Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

"Uso de manganêsporfirinas na oxidação de hidrocarbonetos e no metabolismo de drogas".

Luciana de Paula Baggini Lôvo

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO -SP

2005

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Para ser grande, sê inteiro

Nada teu exagera ou exclui

Sê todas as coisas.

Põe quanto és no mínimo que fazes.

Assim em cada lago a lua toda brilha.

Porque alta vive".

Fernando Pessoa

Dedico

A Deus

Agradeço a Deus por todas as

oportunidades que me concedeu.

Por ter me ajudado

a ser sempre feliz.

Obrigada por tudo !!!

Ao meu marido Ricardo,

O amor não se define mas sente-se, não se escolhe, é predestinado, não carece de palavras, bastam olhares. Quando se ama não se questiona o outro, deduz-se seu pensamento, vive a confiança, não se tem dúvidas apenas uma grande certeza... Não é preciso dizer "eu te amo" basta demonstrar através de pequenos gestos.

Obrigada por me fazer entender que a felicidade é possível, quando ainda existe vontade de fazer outra pessoa feliz assim como você me faz. Obrigada, simplesmente por sorrir e me fazer feliz como sou.

Ao meu filho João Vitor,

Por me ensinar algo novo a cada dia através das coisas simples da vida como acordar cantando; espreguiçar bastante antes de levantar da cama; pegar todo o dia o solzinho da manhã; acordar mais cedo para uma caminhada sem pressa de mãos dadas com quem a gente ama; pedir colinho sempre que possível e dar também; beber muita água e fazer muito xixi; fazer primeiro pra receber depois; fazer beicinho pra ganhar beijinhos...

A vida tem a cor que você pinta.

Aos meus pais Baggini e Dinah,

Quero agradecer pelo amor, por tudo que vocês fizeram nascer dentro de mim. Obrigada por vocês terem me mostrado que vale a pena lutar e que nessa vida temos que ser fortes e corajosos.

Não posso deixar de agradecer por terem dado os seus corações pra mim, obrigada pelo carinho e pelas pessoas maravilhosas que sempre me demonstraram ser.

Amo vocês!!!!

Às minhas irmãs Carol e Bia,

Por me aceitarem como sou e acima de tudo pela amizade de sempre estando presentes em todos os dias de minha vida: na tristeza e na alegria, na paz e na agitação, sempre dispostas a me fazer sorrir ou a chorar...

Obrigada por vocês fazerem parte da minha vida.

Às minhas amigas Má, Beca, Cinara e Simone

Conhecendo o verdadeiro valor da amizade foi que eu pude perceber como foi importante ter conhecido vocês e se algum dia nossos caminhos forem separados, quero que saibam que vou guardar esse sentimento por toda a minha vida como uma lembrança que me fará feliz!.

Adoro vocês.

Agradecimentos

À Profª. Yassuko pela orientação e por ter me acolhido durante todos esses anos.

Ao Prof. Serra pela presença e por estar disposto a ajudar sempre que possível.

À Profª. Pierina (FCFRP-USP) por permitir a realização dos experimentos com fármacos em seu laboratório.

Aos colegas dos Laboratórios de Bioinorgânica e Terras Raras: Aninha, Ana Masson, Anderson, Carla, Cinara, Cláudio, Cristiane, Emmanuel, Fábio, Fernanda, Janaína, Lívia, Luciano, Maria Elisa, Maria Silvia, Miguel, Priscila, Rebeca, Patrícia, Pitião, Simone, Tatiana, pelos momentos de alegria.

À Pati que participou desde quando comecei na iniciação científica.

Ao Fábio que esteve disposto a ajudar em vários momentos.

Ao Michel (FCFRP-USP) pela valiosa ajuda com o uso do HPLC.

Aos grandes amigos Carol e Samuel por participarem dos bons momentos da minha vida.

À CAPES pela bolsa concedida.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Abreviaturas

$[Fe\{TFPP\}H_2$	5,10,15,20-tetrapentafluorofenilporfirina ferro(III)
$[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$	5-mono(4-N-metilpiridil)-10,15,20-tris(pentafluorofenil)porfirina manganês(III)
$[Mn\{T(4\text{-}N\text{-}MePy)P\}]^{5+}$	5,10,15,20-tetra(4-N-metilpiridil)porfirina manganês(III)
$[Mn\{TFPP\}H_2$	5,10,15,20-tetrapentafluorofenilporfirina manganês(III)
7-OH	7-hidroxipraziquantel
ACN	Acetonitrila
ACT	Acetona
$AP(EA)_2TS$	Sílica modificada com 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil
APTES	Sílica modificada com 3-aminopropil
CCD	Cromatografia em camada delgada
cis-4-OH	*cis*-4-hidroxipraziquantel
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
$DA_{1,6}Si$	Sílica modificada com propil e 1,6-diaminohexano
DCM	Diclorometano
di-OH	dihidroxipraziquantel
DMF	N,N-dimetilformamida
FeP(s)	Ferroporfirina(s)
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
MeOH	Metanol
MeP(s)	Metaloporfirina(s)
MnP(s)	Manganêsporfirina(s)
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

P-450	Citocromo P-450
PhIO	Iodosilbenzeno
Praziquantel	2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1a]isoquinolin-4-ona
PZQ	Praziquantel
$SiSO_3^-$	Sílica funcionalizada com grupos sulfonatofenis
$SiSO_3^-$(IPG)	Sílica bisfuncionalizada com grupos sulfonatofenis e propilimidazóis
Trans-4-OH	*trans*-4-hidroxipraziquantel
Tri-OH	trihidroxipraziquantel
UV-Vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível

Resumo

A imobilização da MeP em suportes inorgânicos permite isolar o sítio de reação prevenindo a dimerização e/ou auto-destruição oxidativa da mesma, constituindo-se num catalisador biomimético. Neste projeto foi objetivo avaliar o comportamento biomimético de manganêsporfirinas, comparando sistemas imobilizadas de diferentes maneiras em sílica funcionalizada em processos de oxigenação do cicloocteno e cicloexano, incluindo metabolismo de um fármaco.

A primeira etapa do projeto consistiu na obtenção dos sistemas catalíticos contendo metaloporfirinas imobilizadas em sílicas modificadas. Para isso foi sintetizada a M(4-N-Py)TFPPH_2 base livre, seguida da inserção de manganês (III) e metilação obtendo-se o catalisador Mn[{M(4-N-MePy)TFPP}]$^{2+}$. Foi inserido manganês também nas porifinas base livre [T(4-N-MePy)P]Cl_4 e [TFPP]H_2 obtidas comercialmente obtendo-se os catalisadores Mn[T(4-N-MePy)P]$^{5+}$ e Mn[TFPP]$^{+}$.

Realizou-se a funcionalização da sílica gel com (i) grupos sulfonatofenil e propilimidazol ($SiSO_3$-IPG); (ii) grupos 3-aminopropil (APTES); (ii) grupos 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil (AP$(EA)_2$TS) e (iv) cloropropil e 1,6-diaminoexano ($DA_{1,6}$Si). Essas sílicas foram imobilizadas nas manganêsporfirinas através de interações eletrostáticas ou via ligação covalente.

Esses catalisadores foram usados na oxigenação de (Z)-cicloocteno e cicloexano e no estudo de metabolismo oxidativo do fármaco praziquantel (agente anti-helmíntico).

Os catalisadores [Mn(TFPP)]- APTES, [Mn(TFPP)]- $AP(EA)_2TS$, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-$SiSO_3$, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $SiSO_3$(IPG), [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-APTES, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $AP(EA)_2TS$, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $DA_{1,6}Si$ foram usados em reações de epoxidação do (Z)-cicloocteno pelo PhIO e os resultados obtidos foram baixos. Já com H_2O_2 como oxidantes os resultados foram muito bons quando foi adicionado imidazol.

Nas reações de hidroxilação do cicloexano os rendimentos obtidos foram altos quando a MnP foi imobilizada por interação eletrostática. Neste sistema as oxidações competitivas são minimizadas.

Os sistemas com melhores resultados foram selecionados para estudos com o praziquantel (PZQ). Diferentemente dos resultados obtidos previamente com FeP, os sistemas com MnPs se revelaram bons catalisadores biomiméticos, uma vez que apresentaram quantidades expressivas do metabólito *trans*-4'-OH, o principal metabólito produzido *in vivo*. As MnPs, em particular as piridis substituídas apresentaram boa conversão de PZQ sendo [Mn{T(4-N-MePy)P}]-$SiSO_3$ o melhor, além de produzir 38 % do *trans*-4'-OH, apresentou 87 % de conversão. Estes resultados preliminares indicam um sistema muito promissor com resultados inéditos.

Abstract

The immobilization of metalloporphyrins in inorganic supports allows to isolate reaction site preventing dimerization and/or catalyst oxidative self-destruction constituting in a biomimetic system. In this project the aim was evaluate the biomimetic behaviour of manganese porphyrins, comparing systems immobilized on sílica in different ways in oxygenations processes of (Z)-cyclooctene and cyclohexane, including a study of drug metabolism.

Initially the catalytic systems containing metaloporphyrins immobilized on modified silica were obtained. The free base M(4-N-Py)TFPPH_2 was firstly synthesized, then the Mn^{III} was inserted, methylated obtaining the catalyst $Mn[\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$. The Mn^{III} also was inserted in the commercials free base $[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]Cl_4$ e $[TFPP]H_2$ obtaining the catalysts $Mn[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]^{5+}$ e $Mn[TFPP]^{+}$.

The sílica gel were functionalizated with (i) sulfonatephenyl and propylimidazole groups ($SiSO_3$-IPG); (ii) 3-aminopropil groups (APTES); (ii) 3-(2-(2-aminoethyilamine) ethilamine) propyl groups ($AP(EA)_2TS$) and (iv) chloropropyl e 1,6-diaminehexane ($DA_{1,6}Si$). Manganese porphyrins were immobilized on these sílica supports through electrostatic interactions or covalent bond.

These catalysts were used in the (Z)-ciclooctene and cyclohexane oxigenationand in the oxidative metabolism of praziquantel (antihelmintic agent).

The catalysts [Mn(TFPP)]- APTES, [Mn(TFPP)]- AP(EA)$_2$TS, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-SiSO$_3$, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- SiSO$_3$(IPG), [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-APTES, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- AP(EA)$_2$TS, [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- DA$_{1,6}$Si were used in (Z)-ciclooctene epoxidation rendering low yields using PhIO as oxidant, contrasting the good yields when imidazole and H_2O_2 as oxidant were used.

In the hydroxylation of cyclohexane the yields were high when the MnP were immobilized through electrostatic interaction. In this system the competitive oxidations are minimized.

The best systems were selected for to study the praziquantel oxidation. Differently from FeP results previously obtained, the MnP systems revealed good biomimetic catalysts for PZQ, since high amount of *trans*-4'-OH metabolite was obtained, the principal *in vivo* metabolites. The pyridil substituted MnP, particularly [Mn{T(4-N-MePy)P}]-SiSO$_3$ showed the best results, besides the high yield of *trans*-4'-OH (38%), the convertion attained 87%. These results are inedited and very promising biomimetic catalytic systems.

Índice

I. INTRODUÇÃO 15

I.1 – Aspectos gerais 15

I.2 – Citocromo P-450 17

I.3 – Catálise biomimética 20

I.4 – Uso de manganêsporfirinas no estudo do metabolismo de fármacos 24

II. OBJETIVOS 28

III. MATERIAIS E MÉTODOS 32

III.1 - Materiais 32

III.2 - Métodos 35

(a) Síntese de porfirinas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas 35

(b) Inserção de Mn(III) na [M(4-N-Py)TFPP]H_2 36

(c) Metilação da Mn[M(4-N-Py)TFPP]$^+$ 36

(d) Inserção de Mn(III) na porfirina [T(4-N-MePy)P]Cl_4 37

(e) Inserção de Mn(III) na porfirina [TFPP]H_2 37

(f) Funcionalização da sílica sulfonatofenil-modificada ($SiSO_3$) com o grupo propilimidazol ($SiSO_3$-IPG) 38

(g) Funcionalização da sílica gel formando APTES e AP$(EA)_2$TS 39

(h) Funcionalização da sílica cloropropil-modificada (Clpr-Si) com o grupo 1,6-diaminoexano ($DA_{1,6}$Si) 39

(i) Imobilização das MnPs nos suportes sólidos $SiSO_3$ e $SiSO_3$(IPG) 40

(j) Imobilização das MnPs nos suportes sólidos APTES, AP$(EA)_2$TS e $DA_{1,6}$Si 40

(l) Testes da atividade catalítica dos novos sistemas suportados na oxigenação de (Z)-cicloocteno e 40

cicloexano

(m) Estudo do metabolismo do praziquantel pelo PhIO catalisado por manganêsporfirinas 41

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO 42

IV.1 - Síntese de porfirinas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas 42

IV.2 - Inserção de Mn(III) na [M(4-N-Py)TFPP]H_2 47

IV.3 - Metilação da Mn[M(4-N-Py)TFPP]$^+$ 48

IV.4 - Inserção de Mn(III) na porfirinas [T(4-N-MePy)P]Cl_4 e [TFPP]H_2 50

IV.5- Funcionalização da sílica sulfonatofenil-modificada ($SiSO_3$) com o grupo propilimidazol ($SiSO_3$-IPG) 51

IV.6 - Funcionalização da sílica gel formando APTES e AP(EA)$_2$TS 52

IV.7 - Funcionalização da sílica cloropropil-modificada (Clpr-Si) com o grupo 1,6-diaminoexano ($DA_{1,6}$Si) 54

IV.8 - Imobilização das MnPs nos suportes sólidos $SiSO_3$ e $SiSO_3$(IPG) 55

IV.9 - Imobilização das MnPs nos suportes sólidos APTES, AP(EA)$_2$TS e $DA_{1,6}$Si 56

IV.10 - Testes da atividade catalítica dos novos sistemas suportados na oxigenação de (Z)-cicloocteno e cicloexano 58

IV.11 - Estudo do metabolismo do praziquantel pelo PhIO catalisado por manganêsporfirinas 64

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS 68

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 69

I – INTRODUÇÃO

I.1 – Aspectos gerais

A oxidação seletiva de alcanos, alcenos e hidrocarbonetos aromáticos é um dos processos mais atrativos para a conversão do petróleo em produtos com maior valor agregado para a química fina [1,2]. Muitos destes processos utilizam complexos metálicos e catalisadores relacionados para promover boa conversão de reagentes em produtos e seletividade. A oxidação seletiva do cicloexano, por exemplo, é muito atrativa porque seus produtos são intermediários na manufatura do Nylon-6 e Nylon-6,6 [3]. A tecnologia desenvolvida até hoje é o uso destes catalisadores homogêneos com sais de metais de transição. Como os produtos cicloexanol e cicloexanona são mais reativos do que o substrato cicloexano, altas seletividades (>80%) para a soma de cicloexanol e cicloexanona somente podem ser observadas a baixas conversões de cicloexano (<5%). Além disso, a separação dos catalisadores da mistura reacional em sistemas homogêneos não é fácil [3].

Dentro deste contexto o desenvolvimento de catalisadores capazes de realizar a oxidação seletiva de hidrocarbonetos é tarefa difícil, pois essas reações são freqüentemente acompanhadas pela formação de radicais livres [4]. Na natureza esse problema é resolvido pois metaloenzimas são capazes de promover essas reações de oxidação seletivas em condições brandas. Entre elas estão as metano-monooxigenases e os citocromos P-450.

O citocromo P-450 é uma importante e bastante estudada hemoproteína, cujo centro ativo se constitui na Fe(III)protoporfirina IX (Fig. 1). Ele é responsável por alguns processos importantes como: (i) catalisar as etapas de oxidação envolvidas na biossíntese e biodegradação de compostos endógenos como esteróides, ácidos graxos ou prostaglandinas, tornando a oxidação altamente régiosseletiva e estereosseletiva e (ii) participar no metabolismo de compostos exógenos como fármacos, pesticidas, anestésicos e solventes, tornando-os mais hidrofílicos formando resíduos solúveis em água, facilitando assim a sua eliminação do organismo por excreção renal [5].

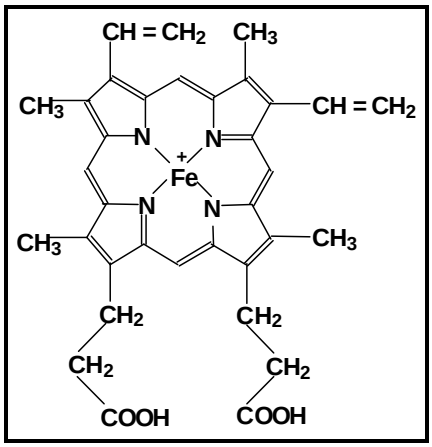


Figura 1: Ferro(III)protoporfirina IX - Centro Ativo do Citocromo P-450.

Diversas metaloporfirinas têm sido desenvolvidas com o objetivo de mimetizar heme-enzimas, permitindo i) uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos principalmente do citocromo P-450, cuja natureza exata da espécie responsável pelas oxidações ainda não está totalmente esclarecida e

ii) reproduzir a atividade catalítica das enzimas usando doadores de oxigênio simples, relevante para o desenvolvimento de oxidações seletivas para aplicações nos estudos de metabolismo de fármacos ou indústria de química fina.

I.2 – Citocromo P-450

O P-450 é largamente distribuído em organismos vivos e está presente em mamíferos, insetos, peixes e plantas [6]. São sistemas multi-enzimáticos mais sofisticados do que simples peroxidases que catalisam a ativação do oxigênio molecular promovendo a transferência de um dos átomos de oxigênio para o substrato e o segundo átomo é reduzido à água por equivalentes redutores fornecidos pelo NADPH [7,8].

$$RH + O_2 + 2\,e^- + 2\,H^+ \longrightarrow ROH + H_2O \qquad (\textit{in vivo})$$

Cada enzima contém a ferro(III)-protoporfirina IX como sítio ativo onde, após a redução, o oxigênio molecular é coordenado ao ferro em um mecanismo complexo que não está completamente elucidado. O mecanismo mais aceito consiste nas seguintes etapas (Fig. 2). Primeiro, o substrato liga-se ao sítio ativo da enzima. A etapa seguinte corresponde à redução da espécie Fe(III)porfirina à Fe(II)porfirina. Depois ocorre a ligação do O_2 ao complexo Fe(II)porfirina formando Fe(II)porfirina-O_2 que é novamente reduzido formando a espécie Fe(III)porfirina-peroxo onde o Fe(II) é oxidado Fe(III). Na quinta etapa ocorre a protonação e clivagem eletrolítica da ligação O-O produzindo água e o intermediário ativo oxo-

ferril porfirina π cátion ($Fe^{IV}(O)P^{\cdot+}$). Na sexta etapa este intermediário complexo-oxo transfere o oxigênio para o substrato e os produtos oxigenados são liberados da enzima.

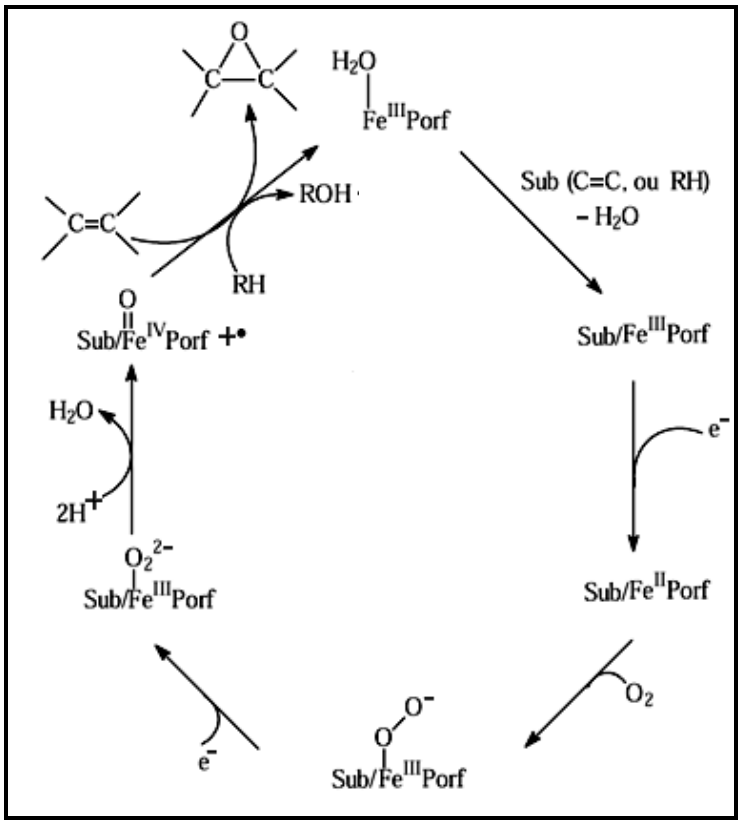


Figura 2: Ciclo catalítico dos citocromos P-450 proposto para a oxidação de substratos orgânicos [9]

In vitro, o P-450 pode catalisar essa transferência de um átomo de oxigênio através de simples doadores de oxigênio (Fig. 3), como H_2O_2 e PhIO [10], sem a

necessidade da citocromo P-450 redutase ou de qualquer outra proteína de transferência de elétrons e sem o consumo de NADPH [7,8].

$$RH + AO \longrightarrow ROH + A \qquad (\textit{in vitro})$$

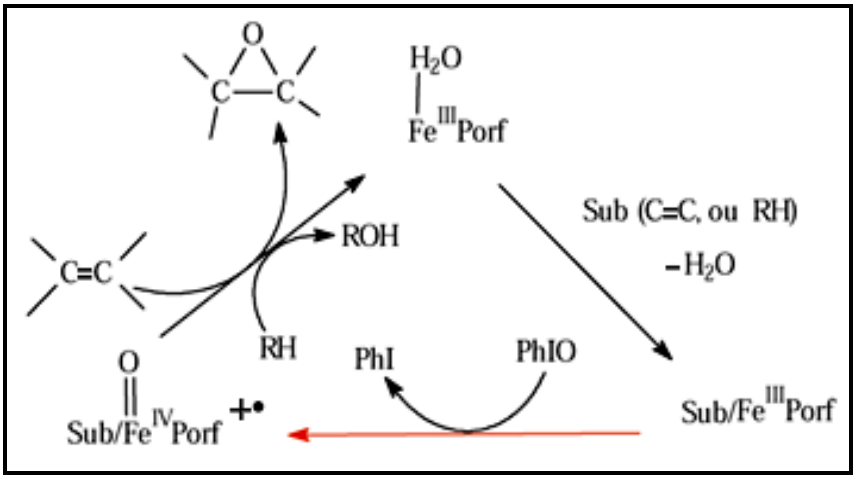


Figura 3: Ciclo catalítico curto do P-450 [9]

No ciclo catalítico curto (conhecido como desvio do peróxido) o doador de oxigênio transfere o oxigênio à Fe(III)porfirina que é transferido ao substrato subseqüentemente. Esse processo é chamado *"Oxygen Rebound"* ou recombinação do oxigênio (Fig. 4), onde o PhIO produz diretamente as espécies $Fe^{IV}(O)P^{\cdot+}$ que abstrai hidrogênio formando um "cage" e rapidamente produz o produto hidroxilado [10].

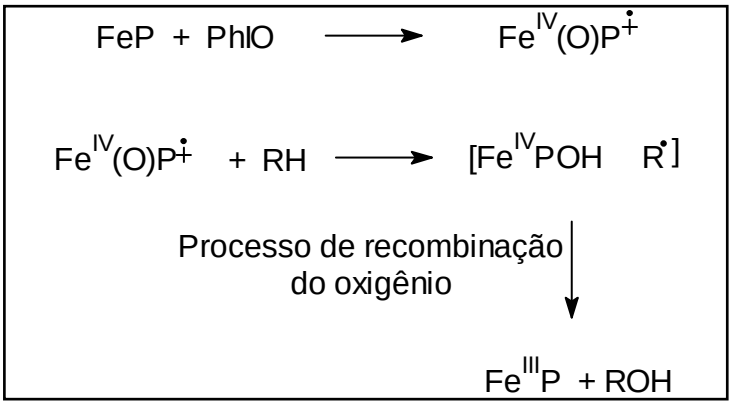


Figura 4: Mecanismo de hidroxilação de alcanos

I.3 – Catálise biomimética

A partir destas descobertas o estudo de reações envolvendo sistemas modelo dos citocromos P-450 muito se desenvolveu sendo que várias foram as tentativas de se mimetizar suas funções. Vários esforços foram realizados na segunda metade do século passado no sentido de se desenvolver sistemas modelo eficientes, baseados na utilização de metaloporfirinas (com propriedades similares ou melhores que as da ferro(III)-protoporfirina IX; Fig. 5), com o intuito de se mimetizar as funções de transporte de oxigênio ou elétrons observadas na natureza [11, 12].

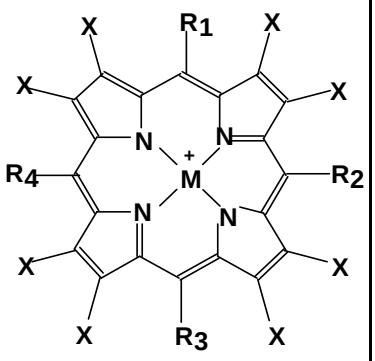
	Metaloporfirina	$R_1 = R_2 = R_3 = R_4$		X =
	**1-** $[Mn(TPP)]^+$	C_6H_5		H
	2- $[Mn\{T(4\text{-}N\text{-}MePy)P\}]^{5+}$	$CH_3^+NC_5H_4$		H
	3- $[Mn(TFPP)]^+$	C_6F_5		H
	4- $[Mn(TDCPP)]^+$	2,6-$diClC_6H_3$		H
		R_1 =	**$R_2 = R_3 = R_4$ =**	**X =**
	5- $[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$	$CH_3^+NC_5H_4$	C_6F_5	H
	6-$[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TDCPP\}]^{2+}$	$CH_3^+NC_5H_4$	2,6-$diClC_6H_3$	H
	7- $[Mn(MF_5TPP)]^+$	C_6F_5	C_6H_5	H
	8- $[Mn(MNTPP)]^+$	o-NO_2	C_6H_5	H

Figura 5: Estrutura e exemplos de metaloporfirinas

A similaridade das metaloporfirinas com as heme enzimas foi, e continua sendo, a força motriz para o estudo de reações catalisadas por metaloporfirinas.

Acredita-se que essas metaloporfirinas (MePs) sejam ferramentas importantes para (i) o entendimento de complexos processos biológicos envolvidos em reações enzimáticas, e (ii) design e desenvolvimento de catalisadores livres de proteínas que possam ser utilizados "*in vitro*" para catalisar reações químicas de grande importância industrial [9].

O primeiro sistema modelo P-450 foi descrito por J. T. Groves *et al.* [13, 14], eles relataram o uso da ferroporfirina sintética Fe(TPP)Cl e iodosilbenzeno (PhIO) como doador de oxigênio em reações de hidroxilação de hidrocarbonetos. A

hidroxilação do cicloexano, pelo sistema de Groves, leva a uma mistura de cicloexanol e cicloexanona, onde o álcool é predominante (relação 15:1) [13, 14]. Neste caso, o álcool é obtido sem que ocorra posterior oxidação à cetona. Esse sistema, por se mostrar seletivo para cicloexanol, apresentou uma das características fundamentais do citocromo P-450 do ponto de vista qualitativo, o qual é capaz de promover a hidroxilação de um hidrocarboneto através do processo de recombinação de oxigênio com envolvimento da espécie ferril ($Fe^{IV}(O)P^{\cdot+}$, Fig. 4), fortemente oxidante, sem oxidar o álcool formado durante a reação. No entanto, esta ferrotetraarilporfirina (metaloporfirina de 1ª geração [11, 12]) é oxidativamente destruída sob as condições drásticas de reação. Portanto, a utilização dessas MePs como catalisadores depende, principalmente, da obtenção de anéis porfirínicos que sejam estáveis à oxidação [15, 16] e propiciem uma reação seletiva.

Com a manganêsporfirina o processo de recombinação de oxigênio é o mecanismo mais aceito cuja espécie ativa é $Mn^{V}(O)P$ (Fig. 6).

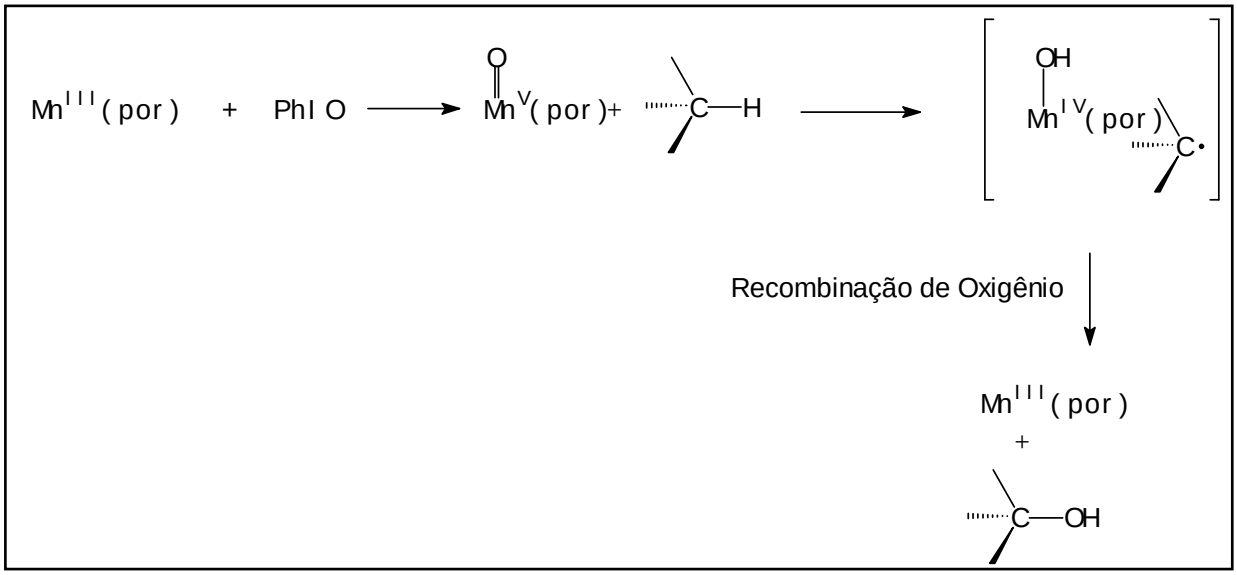


Figura 6: Mecanismo de hidroxilação de alcanos *"oxygen rebound"* catalisado por MnPs

Melhores resultados têm sido obtidos com a introdução de substituintes halogenados nas posições mesoaril da $Me(TPP)^+$, são chamados de 2ª geração de MePs [17]. Isso faz com que os anéis porfirínicos se tornem mais estáveis à oxidação, propiciem uma reação mais seletiva e se tornem menos susceptíveis aos ataques eletrofílicos de agentes oxidantes, aumentado o tempo de vida do catalisador. Exemplos dessa 2ª geração de MePs são a $Mn(TFPP)^+$ e a $Mn(TDCPP)^+$ (Fig. **5**, 3 e 4 respectivamente). Chang *et al.* [18] usaram cloreto de *meso*-tetrakis(pentafluorofenil)porfirinaferro(III) na oxidação do cicloexano. O alto rendimento de cicloexanol obtido (71%) foi atribuído aos efeitos estérico e eletrônico dos átomos de flúor. Traylor *et al.* [15] também obtiveram um alto rendimento de cicloexanol (73%), porém utilizando a Fe(TDCPP)Cl e PhIO como doador de oxigênio.

Também tem sido alvo de estudo, a introdução de substituintes eletronegativos (Br, Cl, F ou SO_3H) nas posições β-pirrólicas da MeP (MePs de 3ª geração [11, 12]). A $Fe(TDCPCl_8P)Cl$ oxida o heptano levando a maiores rendimentos de heptanol do que a Fe(TDCPP)Cl (78% e 38% respectivamente), devido ao maior caráter eletrofílico que os β-cloro-substituintes conferem ao intermediário ativo $Fe^{IV}(O)P^{\cdot +}$ [11, 12].

Outro método utilizado para aumentar a eficiência destes catalisadores tem sido a sua imobilização em matrizes orgânicas como polímeros [19, 20] e inorgânicas como resinas de troca iônica [21, 22], argilas [23], zeólitas e sílica [24, 25, 26, 27]. A ancoragem de MePs apresenta as seguintes vantagens: i) prevenção da auto-degradação oxidativa; ii) prevenção da dimerização de metaloporfirinas e iii) fácil recuperação e reutilização do catalisador.

A maioria de estudos envolvendo metaloporfirinas tem utilizado FeP e MnP apolares em solvente orgânico e o desenvolvimento de MePs iônicas solúveis em água é muito importante pois abre a possibilidade de se utilizá-las como catalisadores em outros sistemas de solventes ou até mesmo adsorvidas em matrizes inorgânicas através de sua carga positiva.

Metaloporfirinas como catalisadores biomiméticos têm sido utilizadas mais recentemente para o estudo do metabolismo de fármacos [28].

I.4 – Uso de metaloporfirinas no estudo do metabolismo de fármacos

Drogas possuem geralmente grupos altamente funcionalizados e freqüentemente oxidáveis. Por isso são alvos ideais para metabolismo oxidativo quando são introduzidos nos organismos vivos. O metabolismo oxidativo é muito importante pois pode afetar significativamente a eficácia da droga devido à formação de metabólitos terapeuticamente ativos ou tóxicos [28].

Desta forma, o estudo do metabolismo de fármacos é importante para o melhor entendimento do papel dos metabólitos nos organismos vivos e permite uma melhor compreensão do efeito terapêutico e/ou tóxico e o melhor ajuste do regime de dosagem. No entanto, muitas vezes a obtenção de metabólitos não é fácil através das rotas de síntese orgânica convencionais e o uso de modelos biológicos para preparar quantidades suficientes se torna atrativo [28]. Os métodos para obtenção dos metabólitos incluem experimentos diretos em animais, uso de células isoladas e estudos com enzimas que metabolizam xenobióticos. Contudo muitos problemas estão associados com o uso destes diferentes sistemas: (i) estudos com animais necessitam de seu sacrifício e são muito caros; (ii) o uso células isoladas apresenta muitas variáveis e (iii) o isolamento dos intermediários reativos que podem formar polímeros biológicos não é fácil uma vez que os metabólitos primários são freqüentemente hidrofílicos.

Então, o mais conveniente é usar catalisadores químicos biomiméticos para checar o comportamento das drogas em condições oxidáveis e preparar os metabólitos ativos em quantidades suficientes para caracterização e testes farmacológicos e toxicológicos.

Neste sentido, sistemas contendo heme-enzimas simples, como peroxidases e monooxigenases dependentes do citocromo P-450 tem sido

investigados por causa de sua habilidade em oxidar uma grande variedade de substratos orgânicos [28].

Os primeiros sistemas modelo do citocromo P-450 para metabolismo de fármacos utilizavam porfirinas não solúveis em água, como a [Fe(TPP)]Cl e [Mn(TPP)]Cl [29]. Pautet *et al.* [30] utilizaram o sistema [Fe(TPP)]Cl/PhIO na oxidação de *antergan* para produtos N-desmetilados e Hirobe *et al*. [31, 32] utilizaram o mesmo sistema no estudo do metabolismo da fenilciclidina para compostos piperidina-3-oxo.

Uma classe de metaloporfirinas que tem despertado grande interesse dos pesquisadores são as solúveis em água pois as reações nos organismos ocorrem em meio neutro e aquoso [32]. Entre estas metaloporfirinas estão as que apresentam no anel *meso*fenil grupos aniônicos (carboxilatos ou sulfonatos) e as que apresentam grupos catiônicos, como a *meso*-tetra(4-N-metilpiridil)porfirina, $(TMPyP)^{4+}$.

Contudo, existem ainda poucos trabalhos relatando o uso desses sistemas catalíticos nos estudos de fármacos. A principal diferença entre as metaloporfirinas e o citocromo P-450 é a presença, no citocromo, de um sítio ativo protéico, capaz de se ligar aos fármacos com maior ou menor seletividade. Por isso, tem sido realizada a síntese e caracterização de metaloporfirinas suportadas, com o objetivo de se desenvolver uma “enzima” artificial que apresente similaridade em alguns aspectos com o sistema nativo do P-450.

O fármaco escolhido para este estudo foi o praziquantel, 2- (cicloexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino-[2,1a]-isoquinolin-4-ona, que é um efetivo agente anti-helmíntico que exibe atividade contra infecções especialmente de

Schistosoma e *Taenia*. Após rápida absorção no trato gastrintestinal, o praziquantel é sujeito a um pronunciado metabolismo pré-sistêmico, resultando na formação de metabólitos mono e dihidroxilados, principalmente, o *trans*-4-hidroxipraziquantel (*trans*-4-OH) (Fig. 7) [33, 34, 35]. A metabolização do praziquantel é enantiosseletiva havendo formação preferencial do (-)-(R)-*trans*-4-hidroxipraziquantel. *In vitro*, a incubação com ratos, coelhos ou outros microorganismos vivos mostra que o produto predominante é o *cis*-4-hidroxipraziquantel (*cis*-4-OH) [36, 37]. Lerch *et al.* estudaram, *in vitro*, o metabolismo do praziquantel e caracterizaram três outros metabólitos além do *trans*-4-OH e *cis*-4-OH: 6 ou 7-hidroxipraziquantel (6/7-OH), 1-hidroxipraziquantel e 1,4- dihidroxipraziquantel. Neste estudo o metabólito obtido em maior quantidade, depois do *cis*-4-OH, foi o 6/7-OH [38].

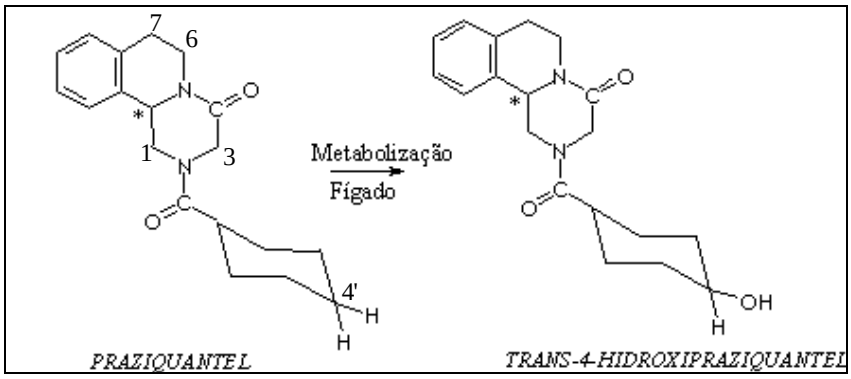


Figura 7: Metabolização *in vivo* do praziquantel em seu principal metabólito

Estudos de metabolismo do praziquantel realizados recentemente [39] comprovaram que, nos sistemas biomiméticos com ferroporfirinas em solução o

produto principal obtido é o 7-hidroxipraziquantel (7-OH), além de revelar através de otimização da geometria do praziquantel, uma maior disponibilidade deste carbono para a hidroxilação.

II – OBJETIVOS

Dentro do contexto apresentado objetivou-se a utilização de metaloporfirinas como catalisadores no estudo do metabolismo de fármacos, ou seja, obtenção de novos sistemas catalíticos capazes de realizar a oxigenação de hidrocarbonetos de forma eficiente e seletiva além de possibilitar o estudo do metabolismo de fármacos.

Os sistemas catalíticos selecionados foram metaloporfirinas suportadas em sílica modificada pois apresentam vantagens em relação à catálise homogênea, como recuperação e reutilização do catalisador após a reação. Foram utilizados suportes aniônicos, os quais foram ligados eletrostaticamente às MnPs, de sílica quimicamente modificada com grupos sulfonatofenis ($SiSO_3$) e com grupos sulfonatofenis e propilimidazóis ($SiSO_3$-IPG).

Além destes citados acima, utilizou-se suportes com menor polaridade. Os suportes sintetizados foram os de sílica quimicamente modificada com grupos 1,6-diaminohexano ($DA_{1,6}Si$), com grupos 3-aminopropil trietoxisilano (APTES) e com grupos 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil-trimetoxisilano ($AP(EA)_2TS$) (Fig. 8). Neste caso a ligação MnP-suporte é dada através de ligação covalente.

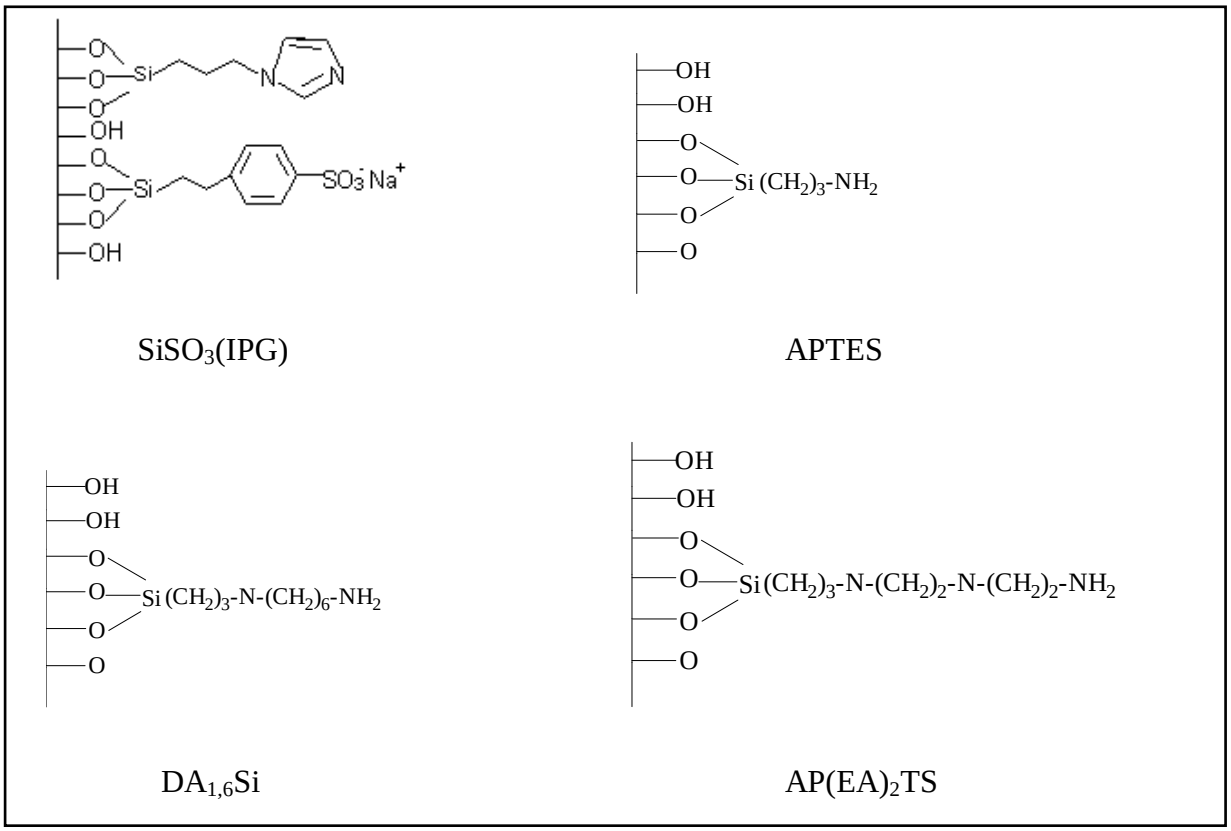


Figura 8: Suportes de sílica quimicamente modificados usados neste trabalho

As porfirinas estudadas foram (Fig. 9):

i) $[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$, esta porfirina assimétrica permite a imobilização em suportes aniônicos (ligação iônica) e também por ligação covalente do nitrogênio presente na sílica amino-alquilada por substiuição nucleofílica do flúor na posição –*para* do anel *meso*-pentafluorofenil.

ii) $[Mn\{T(4\text{-}N\text{-}MePy)P\}]^{5+}$ por ser uma porfirina catiônica é facilmente ancorada em suportes aniônicos através de ligações iônicas.

iii) $[Mn(TFPP)]^{+}$, que além de ser um eficiente catalisador homogêneo para diversas reações de oxigenação de hidrocarbonetos também pode ser ligada covalentemente a suportes de sílica quimicamente modificados.

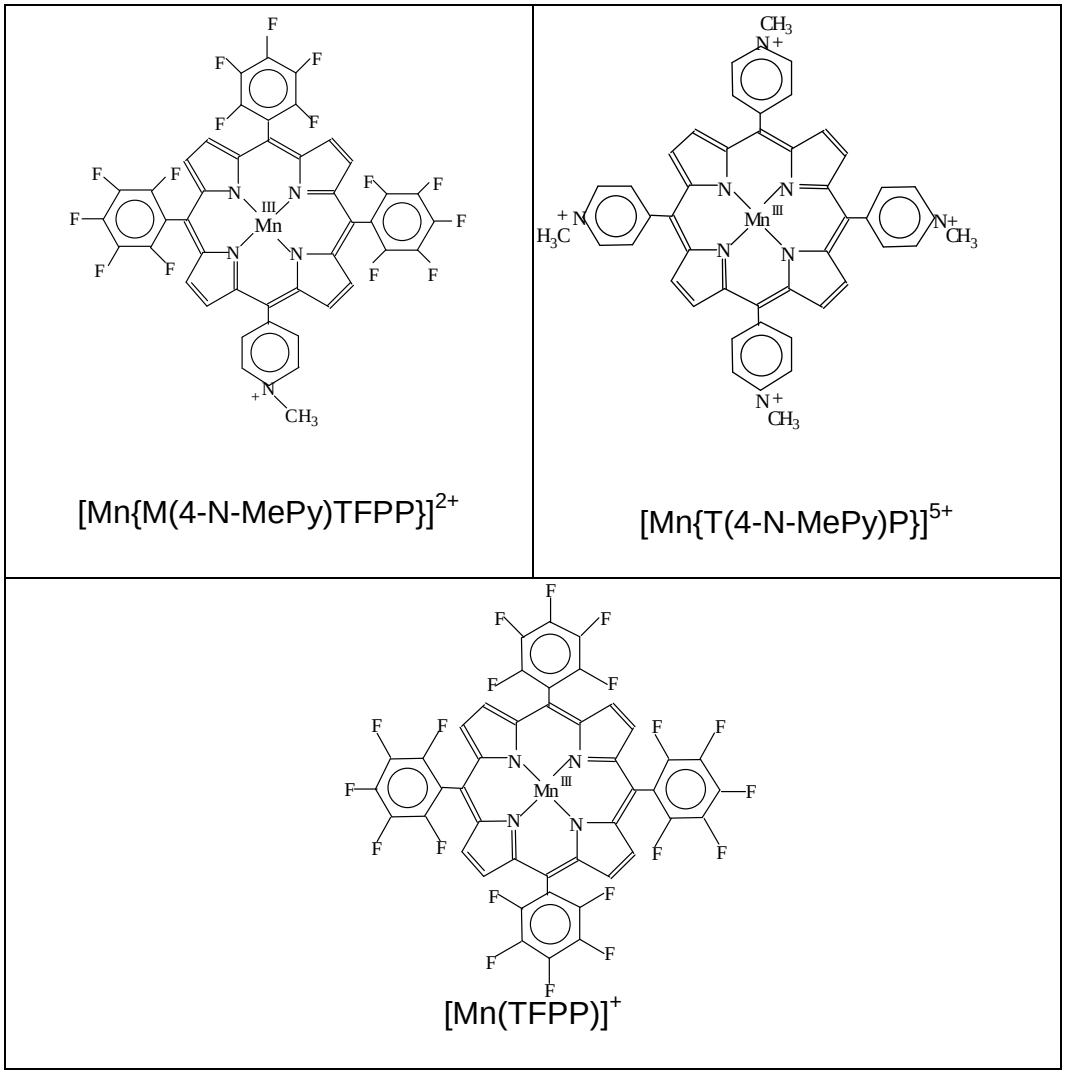


Figura 9: Manganêsporfirinas estudadas neste trabalho

Os sistemas MnP-suporte foram utilizados na oxidação do (Z)-cicloocteno e cicloexano com PhIO e H_2O_2 como oxidantes a fim de se avaliar a seletividade e a eficiência do catalisador.

Para o estudo do metabolismo de drogas selecionou-se o praziquantel (usado para o tratamento da esquistossomose) pois é metabolizado por enzimas do citocromo P-450 e os metabólitos formados apresentam atividade terapêutica. Além disso, esse fármaco e/ou seus metabólitos são de interesse pois já vem sendo estudados pelo grupo de Cromatografia e Eletroforese Capilar da FCFRP-USP (coordenado pela Prof ª. Drª. Pierina S. Bonato) que tem desenvolvido métodos para suas análises em fluidos biológicos. Em estudos realizados recentemente [39], as FeP(s) foram amplamente exploradas porém os experimentos referentes às MnP(s) ainda estão incompletos. Além disso, até o presente momento, estes estudos envolveram apenas MPs/oxidante em sistemas homogêneos. Optou-se por fazer o estudo com MnPs, neste trabalho, pois uma avaliação criteriosa dos produtos de oxidação do praziquantel, comparando a atuação das MnPs com as FePs previamente estudadas [39] pode trazer contribuições relevantes para a compreensão dos processos oxidativos dos modelos biomiméticos, particularmente com relação às hidroxilações. Além disso, a intenção foi usar MnPs suportadas em sílica quimicamente modificada e PhIO como oxidante pois pensa-se que estes sistemas sejam bastantes promissores.

III – MATERIAIS E MÉTODOS

III.1 – Materiais

Reagentes e Solventes

Reagentes e solventes usados sem tratamento prévio:

- Acetona (ACT) (Mallinckrodt)
- Acetonitrila (ACN) (Mallinckrodt) grau HPLC
- Acetato de manganês
- Ácido propiônico (Mallinkrodt)
- 3-(2-(2-aminoetilamino)etilamino)propil-trimetoxisilano (Aldrich)
- 3-Aminopropiltrietoxisilano (Aldrich)
- Bromobenzeno (Aldrich)
- Cicloexano (CH) (Mallinckrodt)
- 3-Cloropropiltrimetoxisilano (Aldrich)
- 1,6-Diaminoexano (Aldrich)
- Dicloroetano (Merck) grau HPLC
- Diclorometano (DCM) (Mallinckrodt)
- Dimetilformamida (DMF)
- Etilenoglicol

- Hexafluorofosfato (PF_6)
- Imidazol (Sigma)
- Iodeto de metila
- Metanol (MeOH) (Mallinckrodt)
- $MnCl_2.4H_2O$ (Mallinckrodt)
- Pentafluorobenzaldeído 98% (Aldrich)
- 4-piridinacarboxialdeído (Aldrich)
- Pirrol 98% (Aldrich)
- Praziquantel (Aldrich)
- Resina Dowex 50WX8-100 (Aldrich)
- Sílica gel para cromatografia em coluna (230 - 400 mesh) (Merck)
- Sulfato de sódio (Reagen)
- $[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]Cl_4$ (Mid Century)
- $[TFPP]H_2$ (Mid Century)
- Tolueno (Merck)
- Tetracloreto de carbono (Carlo Erba)

Acetonitrila (Mallinckrodt) e 1,2-dicloroetano (Merck)

Estes solventes foram destilados e armazenados em frasco escuro contendo peneira molecular de 4 angstron previamente ativada

Cloropropilsílica (ClPr-Si)

Sintetizada em nosso laboratório através da funcionalização da sílica gel com grupos cloropropil.

Cicloexano (Aldrich) e (Z)-cicloocteno (Acros)

Foram purificados em coluna de alumina básica para retirar traços de produtos oxidados e armazenados a 4º C.

Iodosilbenzeno

Foi sintetizado em nosso laboratório pela hidrólise alcalina do iodosilbenzeno diacetato segundo metodologia descrita por Sharefkin [40]. A determinação de sua pureza (90%) foi realizada a cada seis meses por titulação iodométrica e as amostras armazenadas em freezer.

Aparelhagens e dispositivos

- Aparelho HPLC Shimadzu, com detectores UV-Vis Diode Array e SPD-10 AV; bombas LC-6AD VP; colunas analíticas ODS (4,6 x 250 mm, 5µm e 10 A) e sílica (4,6 x 250 mm, 5µm e 10 A), fluxo 1 mL/min para análise dos metabólitos dos fármacos estudados.

- Balança Analítica Metler AE 240, carga máxima 160 g, d=0,01 mg.

- Chapa de aquecimento e agitação magnética Corning Hot Plate Stirrer-PC351.

- Cromatógrafo a gás Hewlett Packard CG System HP 6890 Series, acoplado a um detector de ionização de chama, usando uma coluna capilar (HP-INNOWAX, poly(ethylene glicol) cross linking, com 30 m de comprimento de 0,25

mm de diâmetro e espessura do filme de 0,25 μm) e nitrogênio como gás de arraste.

- Cubetas de quartzo para espectroscopia UV-Vis de 0,2 e 1,0 cm de caminha óptico (Hellma e Beckmann).

- Espectrofotômetro HP 8453 Diode Array acoplado a HP ChemStation.

- Espectrômetro de infravermelho Perkin Elmer FT-IR 1600.

- Espectrômetro de RMN Bruker DR X 400, 9, 4 T.

- Evaporador rotatório Büchi RE 121.

- Vidraria comum de laboratório.

III.2 – Métodos

(a) Síntese de porfirinas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas

A síntese de porfirinas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas foi realizada segundo o método de Adler e Longo [41] com algumas modificações [42].

Inicialmente, em um balão de três bocas de fundo redondo com capacidade para 1L, adicionou-se 500 mL de ácido propiônico (solvente); 9,45 mL (14,705 g – 7,5 x 10^{-2} mols) de pentafluorobenzaldeído e 12,17 mL (13,389 g – 1,25 x 10^{-1} mols) de 4-piridinacarboxialdeído. A solução foi mantida sob agitação magnética e aquecimento. Após o início do refluxo (T~141ºC), adicionou-se gradativamente 14,16 mL (13,418 g – 2,0 x 10^{-1} mols) de pirrol diluídos em 250 mL de ácido propiônico. A solução foi refluxada por ~5 horas e o progresso da reação foi acompanhado por espectroscopia UV-Vis. Cessado o aquecimento, o solvente foi

rotoevaporado e as porfirinas base livre obtidas foram separadas em coluna de sílica gel. A porfirina M(4-N-Py)TFPPH$_2$ foi caracterizada por RMN ^{1}H

(b) Inserção de Mn(III) na M(4-N-Py)TFPPH$_2$

A um balão de duas bocas de 125 mL adicionou-se 0,139 g da M(4-N-Py)TFPPH$_2$ (1,57 x 10^{-4} mols) dissolvida em ACN e depois 0,385 g de acetato de manganês (~1,57 x 10^{-3} mols). O sistema foi deixado em refluxo e sob agitação magnética e o progresso da reação foi monitorado por espectroscopia UV-Vis. MnPs possuem espectro característico na região do visível, o que contribuiu para observar a inserção do metal. Ao final da reação, rotoevaporou-se todo o solvente e, em seguida dissolveu-se em DCM para fazer-se uma extração simples com água para eliminar o sal doador do metal. À solução adicionou-se o secante Na_2SO_4 e deixou-se de um dia para o outro. Feito isto, realizou-se filtração simples para eliminar o secante. A purificação da MnP foi feitas por cromatografia em coluna de sílica gel. O monitoramento da eluição das colunas foi feito por espectroscopia Uv-Vis e CCD em sílica e os solventes utilizados foram MeOH e gradiente de ACT em DCM.

(c) Metilação da Mn[{M(4-N-Py)TFPP}]$^+$

Deixou-se um balão de duas bocas contendo a solução da MnP (~139 mg) em DMF desaerando por aproximadamente 2 horas. Depois adicionou-se CH_3I (1183 μL, resultando numa relação 120 CH_3I :1 MnP) via microsseringa e deixou-

se sob agitação magnética à temperatura ambiente e ao abrigo de luz por 48 horas.

Em seguida, eliminou-se todo o DMF e o excesso de iodeto de metila por evaporação rotatória. Por cromatografia em camada delgada, percebeu-se que a porfirina foi metilada comparando-se com outras porfirinas. A purificação da $[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]I_2$ foi por cromatografia em coluna de troca iônica e as amostras obtidas foram usadas para a determinação do coeficiente de absortividade molar (ε).

(d) Inserção de Mn(III) na porfirina $[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]Cl_4$

A um balão de três bocas de 50 mL adicionou-se 81,84 mg da $[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]Cl_4$ (1,10 x 10^{-4} mols) dissolvida em água milli-Q. Após o refluxo adicionou-se 0,218 g de $MnCl_2.4H_2O$ (1,10 x 10^{-3} mols). O sistema foi deixado em refluxo e sob agitação magnética por 22 horas e o progresso da reação foi monitorado por espectroscopia UV-Vis. O sistema foi desligado e deixou-se esfriar até temperatura ambiente para adição de hexafluorofosfato de amônio (PF_6) sólido. O precipitado formado foi filtrado através de filtração simples e lavado com uma solução saturada de PF_6. Depois o precipitado foi dissolvido em ACN e cerca de 10 mL de água e recristalizado deixando-se evaporar o solvente lentamente. Enfim, a porfirina recristalizada foi filtrada e deixou-se em dessecador sob vácuo para secagem.

(e) Inserção de Mn(III) na porfirina $[TFPP]H_2$

A um balão de três bocas de 50 mL adicionou-se 30 mL de DMF e deixou-se sob atmosfera de argônio por 2 horas. A porfirina base livre $[TFPP]H_2$ (100,25 mg ; 1,03 x 10^{-4} mols) foi adicionada seguida de $MnCl_2.4H_2O$ (10 vezes o número de mols da porfirina base livre). O sistema foi deixado em refluxo, sob agitação magnética e atmosfera de argônio por 55 horas e o progresso da reação foi monitorado por espectroscopia UV-Vis. O DMF foi evaporado por aquecimento da mistura reacional contida numa placa de Petri. A MnP obtida foi dissolvida em DCM e o excesso de sal foi extraído com água. Adicionou-se Na_2SO_4 na solução contendo a MnP que depois foi filtrado por filtração simples. Por último, a MnP foi passada em coluna de sílica gel para separá-la da porfirina base livre.

(f) Funcionalização da sílica sulfonatofenil-modificada ($SiSO_3$) com o grupo propilimidazol ($SiSO_3$-IPG)

A primeira etapa consistiu na modificação do 3-cloropropiltrimetoxisilano com imidazol. Cerca de 0,088 g de imidazol foi colocado num balão de fundo redondo de 2 bocas de 15 mL. Após a adição de 1,25 mL de tolueno anidro a mistura foi agitada à temperatura controlada de 50 ºC por 30 minutos sob atmosfera de argônio. Após este período foi adicionado lentamente 0,245 mL do 3-cloropropiltrimetoxisilano e a mistura permaneceu por mais 15 minutos a uma temperatura média de 100 ºC. Na segunda etapa, o sólido obtido anteriormente foi colocado pra reagir com 1,55 g de sílica funcionalizada com grupos sulfonatofenis ($SiSO_3$) e 3,65 mL de tolueno anidro num balão de 2 bocas de 15 mL. A mistura reacional foi, então, mantida sob refluxo a 100 ºC por 24 horas. O sólido foi filtrado

sob vácuo e lavado cuidadosamente com tolueno, acetona e metanol. Por último, a sílica foi deixada em estufa a 90 ºC por 8 horas.

(g) Funcionalização da sílica gel com: (i) grupo 3-aminopropil (APTES) e com (ii) grupo 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil ($AP(EA)_2TS$)

Primeiramente a sílica gel foi ativada secando em estufa a 120 ºC por 6 horas. Então se fez uma suspensão da sílica (12,5 g) com 50 mL de tolueno anidro sob atmosfera de argônio e agitação magnética. O silano 3-aminopropil-trietoxisilano (12,5 mL) ou 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil-trimetoxisilano (720 μL) foi adicionado gradativamente e deixou-se em refluxo a 100 ºC por 24 horas no primeiro caso e por 3 horas no segundo. O sólido foi filtrado a vácuo e lavado com tolueno (60 mL), acetona (60 mL), metanol (60 mL) e seco em estufa a 90 ºC.

(h) Funcionalização da sílica cloropropil-modificada (Clpr-Si) com o grupo 1,6-diaminoexano ($DA_{1,6}Si$)

Utilizou-se procedimento similar ao descrito por Lindsay-Smith [43]. Aqueceu-se uma suspensão da sílica Cl*pr*-Si (1,5 g) em uma solução de 1,6-diaminoexano (5,1 g) em tolueno (60 mL) sob atmosfera de argônio a 80°C por 4 h. Em seguida, a suspensão foi filtrada e o sólido lavado respectivamente com tolueno (50 mL), DCM (50 mL), acetona (50 mL), NaOH 1 mol.L^{-1} (50 mL), H_2O deionizada (até pH neutro) e MeOH (50 mL) e seco sob vácuo.

(i) Imobilização da $Mn[M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP)]^{2+}$ e $Mn[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]^{5+}$ nos suportes sólidos $SiSO_3$ e $SiSO_3$-IPG

A um frasco de 8 mL, contendo a massa desejada de suporte, adicionou-se um volume de solução da MnP em DCM necessário para se obter ~7,5 x 10^{-6} mols de MnP/g de suporte e diluiu-se a solução para 5 mL. A suspensão foi agitada magneticamente a 25 ºC por cerca de 20 minutos. Após a decantação, separou-se o sobrenadante e, em seguida, o material MnP-suporte foi lavado através de um extrator Soxhlet durante aproximadamente 24 horas, tendo-se DCM como solvente. Esta lavagem foi feita para retirar a MnP que estivesse fracamente ligada ao suporte. O material MnP-suporte foi seco em estufa a 100 ºC por 12 horas.

(j) Imobilização da $Mn[(TFPP)]^{+}$ e $Mn[M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP)]^{2+}$ nos suportes sólidos APTES, $AP(EA)_2TS$ e $DA_{1,6}Si$

Consistiu no aquecimento de uma suspensão do suporte (200 mg) em uma solução da MnP (1,6 mg da $Mn[(TFPP)]^{+}$ e 1,54 mg da $Mn[M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP)]^{2+}$) em etilenoglicol (50 ml) em atmosfera de argônio a 150 ^{o}C. Após 4 horas de reação a mistura foi resfriada, filtrada e lavada respectivamente com MeOH (50 ml) e DCM (50 ml). Por fim, o sólido foi lavado num extrator Soxhlet com DCM por 24 horas e seco a 100 ^{o}C por 12 horas.

(l) Estudo da atividade catalítica dos novos sistemas suportados na hidroxilação do cicloexano e na epoxidação do (Z)-cicloocteno

Catálise heterogênea: as reações foram realizadas pelo PhIO com a seguinte relação: 100:1 PhIO : MnP nas reações com (Z)-cicloocteno e 40:1 PhIO :

MnP nas reações com cicloexano. Elas foram feitas em frascos de 4 mL com tampa rosqueada de topo aberto contendo septo de silicone-teflon e uma barra magnética. Ao frasco contendo PhIO (~ 6,00 mg) e MnP suportada, adicionou-se o substrato (200 μL), $ClCH_2CH_2Cl$ (800 μL) e bromobenzeno (5 μL para cicloocteno e 2 μL para cicloexano). A mistura foi submetida à agitação magnética a temperatura ambiente, pelo tempo desejado. Para se verificar a evolução do rendimento de produtos com o tempo de reação, alíquotas de 0,5 μL foram retiradas e submetidas à análise cromatográfica no tempo desejado.

(m) Estudo do metabolismo do praziquantel pelo PhIO catalisado por manganêsporfirinas

Em frascos de 5 mL de tampa rosqueada foram misturados 10,5 mM do fármaco praziquantel, 0,3 mM de MnP e 12 mM de PhIO em 2 mL de DCE. A reação foi submetida à agitação magnética, à temperatura ambiente por 24 horas. O tempo de reação foi medido após a adição do PhIO. Os produtos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), através da remoção de alíquotas da mistura reacional em intervalos de tempos regulares. A atribuição dos picos foi realizada por comparação com os dados publicados anteriormente [39]. Este trabalho relata a investigação da oxidação do praziquantel em meio orgânico. Os produtos obtidos foram identificados por análise seqüencial de RMN e Espectrometria de massas.

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 - Síntese de porfirinas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas

A síntese das porfirinas assimétricas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas foi realizada pelo método de Adler e Longo [41] com as seguintes modificações: i) variação na proporção entre os reagentes e ii) mudança do meio de reação. A proporção entre os reagentes usada foi: 4 de pirrol : 1,5 de pentafluorobenzaldeído : 2,5 de 4-piridinacarboxialdeído e o meio de reação foi ácido propiônico.

Este método consiste na condensação desses reagentes sob refluxo em ácido propiônico (T~141ºC). A oxidação do porfirinogênio ocorre sem adição de qualquer oxidante; a porfirina é obtida diretamente na sua forma oxidada pela ação do oxigênio do ar dispensando assim, a presença de atmosfera inerte e, portanto facilitando o processo de síntese. O esquema abaixo representa a reação de síntese da M(4-N-Py)TFPPH_2.

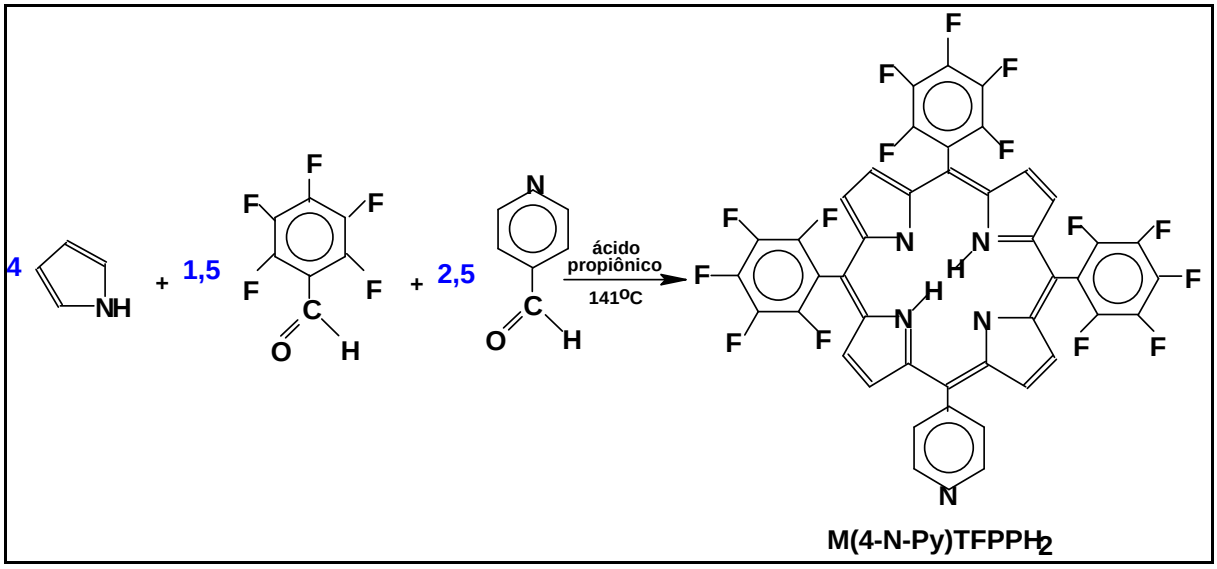


Figura 10: Reação de síntese da M(4-N-Py)TFPPH$_2$.

Abaixo é mostrado o espectro de absorção UV-Vis (Fig. 11) da mistura reacional ao final da síntese.

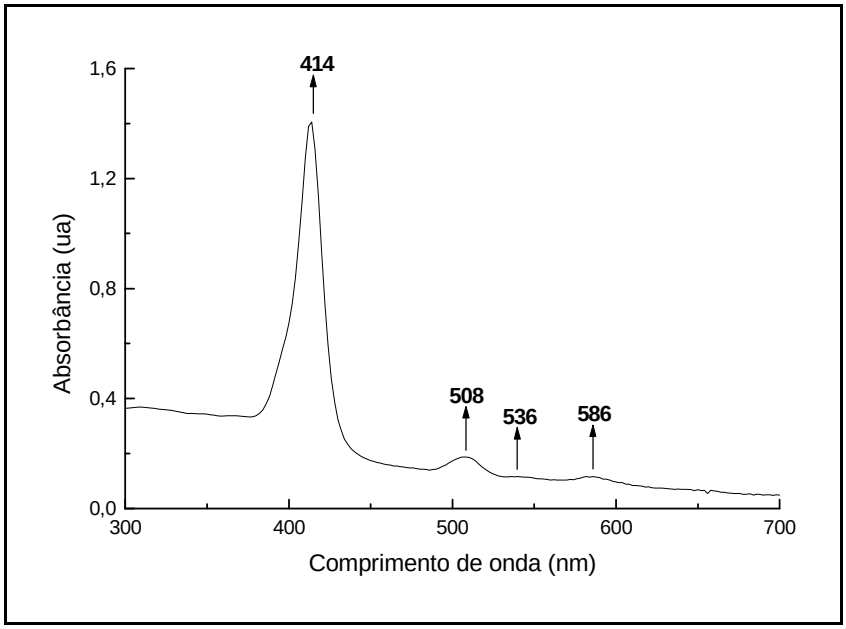


Figura 11: Espectro da reação de formação de porfirinas (final da síntese).

Solvente: DCM.

A mudança na proporção entre os reagentes visou, não somente a obtenção de maior quantidade da *mono*piridil substituída (M(4-N-Py)TFPPH$_2$).

Além do uso de diferente proporção entre os reagentes, mudou-se o meio de reação para ácido propiônico a fim de otimizar a síntese dessas porfirinas 4-N-piridil e pentafluorofenil substituídas. Em síntese anterior da porfirina M(4-N-Py)TFPPH$_2$ foi usado como solvente de reação ácido acético glacial (HAc) [42] e obteve ~6,4% de rendimento para essa porfirina. Com a mudança do solvente para ácido propiônico, obteve-se um rendimento de ~13,2%. Esse aumento é explicado uma vez que a temperatura de refluxo do ácido propiônico é maior do que do ácido acético favorecendo, portanto, a formação de porfirinas.

A purificação e separação foi realizada por cromatografia em coluna de sílica gel e caracterização da M(4-N-Py)TFPPH$_2$ foi por RMN ^{1}H.

Os resultados obtidos foram comparados com os encontrados pela doutora Patrícia Riul Martins [42] em sua tese de mestrado. Neste trabalho além da caracterização por RMN ^{1}H foi realizada análise por cromatografia em camada delgada (CCD), espectroscopia UV-Vis e por espectrometria de massa com bombardeamento rápido (FAB MS) para a porfirina M(4-N-Py)TFPPH$_2$. O valor de Rf na CCD encontrado para esta porfirina foi de 0,81. Analisando por espectroscopia no UV-Vis, chegou-se a um valor de ε da banda Soret a 414 nm para M(4-N-Py)TFPPH$_2$ em DCM de 3,1 x 10^5 L.mol^{-1}.cm^{-1}. O espectro obtido utilizando-se a técnica de FAB MS apresentou um pico em 886 que corresponde ao peso molecular calculado da mesma (885,62 g.mol^{-1}).

Os valores de deslocamentos químicos obtidos no espectro de RMN ^{1}H da M(4-N-Py)TFPPH$_2$ de cada próton, encontram-se abaixo:

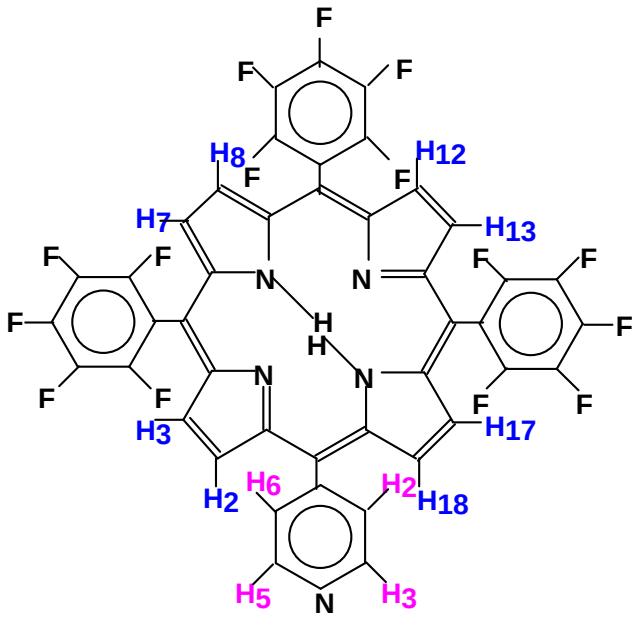


Figura 12: Esquema de numeração dos prótons da M(4-N-Py)TFPPH$_2$

H_2 e H_6 - δ = 8,10 ppm (dd)

H_3 e H_5 - δ = 9,01 ppm (dd)

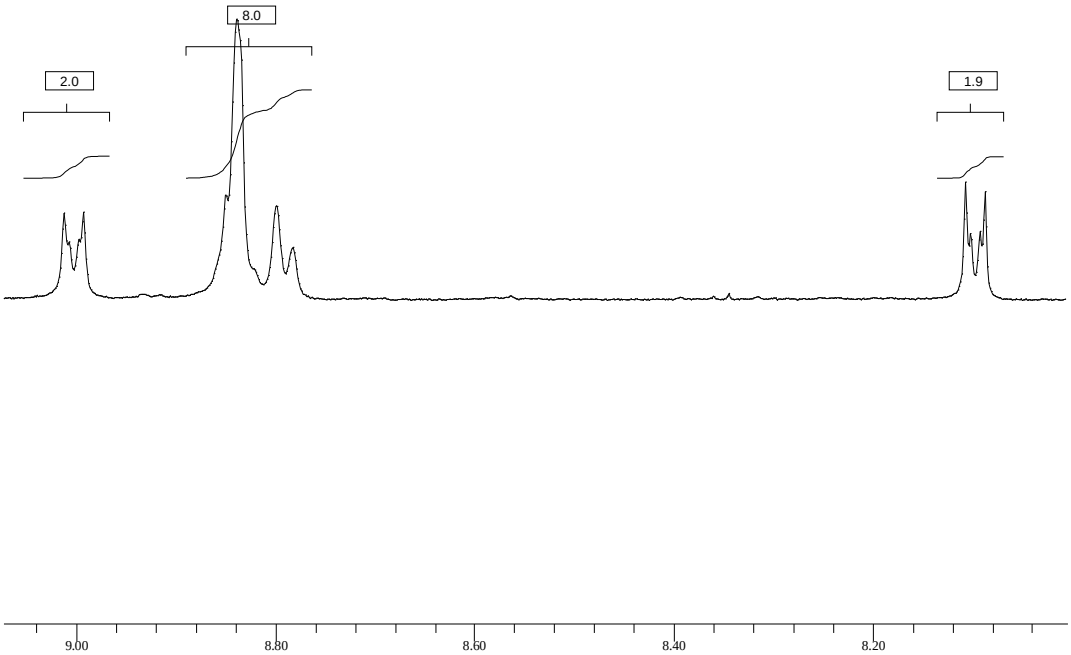
H_2 e H_{18} - δ = 8,80 ppm (d)

H_3 e H_{17} - δ = 8,84 ppm (d)

H_7, H_8, H_{12} e H_{13} - δ = 8,85 ppm (s)

N-H - δ = -2,97 ppm (s)

Os picos estão de acordo com a caracterização feita anteriormente [42].



M(4-N-Py)TFPPH$_2$ - N-H

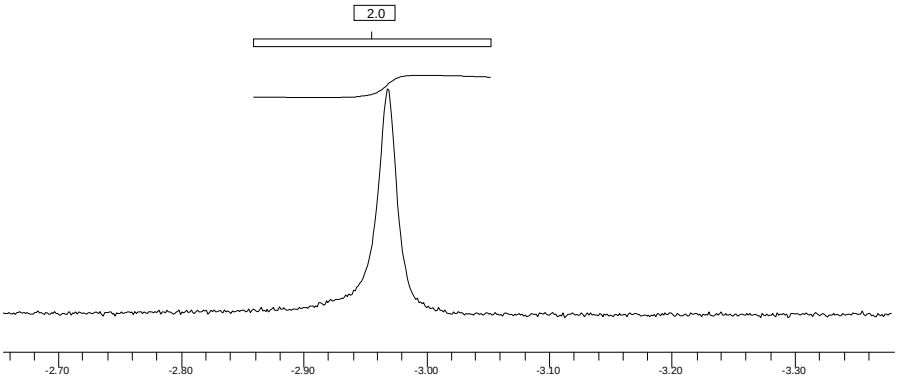


Figura 13: Espectro de RMN ^{1}H da M(4-N-Py)TFPPH$_2$ em CDCl$_3$ após purificação: ampliação da região entre 8,0 – 9,1 ppm e região dos prótons ligados aos nitrogênios internos.

IV.2 – Inserção de Mn(III) na M(4-N-Py)TFPPH$_2$

A inserção de manganês na M(4-N-Py)TFPPH$_2$ foi feita sob refluxo em ACN (~80º C) utilizando-se acetato de manganês como sal fornecedor do metal. A utilização de sal de Mn^{II}, quando o que se deseja é um complexo de Mn^{III}, é atribuída a fatores eletrostáticos: quanto menor a carga positiva do metal, menor é a sua atração pelo seu contra-íon, o que facilita sua liberação para a reação com a porfirina base livre. Deste modo, aumenta-se a velocidade da reação e diminui-se o tempo de aquecimento. Mesmo assim, o processo de inserção de manganês foi lento. Geralmente, as reações de inserção de manganês em porfirinas são mais lentas que as de ferro, devido provavelmente ao maior raio iônico do Mn^{2+} (0,80 Aº) em comparação ao Fe^{2+} (0,76 Aº). Provavelmente, a acomodação do Mn^{2+} (maior) no anel porfirínico é mais difícil que do Fe^{2+} (menor). Este também deve ser o responsável pela desmetalação mais fácil de MnPs quando comparadas às FePs.

A oxidação do Mn^{II} a Mn^{III} ocorre facilmente quando a mistura de reação é exposta ao ar.

$$H_2P + Mn^{II}Cl_2 \longrightarrow Mn^{II}P + 2\,HCl$$

$$Mn^{II}P \xrightarrow{O_2} Mn^{III}P$$

Vale ressaltar que optou-se por metalar a porfirina antes de metilá-la. Essa opção foi baseada em dois fatores principais:

i) A inserção de Mn^{III} numa primeira etapa levará à formação de um composto mais estável, dificultando, assim, a destruição do mesmo durante o processo de metilação.

ii) A metilação de porfirinas leva à formação de compostos catiônicos. Tais compostos se adsorvem fortemente em matrizes inorgânicas como a sílica gel. Portanto, se um composto é metilado e depois sua metalação não é quantitativa, fato que geralmente ocorre, há em determinados casos muita dificuldade em separar a porfirina metalada da não-metalada, uma vez que não há a possibilidade de se fazer a respectiva separação via cromatografia em coluna de sílica e/ou alumina, pois a porfirina catiônica ficaria adsorvida na fase estacionária.

A inserção de manganês foi confirmada pela análise dos espectros eletrônicos UV-Vis. Após a inserção do manganês na porfirina, a interação entre os orbitais do metal e o estado excitado de menor energia da porfirina (singlete π^*) leva a um decaimento não radiativo, eliminando a fluorescência característica da H_2P.

IV.3 – Metilação da $Mn\{M(4\text{-}N\text{-}Py)TFPP\}^+$

O método selecionado foi o descrito na literatura para porfirinas *tris*(4-N-Py) substituídas [44], o qual emprega o iodeto de metila como agente metilante em DMF, à temperatura ambiente (Fig. 14):

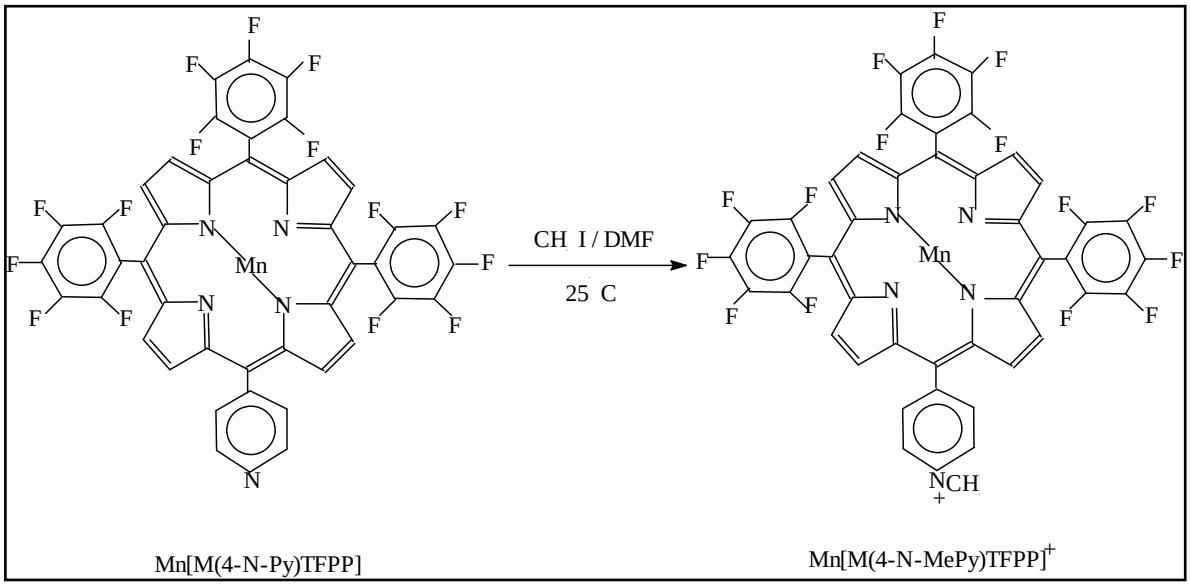


Figura 14: Reação de metilação da Mn[M(4-N-Py)TFPP]

A solução contendo porfirina em DMF foi desaerada para que qualquer traço de impurezas voláteis provenientes da hidrólise do DMF fosse eliminado mediante a passagem de corrente de argônio por este solvente. Todo o processo de metilação foi acompanhado por espectros UV-Vis e CCD em sílica gel tendo-se metanol como fase móvel.

Através da técnica de CCD, observou-se que a porfirina metalada Mn[M(4-N-Py)TFPP] foi realmente metilada, já que os valores de Rf são diferentes sob as mesmas condições:

Tabela 1: Valores de Rf obtidos para a Mn[M(4-N-Py)TFPP] e Mn[M(4-N-MePy)TFPP]$^+$. Fase estacionária: sílica gel; Fase móvel: MeOH

Porfirina	Rf
Mn[M(4-N-Py)TFPP]	0,63
Mn[M(4-N-MePy)TFPP]$^+$	0,24

A MnP metilada foi purificada em coluna de troca iônica e a eluição foi monitorada por espectros UV-Vis e por CCD.

Por último, a determinação do ε da banda Soret a 414 nm da [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]Cl_2 foi realizado em DCE e obteve-se o valor de 5,40 x 10^4 L mol^{-1} cm^{-1}. Este valor obtido é coerente com os valores obtidos para porfirinas análogas em nosso laboratório.

IV.4 – Metalação das porfirinas [T(4-N-MePy)P]Cl_4 e [TFPP]H_2

A inserção de manganês nas porfirinas foi feita sob refluxo em H_2O (para [T(4-N-MePy)P]Cl_4) e DMF (para [TFPP]H_2) utilizando-se cloreto de manganês como sal fornecedor do metal.

A inserção de manganês nas porfirinas também foi confirmada pela análise dos espectros eletrônicos UV-Vis (Figuras 15).

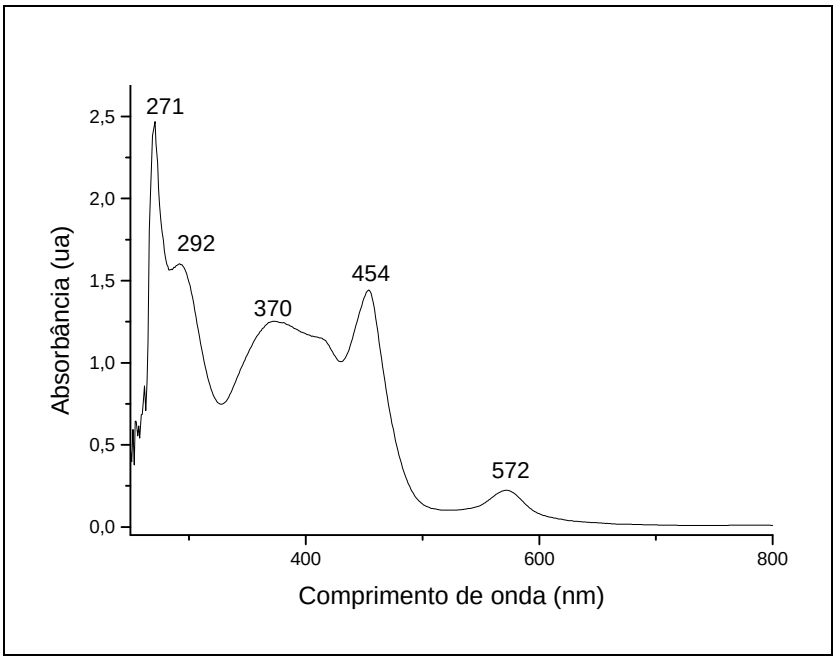


Figura 15: Espectro eletrônico UV-Vis da $Mn[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]^{5+}$ em DCM.

IV.5 – Funcionalização da sílica sulfonatofenil-modificada ($SiSO_3$) com o grupo propilimidazol

A sílica sulfonatofenil-modificada ($SiSO_3$) anteriormente sintetizada foi modificada com o grupo propilimidazol ($SiSO_3$-IPG) (Figura 16) para se obter um suporte misto, reproduzindo metodologia usada em nosso laboratório [45].

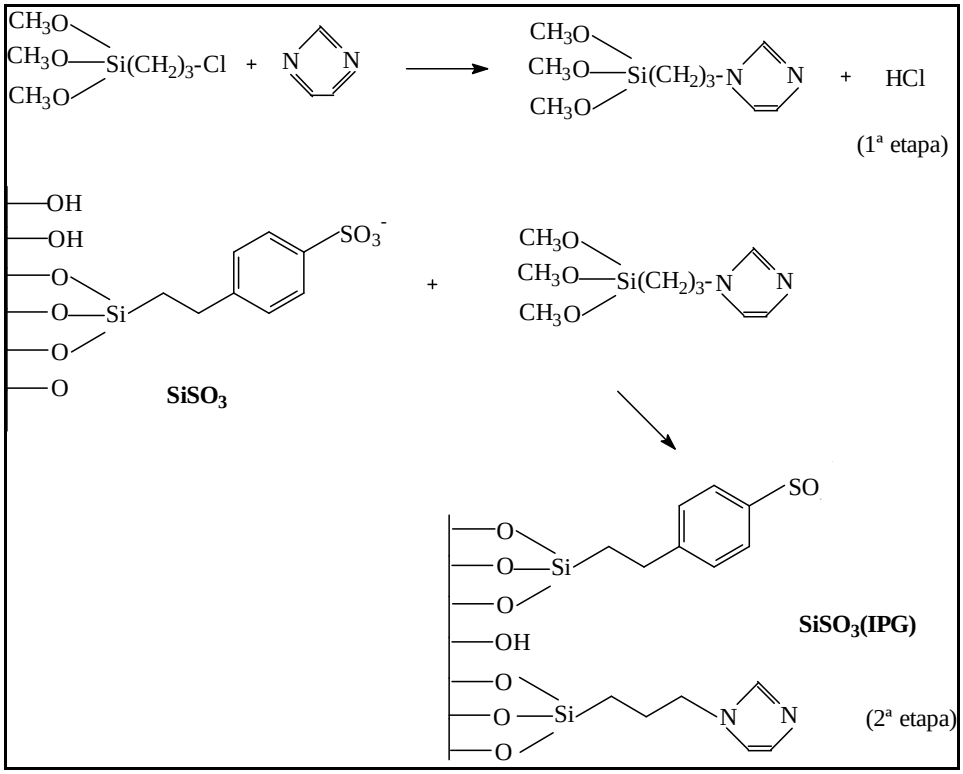


Figura 16: Funcionalização da sílica sulfonatofenil-modificada ($SiSO_3$) com o grupo propilimidazol

IV.6 – Funcionalização da sílica gel com o grupos 3-aminopropil (APTES) e com grupos 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil ($AP(EA)_2TS$)

Realizou-se a funcionalização da sílica gel com grupos 3-aminopropil e também com grupos 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil, obtendo-se as sílicas modificadas APTES (Figura 17) e $AP(EA)_2TS$ (Figura 18).

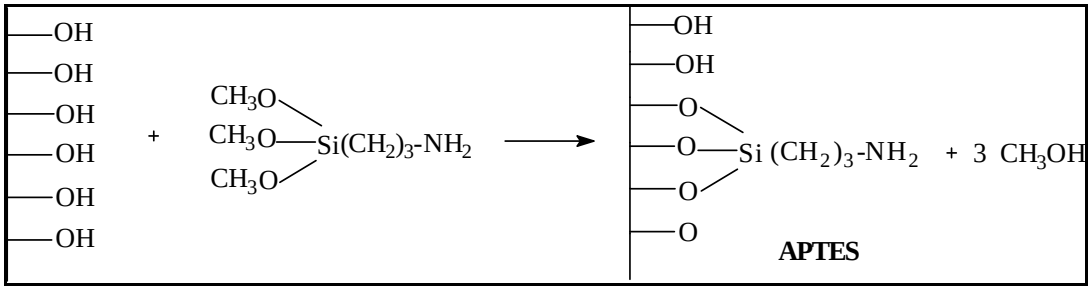


Figura 17: Funcionalização da sílica gel com grupos 3-aminopropil

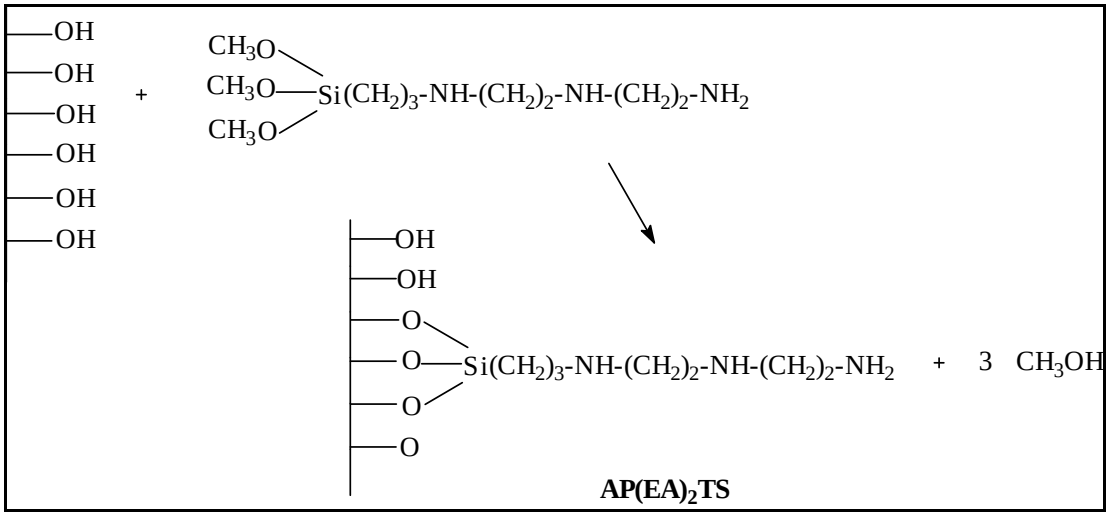


Figura 18: Funcionalização da sílica gel com grupos 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil

A análise elementar das sílicas modificadas APTES e $AP(EA)_2TS$ forneceu a quantidade de modificação na superfície das sílicas. Para o APTES essa quantidade foi de $9{,}4 \times 10^{-4}$ mols de 3-aminopropil/g de suporte, o que equivale a 45% da extensão da superfície funcionalizada por estes grupos e para a $AP(EA)_2TS$ foi de $1{,}1 \times 10^{-3}$ mols de 3-(2-(2-aminoetilamino) etilamino) propil/g de suporte, o que equivale a 49% da extensão da superfície funcionalizada por estes grupos. Para este cálculo considerou-se que a maioria dos grupos modificadores

silanos faz em média 2 ligações com os grupos –OH da sílica e que há 5 grupos -OH na sílica por nm^2 [46], além da informação de que a área superficial da sílica gel usada é 500 m^2/g (dados do catálogo Merck).

IV.7 – Funcionalização da sílica cloropropil-modificada (Clpr-Si) com grupos 1,6-diaminoexano

Funcionalizou-se a cloropropilsílica (Cl*pr*-Si) sintetizada anteriormente em nosso laboratório com o grupo 1,6-diaminoexano que foi ligado à Cl*pr*-Si através de uma substituição nucleofílica do –Cl pelo –N, obtendo-se então a cloropropilsílica modificada com 1,6-diaminoexano ($DA_{1,6}$-Si) (Figura 19).

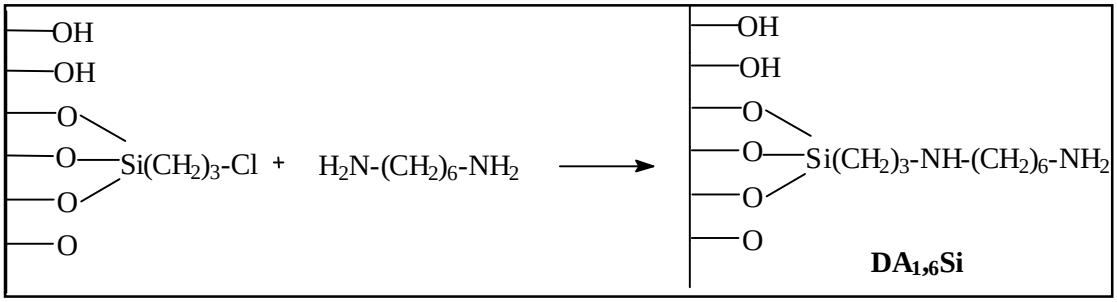


Figura 19: Funcionalização da sílica gel com 1,6-diaminoexano

A análise elementar das sílicas modificadas Cl*pr*-Si e $DA_{1,6}$-Si forneceu uma interpretação qualitativa, uma vez que identificou a presença de elementos não

presentes (C e N) na sílica não modificada, SiO_2, e quantitativa, pois permitiu calcular a extensão de modificação da superfície da sílica com os grupos cloropropil e 1,6-diaminoexano. Para a Cl*pr*-Si a quantidade de modificação é 5,5 $\times$ 10^{-4} mols de cloropropil/g de suporte, o que equivale a 26% da extensão da superfície funcionalizada por estes grupos. No caso do suporte $DA_{1,6}$-Si a quantidade de modificação é 4,0 $\times$ 10^{-4} mols de 1,6-diaminoexano/g de suporte, correspondendo a 19% da extensão da superfície funcionalizada por estes grupos. Para este cálculo considerou-se as informações já relatadas no item anterior.

IV.8 – Imobilização da $Mn[M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP)]^{2+}$ e $Mn[T(4\text{-}N\text{-}MePy)P]^{5+}$ nos suportes sólidos $SiSO_3$ e $SiSO_3$(IPG) e caracterização dos materiais suportados por espectroscopia no UV-Vis

A extensão da imobilização (porcentagem de Mn(III)porfirina que se ligou ao suporte) foi calculada através da absorbância no espectro UV-Vis das soluções de lavagem obtidas e indicou as seguintes quantidades de Mn(III)porfirina por grama do suporte:

Tabela 2: Valores de "loading" das MnPs ancoradas via interação eletrostática

Catalisador	"Loading" (mols de MnP/g de suporte)
[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-$SiSO_3$	$7,4 \times 10^{-6}$
[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $SiSO_3$(IPG)	$7,0 \times 10^{-6}$
[Mn{T(4-N-MePy)P}]- $SiSO_3$	$7,5 \times 10^{-6}$
[Mn{T(4-N-MePy)P}]- $SiSO_3$(IPG)	$7,5 \times 10^{-6}$

A presença da MnP no suporte foi confirmada por espectroscopia de absorção no UV-Vis para verificar se não houve desmetalação, nem destruição do macrociclo porfirínico durante o procedimento de preparação do catalisador suportado, observando a presença das bandas características de Mn(III)porfirina no material sólido obtido após a imobilização da Mn(III)porfirina na matriz [47].

IV.9 – Imobilização da $Mn[(TFPP)]^+$ e $Mn[M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP)]^{2+}$ nos suportes sólidos APTES, $AP(EA)_2TS$ e $DA_{1,6}Si$ via ligação covalente e caracterização dos materiais suportados por espectroscopia no UV-Vis

É relatado que nucleófilos, como as aminas, reagem muito facilmente com porfirinas pentafluorofenil substituídas levando à substituição seletiva dos *p*-flúors presentes nos anéis pentafluorofenílicos [48]. A partir deste conhecimento,

estudos anteriores se dedicaram à imobilização de metaloporfirinas contendo pentafluorofenil substituintes a sílicas previamente modificadas com grupos alquilamino (Figura 20).

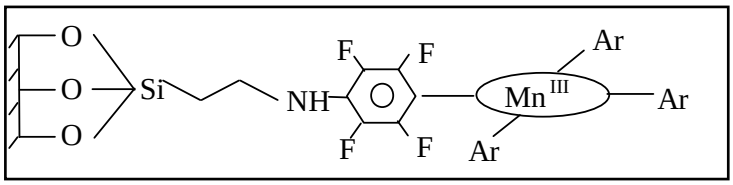


Figura 20: Imobilização de MnPs por ligações covalentes

A extensão da imobilização (porcentagem de Mn(III)porfirina que se ligou ao suporte) foi calculada por da absorbância no UV-Vis das soluções de lavagem obtidas e indicou quantidades de Mn(III)porfirina por grama do suporte:

Tabela 3: Valores de "loading" das MnPs ancoradas via ligação covalente

Catalisador	**"Loading" (mols de MnP/g de suporte)**
[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-APTES	$7,3 \times 10^{-6}$
[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $DA_{1,6}Si$	$6,9 \times 10^{-6}$
[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $AP(EA)_2TS$	$7,4 \times 10^{-6}$
[Mn(TFPP)]- APTES	$4,3 \times 10^{-6}$
[Mn(TFPP)]- $DA_{1,6}Si$	$3,1 \times 10^{-6}$
[Mn(TFPP)]- $AP(EA)_2TS$	$5,5 \times 10^{-6}$

A presença da MnP no suporte foi confirmada por espectroscopia de absorção no UV-Vis (Figura 21). Esta técnica mostrou que não houve desmetalação, nem destruição do macrociclo porfirínico durante o procedimento de preparação do catalisador suportado, uma vez que todas as bandas características de Mn(III)porfirina estavam presentes no material sólido obtido após a imobilização da Mn(III)porfirina na matriz [48].

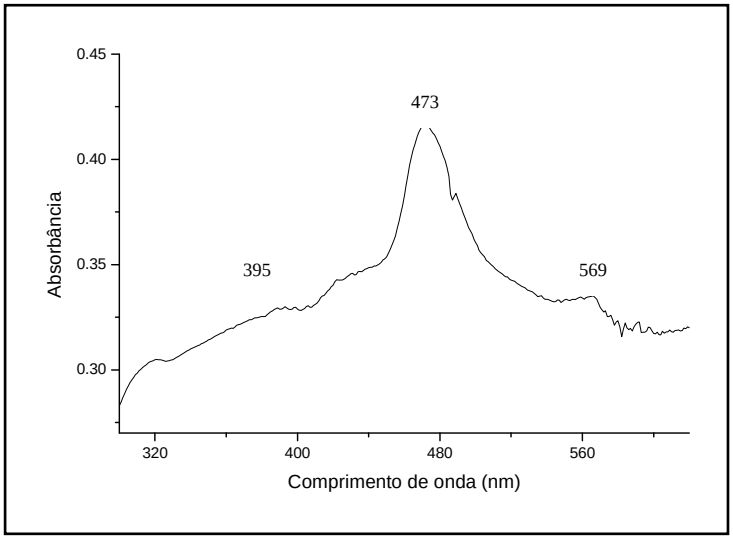


Figura 21: Espectro de absorção no UV-Vis da [Mn(TPFP)]-$DA_{1,6}$-Si em CCl_4. Cubeta de quartzo de 0,2 cm de caminho óptico.

IV.10 – Testes preliminares da atividade catalítica dos novos sistemas suportados na hidroxilação do cicloexano e na epoxidação do (Z)-cicloocteno pelo PhIO e H_2O_2

Vários compostos orgânicos têm sido utilizados como substratos nas oxidações catalisadas por metaloporfirinas, tanto em meio homogêneo como em meio heterogêneo. Usando-se substratos e oxidantes de diferentes estruturas e propriedades pode-se obter, a partir da análise dos produtos, informações sobre a reatividade, seletividade e resistência dos catalisadores.

A eficiência dos catalisadores estudados neste trabalho foi inicialmente testada em reações de epoxidação do (Z)-cicloocteno e hidroxilação do cicloexano pelo PhIO. Esses sistemas foram escolhidos para os testes iniciais devido aos seguintes fatores: (i) o PhIO não oxida o substrato na ausência da MnP; e (ii) este par de reagentes (substrato e PhIO) têm sido largamente empregado nos estudos catalíticos com metaloporfirinas, possibilitando uma comparação com os dados da literatura permitindo avaliar o potencial catalítico dos sistemas estudados [49, 50].

A epoxidação do (Z)-cicloocteno catalisada por manganêsporfirinas também foi estudada com H_2O_2 que é considerado um oxidante ambientalmente limpo por produzir apenas água como subproduto e também por ser relativamente barato quando comparado ao PhIO, por exemplo.

Na tabela 4 estão os resultados dos testes de potencial catalítico das MnPs ancoradas nos diferentes suportes na epoxidação do (Z)-cicloocteno pelo PhIO:

Tabela 4: Reações de epoxidação do (Z)-cicloocteno pelo PhIO catalisadas pelas MnPs em solução e em meio heterogêneo.

Reações	Catalisadores	Ciclooctenóxido (%)*	PhI(%)*
1	[Mn(TFPP)]Cl	100	100
2	[Mn(TFPP)]- APTES	49	63
3	[Mn(TFPP)]- $AP(EA)_2TS$	51	66
4	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]Cl_2	82	92
5	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-$SiSO_3$	45	60
6	[Mn{M(SO_3)TFPP}]-SiN	95	100
7	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $SiSO_3$(IPG)	47	56
8	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-APTES	25	65
9	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $AP(EA)_2TS$	26	74
10	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $DA_{1,6}Si$	13	66

Condições: Rendimentos calculados após 24h, reações em DCE, presença de O_2, T = 25^oC, agitação magnética, razão molar Mn(III)P/PhIO 1:100. *baseado no PhIO de partida.

Os resultados de epoxidação nos sistemas suportados foram inferiores ao meio homogêneo.

No caso da porfirina assimétrica [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]$^{2+}$ quando está ligada ao suporte por ligação iônica o rendimento de epóxido é maior (reações 5 e 7) do que quando está covalentemente ligada (reações 8 e 10). Interessante

destacar que no caso da reação 6, estudada em outra dissertação [51], quando a MnP é negativamente carregada e o suporte positivamente, os resultazdos foram significativamente melhores, fato que merecerá uma avaliação futura para explicar estas diferenças.

No caso das MnPs imobilizadas por ligação covalente, especialmente nas reações 2 e 3 parece ocorrer reações competitivas, provavelmente dos grupos amino não ligados. Uma possível solução seria proteger estes grupos.

No caso da reação 10 onde os rendimento foram muito baixos, provavelmente os sítios de coordenação da MnP estão bloqueados. A $[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$ apresenta ligação covalente ao $DA_{1,6}Si$ (Fig. 8 , pág. 29) em uma das extremidades enquanto que no outro lado o grupo metilpiridil adsorve diretamente na superfície de sílica. Desta forma, na quinta coordenação poderá ficar alojado outro grupo $DA_{1,6}Si$.

Portanto esta $[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$ só apresenta vantagem se for imobilizada em suportes de sílica modificada por ligação iônica.

O potencial catalítico destes catalisadores também foi testado na epoxidação do (Z)-cicloocteno pelo H_2O_2 como mostrado na tabela 5:

Tabela 5: Reações de epoxidação do (Z)-cicloocteno pelo H_2O_2 catalisadas pelas MnPs.

		Ciclooctenoóxido(%)*	
Reações	**Catalisadores**	**Sem imidazol**	**Com imidazol**
11	[Mn(TFPP)]Cl	10	97
12	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]Cl_2	6	97
13	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-$SiSO_3$	14	87
14	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-IPG	0	62
15	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $SiSO_3$(IPG)	18	100

Condições: rendimentos calculados após 24h, reações em DCE, presença de O_2, T = 25°C, agitação magnética, razão molar Mn(III)P/H_2O_2/Imidazol 1:100:10 *baseado no H_2O_2 de partida.

No estudo com H_2O_2 como oxidante pudemos observar o papel essencial do co-catalisador imidazol em reações envolvendo MnPs. Este fato já foi evidenciado por Mansuy et al. [12] para sistemas homogêneos e pelo nosso grupo para sistemas heterogêneos [45]. Imidazol atua como co-catalisador promovendo a heterólise da ligação O-O no intermediário [PorfMn(III)OOH] facilitando a formação da espécie ativa Mn^V(O)P, além disso atua como co-catalisador ácido, o seu ácido conjugado (HIm) pode protonar o oxigênio terminal do Mn(III)O-OH, levado à formação do H_2O como *leaving group*, facilitando o processo oxidativo. Desta forma pode-se explicar os altos rendimentos nas reações com imidazol chegando a 100% para a [Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $SiSO_3$(IPG). Além disso neste

caso todo o PhIO foi utilizado (não mostrado na tabela) possibilitando bons resultados.

A tabela 6 contém os resultados dos testes de potencial catalítico das MnPs na hidroxilação do cicloexano pelo PhIO ancoradas nos diferentes suportes:

Tabela 6: Reações de hidroxilação do cicloexano pelo PhIO catalisadas pelas MnPs em meio homogêneo e heterogêneo.

Reações	Catalisadores	C-ona(%)*	C-ol(%)*	PhI(%)*
16	[Mn(TFPP)]Cl**	11	52	nr***
17	[Mn(TFPP)]- APTES	---	10	54
18	[Mn(TFPP)]- $DA_{1,6}Si$	1	9	60
19	[Mn(TFPP)]- $AP(EA)_2TS$	---	7	48
20	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]Cl_2	13	50	66
21	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-$SiSO_3$(IPG)	2	64	71
22	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-APTES	---	---	45
23	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $DA_{1,6}Si$	---	---	58
24	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $AP(EA)_2TS$	---	2	57

Condições: Rendimentos calculados após 24h, reações em DCE, presença de O_2, T = 25°C, agitação magnética, razão molar Mn(III)P/PhIO 1:100. **baseado no PhIO de partida. C-ona = cicloexanona; C-ol = cicloexanol;**** dados retirados da referência [52]; *** não relatado.

Observando os resultados apresentados na tabela 6, podemos fazer as seguintes considerações:

a) A porfirina assimétrica $[Mn\{M(4\text{-}N\text{-}MePy)TFPP\}]^{2+}$ apresentou bom resultado tanto em meio homogêneo como em heterogêneo quando ligada eletrostaticamente à sílica (reações 20 e 21), sendo neste último caso muito mais seletiva.

b) Já os rendimentos de hidroxilação das reações 17 a 19 e 22 a 24 (onde a MnP é ligada covalentemente ao suporte) estão baixos, nestes casos, devem estar ocorrendo reações competitivas.

c) O tipo de suporte ancorado na MnP interferiu significativamente nos resultados obtidos que foram rendimentos muito baixos para todos os suportes com grupos amino, responsável por estas reações competitivas.

IV.11 – Estudo do metabolismo do praziquantel pelo PhIO catalisado por manganêsporfirinas

A metabolização do praziquantel *in vivo* leva à formação preferencial do *trans*-4-hidroxipraziquantel (*trans*-4'-OH), enquanto que o metabolismo *in vitro* tem como principal metabólito o *cis*-4- hidroxipraziquantel (*cis*-4'-OH), além da formação de metabólitos monohidroxilados e dihidroxilados.

O método de análise do praziquantel e seus metabólitos com cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) já foi otimizado anteriormente [39]. A melhor

condição de análise é usando-se uma coluna de fase reversa CN e H_2O/MeOH 85:15 v/v como fase móvel. O comprimento de onda usado é 220 nm que é o melhor para a detecção tanto do PZQ quanto de seus produtos de oxidação. Um cromatograma típico obtido para o PZQ e seus metabólitos está ilustrado na figura 22.

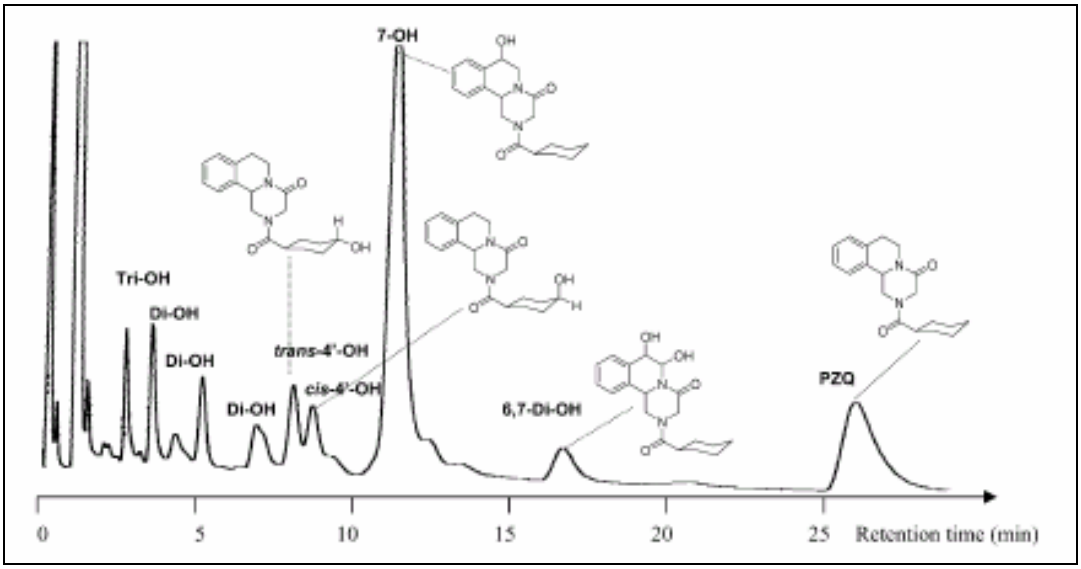


Figura 22: Cromatograma referente à análise do PZQ e seus produtos de oxidação [39].

Os rendimentos dos metabólitos provenientes da oxidação do praziquantel estão listados na tabela a seguir:

Tabela 7: Reações de oxidação do PZQ pelo PhIO catalisadas pelas MnPs

	Catalisadores	Conversão	Rendimento (%)				
		De PZQ (%)	7-OH	*trans*-4'-OH	*cis*-4'-OH	di-OH	Tri-OH
25	[Fe(TFPP)]Cl*	57	41	--	--	5	9
26	[Mn(TFPP)]Cl	38	16	10	4	5	2
27	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]Cl_2	67	23	12	--	18	9
28	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]-$SiSO_3$	44	14	16	--	6	9
29	[Mn{M(4-N-MePy)TFPP}]- $SiSO_3$(IPG)	50	20	19	4	15	<1
30	[Mn{T(4-N-MePy)P}]$(PF_6)_5$	87	49	38	--	51	nd**
31	[Mn{T(4-N-MePy)P}]-$SiSO_3$	77	34	13	--	17	<1
32	[Mn{T(4-N-MePy)P}]-$SiSO_3$(IPG)	48	23	12	--	19	<1

Condições: Rendimentos calculados após 24h baseados na amostra de substrato usada, reações em DCE, presença de O_2, T = 25°C, agitação magnética, razão molar Mn(III)P/PhIO 1:40. *retirado da referência [39]; **nd – não determinado

Na maioria dos casos o metabólito 7-OH (monohidroxilado na posição 7 do anel N-heteroátomo), apresentou maior rendimento (exceto na reação 28), porém nem sempre é predominante como foi observado nas ferroporfirinas. Foram obtidos resultados significativamente melhores sob o ponto de vista de atuação como catalisadores biomiméticos, diferentemente do que foi observado anteriormente com as ferroporfirinas [39]. Esta classe de Mn(III)porfirinas, em particular as piridis substituídas apresentaram boa conversão de PZQ sendo [Mn{T(4-N-MePy)P}]$(PF_6)_5$ o melhor com 87%. Esse resultado é muito importante pois esta porfirina é comercial e não muito cara abrindo perspectivas para diferentes aplicações.

Além do 7-OH, todos os sistemas catalíticos de MnPs apresentaram o *trans*-4'-OH, o metabólito produzido *in vivo* com rendimentos muito expressivos. Apresentaram quantidades significantes do produto dihidroxilado (di-OH) e, em alguns casos do trihidroxilado (tri-0H).

Com relação à cinética de formação dos produtos de oxidação do praziquantel (Fig. 23), embora apresentada aqui como resultado preliminar, observando os primeiros quinze minutos de reação pode-se perceber que cerca de 50% de cada um dos metabólitos *trans*-4-OH, 7-OH e di-OH são produzidos ficando evidente a participação efetiva da espécie ativa $Mn^{V}(O)P$. Outro fato importante é que com o passar do tempo a quantidade do metabólito *trans*-4-OH diminui devendo formar o metabólito di-OH, o que parece estar ocorrendo até 45 minutos. Depois há uma queda até 120 minutos onde deveria ser observado um aumento do metabólito tri-OH. Como houve dificuldade em discriminar este produto tri-OH em algumas reações, esses resultados serão complementados para se fazer uma discussão mais bem fundamentada com relação à cinética de formação dos produtos. O que vale ressaltar é que esses resultados preliminares indicam um sistema muito promissor com valores inéditos.

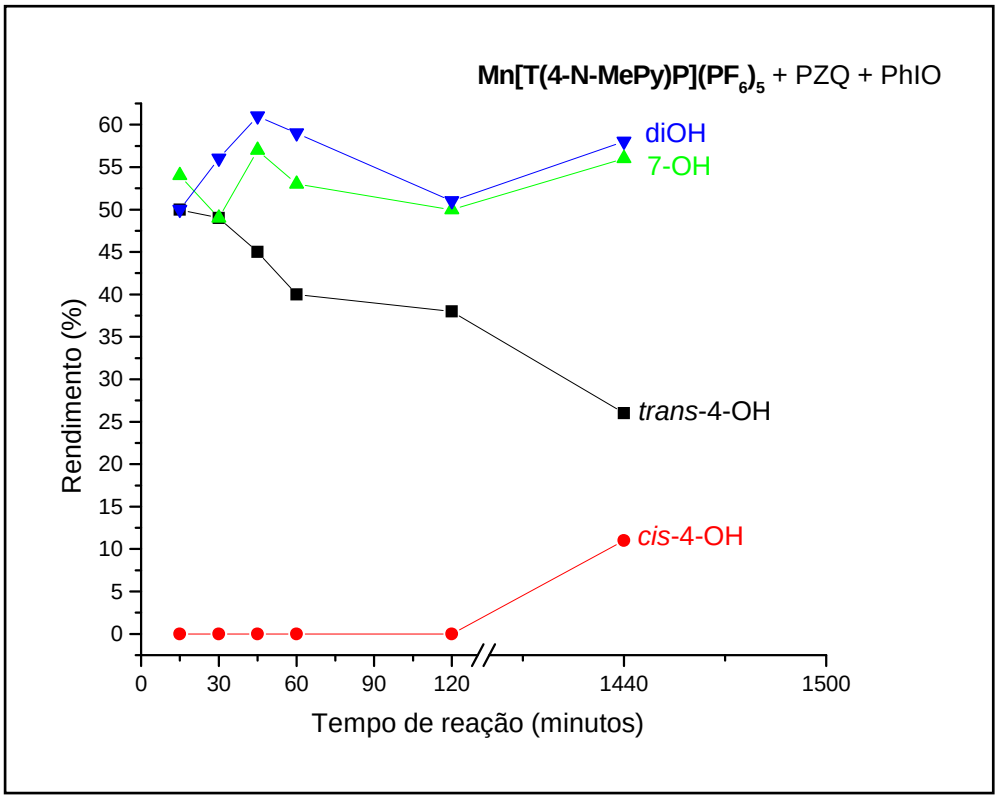


Figura 23: Cinética de formação dos metabólitos da oxidação do praziquantel

V – CONSIDERAÇÕES FINAIS

- As MnPs tetrapentafluorofenil-substituídas apresentam bom desempenho quando ancoradas a suportes de sílica quimicamente modificada via ligação covalente, no entanto apresenta reações competitivas e os grupos amino do suporte deverão ser protegidos.

- As MnPs assimétricas quando está ligada ao suporte por ligação iônica o rendimento de epóxido é maior do que quando está covalentemente ligada. Além

disso, a imobilização iônica da MnP à sílica é mais fácil quando comparadas aos sistemas de MnPs ancoradas a suportes rígidos covalentemente.

- No caso do cicloexano por ser um substrato mais inerte as reações competitivas ficam mais evidentes quando se utiliza MnPs imobilizadas em suportes de sílica contendo grupos amino. Já quando esta ligação se dá através de interações eletrostáticas o rendimento é muito bom e com seletividade para a formação do álcool.

- Nos estudos de oxidação do PZQ os sistemas contendo MnPs apresentaram resultados satisfatórios com conversão de PZQ de até 87%, além de apresentar quantidades do metabólito obtido *in vivo trans*-4-OH, diferentemente do que foi observado com as FePs anteriomente [39]. Pretende-se ainda estudar estes sistemas com H_2O_2 como oxidante que é ambientalmente mais limpo usando imidazol como co-catalisador.

VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] A. E. Shilov, G. B. Shulpin, *Chem. Rev.* 97 (1997) 2897.

[2] L. I. Simandi, *Dioxygen Activation and Homogeneous Catalytic Oxidation*, Elsevier, Amsterdam, (1991).

[3] U. Schuchardt, W. A. Carvalho and E. V. Spinacé, *Synlett* 10 (1993) 713.

[4] K. A. Suresh, M. M. Sharma, T. Sridhar, *Ind. Eng. Chem. Res.* 39(2000) 3958.

[5] R. A. Sheldon in *"Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations",* Ed. R. A. Sheldon,Marcel Dekker Inc., New York (1994) ch.1.

[6] D. Mansuy and P. Battioni in *"Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations",* Ed. R. A. Sheldon, Marcel Dekker Inc., New York (1994) ch. 4.

[7] D. Mansuy, *Pure and Appl. Chem.* 59 (1987) 759.

[8] D. Mansuy, P. Battioni and J.P. Battioni, *Eur. J. Biochem.* 184 (1989) 267.

[9] T. P. Wijesekera and D. Dolphin in *"Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations"*, Ed. R. A. Sheldon, Marcel Dekker Inc., New York (1994) ch.7.

[10] P. R. Ortiz de Montellano (ed.), *"Cytochrome P-450: Structure, Mechanism and Biochemistry"*, 2nd ed., Plenum Press., New York (1995).

[11] B. Meunier, *Chem. Rev.* 92 (1992) 1411-1456.

[12] D. Mansuy, *Coord. Chem. Rev.* 125 (1993) 129.

[13] J. T. Groves, T. E. Nemo, and R. S. Myers, *J. Am. Chem. Soc.*, 101 (1979) 1032.

[14] J. T. Groves, W. J. Kruper and Jr., *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 7613.

[15] P. S. Traylor, D. Dolphin and T. G. Traylor, *J. Chem. Soc., Chem. Commun* (1984) 273.

[16] T. G. Traylor and S. Tsuchiya, *Inorg. Chem.* 26 (1987) 1338.

[17] K. Perié, J. M. Barbe, P. Cocolios and R. Guilard, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 133 (1996) 697-702.

[18] C. K. Chang and F. Ebina, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1981) 778.

[19] E. Polo, R. Amadelli, V. Carassite and A. Maldotti, *Inorg. Chim. Acta Lett.* 192 (1992) 1.

[20] P. Battioni, J. F. Bartoli, D. Mansuy, Y. S. Byun and T. G. Traylor, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1992) 1051.

[21] D. R. Leanord and J. R. L. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 2 (1990) 1917.

[22] D. R. Leanord and J. R. L. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 2 (1992) 25.

[23] L. Barloy, P. Battioni and D. Mansuy, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1990) 1365.

[24] P. R. Cooke and J. R. L. Smith, *Tetrahedron Lett.* 33 (1992) 2737.

[25] P. R. Cooke and J. R. L. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 (1994) 1913.

[26] C. Gilmartin & J. R. L. Smith *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 2 (1995) 243.

[27] T. Tatsumi, M. Nakamura and H. Tominaga, *Catal. Today* 6 (1989) 163.

[28] J. Bernadou, B. Meunier, *Adv. Synth. Catal.*, 346 (2004) 171-184.

[29] A. J. M. Maurin, *"O uso de metaloporfirinas no estudo do metabolismo de fármacos"*, projeto de pós-doutorado Fapesp realizado sob a supervisão da Profª. Drª. Pierina S. Bonato em 2000.

[30] F. Pautet, R. Barret, M. Daudom, *Pharm. Acta Helv* 63 (1988) 140.

[31] H. Matsumoto, K. Takeuchi, S. Ohta, M. Hirobe, *Chem. Pharm. Bull.* 37 (1989) 1788.

[32] H. Matsumoto, S. Ohta, M. Hirobe, *Drug Metab. And Dispos.* 19 (1991) 360.

[33] S.H. Xiao, J. Q. You, H. F. Guo, B. A. Catto, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 46 (1992) 582.

[34] F. Westhoff, G. Blaschke, *J. Chromatogr.: Biomed. Appl.* 578 (1992) 265.

[35] M. E. M. Mandour, H. el Turabi, M. M. A. Homeida, T. el Sadig, H. M. Ali, J. L. Bennett, W. J. Leahey, D. W. G. Harron, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 84 (1990) 389.

[36] C. M. Masimirembwa, J. A. Hasler, *Biochem. Pharmacol.* 48 (1994) 1779.

[37] A. H¨ogemann, K. Kiec-Kononowicz, F. Westhoff, G. Blaschke, *Arzneim-Forsch Drug Res.* 40 (2) (1990) 1159.

[38] C. Lerch and G. Blaschke *J. Chromatogr. B.* 708 (1998) 267.

[39] A. J. B. Melo, Y. Iamamoto, A. P. J. Maestrin, J. R. Lindsay-Smith, M. D. Santos, N. P. Lopes e P. S. Bonato, *J. Mol. Cat. A: Chem.* 226 (2005) 23–31.

[40] J. G. Sharefkin, H. Saltzman, *Org. Synth.,* 43 (1963) 62.

[41] A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *J. Org. Chem.*, 32 (1967) 476.

[42] P. R. Martins, *"Síntese, Caracterização e Atividade Catalítica da Ferroporfirina Metilpiridiltripentafluorofenil Substituída"*, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, USP, Ribeirão Preto (1998).

[43] S. Evans, R. Lindsay-Smith, *J. Chem. Soc.*, Perkin Trans. 2 (2001) 174-180.

[44] C. Casas, B. Saint-Jalmes, C. Loup, C. J. Lacey and B. Meunier, *J. Org. Chem.* 58 (1993) 2913.

[45] F. S. Vinhado, C. M. C. C. P. Manso, H. C. Sacco, Y. Iamamoto, *J. Mol. Catal. A – Chem.* 174 (2001) 279-288.

[46] O. Leal, D.L. Anderson, R.G. Bowman, F. Basolo and R.L. Burwell Jr., *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 5125.

[47] M. Gouterman, *J. Mol. Spectry*, 6 (1961) 138.

[48] P. Battioni, O. Brigaud, H. Desvaux, D. Mansuy, T.G. Traylor, *Tetrahedron Lett*., 32 (1991) 2893.

[49 P. R. Cooke, J. R. Lindsay-Smith, *Tetrahedron Lett.*, 33 (1992) 2737.

[50] P. R. Cooke, J. R. Lindsay-Smith, *J. Chem. Soc.* Perkin Trans., 1 (1994) 1913.

[51] A. P. M. Soares, *"Estudos catalíticos da oxigenação de hidrocarbonetos utilizando metaloporfirinas fluorossubstituídas como catalisadores em meio*

homogêneo e heterogêneo", Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras, USP, Ribeirão Preto (2004).

[52] H. C. Sacco, *"Atividade catalítica de manganêsporfirinas em sistemas homogêneos e heterogêneos",* Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Unesp, Araraquara (1999).

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo