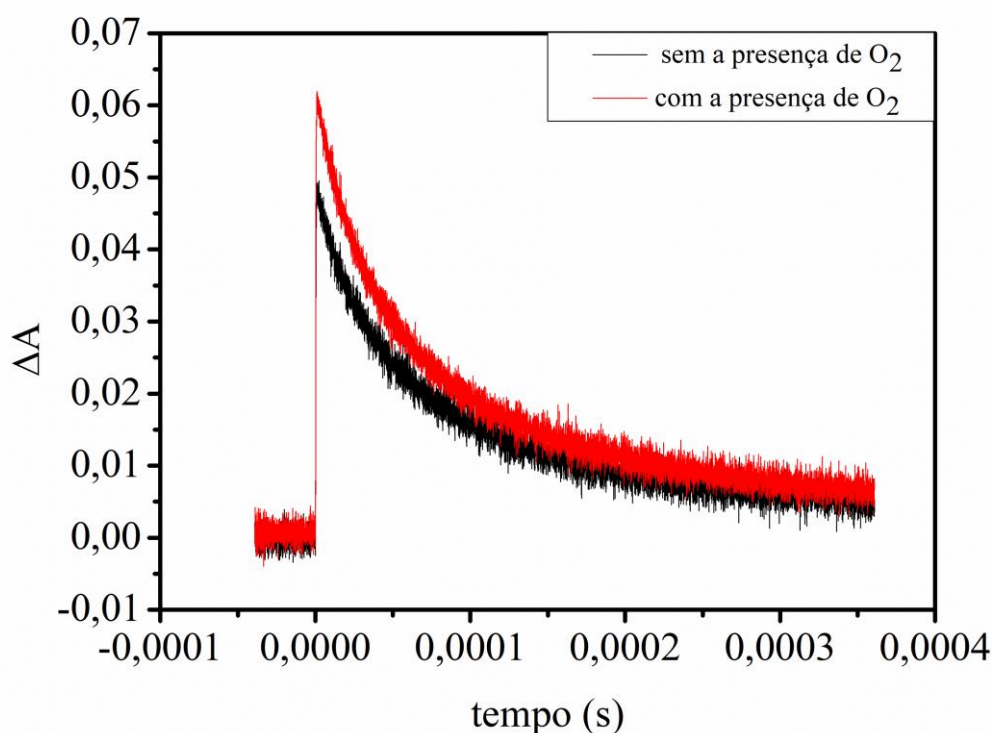
$$\Phi_f = \Phi_f^R \times \frac{I}{I_R} \times \frac{A_R}{A} \text{ (Equação 4.1)}$$

onde  $\Phi_f^R$ , é o rendimento quântico de fluorescência da referência, neste caso, utilizou-se a TPP ( $\Phi_f = 13\%$  em DMSO) [19],  $I$  e  $I_R$  é a integral do espectro de fluorescência do composto e da referência, respectivamente e  $A_R$  e  $A$ , é a absorvância no comprimento de onda de excitação do composto referência e da amostra, respectivamente.

Determinar o tempo de vida do estado tripleto ( $\tau_T$ ) para moléculas fotossensibilizadoras é de extrema importância, já que quanto maior o valor do tempo de

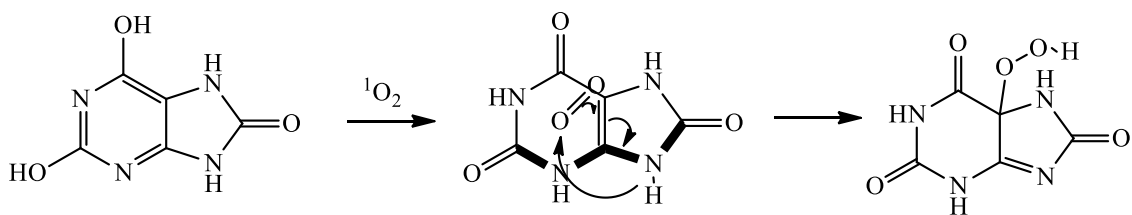
vida, maior é a probabilidade das moléculas estando no estado tripleto transferirem energia para o oxigênio molecular, resultando na formação de espécies altamente citotóxicas.

As curvas de decaimento para as porfirinas foram obtidas na presença e ausência de  $O_2$  (Figura 4.15). Ambas as curvas apresentaram o mesmo comportamento, sendo de uma distribuição exponencial descrita para uma reação de primeira ordem. No entanto, o aumento da concentração de  $O_2$  reduziu o valor do  $\tau_T$ , já que este causa a supressão do estado tripleto (Tabela 4.12).



**Figura 4. 15:** Perfil de decaimento do estado tripleto para  $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$  na presença e ausência de  $O_2$  (caminho óptico: 1,0 cm).

A forma mais utilizada para determinar o  $\Phi_\Delta$  de uma molécula, consiste na utilização de compostos que são capazes de capturar o  $^1O_2$  formado, através da foto-oxidação deste. Neste trabalho, o composto utilizado foi o ácido úrico. Assim, à medida que ocorre a formação do  $^1O_2$ , mediante o processo de excitação da porfirina, este é capturado pelo ácido úrico causando uma diminuição na intensidade da banda de absorção [44]. A partir deste decaimento, é possível quantificar o  $\Phi_\Delta$ . A reação 4.1, representa a foto-oxidação do ácido úrico.



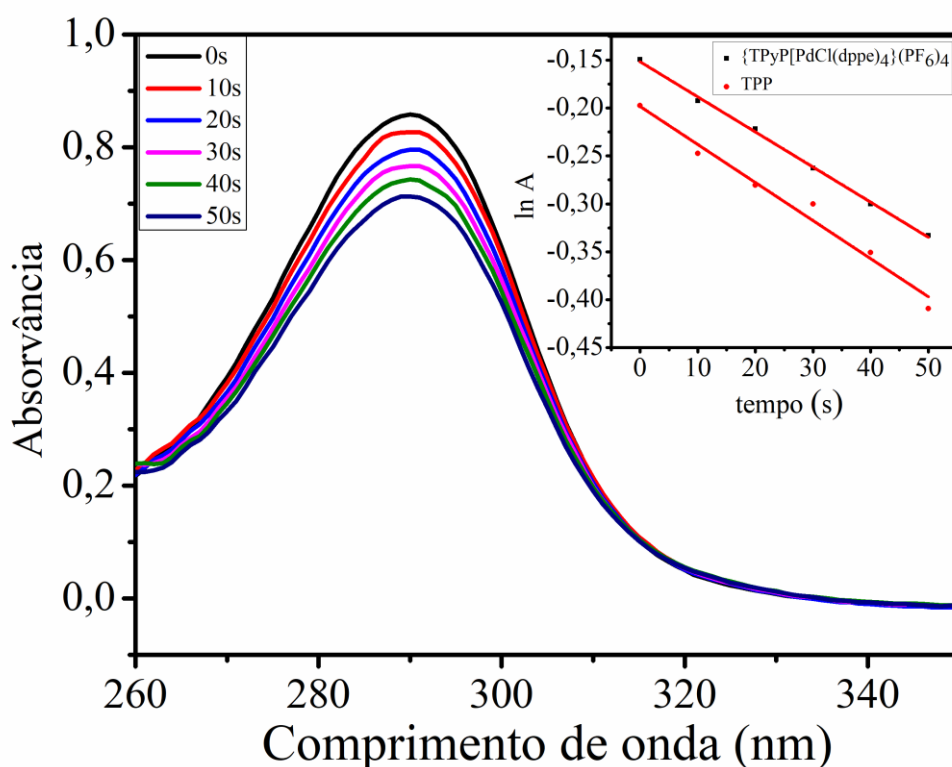
**Esquema 4. 2:** Foto-oxidação do ácido úrico.

Para o cálculo do  $\Phi_{\Delta}$ , utilizou-se a equação abaixo (Equação 4.3):

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^R \times \frac{m}{m_R} \times \frac{1 - 10^{-OD}}{1 - 10^{-OD_R}} \text{ (Equação 4.3)}$$

onde,  $\Phi_{\Delta}^R$  é o rendimento quântico de fluorescência do composto de referência (TPP, cujo  $\Phi_{\Delta} = 52\%$  em DMSO) [19],  $m$  e  $m_R$  é o coeficiente angular da diferença na variação de absorvância do ácido úrico em relação ao tempo de irradiação do composto de referência e da amostra, respectivamente e  $OD$  é o fator de correção da absorção.

Com os coeficientes angulares obtidos pelos gráficos que relacionam o  $\ln A$  versus o tempo (Figura 4.16), realizou-se os cálculos utilizando a Equação 4.3 e obteve-se os valores de  $\Phi_{\Delta}$  dos compostos mostrados na Tabela 4.12.



**Figura 4. 16:** Degradação do ácido úrico, irradiado com um laser 532 nm. O *inset* refere-se à cinética de degradação das porfirinas TPP e  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})_4\}(\text{PF}_6)_4$  em DMSO (caminho óptico: 1,0 cm).

**Tabela 4. 12:** Valores de  $\Phi_f$ ,  $\Phi_\Delta(\%)$  e  $\tau_T$  ( $\mu\text{s}$ ).

Porfirinas	$\Phi_f$	$\Phi_\Delta$	$\tau_T$	$\tau_T$
			(sem a presença de $\text{O}_2$ )	(com a presença de $\text{O}_2$ )
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})_4\}(\text{PF}_6)_4$	0,06	50,9	73,37	69,12
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})_4\}(\text{PF}_6)_4$	0,054	39,5	217,7	116,1
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})_4\}(\text{PF}_6)_4$	0,047	22,3	73,17	72,41
$\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})_4\}(\text{PF}_6)_4$	0,018	2,80	31,73	28,03

Com os valores calculados de  $\Phi_f$ , pode-se verificar que todas as porfirinas apresentaram um valor inferior a porfirina utilizada como estrutura para a modificação com os ligantes fosfínicos (TPyP  $\Phi_f = 0,07$ ) [45]. Acreditamos que essa redução no  $\Phi_f$  possa estar associada ao aumento estrutural das porfirinas devido a adição dos grupos periféricos. A presença dos grupos periféricos pode gerar uma redução da rigidez

estrutural favorecendo a perda de energia de excitação por meio do processo não radiativo de conversão interna, reduzindo assim a eficiência do processo de fluorescência. Nesse sentido, pode-se observar que as porfirinas que possuem maior semelhança estrutural,  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ ,  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  e  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , apresentam valores relativamente próximos de  $\Phi_f$ . No entanto, a porfirina  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , que é mais volumosa devido a presença do 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno, apresenta o menor valor de  $\Phi_f$ . Esse mesmo efeito fica mais evidente nos valores do rendimento quântico de oxigênio singlete e no tempo de vida do estado triplete. Nesse caso, um ligeiro aumento na estrutura das porfirinas representa uma significativa redução nos valores de  $\Phi_\Delta$  ( $\text{TPyP } \Phi_\Delta = 76\%$ ) [45], e novamente a presença do ferroceno leva a uma maior redução no valor de  $\Phi_\Delta$  e  $\tau_T$  [46,49].

### 4.3. Coeficiente de partição

A lipofilicidade das porfirinas está relacionada com a capacidade de captação celular e conseqüentemente, a capacidade do FS em eliminar algum alvo específico. A afinidade das porfirinas por membranas celulares pode ser determinada a partir do cálculo do log P, utilizando um sistema n-octanol/água que é um bom simulador para a interface membrana/água. A lipofilicidade é uma das propriedades mais importantes, pois está diretamente relacionada com a absorção, distribuição, potência e eliminação na célula. Os fármacos que possuem maiores valores de lipofilicidade, tendem a apresentar maior taxa de permeabilidade pelas membranas hidrofóbicas, apresentando melhor perfil de biodisponibilidade, que pode resultar no aumento de seus efeitos farmacológicos.

A porfirina que apresentou o maior log P e conseqüentemente possui uma maior afinidade por membranas celulares foi a  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , pois os substituintes possuem uma maior quantidade de átomos de carbono, e conseqüentemente uma maior hidrofobicidade [27]. Utilizando a equação 3.1 foi possível calcular os valores de log P. (Tabela 4.13) Dessa forma, o log P cresce na ordem:  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4 > \{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4 > \{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4 > \{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , já que nesta ordem há um aumento do número de átomos de carbono nos substituintes periféricos.

**Tabela 4. 13:** Valores de log P.

Porfirinas	Log P
{TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,15
{TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,20
{TPyP[PdCl(dppb)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,56
{TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	3,10

## 4.4. Estudos da interação das porfirinas com o DNA

### 4.4.1. Titulações espectroscópicas

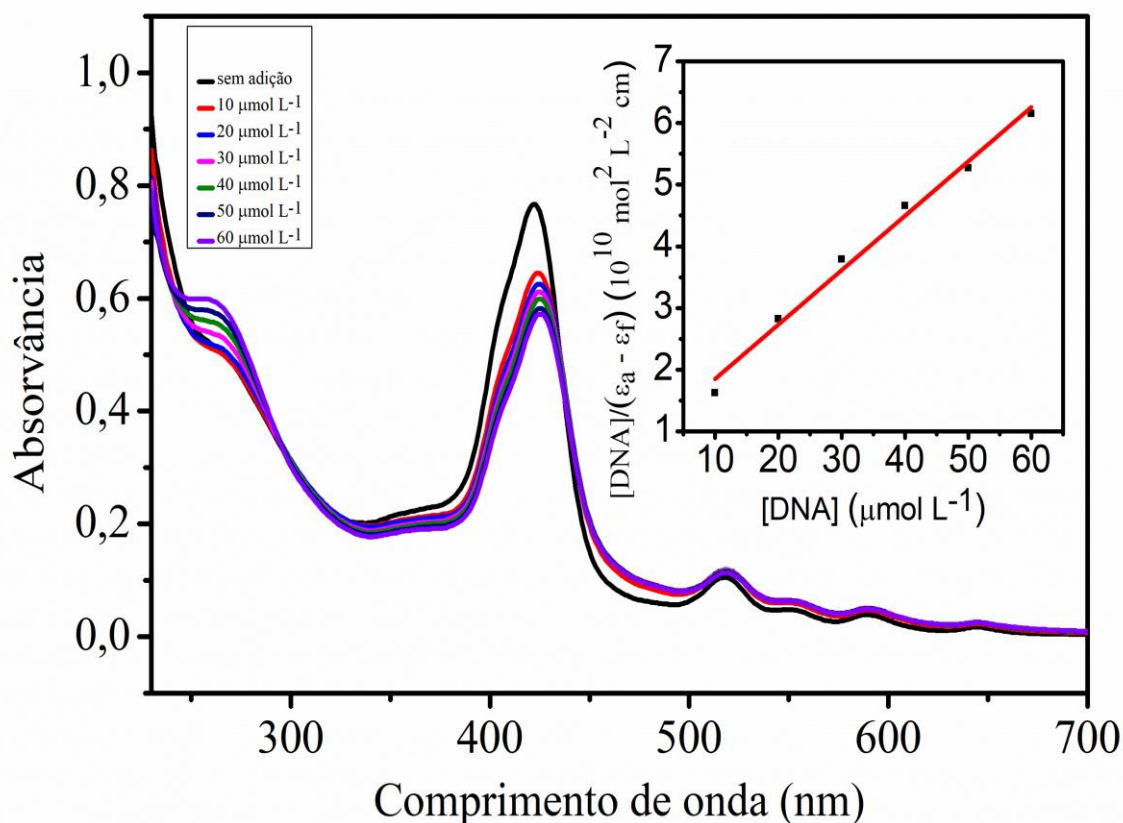
O DNA possui uma função primordial nos processos biológicos, já que é nele que se encontra os códigos de informação hereditária para a síntese de proteínas e enzimas, que controlam a estrutura e a função celular. Dessa forma, o desenvolvimento de moléculas que possam ser utilizadas como fármacos devido a interação com o DNA, tem sido bastante explorado. Estas moléculas podem interagir não somente com proteínas que estão associadas ao DNA bem como ligar-se diretamente a hélice do DNA, resultando na atividade das enzimas e proteínas e como consequência nas funções da célula [51].

Sabendo disso, um dos objetivos deste trabalho foi avaliar o comportamento das porfirinas frente ao *ct*-DNA (*cal*f *thymus*-DNA) utilizando de variadas técnicas que permitem direcionar o estudo para um tipo de interação específica.

Uma das técnicas monitoramento da interação das porfirinas com o DNA foi a utilização da espectroscopia de absorção na região do UV-vis, sendo um dos métodos mais utilizados e eficazes para determinar este tipo de interação. De maneira geral, quando ocorre a interação de moléculas com o DNA e a formação de um novo complexo, ocorre uma modificação na intensidade e na posição das bandas do espectro. Dessa forma, utilizou-se uma concentração fixa de porfirina e adicionou-se alíquotas da solução de DNA. Duas características podem ser observadas no espectro, o efeito “hipocrômico” e o efeito “hipercrômico”, que surgem graças a alteração na hélice do DNA. O hipercromismo ocorre quando há uma desestabilização da estrutura secundária do DNA, enquanto o hipocromismo se origina da estabilização da estrutura do DNA, seja por efeitos eletrostáticos ou da intercalação das moléculas [51].

Assim, na Figura 4.17, foi obtido o espectro de absorção para a porfirina {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>. Percebe-se um ponto isobéstico em aproximadamente 460 nm que indica a presença de duas formas de porfirinas: a forma livre e as porfirinas que se ligam ao DNA. Os espectros mostraram um pequeno desvio na banda de Soret para a região do vermelho (efeito batocrômico), com isso, foi possível calcular o quanto estes compostos se deslocaram para a região do vermelho ( $\Delta\lambda$ ) (Tabela 4.14) [51,52].

Conclui-se que na região entre 230 e 300 nm, houve um efeito hiperocrômico ocasionado pelo aumento dos grupos cromóforos que estão presentes na solução. Observou-se uma diminuição na intensidade de absorção, na região de 400-450 nm, caracterizando um efeito hipocrômico, causado devido a alterações na energia de transição eletrônica, resultante da interação entre a porfirina e o DNA, a porcentagem de diminuição desta banda foi calculada (Tabela 4.14) para todos os compostos, dando valores característicos de interações consideradas fortes, no caso, as interações intercalativas. O efeito hipocrômico ocorre devido a estabilização do DNA através de uma forte interação, como a intercalação, o que já é de se esperar, pois a porfirina tem uma grande quantidade de anéis aromáticos, além de átomos de nitrogênio protonados. Além disso, o efeito hipocrômico também pode ser atribuído à interação de empilhamento  $\pi$ - $\pi^*$  entre a porfirina e o orbital  $\pi$  dos pares de bases do DNA [51,52]. Além disso, com os valores de  $\Delta G$  obtidos, esta interação que ocorre entre a porfirina e o DNA é espontânea.



**Figura 4. 17:** Espectros de absorção na região do UV-Vis do complexo {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub> com a adição de sucessivas alíquotas de DNA.

Utilizando a equação de *Neighbor-Exclusion* [50], é possível determinar a afinidade entre complexo e DNA por meio do cálculo da constante de ligação ( $K_b$ ) que se baseia nos máximos de absorção em um determinado comprimento de onda para cada composto.

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon a - \epsilon f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon b - \epsilon f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon b - \epsilon f)} \quad (\text{Equação 4.4})$$

Onde,

[DNA] = concentração do DNA nas adições;

$\epsilon_a$  = coeficiente de extinção aparente (razão entre a absorvância e a respectiva concentração da porfirina);

$\epsilon_f$  = coeficiente de extinção da porfirina livre em solução (razão entre a absorvância antes de adicionar o DNA e a respectiva concentração da porfirina);

$\epsilon_b$  = coeficiente de extinção do composto ligado ao DNA.

Os dados obtidos, permitem a obtenção de uma reta com uma inclinação de  $1/(\epsilon_b - \epsilon_f)$  e uma interceptação y de  $1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)$ , onde  $K_b$  é determinado a partir da razão entre a inclinação e a interceptação.

Em relação aos valores de  $K_b$ , as porfirinas apresentaram valores consideravelmente altos, da ordem de  $10^5$  (Tabela 4.14), o que indica que as porfirinas se ligam fortemente a estrutura do DNA devido ao número de cargas positivas. Dessa forma, não se pode descartar a possibilidade da ocorrência de interações eletrostáticas. Assim, experimentos complementares foram realizados para comprovar o tipo de ligação que realmente pode ocorrer [45,47].

**Tabela 4. 14:** Valores de  $K_b$  ( $10^5 \text{ mol}^2 \text{ L}^{-2} \text{ cm}$ ), H (%),  $\Delta\lambda$  (nm) e  $\Delta G$  (KJ mol L<sup>-1</sup>) a 25°C

Porfirinas	$K_b$	H (%)	$\Delta\lambda$ (nm)	Energia livre ( $\Delta G = -RT\ln K$ )
{TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	0,3	20,98	2,33	-252,03
{TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	0,9	32,56	1,16	-278,89
{TPyP[PdCl(dppb)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	1,0	29,30	3,49	-281,47
{TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,0	25,03	2,32	-298,41

A {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub> é a que possui o maior valor de  $K_b$ , isso porque o design no ligante 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno é baseado no fato de que a distância entre os dois anéis ciclopentadienil do ferroceno, 3.3 Å [53] está próximo da distância entre dois anéis aromáticos empilhados entre si. Além disso, é sabido que o sulco menor de DNA pode acomodar anéis aromáticos empilhados. Portanto, era esperado que os derivados do 1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno pudessem ser um novo tipo de moléculas de ligação ao DNA se anéis aromáticos adequadamente projetados.

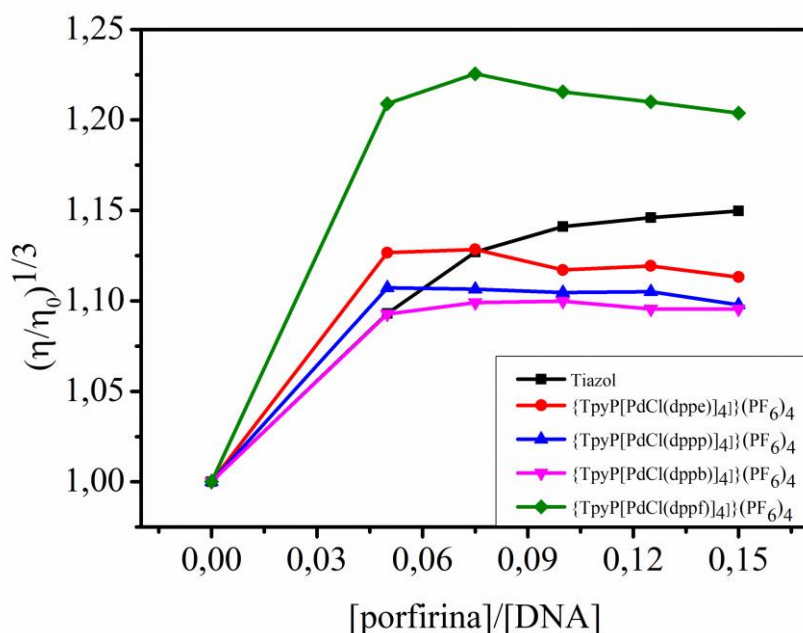
#### 4.4.2. Medidas de viscosidade

A medida de viscosidade, é um dos métodos que podem ser utilizados para determinar o modo de ligação do composto com o DNA [53]. Além disso, com esta técnica pode se diferenciar as interações intercalativas das interações não-intercalativas.

Quando um composto se intercala a hélice do DNA, ocorre uma separação dos pares de bases para acomodar a moléculas que está se ligando na hélice, ocorrendo um aumento da estrutura do DNA, refletindo em um aumento da viscosidade. Já a diminuição da viscosidade ocorre quando o composto que se liga ao DNA leva a sua flexão. As interações covalentes ocasionam a fragmentação do DNA, devido a ligação da porfirina ao grupo fosfato levando uma diminuição da viscosidade. Já as interações eletrostáticas não causam mudança no perfil do gráfico de viscosidade, já que estas interações ocorrem somente na superfície do DNA, não tendo uma alteração considerável na estrutura do DNA [54].

Assim, a medida é feita utilizando uma solução com uma concentração fixa de DNA, variando a concentração do composto, neste caso de porfirina, podendo ocorrer a variação da viscosidade em uma solução de DNA. Construindo um gráfico  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  (onde  $\eta$  e  $\eta_0$  são as viscosidades específicas da solução de DNA, na presença e ausência das porfirinas, respectivamente) vs.  $[\text{complexo}]/[\text{DNA}]$ , com isso obtém-se uma curva da interação que ocorre.

No gráfico obtido para as porfirinas (Figura 4.18) percebeu-se que inicialmente houve uma elevação da viscosidade, e esta atingiu uma constância. Assim, como houve um aumento da viscosidade, pode-se dizer que em partes ocorre a interação de intercalação. Esta interação, permite o aumento da separação de pares de bases adjacentes, além de uma distorção na hélice. Como dito anteriormente, para que esta interação ocorra é necessário que os compostos possuam carga positiva para que as interações eletrostáticas possam ocorrer entre a molécula intercalada e o DNA carregado negativamente.



**Figura 4. 18:** Gráfico de viscosidade para as porfirinas e o tiazol.

#### 4.5. Ensaios de citotoxicidade

As porfirinas sintetizadas foram submetidas a ensaios de fototoxicidade e citotoxicidade frente à linhagem celular de câncer de mama metastático (MDA-MB231), e a linha de câncer de mama, sadia MCF-10A. Para isso, os valores de IC<sub>50</sub> foram obtidos para as células na presença das porfirinas tanto irradiadas quanto no escuro, conforme apresentado na tabela 4.15 e descrito na seção 3.8.

**Tabela 4. 15:** Valores médios de IC<sub>50</sub>.

Composto	MDA-MB231	MCF-10A	IS*	MDA-MB231 (irradiada)
{TPyP[PdCl(dppe)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	3,27 ± 0,01	4,90 ± 0,08	1,49	9,88 ± 0,35
{TPyP[PdCl(dppp)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	1,33 ± 0,08	1,43 ± 0,10	1,07	3,08 ± 1,64
{TPyP[PdCl(dppb)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	2,66 ± 0,03	3,13 ± 0,03	1,18	1,86 ± 0,43
{TPyP[PdCl(dppf)] <sub>4</sub> }(PF <sub>6</sub> ) <sub>4</sub>	3,78 ± 0,02	6,49 ± 0,69	1,71	0,0021±0,0004
<b>Cisplatina</b>	2.43 ± 0.20	29.45 ± 0.85	12.12	-----

\*IS = IC<sub>50</sub>(MCF-10A)/IC<sub>50</sub>(MDA-MB231)

Os complexos derivados da porfirina exibiram valores de IC<sub>50</sub> similares ao apresentado pela cisplatina, na célula de mama MDA-MB231, entretanto, com respeito à célula de mama não tumoral, MCF-10A, os mesmos foram mais citotóxicos que o fármaco comercial, de forma que os valores de índice de seletividade foram bem mais baixos para as porfirinas que o apresentado pela cisplatina. Ressalte-se também que os valores de IC<sub>50</sub> obtido para as porfirinas sob irradiação não são conclusivos, já que os compostos não são estáveis sob a irradiação utilizada neste trabalho, como mostram os espectros de RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}.

Os fotossensibilizadores se acumulam nas células tumorais, devido principalmente a maior permeabilidade da neovasculatura do tumor. Estes são retidos seletivamente devido ao baixo valor de pH e à drenagem linfática mal desenvolvida dos tumores. O transporte de fotossensibilizadores dentro das células pode ocorrer por difusão passiva e, em casos particulares, também por transporte ativo mediado [55, 56].

Uma vez chegado dentro da célula, os fotossensibilizadores se localizam preferencialmente em organelas específicas e membranas celulares dependendo de suas propriedades físico-químicas, como mudança, anfifilicidade e coeficientes de partição. Assim, mesmo que determinadas porfirinas mostraram uma alta produção de <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, deve-se levar em consideração as outras propriedades calculadas. Um exemplo disso é a porfirina {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, que apresentou um baixo Φ<sub>Δ</sub>, porém possui um alto valor de log P, além de uma alta afinidade com o DNA, o que resultou em valores de IC<sub>50</sub> menores em algumas linhagens celulares [55,56]

Não se pode afirmar que as porfirinas causam a morte celular por um tipo de mecanismo específico, já que, para isto, é necessário determinar onde o fotossensibilizador se localiza dentro da célula, o que, no momento, ainda não foi feito neste trabalho. Já que para esta determinação deve-se realizar métodos imagéticos sensíveis, como: imagens de fluorescência do fotossensibilizador em meio biológico, tomografia computadorizada de raios-X, tomografia por emissão de pósitrons, dentre outros [55,56].

## 5. Conclusões

Neste trabalho obteve-se porfirinas inéditas através da modificação da porfirina TPyP, com complexos de paládio, obtendo as seguintes composições: {TPyP[PdCl(dppe)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppp)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, {TPyP[PdCl(dppb)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub> e {TPyP[PdCl(dppf)]<sub>4</sub>}(PF<sub>6</sub>)<sub>4</sub>, que foram confirmadas através das caracterizações estruturais feitas: ressonância magnética nuclear <sup>31</sup>P(<sup>1</sup>H), <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C(<sup>1</sup>H), HSQC e HMBC, IV, análise elementar e difração de raios X de monocristal.

As caracterizações fotofísicas e fotoquímicas foram feitas a partir da análise por espectroscopia de absorção nas regiões do ultravioleta visível, para a determinação do coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ ), rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_f$ ), rendimento quântico de oxigênio singlete ( $\Phi_\Delta$ ) e tempo de vida do estado tripleto ( $\tau_T$ ).

Todas as porfirinas apresentaram menores valores de  $\Phi_f$  e  $\Phi_\Delta$  quando comparadas a TPyP, o que indica que a presença dos grupos periféricos pode gerar uma redução da rigidez estrutural favorecendo a perda de energia de excitação por meio do processo não radiativo de conversão interna, reduzindo assim a eficiência do processo de fluorescência e da formação do oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Através da técnica de Flash-fotólise, foi confirmar a formação de estados tripletos e determinar o tempo de vida de todas as amostras.

A lipofilicidade e a interação com o DNA foi verificada, indicando que todas as porfirinas são lipofílicas, apresentando afinidade pelo meio biológico. Além disso, com as medidas de viscosidade, foi possível fazer observações referentes ao tipo de ligação das porfirinas pelo DNA. Como houve um aumento da viscosidade, pode-se dizer que a interação de intercalação tem efeito preponderante, porém as interações eletrostáticas também ocorrem, já que as porfirinas apresentam carga positiva e a estrutura do DNA apresenta carga negativa.

Os testes biológicos foram realizados em duas linhagens celulares: MDA-MB231 e MCF-10A. Os experimentos foram feitos no escuro e na presença de irradiação, para determinar a eficiência fotodinâmica dos compostos sintetizados. Os complexos derivados da porfirina exibiram valores de IC<sub>50</sub> similares ao apresentado pela cisplatina, na célula de mama MDA-MB-231, entretanto, com respeito à célula de mama não tumoral, MCF-10A, os mesmos foram mais citotóxicos que o fármaco comercial, de forma que os valores de índice de seletividade foram bem mais baixos para as porfirinas que o apresentado pela cisplatina.

Como etapa futura, pretende-se realizar novos testes biológicos com diferentes linhagens celulares, além de determinar qual estrutura é formada quando os compostos sofrem irradiação, para compreender o processo de citotoxicidade.

## 6. Referências

- [1] J. F. Kelvin, L. B. Tyson, “100 Questions and Answers About Cancer Symptoms and Cancer Treatment Side Effects”. *Jones and Bartlett Publishers*. Vol. 2, pp 2 (2011);
- [2] M. C. Hulvat, “Cancer Incidence and Trends”. *Surg Clin N Am*. (2020);
- [3] INCA - Instituto Nacional do Câncer - Estimativa 2016, Incidência de câncer no Brasil - INCA, 2020. p. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2020/estimativa-2020.asp>>, acessado em 05/06/2020;
- [4] S. Yanoa, S. Hirohara, M. Obata, Y. Hagiya, S. Ogura, A. Ikeda, H. Kataoka, M. Tanaka, T. Joh, “Current states and future views in photodynamic therapy”. *J. of Photoc. Photob. C*. Vol. 12, pp. 46-67 (2011);
- [5] O. Raab, “Über die Wirkung fluorizierender Stoffe auf Infusorien”. *Zeit Biol*. Vol. 39, pp. 524-546 (1900);
- [6] R. R. Allison, C. H. Sibata, “Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review”. *Photodiagn. Photodyn. Ther*. Vol. 7, pp. 61-75 (2010);
- [7] P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, P. Mroz, D. Nowis, J. Piette, B. C. Wilson, J. Golab, “Photodynamic Therapy of Cancer: An Update”. *A Cancer J. Clin*. Vol. 61, pp. 250-281 (2011);
- [8] J. M. Dabrowski, B. Pucelik, A. Regiel-Futyra, M. Brindell, O. Mazuryk, A. Kyzioł, G. Stochel, W. Macyk, L. G. Arnaut, “Engineering of relevant photodynamic processes through structural modifications of metallotetrapyrrolic photosensitizers”. *Coord. Chem. Rev*. Vol. 325, pp. 1-35 (2016);
- [9] I. J. Macdonald, T. J. Dougherty, “Basic principles of photodynamic therapy”. *J. Porphyrins Phthalocyanines*. Vol. 5, pp. 105-129 (2001);
- [10] C. Donohoe, M. O. Senge, L. G. Arnaut, L. C. Gomes-da-Silva, “Cell death in photodynamic therapy: From oxidative stress to anti-tumor Immunity” *BBA - Reviews on Cancer*. Vol. 1872, pp. 188308 (2019);

- [11] C. A. Morton, L. R. Braathen, “[] Daylight photodynamic therapy for actinic keratoses”. *Am. J. Clin. Dermatol.*, Vol. 19, pp. 647-656 (2018);
- [12] S. Kwiatkowski, B. Knap, D. Przystupski, J. Saczko, E. Kędzierska, K. Knap-Czop, J. Kotlińska, O. Michel, K. Kotowski, J. Kulbackac, “Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations”. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 106, pp. 1098-1107 (2018);
- [13] K. Shanmugapriya, H. W. Kang, “Engineering pharmaceutical nanocarriers for photodynamic therapy onwound healing: Review”, *Materials Science & Engineering C*. Vol. 105, pp. 110110 (2019);
- [14] W. M. Sharman, C. M. Allen, J. E. van Lier, “Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications”. *Therapeutic focus*. Vol. 4 (1999);
- [15] J. M. Gottfried, “Surface chemistry of porphyrins and phthalocyanines”. *Surface Science Reports*, Vol. 70, pp.259-379 (2015);
- [16] I. A. Abdulaeva, K. P. Birin, A. Bessmertnykh-Lemeune, A. Y. T. Yulia G. Gorbunova, “Heterocycle-appended porphyrins: synthesis and challenges”. *Coord. Chem. Rev.*, Vol. 407, pp. 213108 (2020);
- [17] B. Rosenberg, “Platinum Complexes for the Treatment of Cancer: Why the Search Goes On”. *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, p. 3 (1999);
- [18] M. N. Alam, F. Huq, “Comprehensive review on tumour active palladium compounds and structure–activity relationships”. *Coord. Chem. Rev.*, Vol. 316, pp. 36-67 (2016);
- [19] N. Mirzadeh, T. S. Reddy, S. K. Bhargava, “Advances in diphosphine ligand-containing gold complexes as anticancer agentes”. *Coord. Chem. Rev.*, Vol. 388, pp. 343-359 (2019);
- [20] E. Sletten, N. A. Froystein, "Sequence - Selective Binding of Transition Metal Complexes to DNA". *Metal Complex-DNA Interactions*, Cap. 1, pp. 3 (2009);

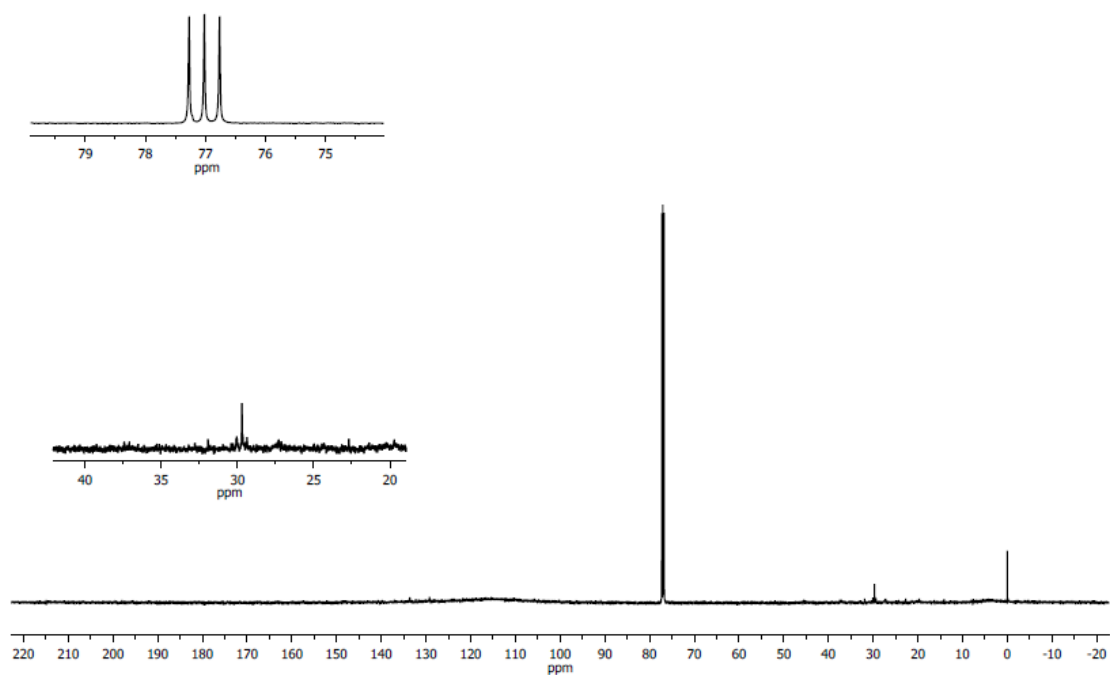
- [21] H. Li, J. Aubrecht, A. J. Fornace Jr, “Toxicogenomics: Overview and potential applications for the study of non-covalent DNA interacting chemicals”. *Mutation Research*, Vol. 623, pp. 98-108 (2007);
- [22] L. Strekowski, B. Wilson, “Noncovalent interactions with DNA: An overview”, *Mutation Research*. Vol. 623, pp. 3-13 (2007);
- [23] S. Ur Rehman, T. Sarwar, M. A. Husain, H. M. Ishqi, M. Tabish, Studying non-covalent drug–DNA interactions”, *Arch. Biochem. Biophys.* Vol. 576, pp. 49-60 (2015);
- [24] N. S. Lebedeva, E. S. Yurina, Y. A. Gubarev, S. A. Syrbu, “Interactions of tetracationic porphyrins with DNA and their effects on DNA cleavage”, *Spectrochim. Acta Part A*. Vol. 199, pp. 235-241 (2018);
- [25] N. C. Dopke, H. E. Oemke, “The microwave synthesis of platinum(II) phosphine complexes”. *Inorg. Chim. Acta*. Vol. 376, pp. 638 (2011);
- [26] A. R. da Silva, A. C. Pelegriño, A. C. Tedesco, R. A. Jorge, “Photodynamic activity of chloro(5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato)indium (III)”. *J. Braz. Chem. Soc.* Vol. 19, pp. 491-501 (2008);
- [27] F. M. Engelmann, S. V.O. Rocha, H. E. Toma, K. Araki, M. S. Baptista, “Determination of *n*-octanol/water partition and membrane binding of cationic porphyrins”. *Int. J. Pharm.* Vol. 329, pp. 12-18 (2007);
- [28] J. T. Peters, “All about albumin. Biochemistry, Genetics, and Medical Applications”. San Diego: Academic Press, Inc., 1996;
- [29] W. J. V. Peña, “Complexos fosfínicos de platina (II) e paládio (II): atividade farmacológica e interação com o DNA e com a Ferriprotoporfirina”, Tese de doutorado (UFSCar), pp. 1-192 (2018);
- [30] L. M. Vilarinho, “Síntese de manganês porfirina tetraarutetada e nanopartículas de ouro utilizadas para determinação voltamétrica de fármacos”, Dissertação de mestrado, UFU, pp. 1-93;

- [31] G. M. Sheldrick, “Integrated Space-Group and Crystal-Structure Determination. *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Adv.* Vol. 71, pp. 3-9 (2015);
- [32] G. M. Sheldrick, “Crystal Structure Refinement with *SHELXL*”, *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.* Vol. 71, pp. 3-8 (2015);
- [33] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Pushmann, “A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program. *J. Appl. Crystallogr.* Vol. 42, pp. 339-341 (2009);
- [34] T. Gianferrara, I. Bratsos, E. Iengo, B. Milani, A. Ostric, C. Spagnul, E. Zangrando, E. Alessio, “Synthetic Strategies toward Ruthenium-Porphyrin conjugates for anticancer activity”. *Dalt. Trans.* Vol. 48, pp. 10742-70756 (2009);
- [35] A. L. Spek, “A tool for the calculation of the disordered solvent contribution to the calculated structure factors”. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct Chem.* Vol. 71, pp 9-18 (2015);
- [36] G. V. Poelhsitz, R. C. de Lima, R. M. Carlos, A. G. Ferreira, A. A. Batista, A. S. de Araujo, J. Ellena, E. E. Castellano, “Influence of ligands on the fac  $\rightleftharpoons$  mer isomerization in [RuCl<sub>3</sub>(NO)(P-P)] complexes, [P-P = R<sub>2</sub>P(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>PR<sub>2</sub> (n = 1–3) and R<sub>2</sub>P(CH<sub>2</sub>)POR<sub>2</sub>, PR<sub>2</sub>–CHCH–PR<sub>2</sub>, R = Ph and (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>)<sub>2</sub>P-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-P(C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>)<sub>2</sub>]. *Inorg. Chim. Acta.* Vol. 359, pp. 2896–2909 (2016);
- [37] F. B. Nascimento, “Estudos cinéticos e fotoquímicos de compostos de Ru (II) com ligantes bipyridínicos e bifosfínicos de fórmula geral cis-[RuCl<sub>2</sub>(P-P)(N-N)]” São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCAR. Tese de doutorado, pp. 191 (2010);
- [38] M. O. Santiago “Síntese, caracterização e estudos cinéticos da isomerização de compostos de Ru(II) contendo ligantes (X-bipy) (X = -H, -NO<sub>2</sub>, -Me, -COOH, -SMe, O=SMe, -Cl, -OMe)” 30 São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCAR. Tese de doutorado, pp. 61 (2010);
- [39] A. M. Plutín, A. Alvarez, R. Mocelo, R. Ramos, E. E. Castellano, M. M. da Silva, W. Villarreal, F. R. Pavan, C. S. Meira, J. S. R. Filho, D. R. M. Moreira, M. B. P. Soares, A. A. Batista, “Palladium(II)/N,N-disubstituted-N-acylthioureas complexes as anti-Myco bacterium tuberculosis and anti-Trypanosoma cruzi agentes”. *Polyhedron.* Vol. 132, pp. 70–77 (2017);

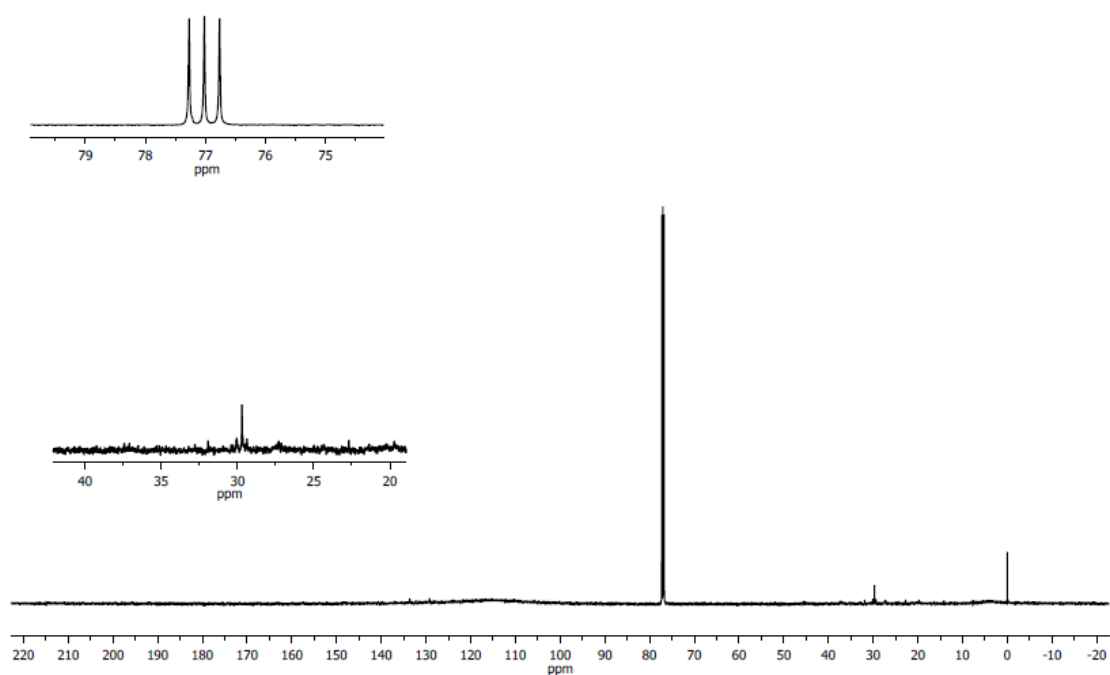
- [40] C. A. Tolman, "Steric Effects of Phosphorus Ligands in Organometallic Chemistry and Homogeneous Catalysis". *Chem. Rev.* Vol. 77, pp. 313-348 (1977);
- [41] E. M. A. Valle, F. B. do Nascimento, A. G. Ferreira, A. A. Batista, "Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de rnm de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em complexos difosfínicos de rutênio. *Quim. Nova*, Vol. 31, pp. 807-812 (2008);
- [42] M. Gouterman, G. H. Wagnière, "Part II. Four Orbital Model", *J. of molecular spectroscopy*. Vol.11, pp. 108-127 (1963);
- [43] J.M.S. Lopes, R.N. Sampaio, L.R. Dinelli, A.A. Batista, P.T. Araujo, N.M. Barbosa Neto, "On the excitation dependence of fluorescence spectra of meso-tetrapyrridyl zinc (II) porphyrin and its relation with hydrogen bonding and outlying decoration", *Spectrochim. Acta Part A*. Vol. 224, pp. 11737 (2020);
- [44] B. R. Rabello, A. P. Gerola, D. S. Pellosi, A. L. Tessaro, J. L. Aparício, W. Caetano, N. Hioka, "Singlet oxygen dosimetry using uric acid as a chemical probe: Systematic evaluation". *J. of Photochem. Photobiol. A.* Vol. 231, pp. 53-65 (2012);
- [45] T. T. Tasso, T. M. Tsubone, M. S. Baptista, L. M. Mattiazzi, T. V. Acunha, B. A. Iglesias, "Isomeric effect on the properties of tetraplatinated porphyrins showing optimized phototoxicity for photodynamic therapy", *Dalton Transactions*, Vol. 46, pp. 11037-11045, (2017).
- [46] A.C. Serra, M. Pineiro, A.M.d'A. Rocha Gonsalves, M. Abrantes, M. Laranjo, A.C. Santos, M.F. Botelho, "Halogen atom effect on photophysical and photodynamic characteristics of derivatives of 5,10,15,20-tetrakis(3-hydroxyphenyl)porphyrin". *J. Photochem. Photobiol, B*. Vol 92, pp. 59-65 (2008);
- [47] D. A. Skoog, F.J. Holler, T. A. Nieman, "Principios de análise instrumental", Vol. 5, cap. 15, pp. 322-239;
- [48] Disponível em: [https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/14135/14135\\_4.PDF](https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/14135/14135_4.PDF), acessado em 03/10/19;

- [49] A. Gorman, J. Killoran, C. O'Shea, T. Kenna, W. M. Gallagher, D. F. O'Shea, "In Vitro Demonstration of the Heavy-Atom Effect for Photodynamic Therapy". *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, pp. 10619-10631 (2004);
- [50] C. H. Silveira, E. N. Garoforo, O. A. Chaves, P. F.B. Gonçalves, L. Streit, B. A. Iglesias, "Synthesis, spectroscopy, electrochemistry and DNA interactive studies of *meso*-tetra(1-naphthyl)porphyrin and its metal complexes". *Inorg. Chim. Acta.* Vol. 482, pp. 542-553 (2018).
- [51] L. R. Ferguson, W. A. Denny, "Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators". *Mut. Res.* Vol. 623, pp. 14-23 (2007);
- [52] L. Strekowski, B. Wilson, "Noncovalent interactions with DNA: An overview". *Mut. Res.* Vol. 623, pp. 3-13 (2007);
- [53] Z. Nisa, A. Gul, Z. Akhter, M. A. Nadeem, M. N. Tahir, M. U. Ahmed, "Some newly synthesized ferrocene based esters: Characterization, DNA interaction and DFT studies", *J. Organomet. Chem.* Vol. 820, pp. 130-140 (2016);
- [54] S. U. Rehman, T. Sarwar, M. A. Husain, H. M. Ishqi, M. Tabish, "Studying non-covalent drug–DNA interactions", *Arch. Biochem. Biophys.* Vol. 576, pp. 49-60 (2015);
- [55] L. F. Agnez-Lima, J. T.A. Melo, A. E. Silva, A. H. S. Oliveira, A. R. S. Timoteo, K. M. Lima-Bessa, G. R. Martinez, M. H.G. Medeiros, P. D. Mascio, R. S. Galhardo, C. F.M. Menck, "DNA damage by singlet oxygen and cellular protective mechanisms", *Mutation Research.* Vol. 751, pp. 15-28 (2012);
- [56] G. G. Perrone, S. Tan, I. W. Dawe, "Reactive oxygen species and yeast apoptosis", *Biochim. Biophys. Acta.* Vol. 1783, pp. 1354-1368 (2008);

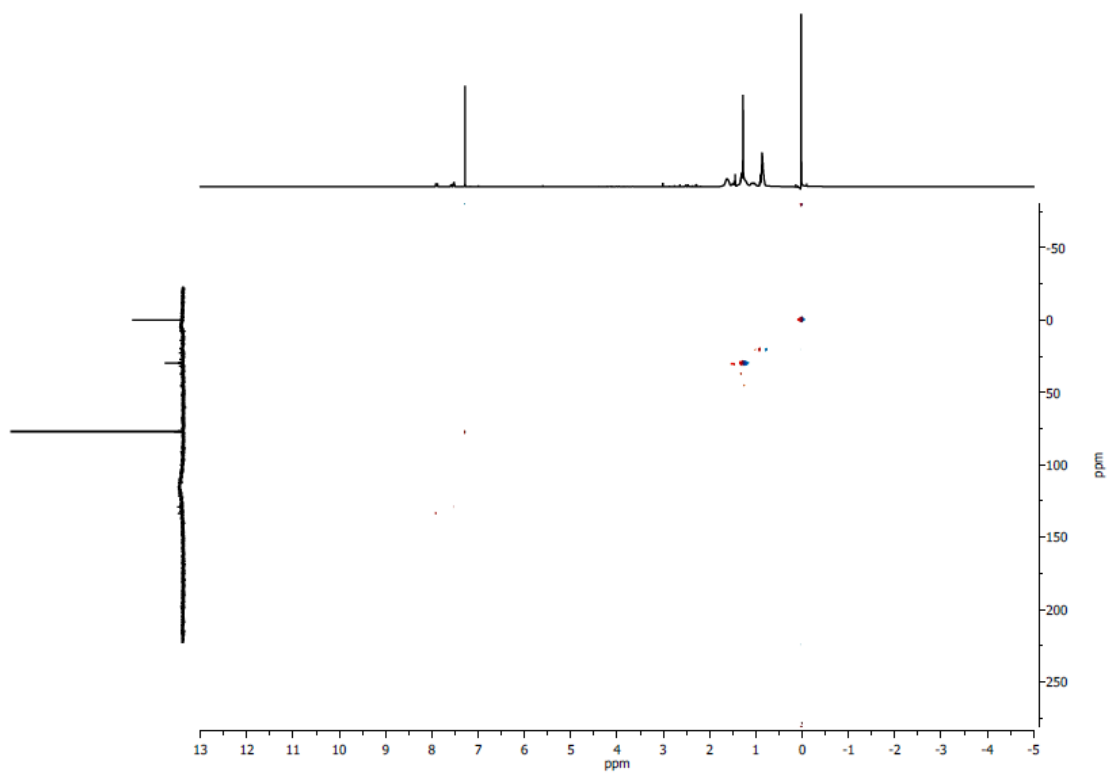
## 7. Apêndice



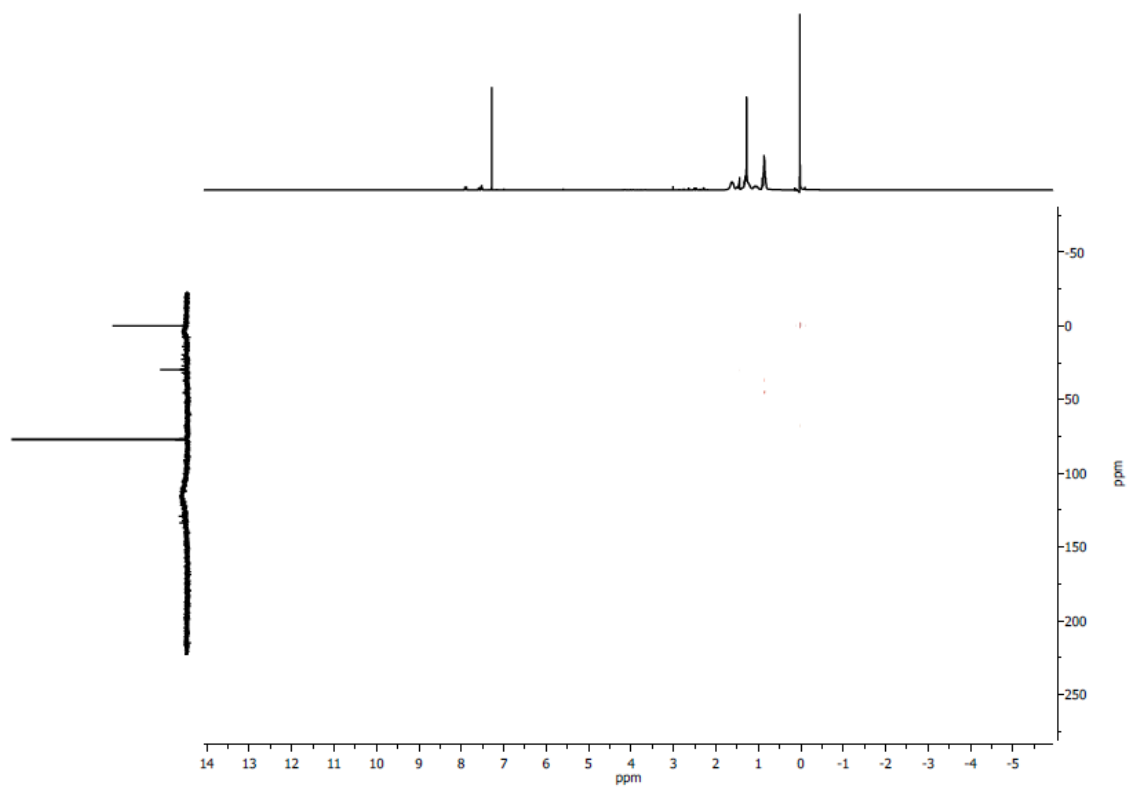
**Figura 1A:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido para a porfirina  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



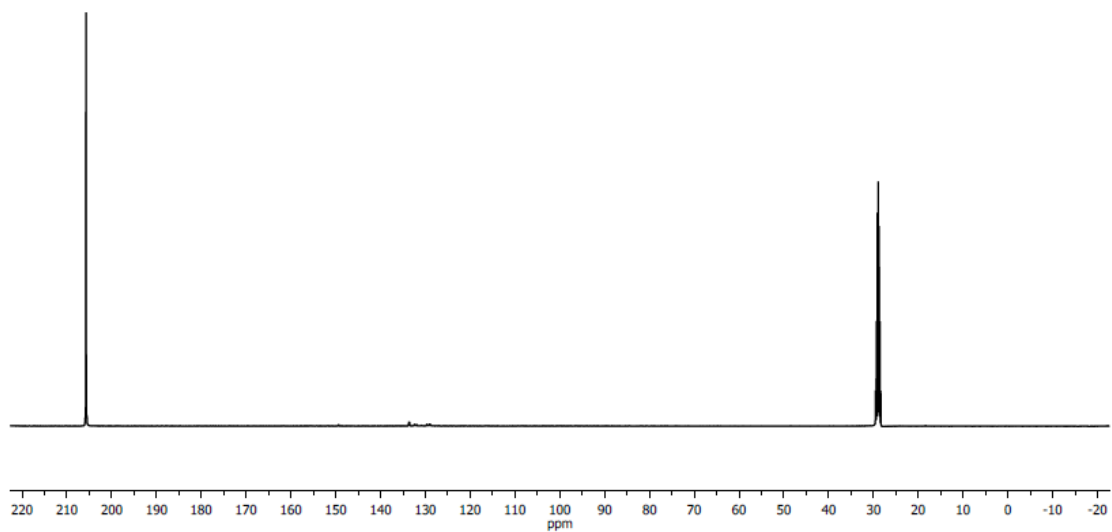
**Figura 2A:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}(^1\text{H})$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppe})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



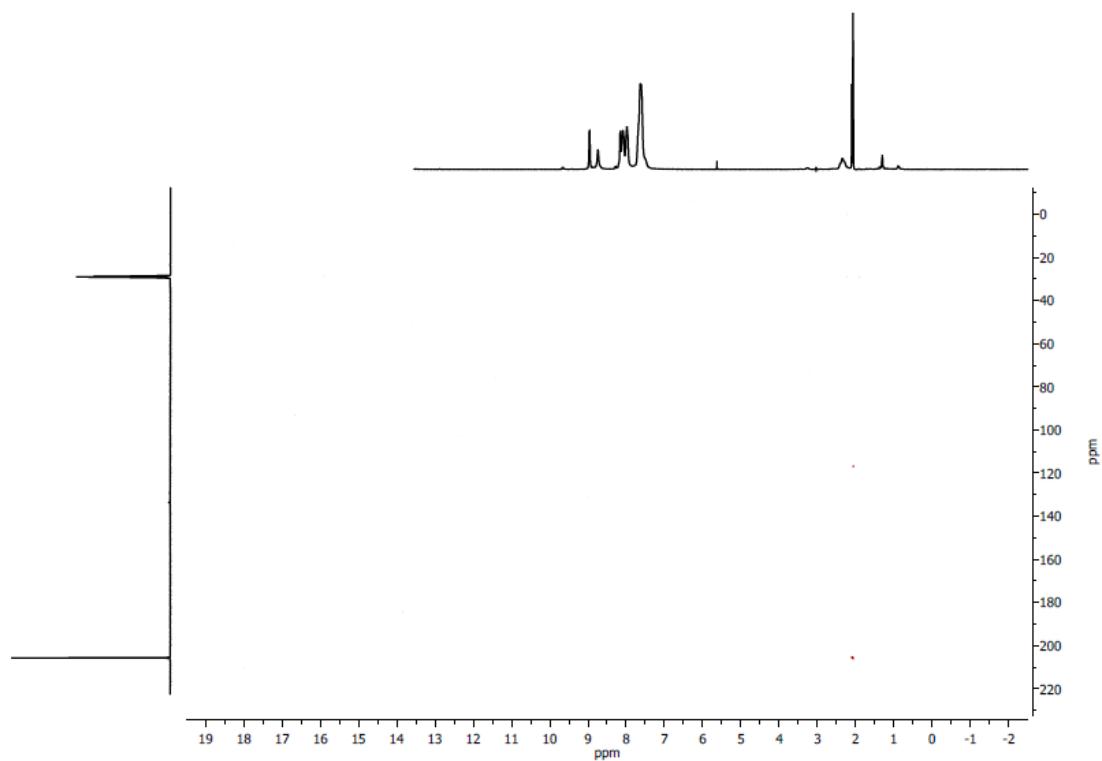
**Figura 3A:** Espectro de RMN - HSQC  $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3-d$ .



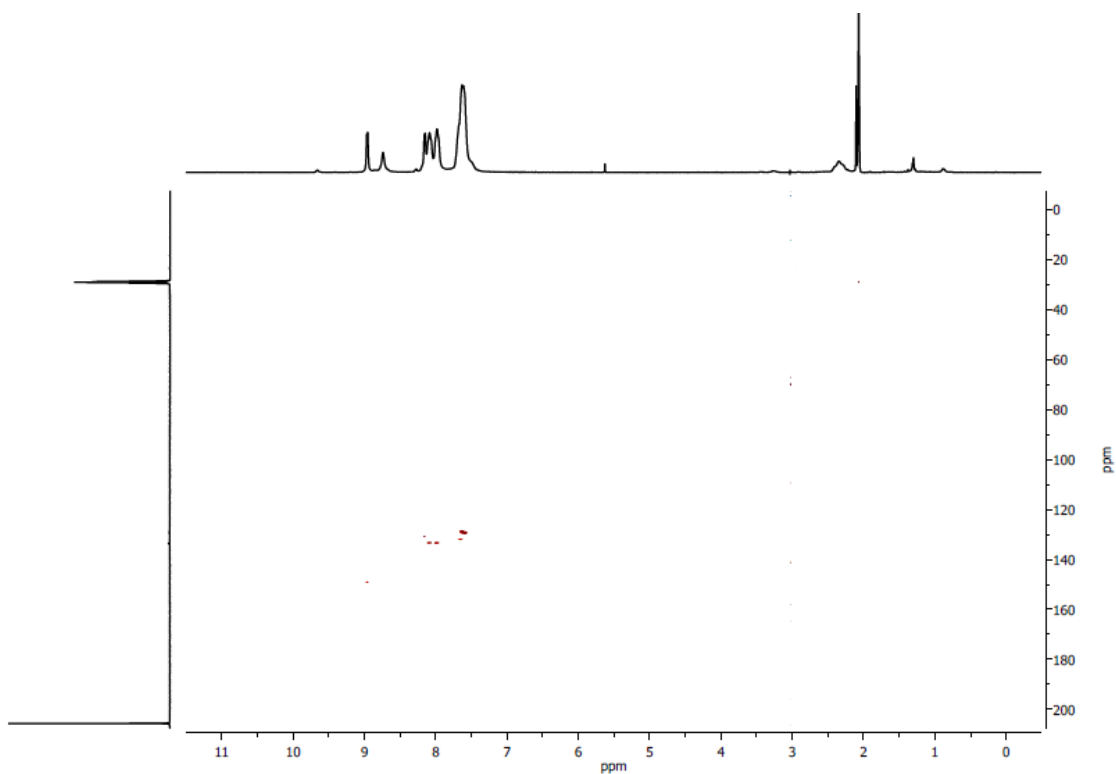
**Figura 4A:** Espectro de RMN - HMQC  $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3-d$ .



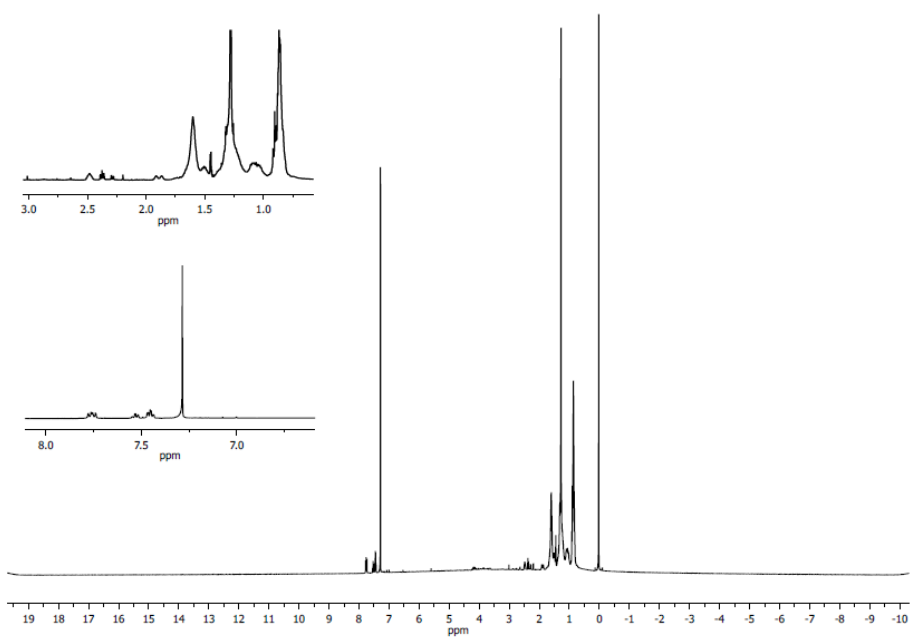
**Figura 5A:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}(^1\text{H})$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



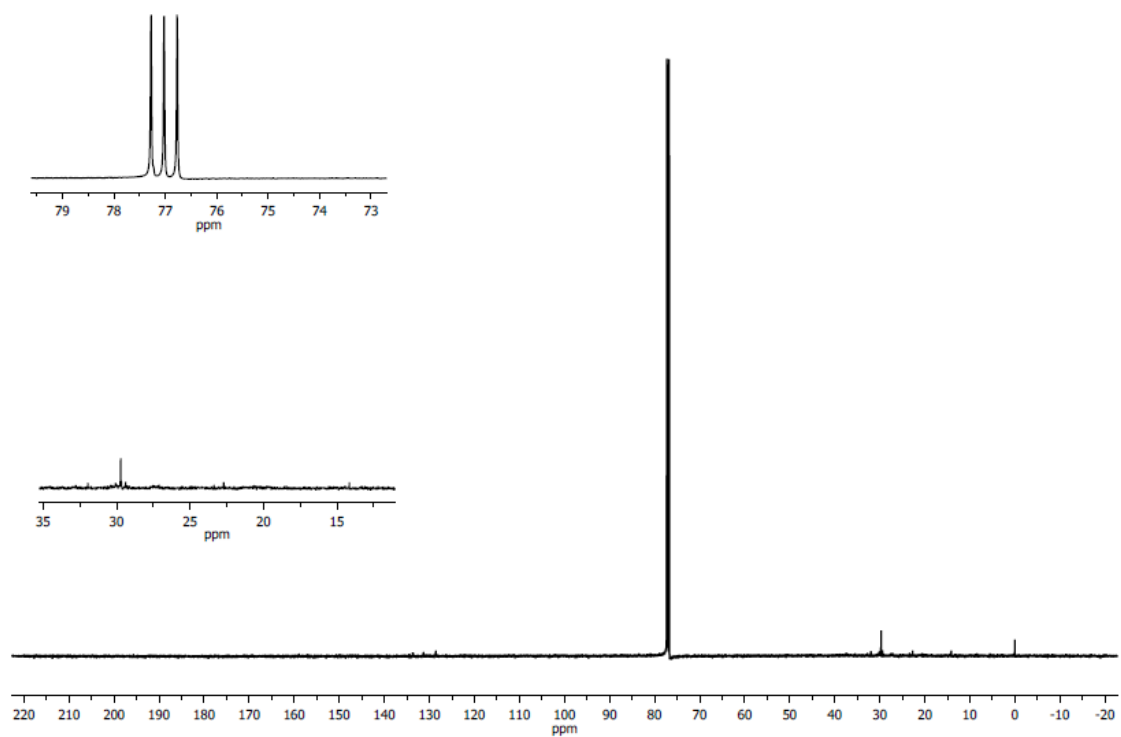
**Figura 6A:** Espectro de RMN - HSQC  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



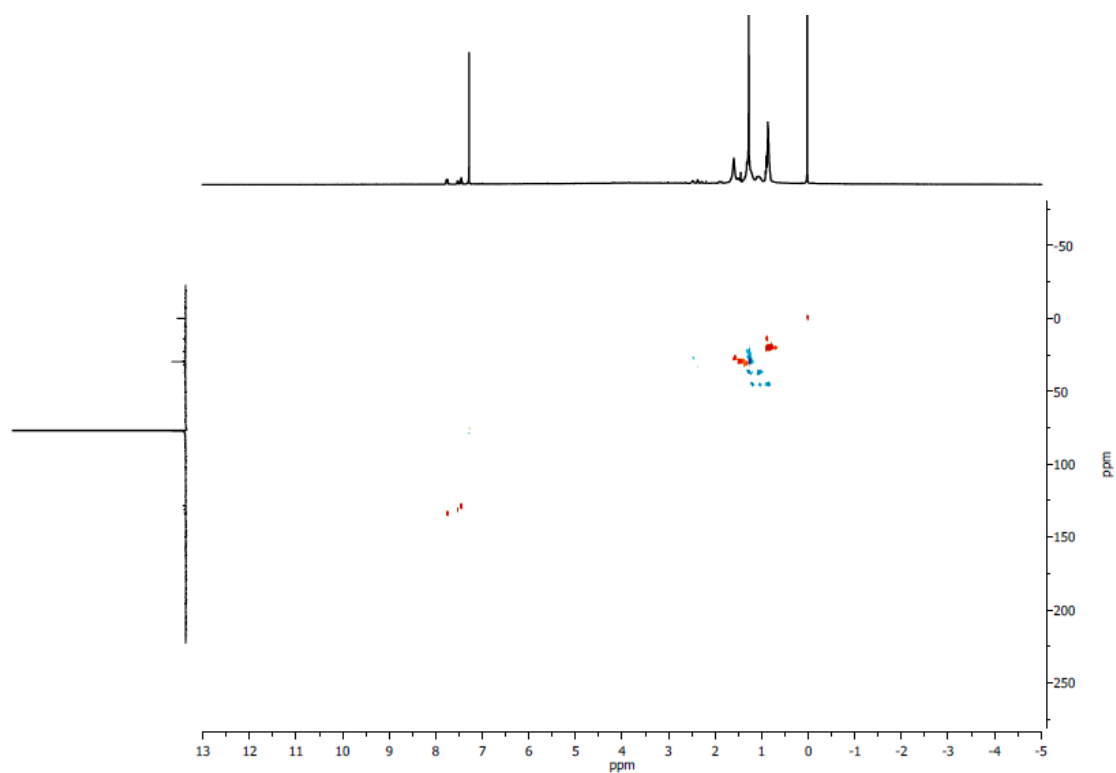
**Figura 7A:** Espectro de RMN - HMQC  $\{TPyP[PdCl(dppp)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3$ -d.



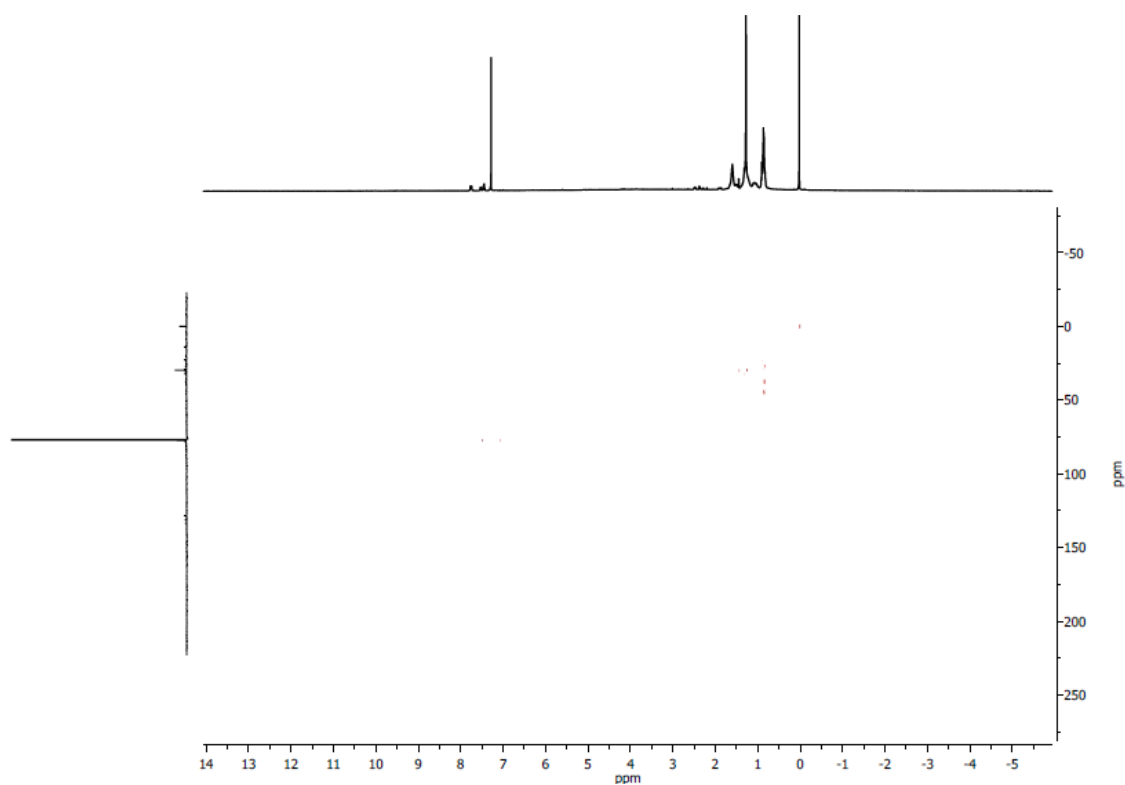
**Figura 8A:** Espectro de RMN  $^1H$  obtido para a porfirina  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3$ -d.



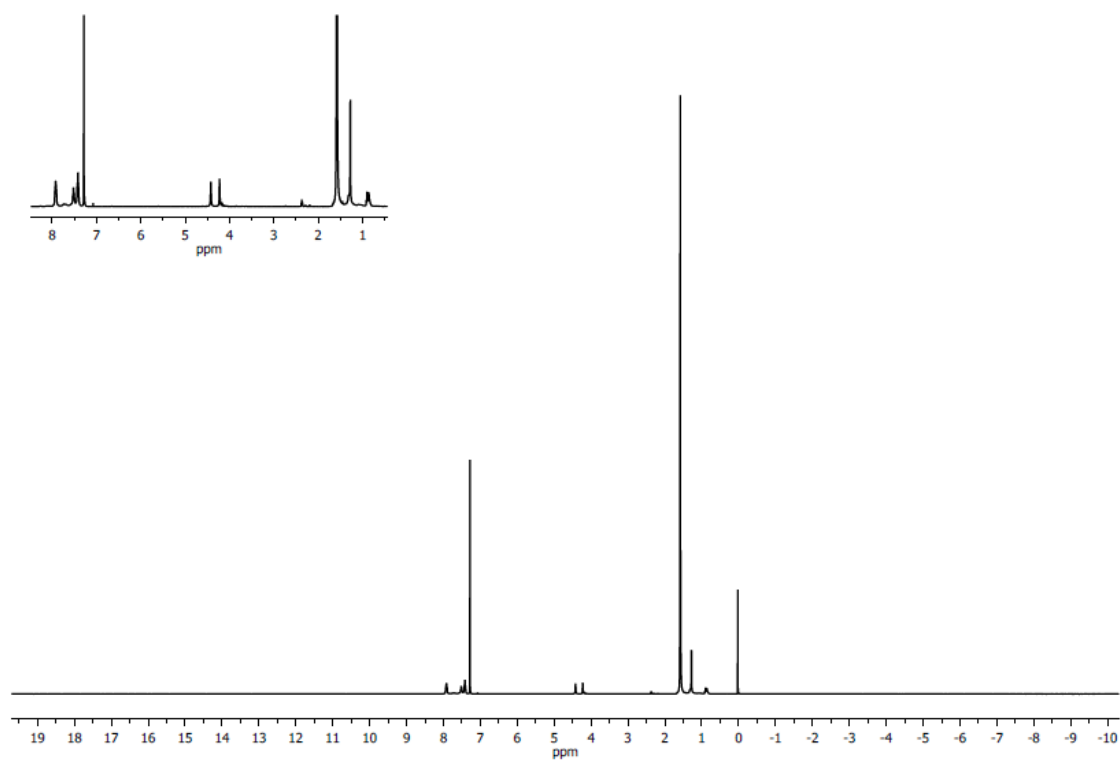
**Figura 9A:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}(^1\text{H})$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



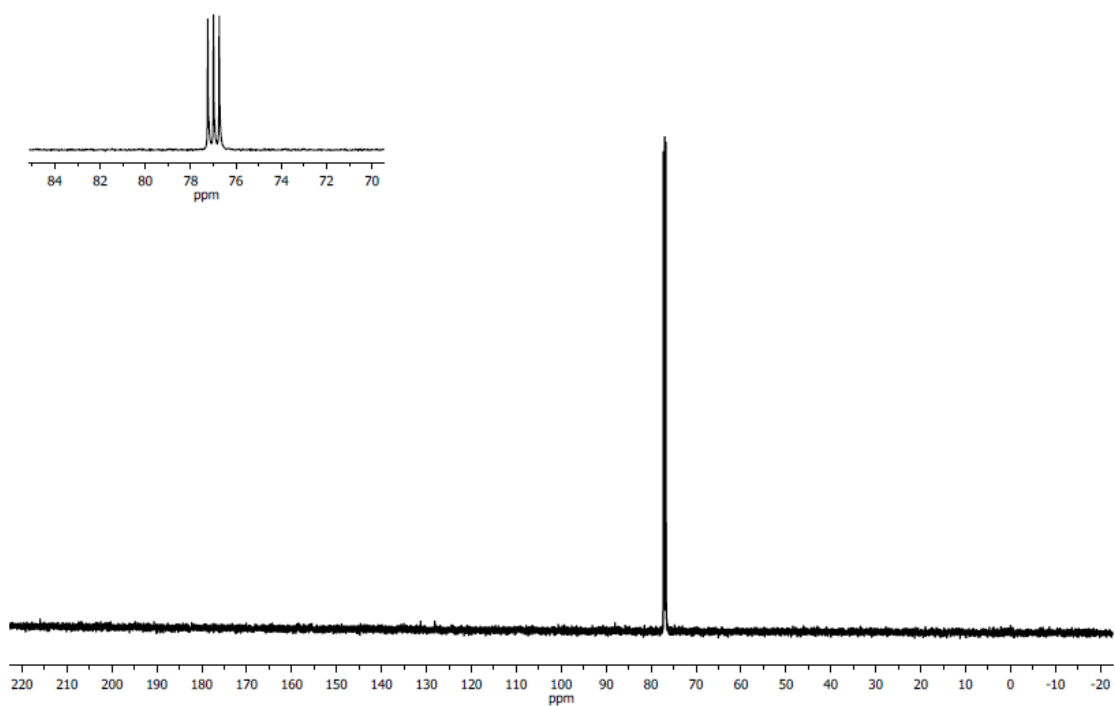
**Figura 10A:** Espectro de RMN - HSQC  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



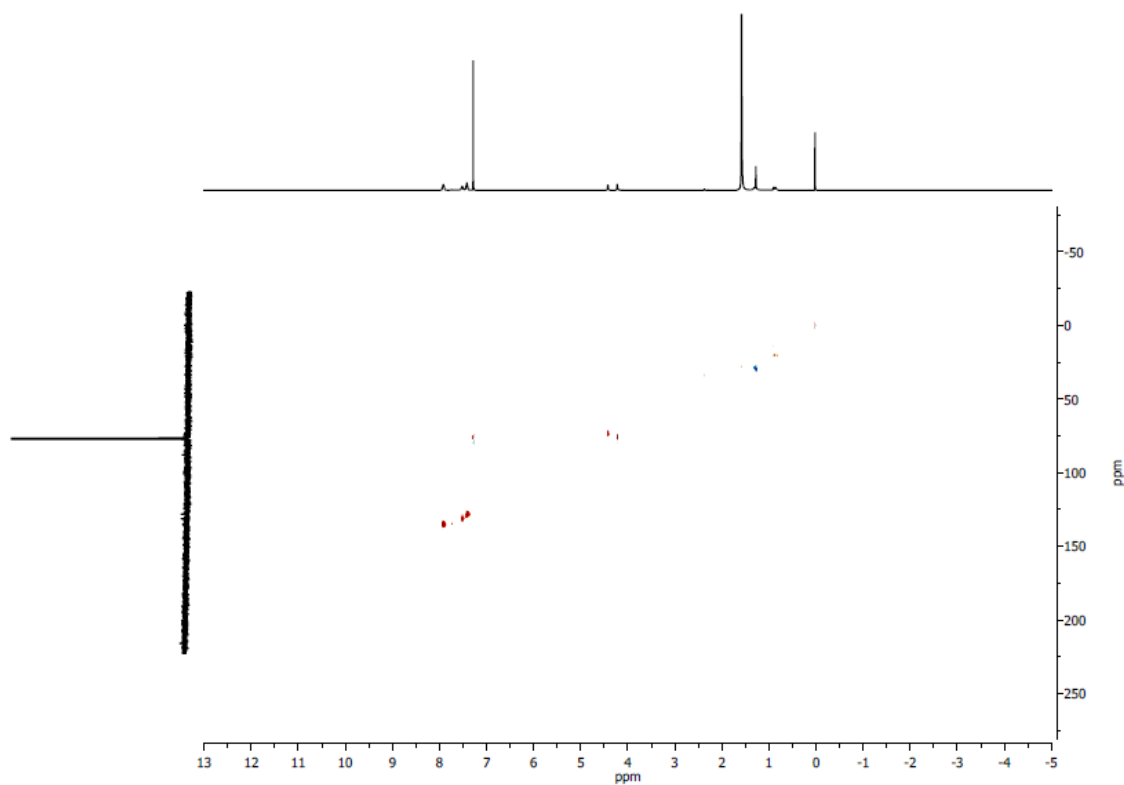
**Figura 11A:** Espectro de RMN - HMQC  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3$ -d.



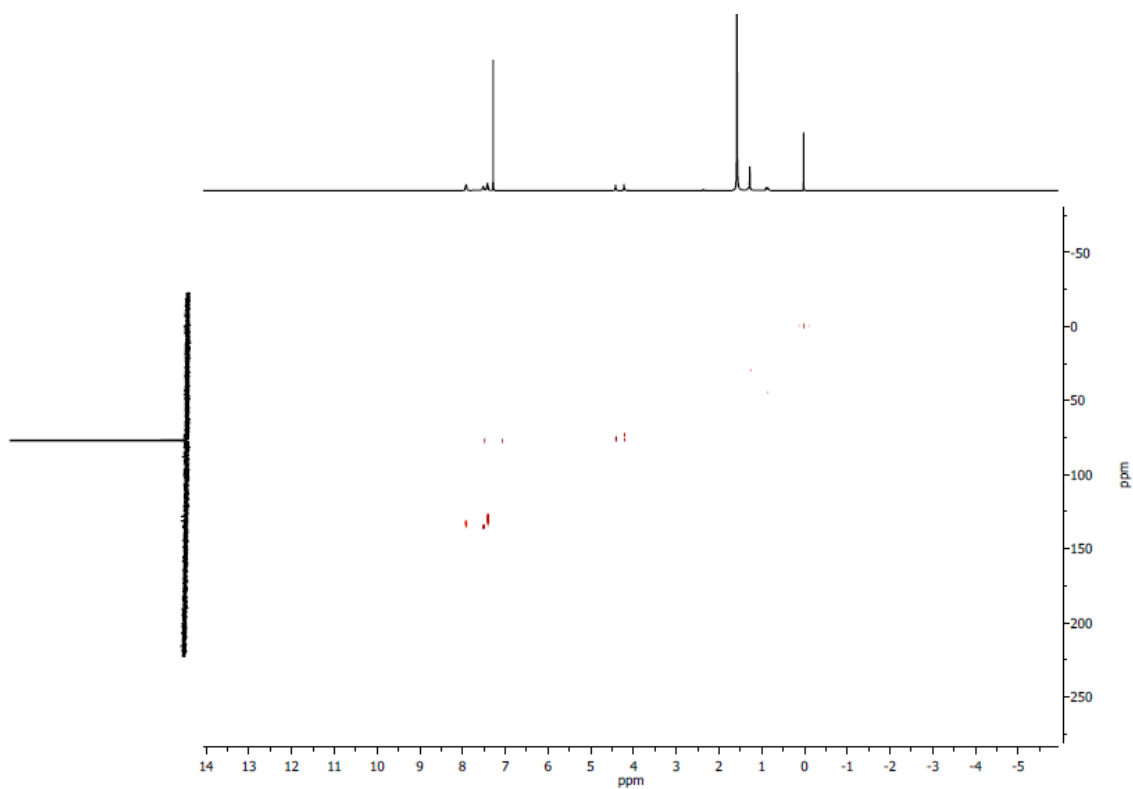
**Figura 12A:** Espectro de RMN  $^1H$  obtido para a porfirina  $\{TPyP[PdCl(dppf)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3$ -d.



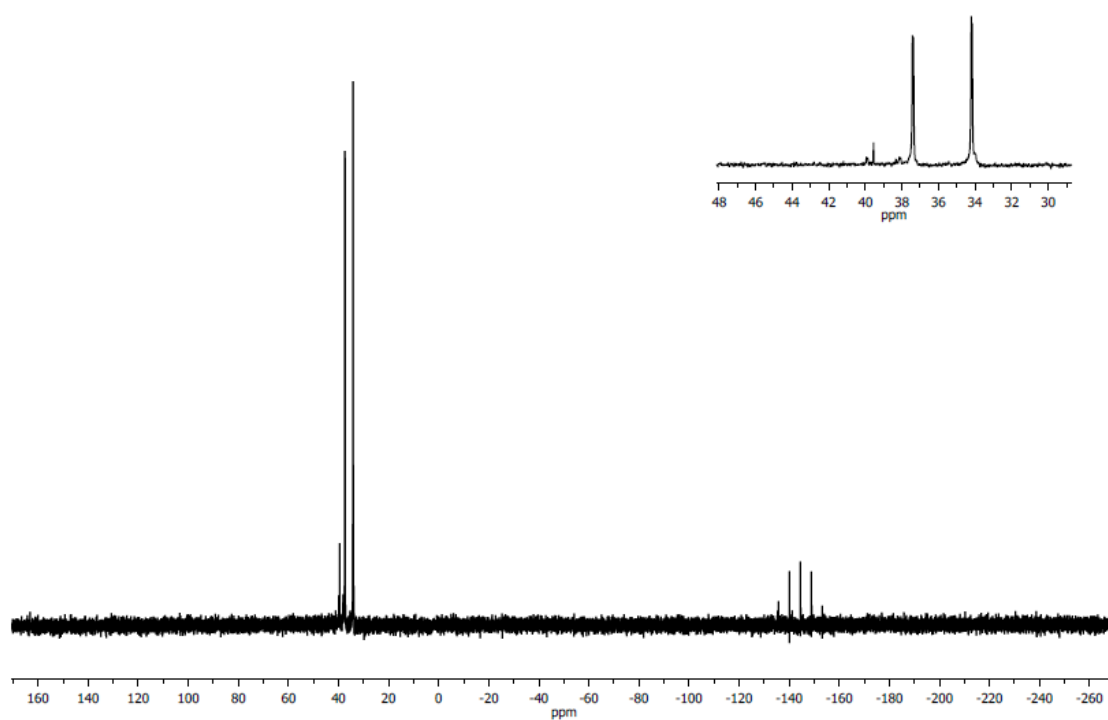
**Figura 13A:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}(^1\text{H})$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



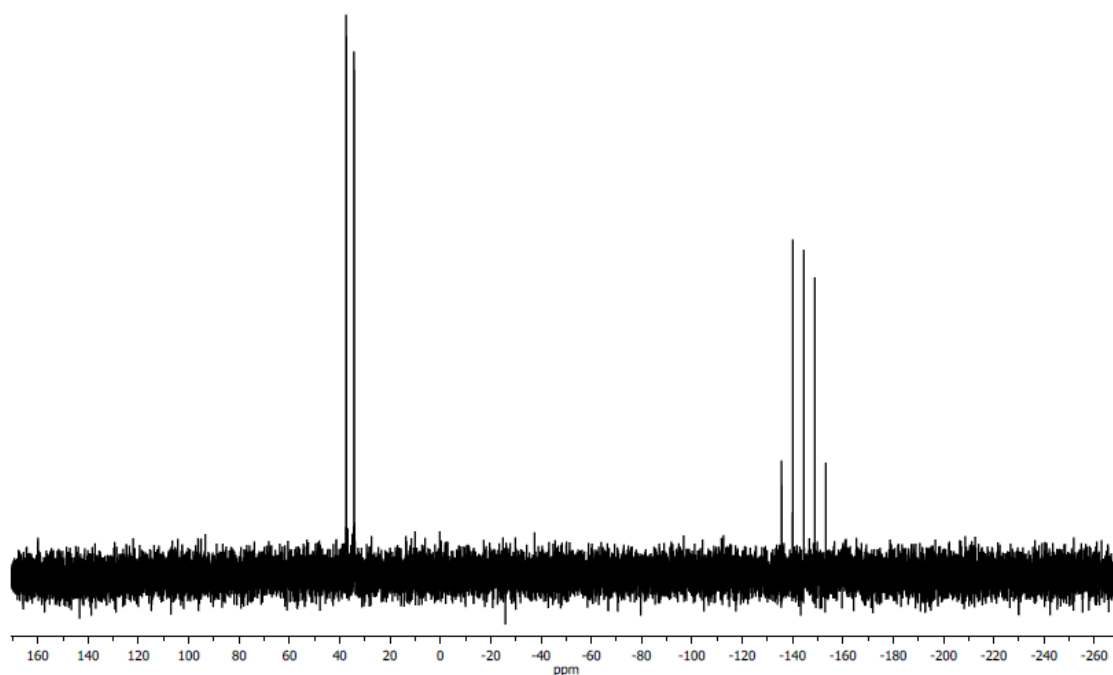
**Figura 14A:** Espectro de RMN - HSQC  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ .



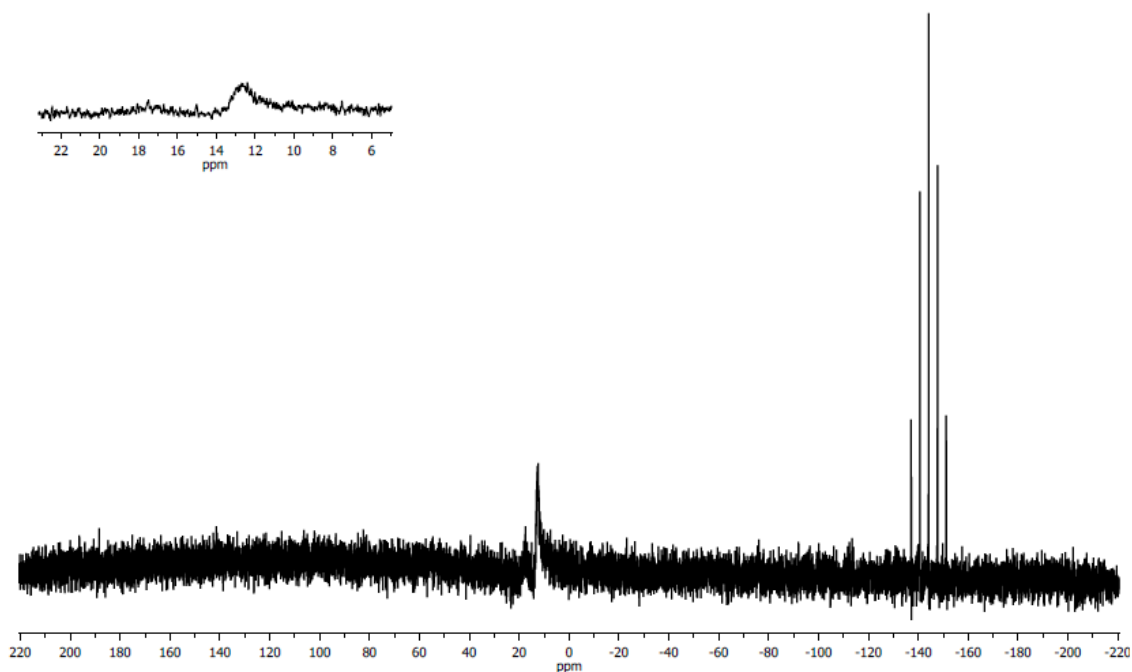
**Figura 15A:** Espectro de RMN - HSQC  $\{TPyP[PdCl(dppf)]_4\}(PF_6)_4$ , em  $CDCl_3$ -d.



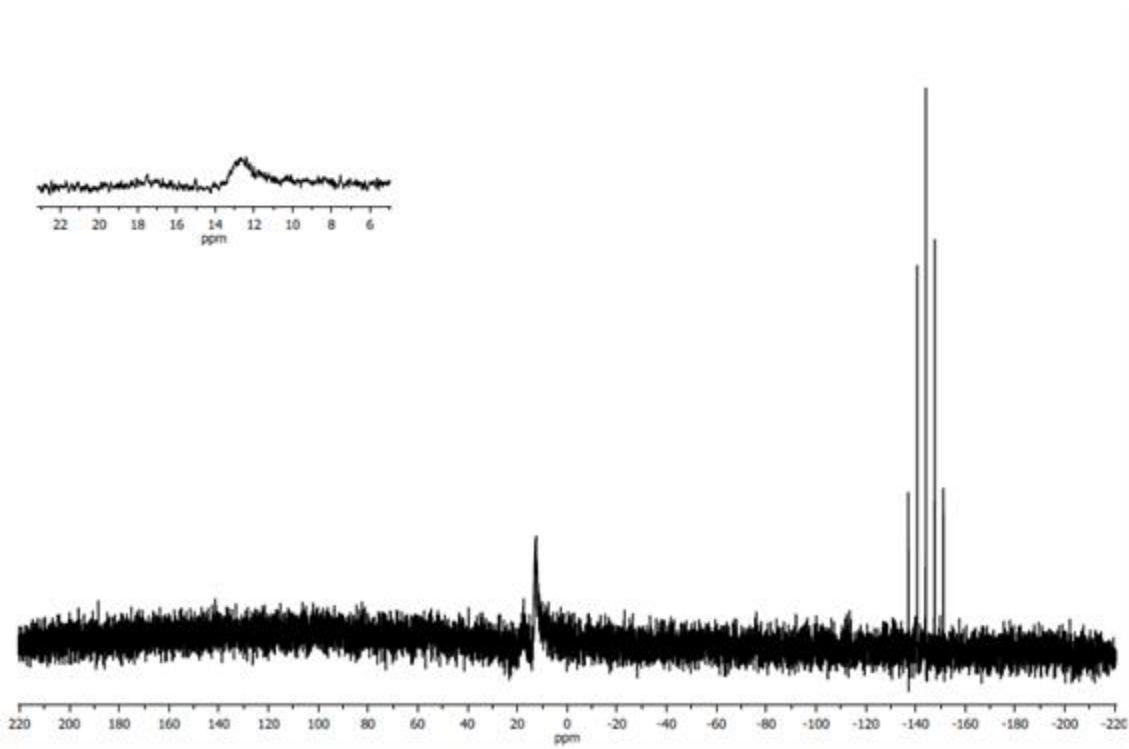
**Figura 16A:** Espectro de RMN  $^{31}P\{^1H\}$   $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}(PF_6)_4$  em  $CD_2Cl_2/D_2O$ .



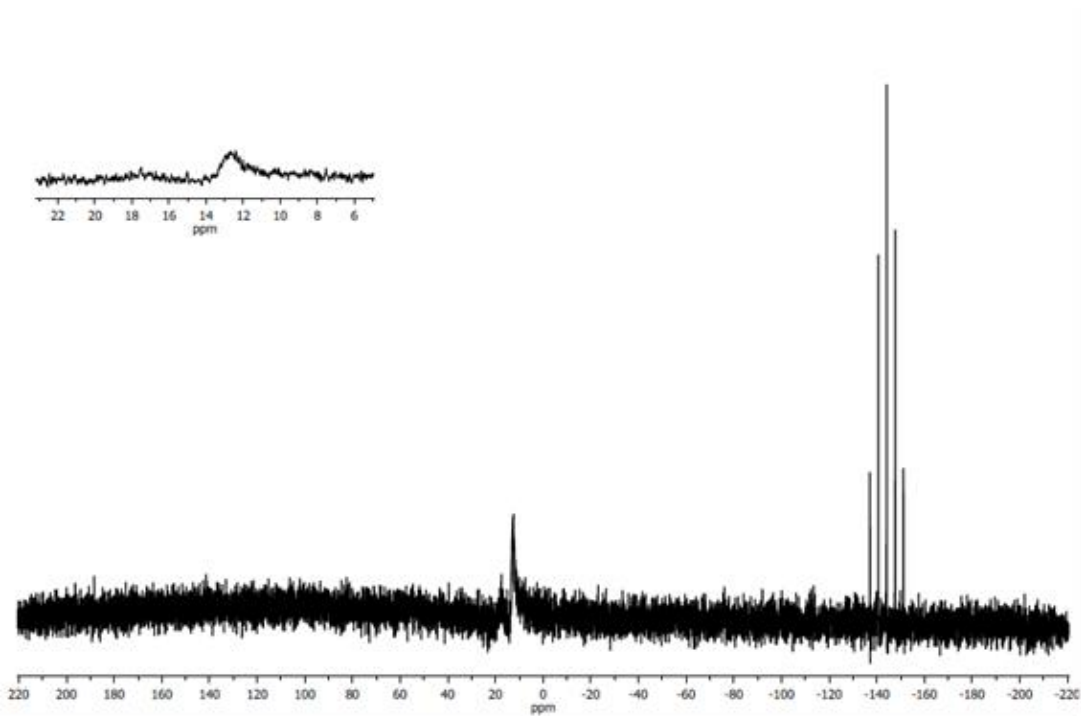
**Figura 17A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})_4](\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .



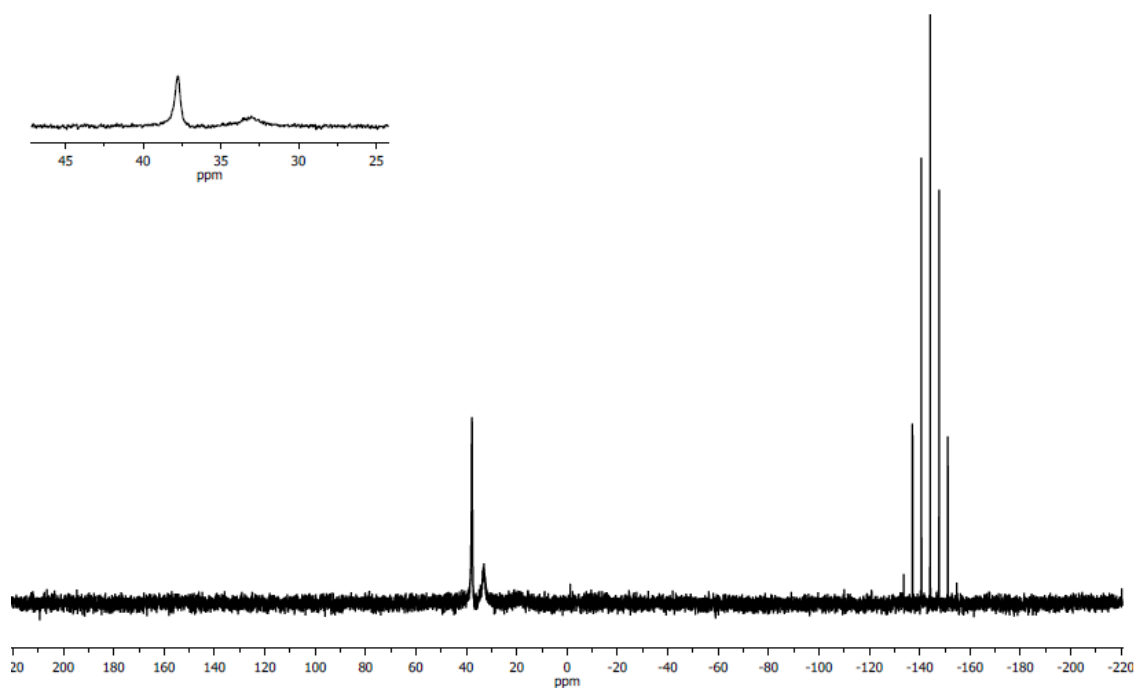
**Figura 18A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})_4](\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ , antes da irradiação.



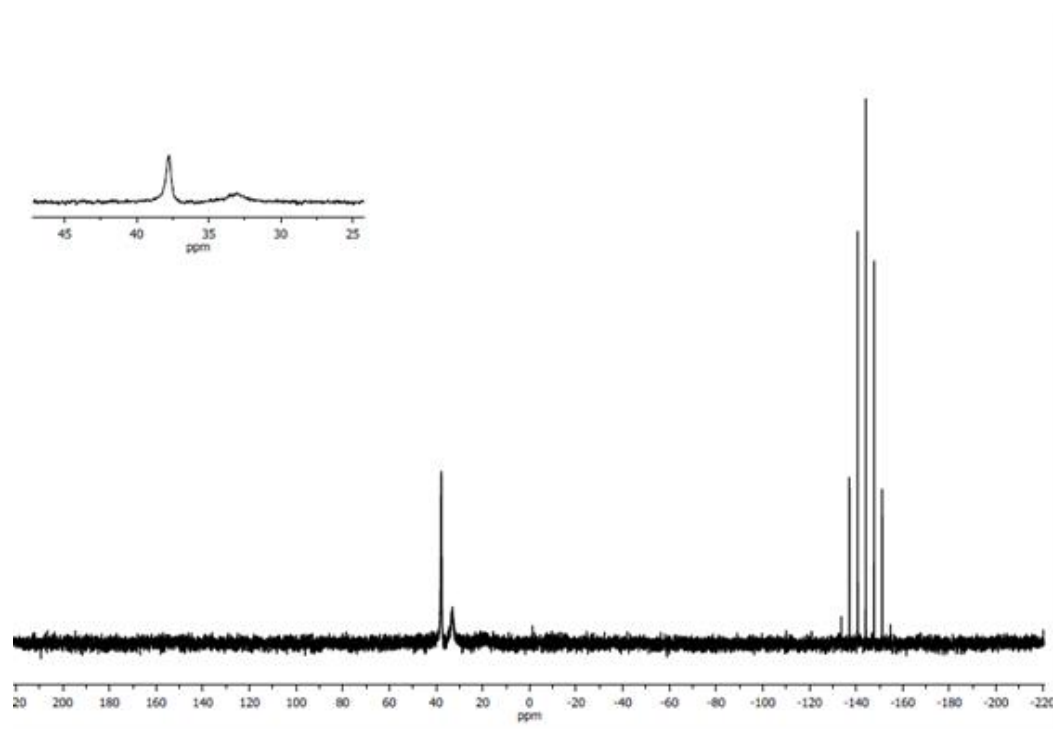
**Figura 19A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ , após 90 min sob irradiação.



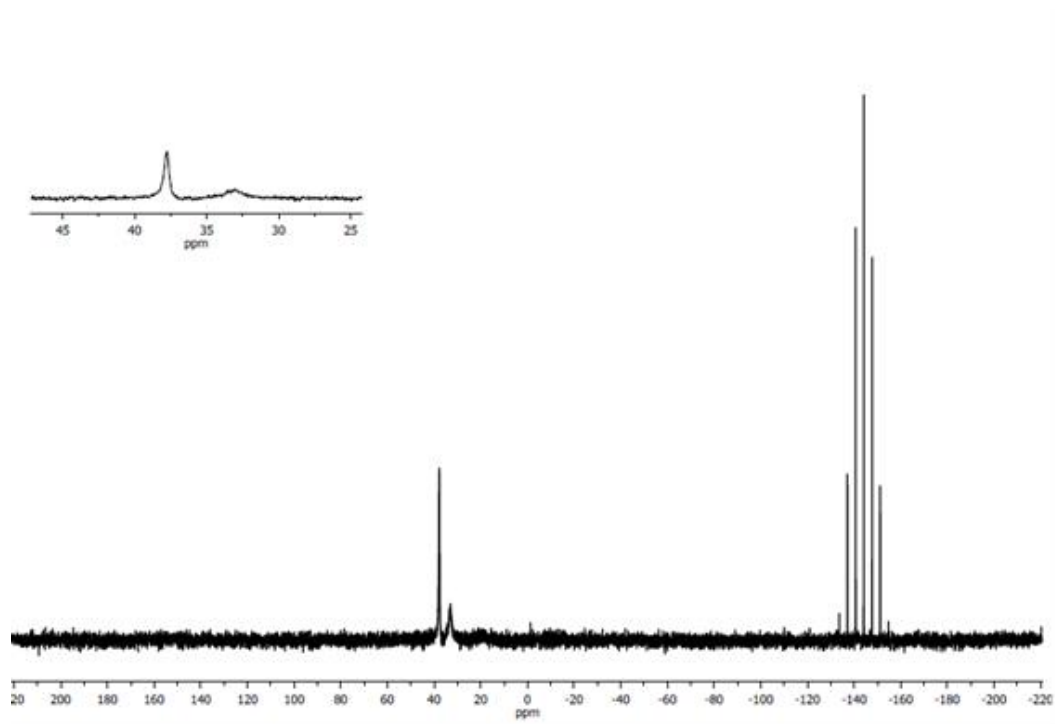
**Figura 20A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ , após 90 min sob irradiação.



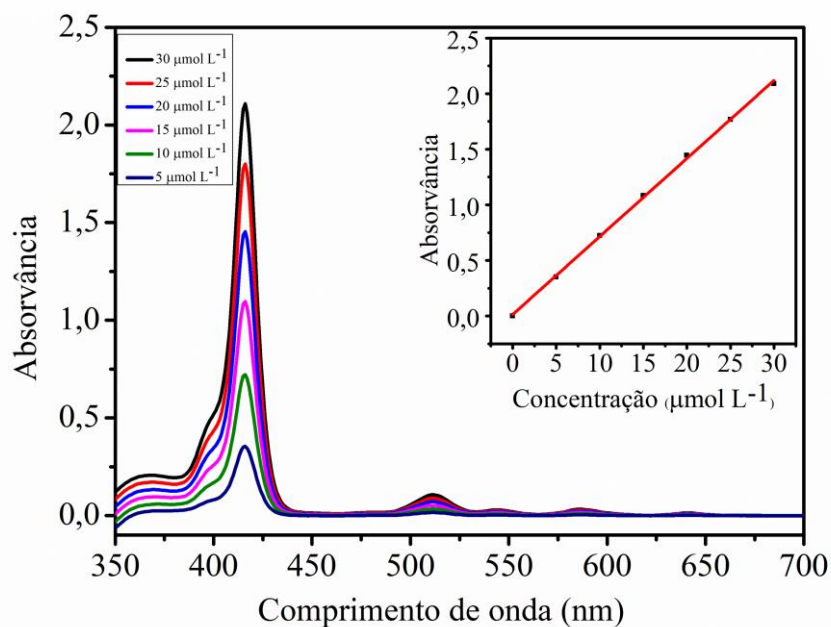
**Figura 21A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ , antes da irradiação.



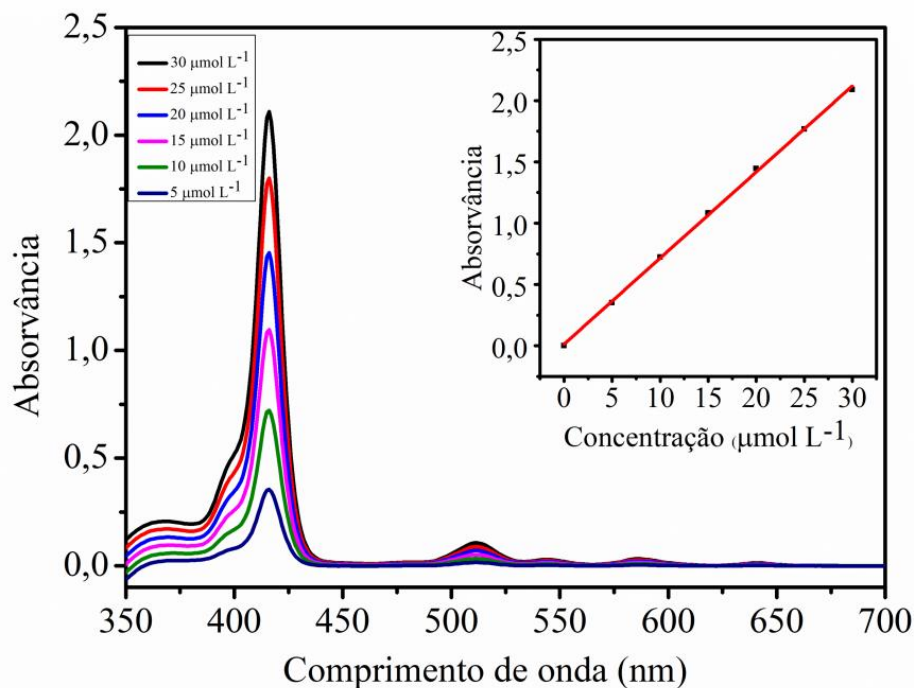
**Figura 22A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ , após 90 min sob irradiação.



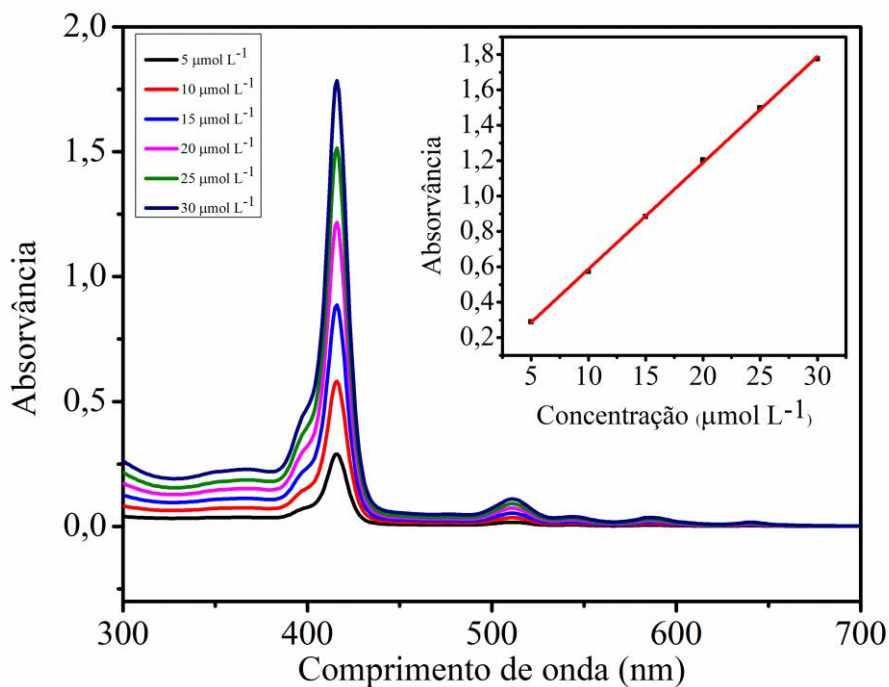
**Figura 23A:** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$   $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ , após 1 dia irradiada.



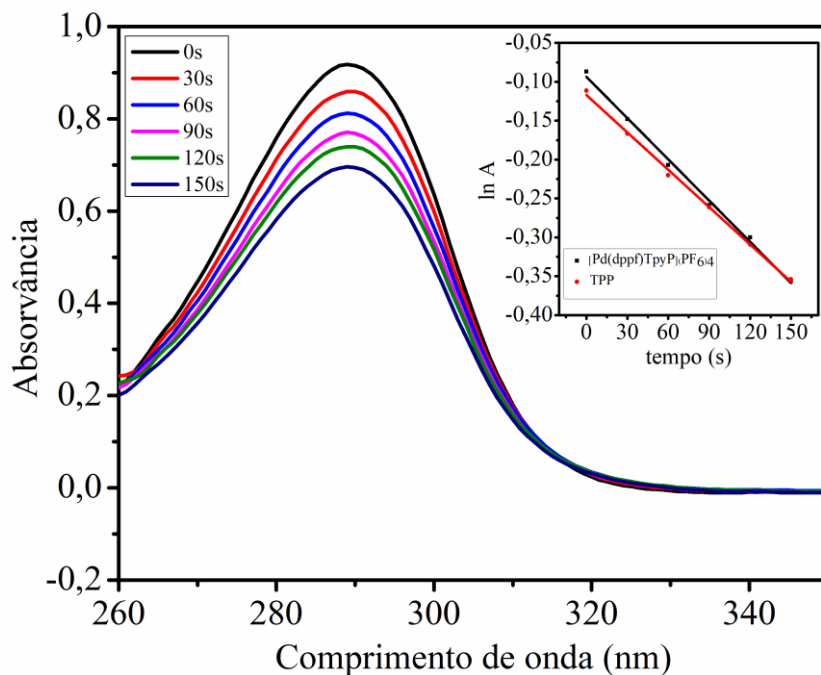
**Figura 24A:** Espectro eletrônico de absorção UV-vis da  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppp})]_4\}(\text{PF}_6)_4$ , em DMSO (caminho óptico: 0,2 cm). O *inset* refere-se a curva obtida pela relação entre os valores de absorvância da banda de Soret e as diferentes concentrações utilizadas.



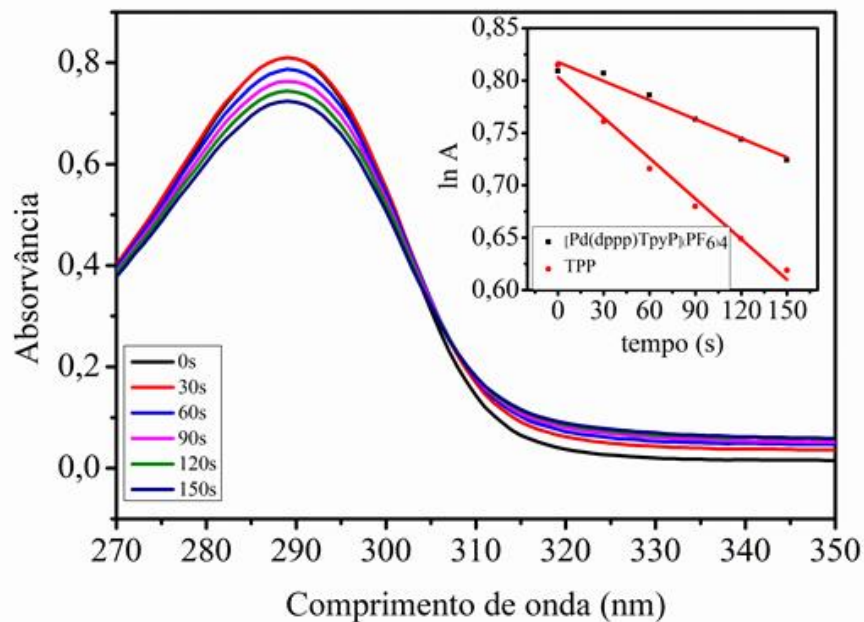
**Figura 25A:** Espectro eletrônico de absorção UV-vis da  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}(PF_6)_4$ , em DMSO (caminho óptico: 0,2 cm). O *inset* refere-se a curva obtida pela relação entre os valores de absorvância da banda de Soret e as diferentes concentrações utilizadas.



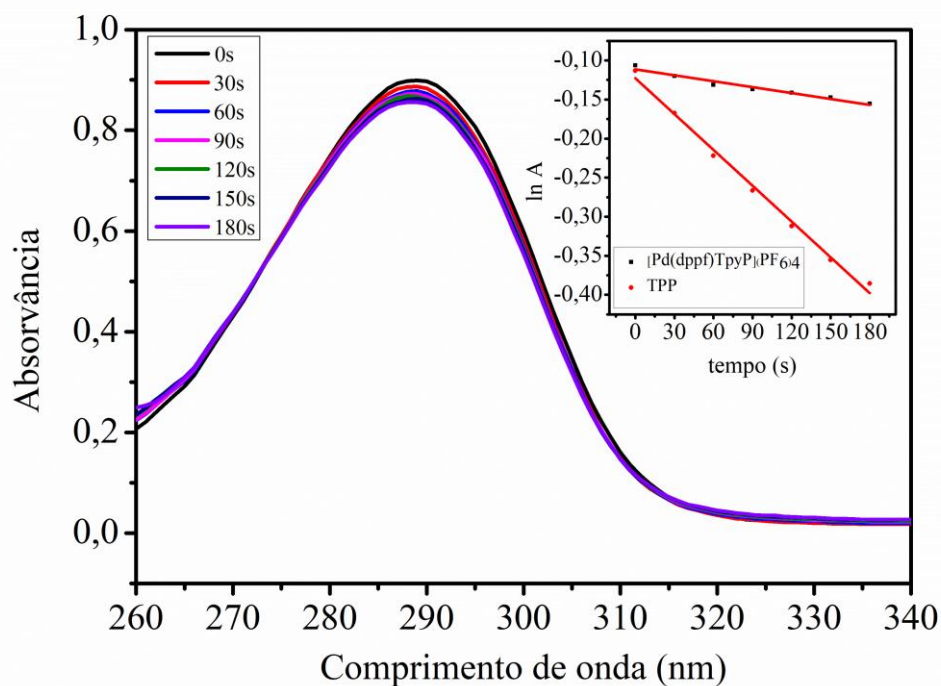
**Figura 26A:** Espectro eletrônico de absorção UV-vis da  $\{TPyP[PdCl(dppf)]_4\}(PF_6)_4$ , em DMSO (caminho óptico: 0,2 cm). O *inset* refere-se a curva obtida pela relação entre os valores de absorvância da banda de Soret e as diferentes concentrações utilizadas.



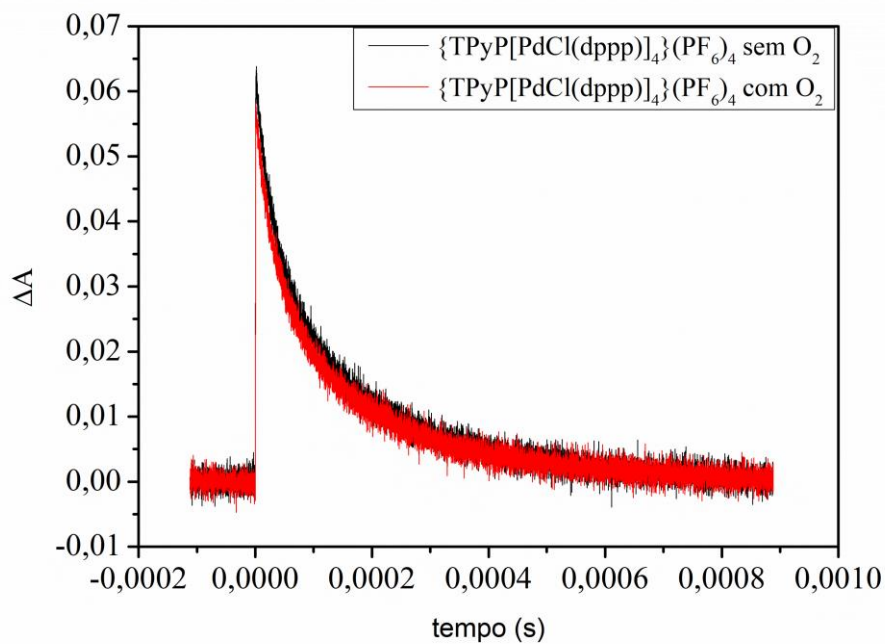
**Figura 27A:** Degradação do ácido úrico, irradiado com um laser 532 nm. O *inset* refere-se à cinética de degradação das porfirinas TPP e  $\{TPyP[PdCl(dppf)]_4\}(PF_6)_4$  em DMSO (caminho óptico: 1,0 cm).



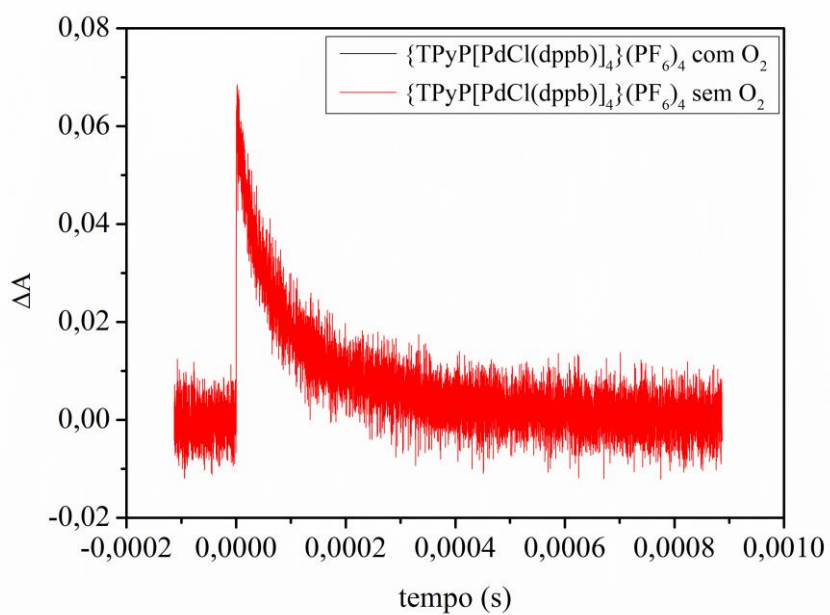
**Figura 28A:** Degradação do ácido úrico, irradiado com um laser 532 nm. O *inset* refere-se à cinética de degradação das porfirinas TPP e  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}(PF_6)_4$  em DMSO (caminho óptico: 1,0 cm).



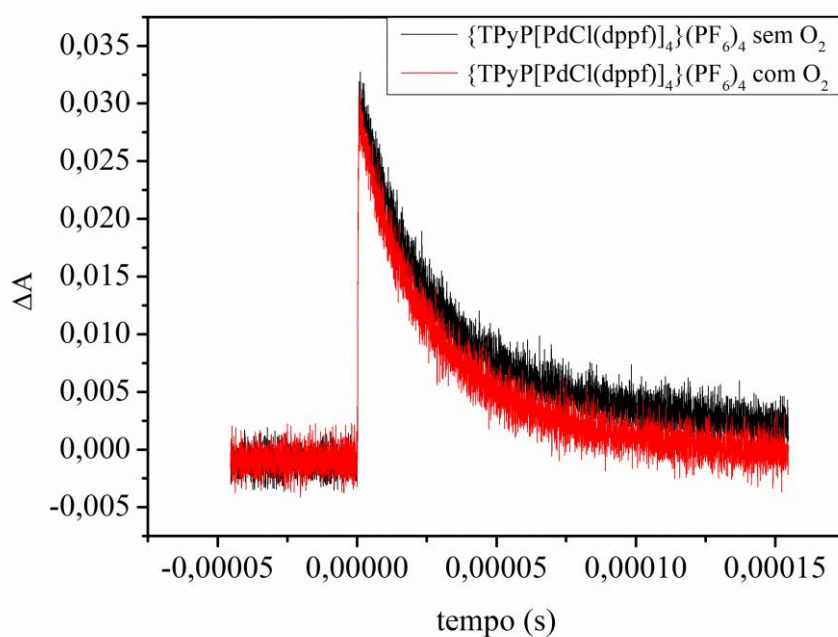
**Figura 29A:** Degradação do ácido úrico, irradiado com um laser 532 nm. O *inset* refere-se à cinética de degradação das porfirinas TPP e  $\{TPyP[PdCl(dppf)]_4\}(PF_6)_4$  em DMSO (caminho óptico: 1,0 cm).



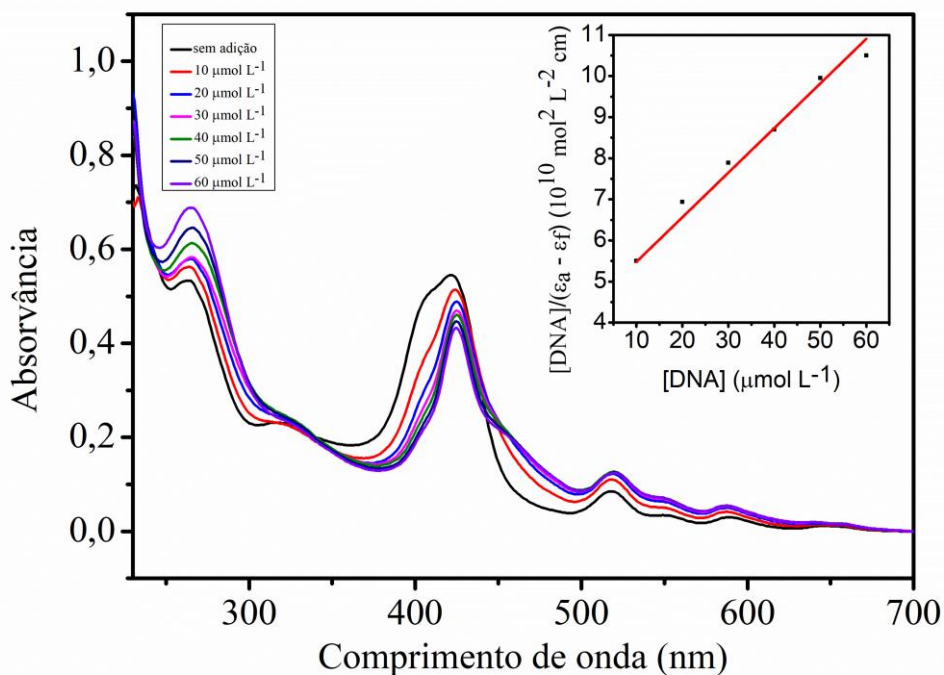
**Figura 30A:** Perfil de decaimento do estado tripleto para  $\{TPyP[PdCl(dppp)]_4\}(PF_6)_4$  na presença e ausência de  $O_2$  (caminho óptico: 1,0 cm).



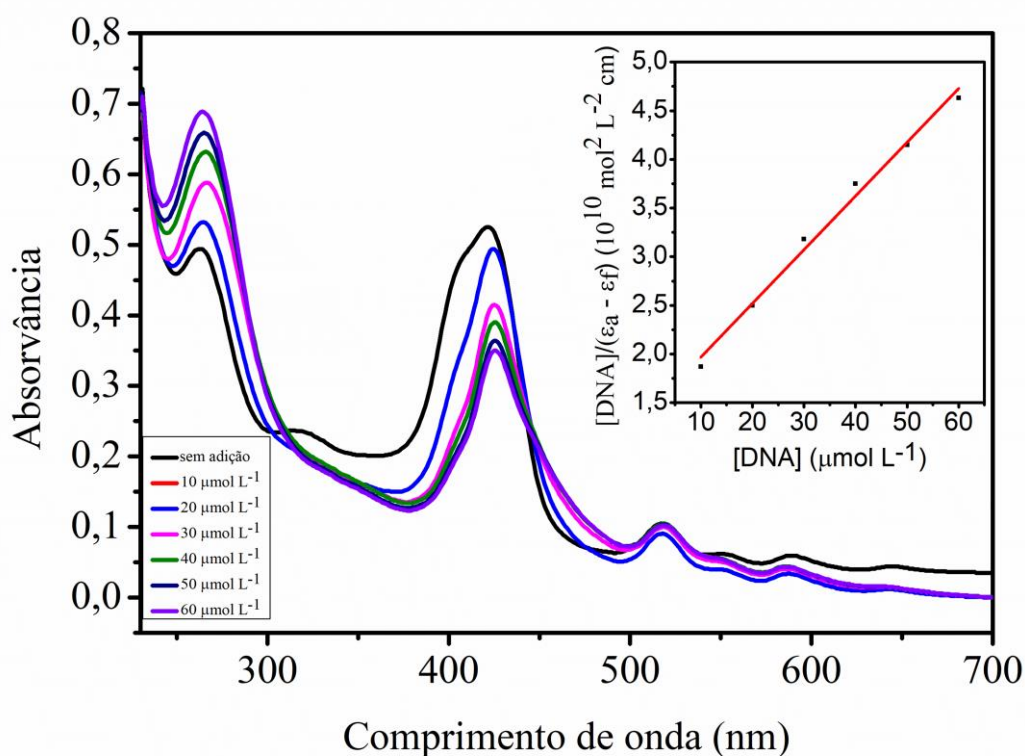
**Figura 31A:** Perfil de decaimento do estado tripleto para  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppb})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  na presença e ausência de  $\text{O}_2$  (caminho óptico: 1,0 cm).



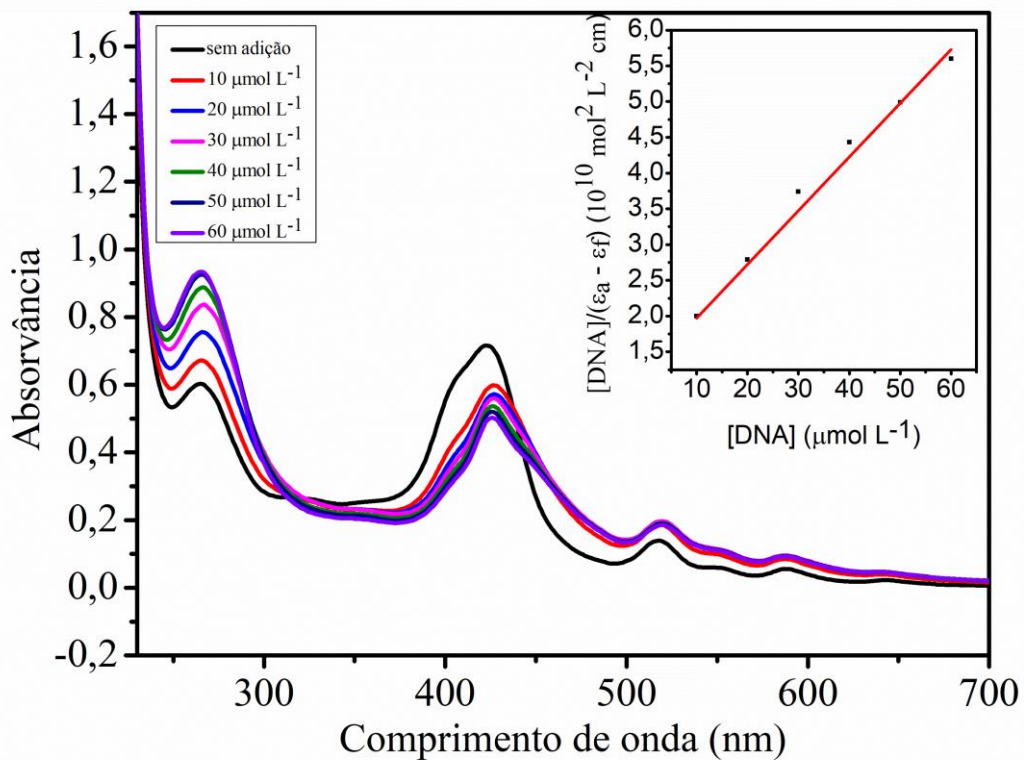
**Figura 32A:** Perfil de decaimento do estado tripleto para  $\{\text{TPyP}[\text{PdCl}(\text{dppf})]_4\}(\text{PF}_6)_4$  na presença e ausência de  $\text{O}_2$  (caminho óptico: 1,0 cm).



**Figura 33A:** Espectros de absorção na região do UV-Vis do complexo  $\{TPyP[PdCl(dppe)]_4\}(PF_6)_4$  com a adição de sucessivas alíquotas de DNA.



**Figura 34A:** Espectros de absorção na região do UV-Vis do complexo  $\{TPyP[PdCl(dppp)]_4\}(PF_6)_4$  com a adição de sucessivas alíquotas de DNA.



**Figura 35A:** Espectros de absorção na região do UV-Vis do complexo  $\{TPyP[PdCl(dppb)]_4\}(PF_6)_4$  com a adição de sucessivas alíquotas de DNA.