

Vanessa Almeida Tomé

SÍNTESE DE FTALOCIANINAS BIOCOMPATÍVEIS PARA POTENCIAL APLICAÇÃO EM IMAGIOLOGIA MÉDICA

Mestrado em Química Medicinal

Departamento de Química

FCTUC

Junho de 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Vanessa Almeida Tomé

SÍNTESE DE FTALOCIANINAS BIOCOMPATÍVEIS PARA POTENCIAL APLICAÇÃO EM IMAGIOLOGIA MÉDICA

Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química Medicinal

Orientadores: Mário Calvete e Mariette Pereira

Junho de 2015

Universidade de Coimbra

Agradecimentos

Desejo expressar o meu sincero reconhecimento a todos aqueles que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

À Doutora Mariette Pereira, minha orientadora, por me dar a oportunidade de realizar a minha dissertação de mestrado junto do seu grupo de investigação, e pela sapiência que demonstrou para me ajudar a avançar neste trabalho e na minha formação em geral. Agradeço todo o apoio científico e a inestimável ajuda.

Ao Doutor Mário Calvete, meu orientador, a minha gratidão pela preciosa ajuda prestada ao longo da realização deste trabalho e pela permanente disponibilidade e superior orientação dispensada. Agradeço a incansável paciência para discutir qualquer assunto, a dedicação demonstrada e a convivência pessoal.

A todos os meus colegas do laboratório de catálise e química fina pela disponibilidade e companheirismo. Ao Rui, à Ana, ao César, à Liliana, ao Fábio, ao Carlos pelos momentos de boa disposição. Um agradecimento especial à Sara pela prestável colaboração e entreada bem como todo o incentivo e confiança.

A todos os meus amigos desejo agradecer a amizade, a camaradagem e a boa disposição que permitiram que esta caminhada fosse, nos seus bons e maus momentos, levada até ao fim.

À Carolina desejo expressar um agradecimento muito especial. Em Setembro de 2010 embarcámos juntas nesta “aventura” que é o Ensino Superior. Foram muitas as noites e os dias em que discutimos ideias, opiniões mas também que soltámos as maiores gargalhadas de sempre. Agora, que nos aproximamos da reta final, quero agradecer-te a amizade, o companheirismo, os preciosos conselhos e o incansável apoio que me deste ao longo destes 5 anos.

Aos meus Pais e ao meu irmão! Sem vós tudo isto teria sido quase impossível! Obrigado pelo vosso apoio incondicional, compreensão e carinho ao longo destes anos.

Ao laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Centro de Química de Coimbra pela obtenção dos espetros de RMN.

Índice

| | Pág. |
|--|------|
| Índice | i |
| Abreviações | iii |
| Resumo | v |
| Abstract | vii |
| Nomenclatura | ix |
| | |
| Capítulo 1: Introdução | 1 |
| 1.1 Ftalocianinas | 2 |
| 1.1.1 Estrutura molecular e algumas propriedades | 2 |
| 1.2 Síntese de ftalocianinas | 5 |
| 1.3 Aplicações biomédicas das ftalocianinas | 8 |
| 1.3.1 Imagiologia médica | 10 |
| 1.3.2 Modelação da anfifilicidade das ftalocianinas | 12 |
| 1.4 Referências | 20 |
| | |
| Capítulo 2: Síntese e modelação estrutural de ftalonitrilos | 26 |
| 2.1 Preparação de ftalonitrilos substituídos por reação de substituição nucleofílica aromática | 27 |
| 2.2 Preparação de ftalonitrilos substituídos por reação de aminocarbonilação | 29 |
| 2.2.1 Síntese dos precursores | 30 |
| 2.2.1.1 Síntese do substrato 4-iodoftalonitrilo | 30 |
| 2.2.1.2 Síntese do nucleófilo DO ₃ A-NH ₂ - α | 31 |
| 2.2.2 Síntese de ftalonitrilos funcionalizados com grupos carboxamida | 33 |
| 2.3 Conclusões | 41 |
| 2.4 Referências | 42 |
| | |
| Capítulo 3: Síntese de ftalocianinas simétricas tetrassubstituídas | 44 |
| 3.1 Síntese de ftalocianinas substituídas com grupos <i>N,N</i> -dimetilaminoetoxilo | 44 |
| 3.2 Síntese de ftalocianinas funcionalizadas com diversas carboxamidas | 52 |
| 3.3 Conclusões | 58 |
| 3.4 Referências | 60 |
| | |
| Capítulo 4: Avaliação das propriedades das ftalocianinas sintetizadas para potencial aplicação em imagiologia médica | 61 |
| 4.1 Síntese das ftalocianinas catiónicas | 61 |
| 4.2 Espectroscopia de absorção UV-vis e de emissão de fluorescência | 62 |
| 4.2.1 Estudos fotofísicos de ftalocianinas substituídas com grupos colina | 62 |

| | |
|--|--------|
| 4.2.2 Estudos fotofísicos das ftalocianinas funcionalizadas com grupos carboxamida | 68 |
| 4.3 Estudos preliminares de relaxividade da ftalocianina de manganésio(III) derivatizada com grupos colina | 71 |
| 4.4 Conclusões | 74 |
| 4.5 Referências | 76 |
| Capítulo 5: Experimental | 77 |
| 5.1 Solventes e reagentes | 77 |
| 5.2 Instrumentação e metodologia | 77 |
| 5.3 Síntese e caracterização estrutural dos compostos do Capítulo 2 | 80 |
| 5.3.1 Síntese dos precursores para a reação de aminocarbonilação | 81 |
| 5.3.1.1 Síntese do substrato 4-iodoftalonitrilo | 81 |
| 5.3.1.2 Síntese do nucleófilo DO ₃ A-NH ₂ - α | 82 |
| 5.3.2 Síntese de ftalonitrilos funcionalizados com grupos carboxamida | 84 |
| 5.4 Síntese e caracterização estrutural dos compostos do Capítulo 3 | 87 |
| 5.4.1 Síntese das ftalocianinas tetrassubstituídas com grupos <i>N,N</i> -dimetilaminoetoxilo | 87 |
| 5.4.2 Síntese das ftalocianinas tetrassubstituídas com carboxamidas | 90 |
| 5.4.2.1 Síntese das ftalocianinas conjugadas com aminoácidos | 91 |
| 5.5 Síntese e caracterização estrutural dos compostos do Capítulo 4 | 92 |
| 5.6 Referências | 95 |

Abreviações

(Boc)₂O – di-*tert*-butildicarbonato

[M]⁺ – íão molecular

Ac – Acetato (íão)

AC – Agente de contraste

Boc – *tert*-butiloxicarbonilo

Boc-Ser-OMe – éster metílico de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-L-serina

Ciclono – 1,4,7,10-tetraza-ciclododecano

d – Duplete

DBN – 1,5-diazabicyclo(4.3.0)non-5-eno

DBU – 1,8-diazabicycloundec-7-eno

dd – Duplo duplete

DMAE – *N,N*-Dimetilaminoetanol

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

DMF – *N,N*-Dimetilformamida

DMSO – Dimetilsulfóxido

DO₃A-NH₂-α – Trietil-2,2',2''-(10-(2-amino-3-metoxi-3-oxopropil)-1,4,7,10-tetraazociclododecano-1,4,7-triil)triacetato

ESI – Ionização por electrospray (do inglês, *electrospray ionization*)

FI – imagiologia ótica por fluorescência (do inglês, “*Fluorescence Imaging*”)

GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada a espetrometria de massa

H₂Pc – Complexo de base livre de ftalocianina

HOMO – Orbital molecular ocupada de maior energia (do inglês, “*Highest occupied molecular orbital*”)

ICNAS – Instituto de Ciências Nucleares Aplicadas à Saúde

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês “*International Union of Pure and Applied Chemistry*”)

J – Constante de acoplamento

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LUMO – Orbital molecular desocupada de menor energia (do inglês, “*Lowest unoccupied molecular orbital*”)

m/z – Razão massa/carga

MALDI-TOF – Ionização de matriz assistida por laser – tempo de vôo, do inglês “*matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight*”

MgPc – Complexo de magnésio de ftalocianina

MnPc – Complexo de manganésio de ftalocianina

MPC – metaloftalocianina
MRI – Imagiologia de ressonância magnética (do inglês, “*magnetic resonance imaging*”)
MS – Espectrometria de massa
N-Boc₂-Δ-AlaOMe – éster metílico de N,N-bis-(*tert*-butoxicarbonil)-didesidro alanina
NIR – Infra-vermelho próximo (do inglês, “*near infra-red*”)
PDT – Terapia fotodinâmica (do inglês, “*photodynamic therapy*”)
PET – Tomografia por emissão de positrões (do inglês, “*positron emission tomography*”)
Pn – Ftalonitrilo
ppm – Partes por milhão
r₁ – Relaxividade longitudinal
r₂ – Relaxividade transversal
R_f – Fator de retenção
RMN de ¹³C - Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de ¹H - Ressonância magnética nuclear de próton
rv – relaxação vibracional
s – Singuleto
sil – Singuleto largo
sl – Sinal largo
S_N2 – Substituição nucleofílica bimolecular
t - Tripleto
T₁ – Tempo de relaxação longitudinal
T₂ – Tempo de relaxação transversal
TFA – Ácido trifluoracético
THF – Tetrahydrofurano
TLC – Cromatografia de camada fina (do inglês, “*thin layer chromatography*”)
TMS – Tetrametilsilano
TOF – Espectrómetro de massa de tempo de voo (do inglês “*time-of-flight*”)
UV-vis – Ultravioleta-visível
ZnPc – Complexo de zinco (II) de ftalocianina
δ – Desvio químico em ppm
ε – Coeficiente de absorção molar
λ – Comprimento de onda
Φ_F – Rendimento quântico de fluorescência

Resumo

No trabalho apresentado nesta dissertação foram desenvolvidos estudos de síntese e de modelação estrutural de ftalocianinas com vista à preparação de potenciais novos biomarcadores para diagnóstico por imagiologia médica usando, por exemplo, as técnicas de imagiologia ótica de fluorescência e/ou imagiologia de ressonância magnética nuclear.

Tendo estudos recentes da literatura revelado que as ftalocianinas apresentam grandes potencialidades na área do diagnóstico tumoral, a sua modelação com grupos biocompatíveis e orientados para o tecido-alvo assume particular interesse pois pode, não só conferir ao potencial biomarcador ftalocianínico a solubilidade desejada em meios biológicos, bem como fornecer especificidade para as células doentes, aumentando desta forma a sua captação tumoral.

No Capítulo 2 procederam-se a estudos envolvendo a síntese e modelação estrutural de precursores ftalocianínicos (ftalonitrilos) com dois substituintes diferentes – grupos carboxamida derivatizados com aminoácidos e grupos derivados da colina - para após transformação em ftalocianinas poderem potencialmente aumentar a especificidade e seletividade destas para as células tumorais.

No que concerne à síntese do ftalonitrilo funcionalizado com o grupo *N,N*-dimetilaminoetoxilo, já descrito na literatura, conseguiu-se otimizar as condições de reação para menores tempos e com rendimentos da mesma ordem de grandeza (85 %).

Na síntese dos ftalonitrilos monossustituídos com grupos carboxamidas foi usada uma nova aproximação sintética que envolveu a aminocarbonilação, catalisada por complexos de paládio, utilizando o 4-iodoftalonitrilo como reagente de partida, e diversas aminas como nucleófilos. Obtiveram-se desta forma 5 novos ftalonitrilos devidamente funcionalizados com grupos derivados de *tert*-butilamina, glicina, leucina, fenilalanina e do trietil-2,2',2''-(10-(2-amino-3-metoxi-3-oxopropil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano-1,4,7-triil)triacetato (DO₃A-NH₂- α). O grau de pureza e estrutura dos novos compostos foi corroborado por espectroscopia de RMN e espectrometria de massa ESI-TOF, e todos estão de acordo com o previsto, tendo-se obtido rendimentos de produto isolado entre 46% e 75%, com exceção do ftalonitrilo ligado covalentemente ao agente quelante DO₃A-NH₂- α , cuja purificação final iria ultrapassar o tempo previsto para os estudos que conduziram à escrita da presente dissertação.

No Capítulo 3 são descritos os métodos de síntese de derivados simétricos de ftalocianinas e seus complexos metálicos, a partir da reação de ciclotramerização dos ftalonitrilos previamente sintetizados. Num primeiro subtópico apresenta-se a metodologia de síntese que permitiu a obtenção do complexo de manganésio(III) de ftalocianina derivatizado com grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo. Esta metodologia baseou-se na preparação do respetivo complexo metálico de zinco (II) (ou alternativamente de magnésio) a partir do ftalonitrilo convenientemente substituído

com o grupo *N,N*-dimetilaminoetoxilo, seguido de desmetalização e nova metalização, em condições aeróbias, com o sal de manganésio(II). Com esta metodologia obteve-se o pretendido complexo de manganésio(III) com um rendimento global de 61%.

Num segundo subtópico são abordadas as reações que conduziram à síntese de uma nova família de quatro complexos metálicos de zinco(II) de ftalocianinas conjugados com os diversos grupos carboxamida, tendo-se obtido rendimentos de produto isolado entre 53 a 60%. Para além disso, foram também iniciados estudos preliminares relativos à síntese de um complexo metálico de zinco (II) de ftalocianina tetra-funcionalizada com grupos $\text{DO}_3\text{A-NH}_2\text{-}\alpha$, a partir da ciclotetramerização do respetivo ftalonitrilo com o objetivo de ser posteriormente testado na complexação com gadolínio (III), com vista a uma potencial utilização futura como agente de contraste bimodal envolvendo as técnicas de imagiologia de ressonância magnética nuclear e imagiologia ótica de fluorescência.

No Capítulo 4, dado o interesse na obtenção de ftalocianinas solúveis nos meios biológicos e potencialmente com propriedades de vectorização tumoral, cationizaram-se as ftalocianinas conjugadas com os grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo por reação do grupo amina com iodometano, obtendo-se o produto desejado com rendimentos entre 85 a 89%.

Neste mesmo capítulo procedeu-se à caracterização fotofísica dos complexos de base livre e de zinco(II), incorporando grupos colina, e dos complexos metálicos de zinco (II) funcionalizados com os grupos carboxamida supra referidos. Estes revelaram possuir características bastante promissoras para aplicação como biomarcadores em imagiologia ótica de fluorescência, nomeadamente elevados rendimentos quânticos de fluorescência (Φ_F entre 0,26 e 0,31) e seletiva emissão de fluorescência na região espectral designada por *janela terapêutica* (600 e 800nm). Para complementar os estudos é relevante avaliar a sua toxicidade *in vitro* e *in vivo*.

Sendo ainda objetivo deste trabalho avaliar a potencialidade do complexo de manganésio (III) da ftalocianina derivatizada com grupos colina como potencial agente de contraste em imagiologia de ressonância magnética nuclear, foram efetuados estudos preliminares de relaxividade, a 20 MHz. Estes estudos permitiram determinar os tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) em água e às temperaturas de 25°C ($r_1=1,16423 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $r_2 =3,16156 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) e de 37°C ($r_1 = 1,07285 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ e $r_2 =3,15603 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). Estes valores apontam para a necessidade de se proceder à modulação estrutural deste tipo de complexos de manganésio de ftalocianinas para melhorar a sua potencial aplicação como agentes de contraste para MRI *in vivo*.

No Capítulo 5, apresentam-se os procedimentos experimentais e a caracterização por espectroscopia de absorção UV-visível, de ressonância magnética nuclear e espectrometria de massa (MALDI-TOF e ESI-TOF) de todos os compostos sintetizados durante os estudos que conduziram à escrita desta dissertação.

Abstract

In the work presented in this dissertation the synthesis and structural modeling studies of phthalocyanines were developed, aiming to prepare new potential biomarkers for diagnostic medical imaging, using optical fluorescence imaging and/or nuclear magnetic resonance imaging techniques.

Recent literature reports have revealed that phthalocyanines have great potential in the field of tumor diagnosis; their modulation with biocompatible and tissue targeted substituents hold a particular interest because they provide the desired solubility in biological media and diseased cell specificity, thus increasing the biomarker's tumor uptake.

In Chapter 2 studies involving the synthesis and structural modeling of phthalocyanines precursors (phthalonitriles) were carried out, involving two different substituents - amino acid derivatized carboxamide groups and choline derivatives, whose further transformation into phthalocyanines will potentially provide the desired specificity and selectivity for tumor cells. Regarding the synthesis of the phthalonitrile functionalized with *N,N*-dimethylaminoethoxy-groups, which was previously described in literature, it was possible to optimize their reaction conditions, especially the reaction time, while maintaining similar yields in the order of 85%.

In the synthesis of monosubstituted phthalonitriles bearing carboxamide groups, a new synthetic approach involving the use of 4-iodophthalonitrile as a starting material, being functionalized with various amines *via* palladium-catalyzed aminocarbonylation reaction was used. Using such methodology, five new functionalized phthalonitriles properly conjugated with *tert*-butylamine, glycine, leucine, phenylalanine and triethyl 2,2',2''-(10-(2-amino-3-methoxy-3-oxopropyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triyl)triacetate (DO₃A-NH₂- α) derivatives were obtained. The purity and structure of the new compounds was confirmed by NMR spectroscopy and ESI-TOF mass spectrometry, and all are consistent with the predicted, with isolated product yields between 46 % and 75%, except the phthalonitrile covalently attached to the chelator DO₃A-NH₂- α , whose final purification would exceed the expected time for the studies that led to this dissertation.

Chapter 3 describes the synthetic methodologies for symmetrical phthalocyanines and their metal complexes preparation, from the cyclotetramerization reaction of the previously synthesized phthalonitriles. A first subtopic presented the synthetic methodology that allowed to obtain the manganese (III) phthalocyanine, substituted with *N,N*-dimethylaminoethoxy- groups. This methodology was based on the preparation of the corresponding metal complex of zinc (II) (or alternatively magnesium (II)), followed by demetallation and new metallation under aerobic conditions with manganese (II) salt, yielding the manganese (III) complex in an overall yield of

61%. In a second subtopic, the synthetic method leading to the synthesis of a new family of 4 metal complex of zinc (II) phthalocyanines with different conjugated carboxamide groups is presented, yielding the products in isolated yields between 53 and 60%. Furthermore, preliminary studies on the synthesis of a zinc (II) phthalocyanine metal complex bearing four DO₃A- α -NH₂ groups have also been initiated, from the corresponding cyclotetramerization of DO₃A- α -NH₂ functionalized phthalonitrile. The envisaged compound is to be further complexated with gadolinium (III), to be tested as a potential bimodal contrast agent in nuclear magnetic resonance imaging and fluorescence optical imaging techniques.

Due to the interest in obtaining soluble phthalocyanines in biological media with potential tumor vectorization, the cationization of the phthalocyanines bearing four *N,N*-dimethylaminoethoxy- groups is discussed in Chapter 4. These compounds were reacted with iodomethane to give the respective cationic analogues (called choline groups), with yields between 85-89%. Also, the photophysical characterization of the free base and zinc (II) complexes incorporating choline groups and zinc (II) metal complexes functionalized with carboxamides is discussed in this chapter. The last have proved to possess very promising characteristics for use as biomarkers in optical fluorescence imaging, particularly due to their high fluorescence quantum yields (Φ_F between 0,26 and 0,31) and selective fluorescence emission in the spectral region so called *therapeutic window* (600 and 800 nm). In order to complement the studies, additional toxicity *in vitro* and *in vivo* determination is also further relevant.

A further objective of this dissertation consisted in the evaluation of tetracholine substituted manganese (III) phthalocyanine's potential as nuclear magnetic resonance imaging contrast agent. So, preliminary relaxivity studies were performed at 20 MHz, by measuring their longitudinal relaxation (T_1) and transverse (T_2) times, which allowed to calculate the phthalocyanine's relaxivity values in water at 25 ° C ($r_1 = 1.16423 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ and $r_2 = 3.16156 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) and 37 ° C ($r_1 = 1.07285 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ and $r_2 = 3.15603 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). These values point to the need for additional structural modulation of such manganese phthalocyanine complexes, to improve its potential use as *in vivo* MRI contrast agent.

In Chapter 5, all experimental procedures and characterization by UV-visible absorption, nuclear magnetic resonance and mass spectrometry (MALDI-TOF and ESI-TOF) of the synthesized compounds are shown.

Nomenclatura

Nesta dissertação, com exceção de alguns dos compostos sintetizados, foram seguidas as recomendações da IUPAC para numerar e nomear os compostos.

A IUPAC propôs um sistema de numeração para o macrociclo ftalocianínico,¹ **figura I**. Todos os átomos devem ser numerados, exceto os carbonos de fusão entre o anel pirrólico e o anel benzênico. Não muito raramente, as posições internas e externas dos anéis benzênicos são apelidadas de posições alfa e beta, respectivamente.

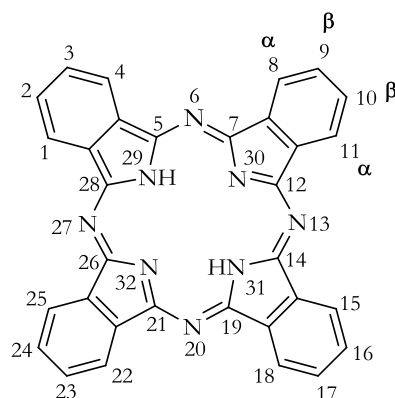


Figura I. Numeração proposta pela IUPAC para as ftalocianinas.

Nesta dissertação todas as ftalocianinas tetra-substituídas sintetizadas constituem uma mistura de isômeros geométricos. Assim, na parte experimental, por questões de simplicidade, as ftalocianinas tetrassubstituídas serão numeradas e denominadas de acordo com as recomendações da IUPAC para o isômero constitucional C_{4h} . A título de exemplo, e seguindo esse padrão de nomenclatura podemos nomear a molécula representada na **figura II** como 3,10,17,24,-tetrametoxi-ftalocianinato de zinco(II).

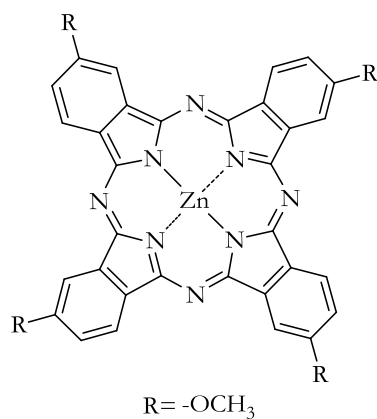


Figura II. Ftalocianina tetrassubstituída C_{4h} .

Nesta dissertação, também por uma questão de simplicidade, não se adoptará o sistema de nomenclatura da IUPAC para os precursores das ftalocianinas sintetizados – o 1,2-dicianobenzeno -, mas sim a nomenclatura trivial – ftalonitrilo -, sendo que a numeração recomendada para os ftalonitrilos substituídos será a típica numeração do anel benzénico. Como exemplo desta estratégia, o composto representado na **figura III**, nomear-se-á de 4-nitroftalonitrilo ao invés de 4-nitro-1,2-dicianobenzeno.

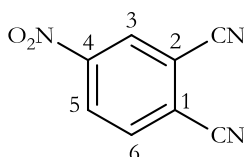


Figura III. 4-nitroftalonitrilo e respectiva numeração do anel benzénico

De igual forma, a designação dos aminoácidos utilizados ao longo desta dissertação, bem como na parte experimental, não seguiu as normas recomendadas pela IUPAC. Neste caso, será usada a nomenclatura trivial. Assim, como exemplo deste modelo, neste trabalho, a molécula representada na **figura IV**, designar-se-á de glicina e não ácido 2-aminoetanóico ou ácido α -aminoetanóico.

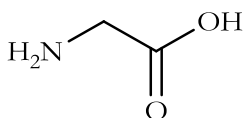


Figura IV. Aminoácido glicina

¹J. E. Merritt, K. L. Loening, *Pure Appl. Chem.*, **1979**, *51*, 2251.

Capítulo 1

Introdução

No desenvolvimento sintético de ftalocianinas existem marcos históricos que merecem ser salientados. Em 1907, estes compostos foram fortuitamente descobertos, durante a preparação da 2-cianobenzamida, como um subproduto escuro e insolúvel por Braun e Tcherniac;¹ no entanto não lhe foi dado grande relevo. Posteriormente, em 1927, Diesbach e Von der Wied² descreveram a obtenção de um material azul durante a reação de 1,2-dibromobenzeno com cianeto de cobre, utilizando piridina como solvente, que veio muito mais tarde a ser confirmado como sendo um complexo de cobre de uma ftalocianina. Em 1928, na *Scottish Dyes Ltd*, durante a produção industrial da ftalimida a partir de anidrido ftálico foi detetada a formação de um material esverdeado, que posteriormente se comprovou ser o complexo de ferro da respetiva ftalocianina. Sabe-se hoje que a formação deste composto resultou do contato da mistura reacional com a camada externa de ferro do reator. Os estudos iniciais das suas propriedades químicas mostraram que era um composto altamente estável e insolúvel e, portanto, com um elevado potencial para ser utilizado como pigmento, sendo posteriormente patenteado.³ A empresa, entretanto adquirida pela Imperial Chemistry Industries (ICI), transferiu a investigação para Linstead, que conseguiu estudar com maior detalhe esta nova substância, sendo ele o primeiro autor a utilizar o termo ftalocianina,^{4,5,6} como derivatização do grego *phthalos* (óleo da rocha) e *cyanine* (azul). Foi o vasto trabalho do grupo de Linstead que, ao desenvolver métodos básicos para a sua síntese que ainda hoje vigoram, generalizou a produção deste tipo de compostos.⁶

Desde então são inúmeros os trabalhos interdisciplinares onde se descreve a utilização de ftalocianinas nomeadamente, em ciências dos materiais,^{7,8,9,10} incluindo fotoconversão de energia solar em energia química,^{8,9} ótica não-linear,^{7,10} catálise,¹¹ e em medicina, com particular atenção na foto-inativação de bactérias e vírus¹² e na área do diagnóstico e tratamento do cancro.^{13,14} Esta é uma das áreas mais relevantes de aplicação das ftalocianinas, nomeadamente no diagnóstico por técnicas de imagiologia médica. Este é o tema central desta dissertação e será abordado com detalhe na **secção 1.3**.

1.1 Ftalocianinas

1.1.1 Estrutura molecular e algumas propriedades

As ftalocianinas fazem parte da classe de compostos macrocíclicos tetrapirrólicos, que se caracterizam por um conjunto de quatro anéis de isoindol ligados por pontes azo, possuindo um conjunto de ligações duplas conjugadas que formam um anel aromático com dezoito eletrões π . As ftalocianinas, apesar de terem uma estrutura semelhante às porfirinas naturais, como por exemplo a hemoglobina (**figura 1**), a vitamina B₁₂ ou a clorofila, não se encontram na natureza, devido ao facto dos seus precursores não serem de origem natural.

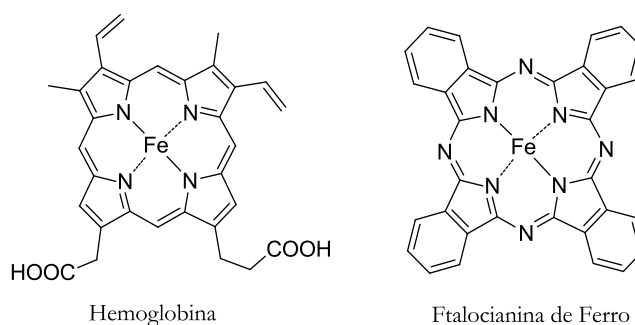


Figura 1. Relação estrutural entre a hemoglobina e uma metaloftalocianina.

Estes macrociclos tanto surgem na forma de bases livres, com dois dos quatro azotos do anel central ligados covalentemente a dois átomos de hidrogénio, como na forma de ftalocianinas metálicas, resultantes da coordenação de diferentes átomos metálicos com os átomos de azoto centrais (**figura 2**).^{15,16} Tanto a modelação da cavidade como a variação dos substituintes nos anéis benzénicos das ftalocianinas permitem o ajuste das propriedades físico-químicas destes compostos.¹⁷

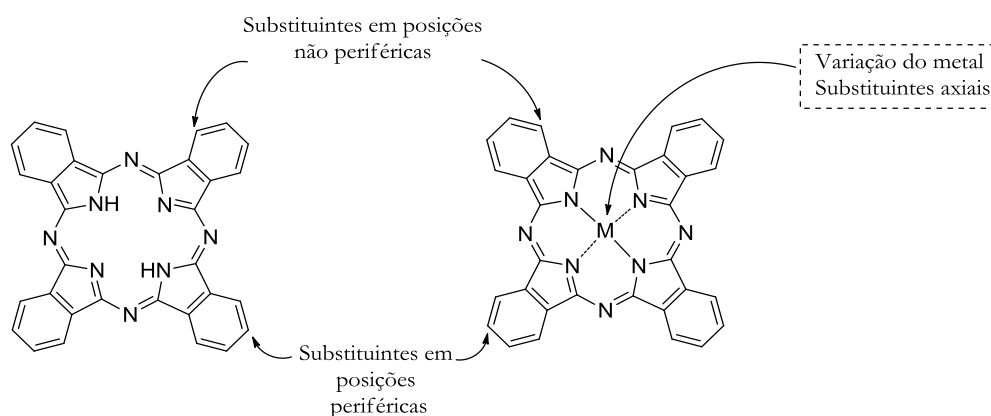


Figura 2. Estrutura da ftalocianina de base livre (lado esquerdo) e da ftalocianina na forma de complexo metálico (lado direito), com representação esquemática dos possíveis locais de modelação estrutural.

Não obstante a variedade de metais utilizados na complexação de ftalocianinas, é de dar destaque aos metais usados em diagnóstico por este ser o tema central desta dissertação. Neste caso, estes são complexos metálicos de ftalocianinas cujo metal central possui propriedades adequadas que permitam visualizar lesões em tecidos e órgãos através de técnicas de imagiologia específicas. Tipicamente, os compostos cujo metal central é diamagnético (como por exemplo, o zinco e o magnésio) poderão ter potencial aplicação em imagiologia ótica de fluorescência. Já os metais marcados radioquimicamente, tais como Ga-68 e Cu-64, podem ser utilizados para imagiologia por tomografia de emissão de pósitrons. Por seu turno, os metais paramagnéticos, como o gadolínio e o manganésio são, em geral, aplicados em técnicas de imagiologia de ressonância magnética nuclear.

Espectro de absorção

As ftalocianinas são macromoléculas intensamente coloridas, com espectros de absorção característicos. O espectro eletrónico das metaloftalocianinas na região do UV-vis é caracterizado por duas bandas de absorção na região dos 350 e 700 nm (**figura 3**). Estas bandas são atribuídas às transições da orbital π HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) para a orbital π^* LUMO (Lowest Occupied Molecular Orbital) do anel conjugado do macrociclo.¹⁸ A primeira destas bandas é encontrada na região dos 350 nm e é chamada de banda B ou Soret, surgindo frequentemente como uma banda alargada. A segunda banda é mais intensa e estreita, encontrando-se na região dos 670-700 nm, sendo conhecida como banda Q. As ftalocianinas na forma livre, ao possuírem um macrociclo com menor simetria (simetria D_{2h}) comparada com a simetria das metaloftalocianinas planares (simetria D_{4h}), apresentam uma banda Q desdobrada.¹⁹ Naturalmente, estas características eletrónicas podem ser afetadas por parâmetros como: a natureza e o estado de oxidação do átomo

central, a natureza e posição dos substituintes periféricos, ou ainda, pela extensão do sistema aromático do macrociclo.^{17,19}

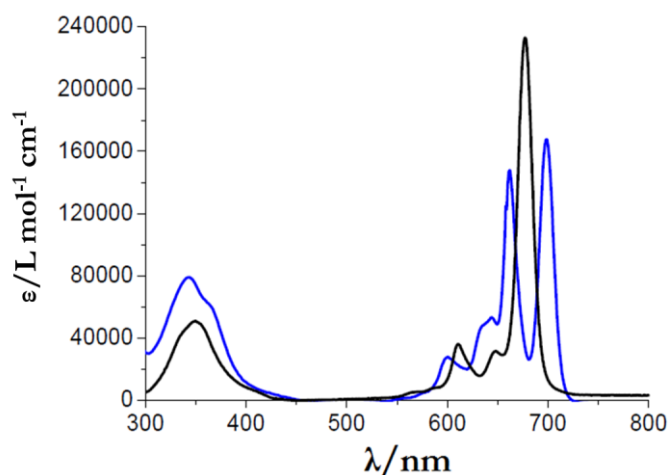


Figura 3. Espectro típico UV-vis de uma ftalocianina de base livre (azul) e de uma metaloftalocianina (preto).

Solubilidade

Tal como a maior parte dos compostos aromáticos não substituídos, a grande desvantagem das ftalocianinas não substituídas é a sua tendência natural para formar um empilhamento de moléculas (π - π *stacking*), sob a forma de agregados altamente organizados, cuja formação impossibilita a solubilização das ftalocianinas tanto em água como na maioria dos solventes orgânicos. No entanto, a versatilidade destas moléculas permite que a sua solubilidade seja modulada através da introdução de substituintes adequados tanto nos anéis de isoindol, como no ião metálico central, resultando derivados substituídos em posição axial (ver **figura 2**).

As ftalocianinas, dado que são compostos aromáticos, podem sofrer reações de substituição aromática nucleofílica e electrofílica, sendo passíveis de modelação posteriormente à sua síntese. Contudo, reações tais como a halogenação, sulfonação ou nitração deste macrociclo, normalmente resultam em mistura de compostos com diferentes graus de substituição, em consequência das condições reacionais agressivas necessárias, devido à estabilidade química das ftalocianinas, pelo que, preferencialmente, a sua modelação estrutural é normalmente efetuada no seu precursor (ver **figura 6**).

As ftalocianinas simétricas mais comuns são as tetrassubstituídas e as octassubstituídas, podendo estas últimas ser de dois tipos, dependendo da posição dos substituintes no anel isoindol (**figura 4**). Geralmente, a solubilidade das ftalocianinas tetrassubstituídas é superior à das octassubstituídas devido ao facto das primeiras constituírem uma mistura de isómeros (**figura 5**), o que conduz a um ordenamento menor das moléculas no estado sólido e, conseqüentemente a um aumento da solubilidade, quando comparadas com as ftalocianinas octassubstituídas.^{7,20}

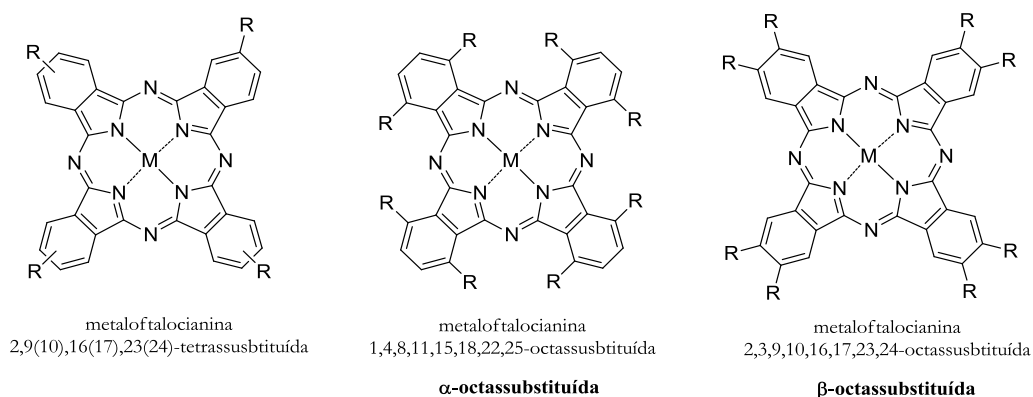


Figura 4. Padrão de substituição comum em ftalocianinas.

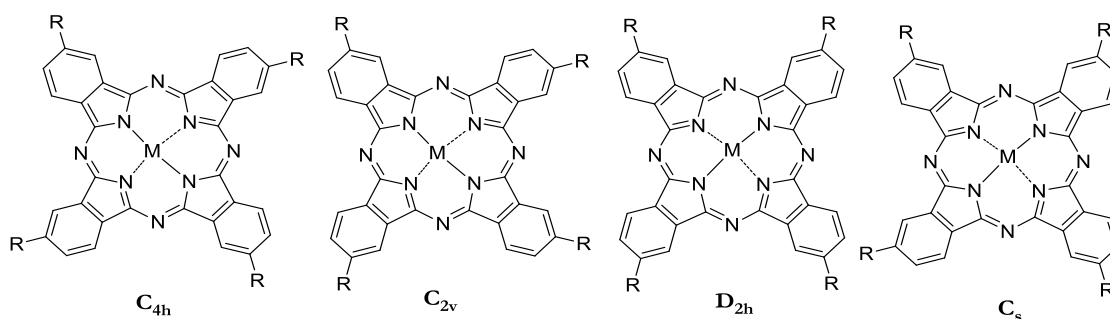


Figura 5. Isómeros constitucionais de ftalocianinas tetrassubstituídas.

1.2 Síntese de ftalocianinas

Nesta secção será feita uma abordagem generalizada das metodologias sintéticas mais relevantes para a preparação de ftalocianinas simétricas, nomeadamente, de ftalocianinas tetrassubstituídas nas posições periféricas, uma vez que é este o tipo de ftalocianinas que será sintetizado nesta dissertação.

Como já foi referido acima, para sintetizar ftalocianinas recorre-se normalmente a precursores capazes de serem adequadamente ciclometramerizados.^{21,22,23} Em regra geral, a síntese de ftalocianinas procede a partir reações de ciclometramerização, num só passo, usando derivados do ácido benzóico como reagentes de partida, incluindo anidridos ftálicos, ftalimidas, *o*-cianobenzamidas, diiminoisindolinas ou ftalonitrilos, sendo estes últimos os mais usados (**figura 6**).

Desta forma, um método direto e conveniente para a preparação de metalofalocianinas consiste no aquecimento do ftalonitrilo com um sal metálico (numa proporção de 4:1 equivalentes),

na presença de solventes com pontos de ebulição superiores a 100°C, tais como quinolina, *N,N*-dimetilformamida (DMF), 1-cloronaftaleno, *N,N*-dimetilaminoetanol (DMAE), e álcoois alifáticos de cadeia longa, tais como pentan-1-ol, hexan-1-ol, heptan-1-ol e octan-1-ol.^{7,21,22,23,24} Adicionalmente, a presença de quantidades catalíticas de bases impedidas como 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU) ou 1,5-diazabicyclo(4.3.0)non-5-eno (DBN) induz a ciclotetramerização em vários casos, geralmente resultando num aumento dos rendimentos.^{7,22,23} De qualquer forma, anidridos ftálicos ou ftalimidas, bem como outros derivados de ácido benzóico, também podem ser usados como precursores de ftalocianinas cujos substituintes sejam resistentes, uma vez que requerem condições reacionais mais agressivas.^{22,23} Ocasionalmente, quando na presença de ftalonitrilos com baixa reatividade, estes podem também ser transformados em diiminoisoindolinas, as quais apresentam uma reatividade muito superior na reação de ciclotetramerização.^{22,23}

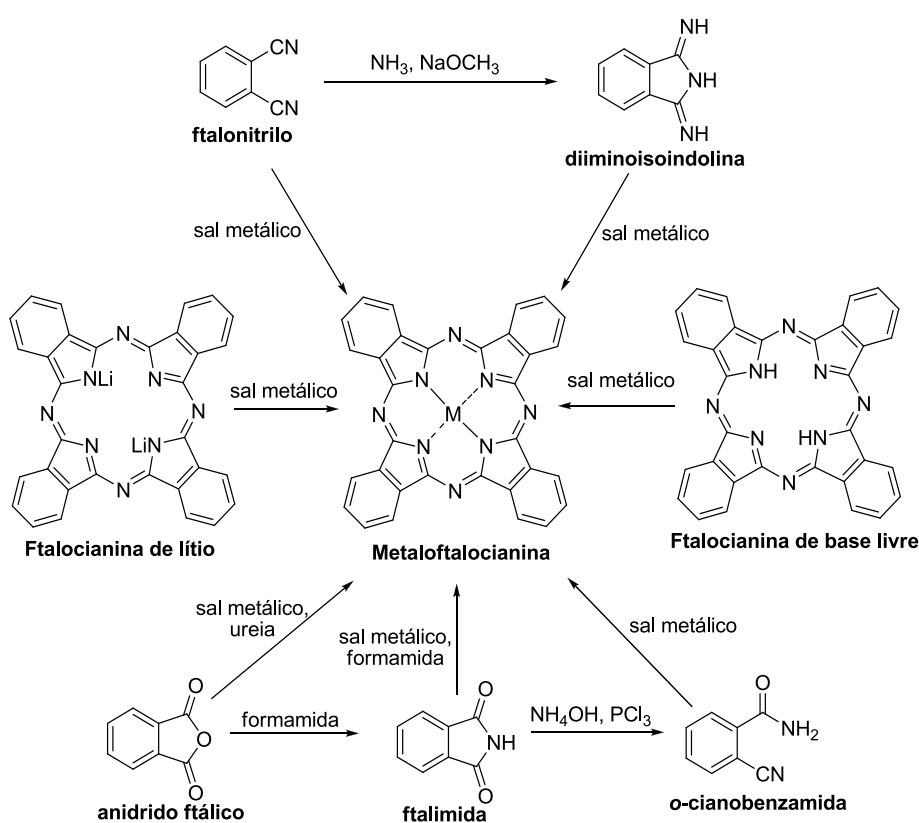


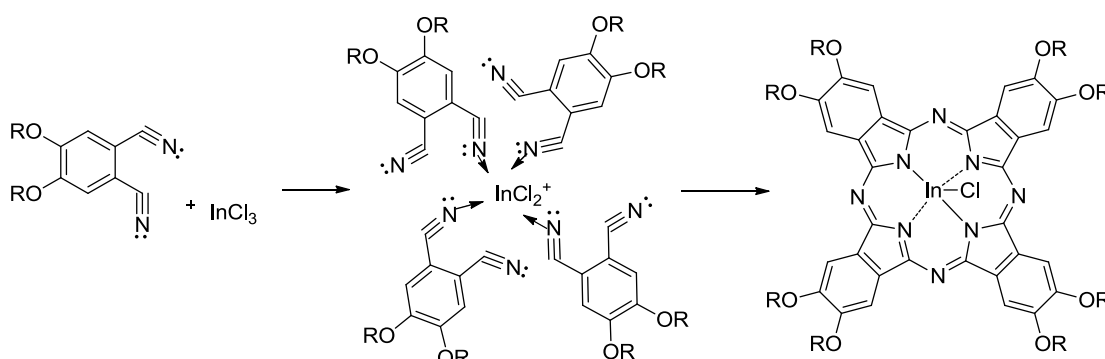
Figura 6. Precursores usados na síntese de ftalocianinas.

É importante também salientar a existência de metodologias alternativas para a síntese de metaloftalocianinas que consistem no aquecimento da unidade de ftalonitrilo com iões metálicos monovalentes como o Li^+ em soluções alcoólicas (**figura 6**), seguido de tratamento ácido para a remoção do metal central da ftalocianina, originando o macrociclo ftalocianínico na forma de base

livre. Seguidamente, o complexo metálico apropriado pode ser sintetizado por aquecimento da base livre com um sal metálico, resultando na obtenção da metalofalocianina pretendida.

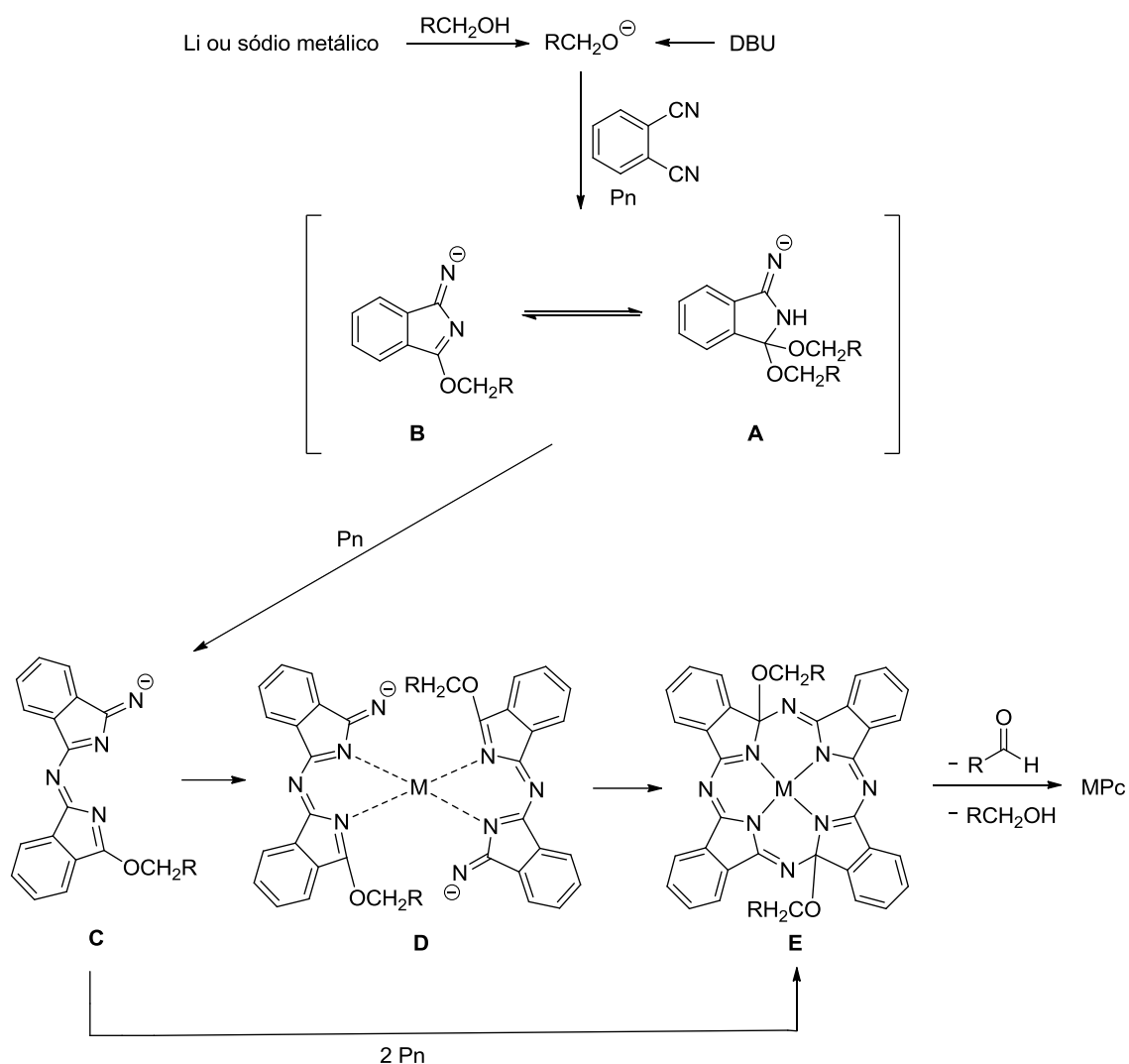
Mecanismo de formação de ftalocianinas

Apesar de terem sido efetuados vários estudos para interpretar o mecanismo de formação das ftalocianinas,^{21,22,25} este ainda não está totalmente esclarecido, existindo na literatura duas teorias para a sua formação. Uma delas, e de maior aceitação, propõe a presença de iões metálicos como "templates" na síntese da ftalocianina favorecendo um mecanismo tipo concertado (**Esquema 1**), onde quatro unidades de ftalonitrilo se coordenam ao ião metálico para favorecer a ciclização.^{20,22}



Esquema 1. Exemplo de ciclização dos ftalonitrilos por um mecanismo do tipo concertado.

No entanto, existe um outro tipo de mecanismo (**Esquema 2**), que tem por base a formação de vários intermediários (**A-E**).²⁵ Nesse mecanismo o solvente (um álcool) participa de forma ativa na reação, e a ciclização ocorre via formação *in situ* de espécies reativas do precursor. Enquanto a estrutura **A** é obtida na presença de metanol ou etanol, os álcoois volumosos parecem favorecer a formação de **B**, apesar de não ser conhecida nenhuma explicação. É possível que ambas as formas sejam intermediários na reação de ciclização, em pentan-1-ol a refluxo.²⁵ O intermediário **C** é obtido com um bom rendimento quando se realiza a reação entre o 4-nitroftalonitrilo e metóxido de lítio em metanol a 116°C. O intermediário **D**, não sendo mais do que duas unidades de **C** coordenadas a um átomo metálico, foi isolado quando se realizou a reação do diiminoisindolina com NiCl₂ em pentan-1-ol a refluxo.²⁵ Posteriormente, aquecendo o complexo **D** obtém-se o complexo de Ni(II) da ftalocianina, com libertação de pentan-1-ol e pentanal. O fecho do anel e a respetiva aromatização parecem ocorrer via intermediário **E**. Contudo, a formação de **E** pode, também, ocorrer através da adição de duas moléculas de ftalonitrilo ao intermediário **C**.



Esquema 2. Macroclicação de ftalonitrilos por um mecanismo não concertado.

1.3 Aplicações biomédicas de ftalocianinas

De entre as inúmeras aplicações das ftalocianinas, já referidas anteriormente, as relacionadas com as aplicações do foro biológico e/ou medicinal, por serem o objetivo que norteou a síntese dos compostos descritos nesta dissertação, serão discutidas mais detalhadamente nesta secção.

De entre estas aplicações salienta-se a sua potencial utilização em Terapia Fotodinâmica (PDT), uma vez que estas são agentes cromóforos que absorvem na gama de comprimentos de onda do infra-vermelho (bandas Q) – onde os tecidos animais são transparentes à luz incidente (**figura 7**) - e, podem apresentar um alto rendimento quântico do estado tripleto, gerando quantidades significativas de oxigénio no estado singleto.^{26,27,28} Para além disso, é ainda de realçar a elevada afinidade de algumas ftalocianinas pelos tecidos tumorais atribuída à sua predisposição natural para se ligarem às lipoproteínas de baixa densidade, LDL, que se encontram em maior quantidade nos tecidos tumorais.^{29,30} Importa salientar também a sua baixa citotoxicidade no

escuro.¹³ Esta afinidade pelos tecidos tumorais,³¹ já demonstrada por algumas ftalocianinas e/ou seus complexos metálicos, para além do tratamento por PDT é também crucial para aplicação como agente de contraste/biomarcador em técnicas de imagiologia médica.³²

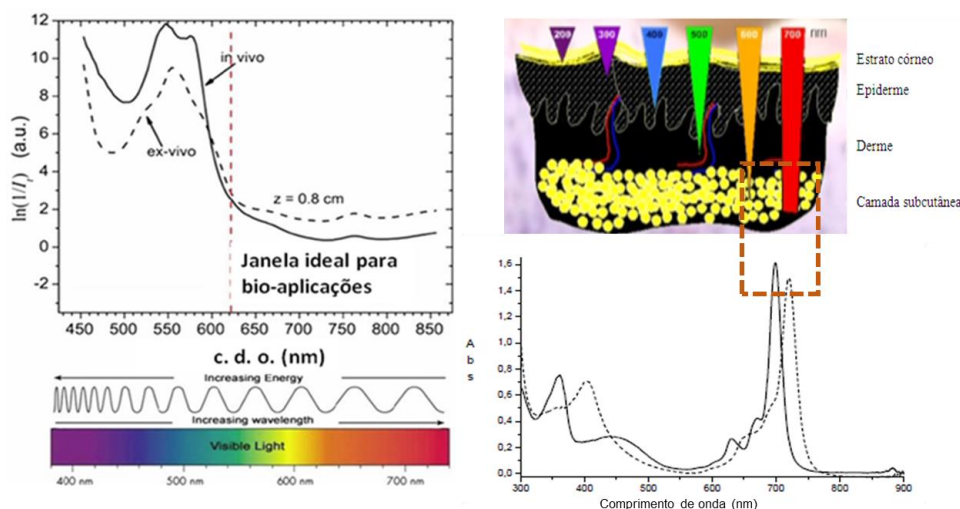


Figura 7. Janela ideal para bio-aplicações (esquerda) e espectro UV-vis típico de metaloftalocianina associado a uma representação esquemática das camadas da pele e da profundidade de penetração da luz nesta (direita).

No que se refere à sua aplicação em PDT, um dos casos mais conhecidos (e com maior sucesso) de uso de ftalocianinas reporta a um complexo de alumínio de uma ftalocianina tetrasulfonada na periferia do macrociclo, conhecida como **Photosens®** (figura 8), que já se encontra em testes de fase clínica em câncros de mama, pele, trato gastrointestinal e pulmões.³³ Mais recentemente surgiu o complexo de silício conhecido como **Pc4** (figura 8), que está a ser testado com sucesso na esterilização de sangue e também na erradicação de câncros do cólon, ovários e mama.³⁴

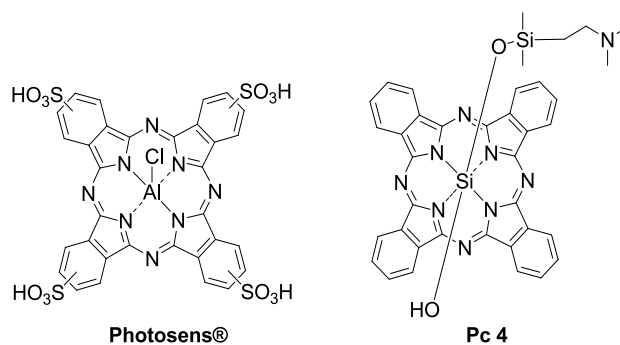


Figura 8. Estrutura de alguns fotossensibilizadores derivados de ftalocianinas usados em terapia fotodinâmica do cancro.

Uma vez que fotossensibilizadores contendo cargas positivas (catiônicos) aumentam a permeabilidade nas membranas externas das bactérias Gram (-), este tipo de ftalocianinas foi também testado para inactivar estas bactérias.³⁵ Como exemplo salientam -se os compostos tetra(*m*-trimetilamonium-tiofenil)ftalocianinato de zinco(II) (**ZnPcTMAF**)³⁶ e tetra(metileno-piridinium)ftalocianinato de zinco(II) (**ZnTPyr**)³⁷ (**figura 9**) que foram descritos na inativação de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*.

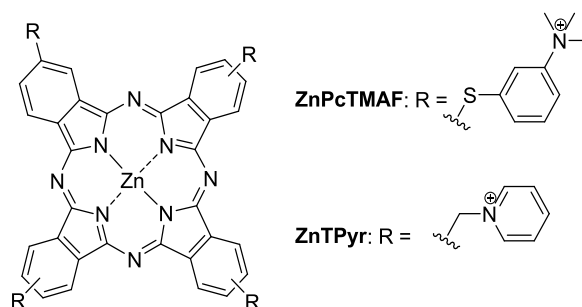


Figura 9. Estrutura de fotossensibilizadores derivados de ftalocianinas usados na inativação de bactérias.

Na secção seguinte apresenta-se uma revisão da literatura mais detalhada sobre a aplicação de ftalocianinas em imagiologia médica por ser este um dos temas de interesse dos compostos desenvolvidos nesta dissertação.

1.3.1 Imagiologia médica

Dentro das aplicações biomédicas das ftalocianinas, uma delas, a imagiologia médica, começa a desempenhar um papel muito relevante nesta área investigação. Este tipo de aplicação recorre a estudos imagiológicos, com os quais é possível entender e compreender a fisiologia e a patologia num organismo vivo de um modo não-invasivo.^{38,39} As principais potencialidades desta aplicação biomédica centram-se no diagnóstico de doenças oncológicas, doenças neurodegenerativas e ainda patologias cardiovasculares, contribuindo para uma deteção precoce, uma melhor coordenação de tratamentos médicos, e mesmo um melhor conhecimento geral da atividade molecular dos organismos vivos.⁴⁰

Na última década têm ocorrido avanços tecnológicos significativos em várias modalidades de imagiologia médica,^{41,42,43} sendo de realçar a imagiologia por radionuclídeos por emissão de positrão (PET),⁴⁴ imagiologia ótica por fluorescência (FI)^{45,46} e a imagiologia por ressonância magnética nuclear (MRI),^{47,48} por integrarem um projeto de colaboração entre o laboratório de Catálise e Química Fina da e o grupo de RMN e ICNAS da Universidade de Coimbra.

Apesar do considerável desenvolvimento de dispositivos médicos de imagem nas últimas décadas, há ainda um crescente interesse na Química da síntese de sondas de imagem, uma vez que ainda existe uma grande necessidade de desenvolvimento de novos biomarcadores/agentes de contraste com maior especificidade e sensibilidade para os tecidos doentes.

Neste contexto, destaca-se o trabalho do grupo de van Lier,⁴⁹ que promoveu a marcação de ftalocianina poli-sulfonada com radionuclídeo ^{64}Cu , usando para isso $^{64}\text{Cu}(\text{OAc})_2$, obtendo dessa forma o composto $^{64}\text{CuPcS}$ para posteriores estudos em PET (**figura 10a**). Por sua vez o grupo de Liu⁵⁰ sintetizou ftalocianinas de zinco contendo substituintes do tipo hidratos de carbono (galactose) ($\text{ZnPc}(\text{gal})_4$, **figura 10b**) que foram avaliadas *in vivo* como potenciais marcadores fluorescentes em ratos nos quais foi implantado um tumor. Vicente⁵¹ também preparou uma ftalocianina de zinco substituída com um anticorpo monoclonal, a $\text{ZnPc}(\text{MAb})$ (**figura 10c**) (MAb, do inglês *monoclonal antibody*), sendo testada *in vitro* no diagnóstico de cancro coloretal humano recorrendo a estudos de imagiologia ótica de fluorescência. Saini⁵² utilizou a ftalocianina poli-sulfonada para complexar manganésio (II) na sua cavidade, obtendo a ftalocianina MnPcS (**figura 10a**), a qual foi avaliada como potencial agente de contraste em MRI para o diagnóstico de tumores em ratos.

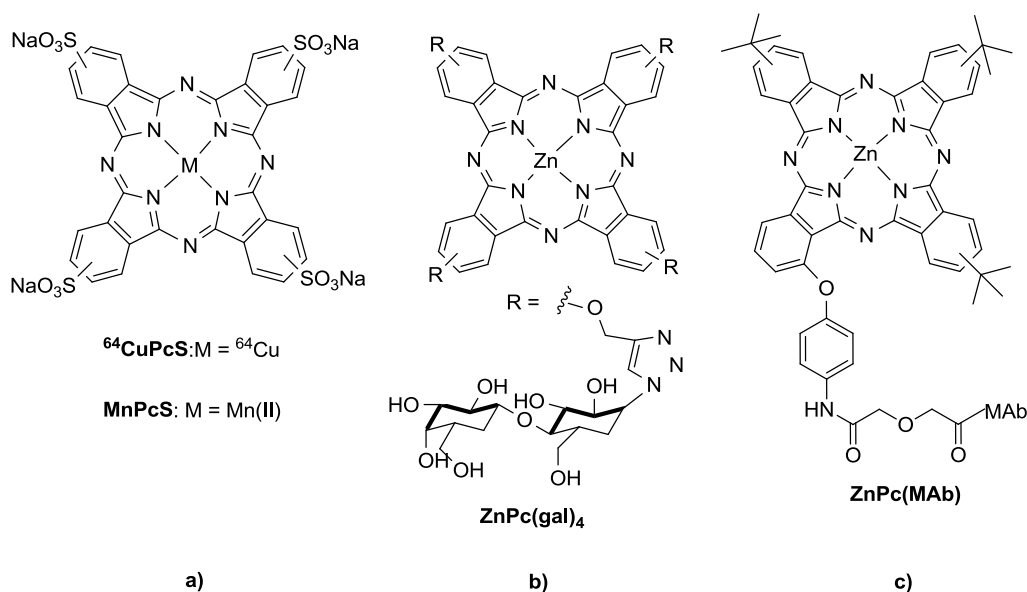


Figura 10. Estrutura de derivados de ftalocianinas usados em imagiologia médica.

Desta forma, o desenvolvimento de processos de síntese e marcação de ftalocianinas, para potencial aplicação como biomarcadores/agentes de contraste em técnicas de diagnóstico tumoral é um dos objetivos fulcrais deste trabalho.

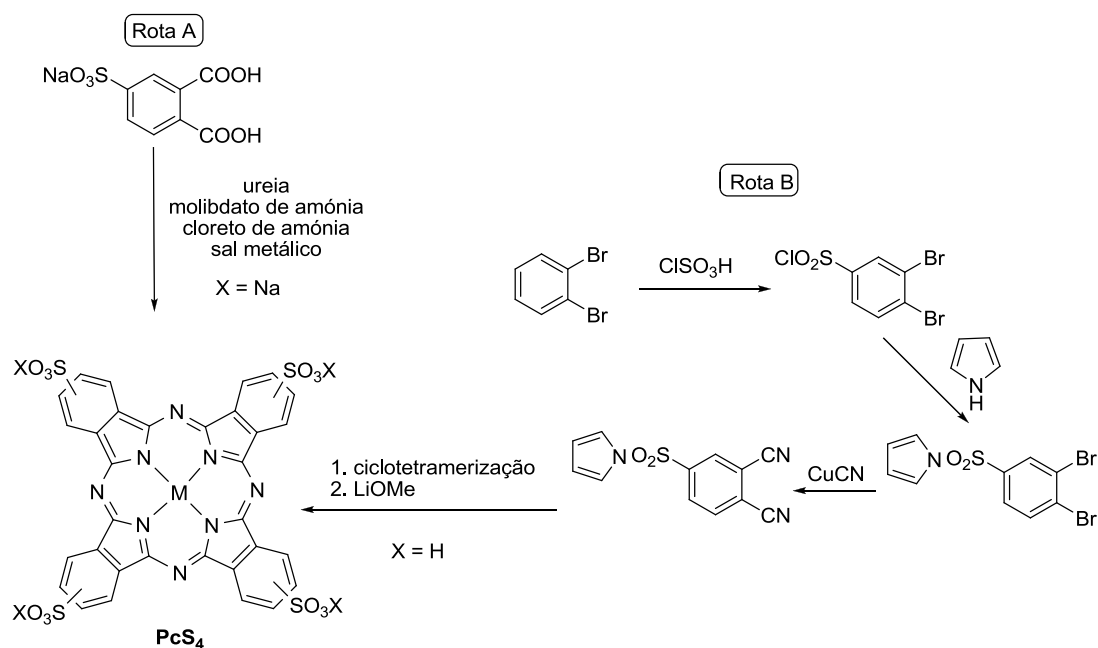
1.3.2 Modelação da anfifilicidade de ftalocianinas

Tendo em conta a importância da modelação das propriedades anfílicas das ftalocianinas, nesta secção apresenta-se de forma detalhada uma revisão da literatura das estratégias que visam a solubilização destas em meios biológicos (ou aquosos), e assim potenciar as suas aplicações medicinais no campo do diagnóstico de cancro com recurso a técnicas de imagiologia médica.

Para modelar a solubilidade das ftalocianinas em água existem normalmente dois tipos de estratégias: i) substituição iónica (aniónica ou catiónica) e ii) substituição com grupos fortemente hidrofílicos, nos quais se incluem os hidratos de carbono (açúcares) e o polietilenoglicol, entre outros.^{30,53,54,55}

Substituintes aniónicos geralmente usados de forma a conferir solubilidade aquosa a ftalocianinas são maioritariamente os grupos sulfonatos e carboxilatos, sejam diretamente acoplados ou ligados por vários tipos de espaçadores.³⁰ Normalmente estas ftalocianinas são bastantes dependentes do valor de pH, visto que as formas conjugadas dos ácidos destes grupos não são necessariamente solúveis em água.

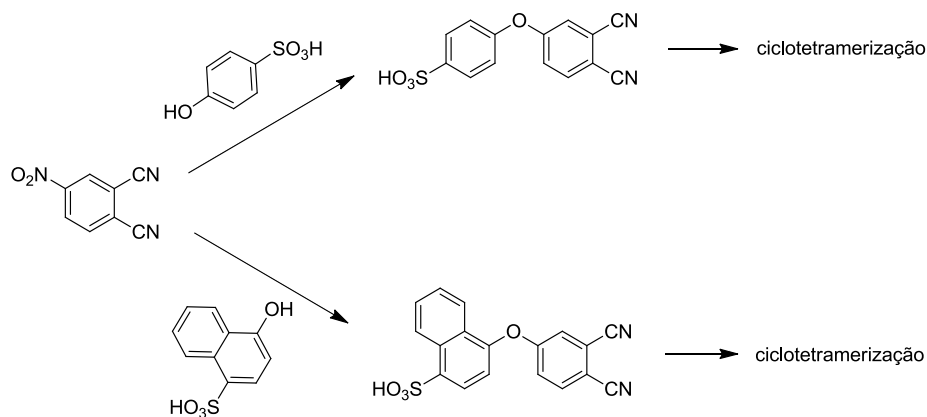
A grande maioria das ftalocianinas aniónicas existentes contém grupos do tipo ácido sulfónico. Apesar das suas sínteses poderem ser efetuadas por sulfonação do macrociclo, esta estratégia é actualmente a menos utilizada, uma vez que promove a formação de uma mistura de compostos com vários graus de substituição. Devido a isso, as ftalocianinas sulfonadas são geralmente formadas a partir de precursores sulfonados, que podem encontrar-se sob a forma de ácido livre ou sal de sódio. A primeira publicação sobre estes compostos surgiu na década de 50, por Baumann⁵⁶ e Fukada.⁵⁷ O método foi posteriormente melhorado por Weber e Busch,⁵⁸ por forma a limitar o aparecimento de impurezas metálicas na formação da ftalocianina **PcS₄** (**Esquema 3**, rota A).



Esquema 3. Rotas sintéticas para a preparação de ftalocianinas tetra-sulfonadas.

Pela maior facilidade de ciclização quando na presença de precursores ftalonitrilo, Leznoff e van Lier⁵⁹ prepararam um sulfonitrilo protegido com pirrol para posterior ciclização formação de **PcS₄** (**Esquema 3**, rota B). Apesar da mais complicada rota de preparação do ftalonitrilo, esta rota revelou-se de extrema utilidade, uma vez que permitiu a preparação desta ftalocianina tetra-sulfonada com bons rendimentos,⁵⁹ devido à aplicação de condições reacionais mais suaves.

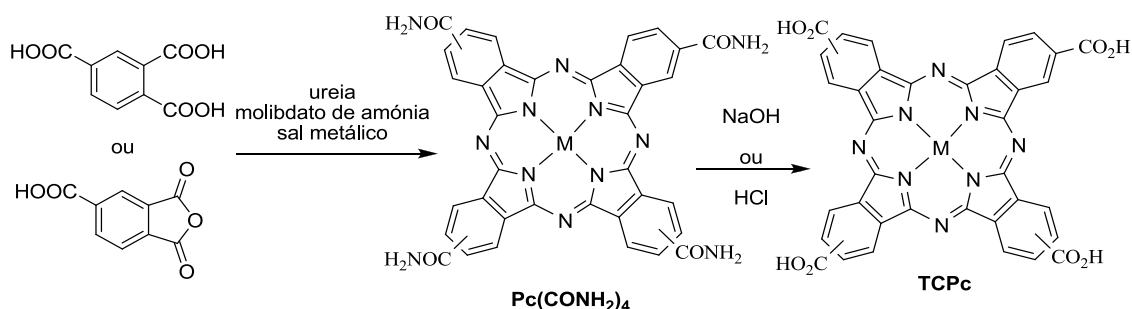
Para além deste método que utiliza ftalonitrilos com grupos sulfonatos diretamente acoplados ao anel, outro método de preparação de ftalocianinas sulfonadas consiste na utilização de ftalonitrilos nos quais o grupo sulfonato está acoplado num grupo aromático. Estes precursores são geralmente preparados por reação de substituição aromática *ipso*-nitro de nitroftalonitrilo com ácido hidróxi-benzenossulfônico⁶⁰ ou por exemplo ácido hidróxi-naftalenossulfônico⁶¹ (**Esquema 4**).



Esquema 4. Preparação de ftalonitrilos mono-sulfonados.

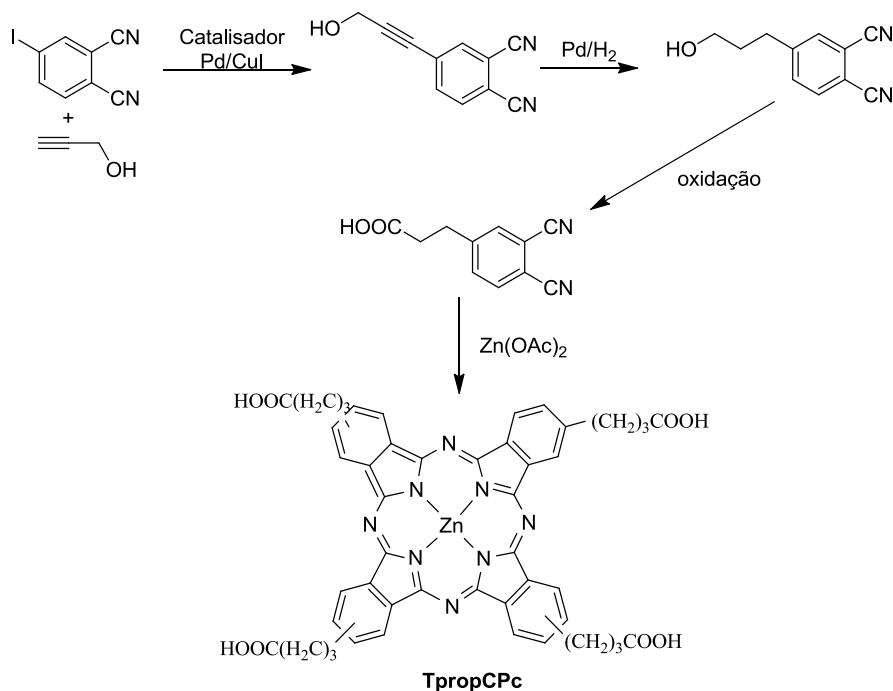
Um outro tipo de ftalocianinas relevante para aplicações biomédicas são as ftalocianinas poli-carboxiladas solúveis em soluções aquosas alcalinas ou, menos frequentemente, em soluções neutras ou ácidas, dependendo do metal utilizado e do padrão de substituição periférica da ftalocianina.⁶² As ftalocianinas carboxiladas podem também ser classificadas como ftalocianinas substituídas diretamente ou com grupos ácidos carboxílicos separados do macrociclo por espaçadores.

As primeiras sínteses de ftalocianinas tetra-carboxiladas (**TCPc**, **Esquema 5**) foram descritas pelos grupos de Achar⁶³ e Shirai,⁶⁴ sendo diretamente inspiradas no método de Weber e Busch,⁵⁸ e sintetizadas a partir de ácido 1,2,4-benzeno-tricarboxílico⁶⁵ ou o anidrido 5-carboxi-ftálico^{62,66,67} na presença de vários sais metálicos (**Esquema 5**). Este método origina derivados tetra-amido ($\text{Pc}(\text{CONH}_2)_4$), cuja hidrólise completa se revelou infrutífera, mesmo após várias tentativas e métodos diferentes, apenas resultando em hidrólise parcial.^{67,68} No entanto, mediante condições extremamente agressivas tanto alcalinas como ácidas foi possível obter as ftalocianinas poli-carboxiladas, apesar de com rendimentos baixos.⁶⁹



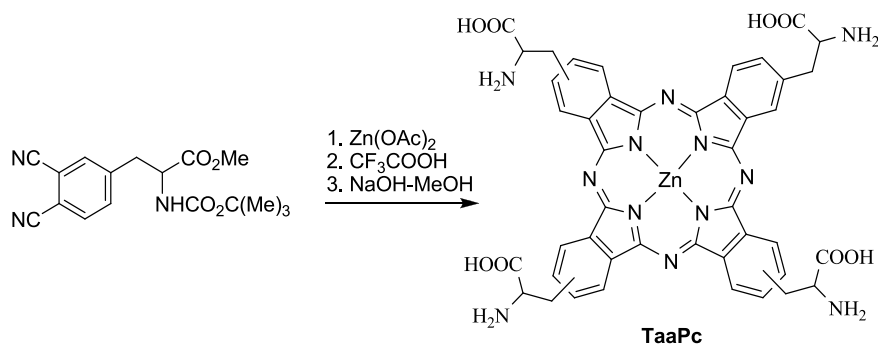
Esquema 5. Síntese de ftalocianina tetra-carboxilada.

Dadas as dificuldades encontradas no isolamento, surgiram métodos alternativos para aceder a ftalocianinas carboxiladas, nomeadamente pela introdução de espaçadores. Por exemplo van Lier e colaboradores⁷⁰ prepararam uma ftalocianina substituída com grupos propionato (**TpropCPc**), obtida em três passos a partir de 4-iodoftalonitrilo e álcool propargílico (**Esquema 6**).



Esquema 6. Síntese de ftalocianina tetra-carboxilada mediante introdução de um espaçador.

Hanack e colaboradores reportaram também a síntese de várias ftalocianinas de zinco solúveis em água,⁷¹ entre as quais uma que possuía grupos aminoácido (**TaaPc**), preparada a partir de um ftalonitrilo que continha o grupo aminoácido protegido (**Esquema 7**).

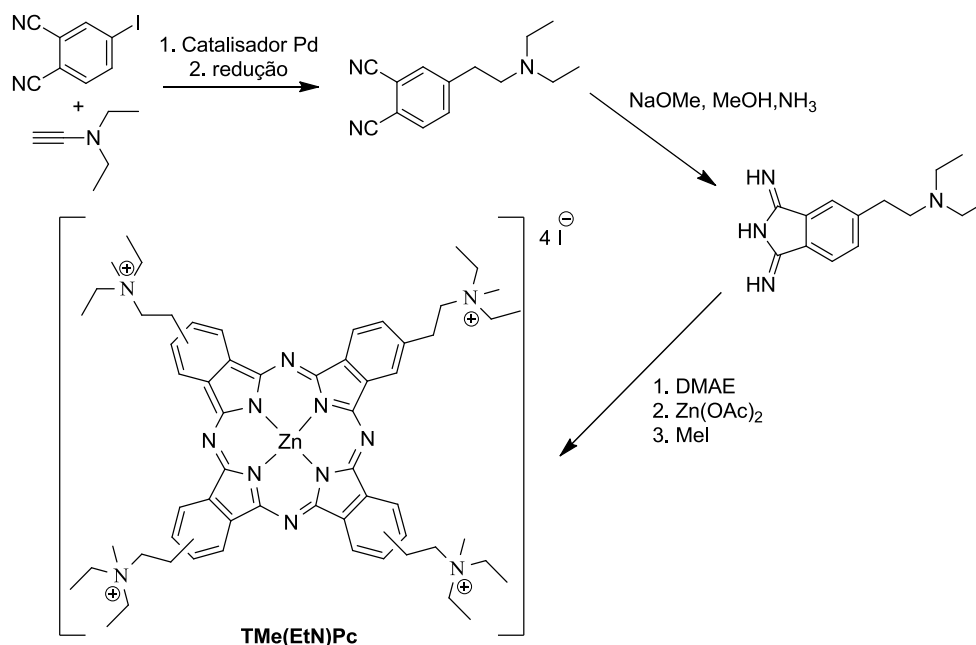


Esquema 7. Síntese de ftalocianina de zinco substituída com grupos derivados de aminoácido.

Uma outra estratégia que visa a solubilização de ftalocianinas em meios aquosos é a cationização dos seus substituintes. Os substituintes ftalocianínicos catiónicos são classicamente obtidos por quaternização de átomos de azoto alifáticos ou aromáticos.³⁰ A quaternização ocorre geralmente no final do processo sintético, já sobre a ftalocianina formada, sendo que esses átomos de azoto estão normalmente presentes sob a forma de aminas (terciárias) ou piridinas.

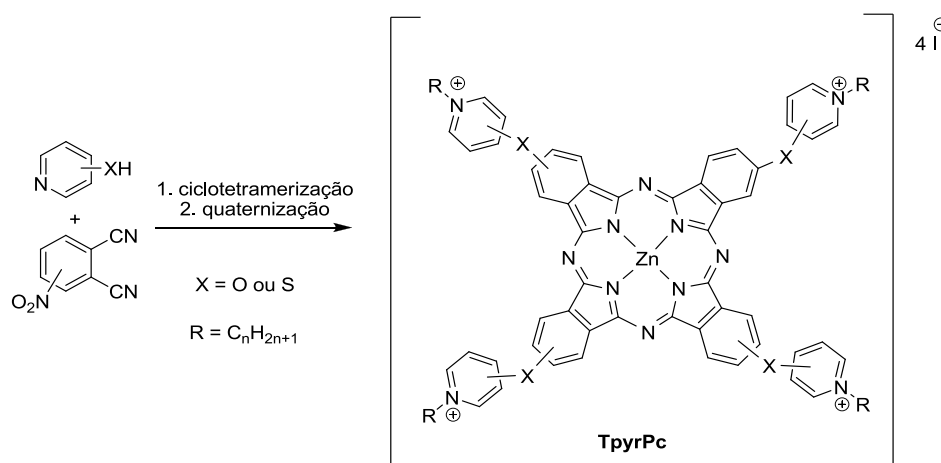
A primeira ftalocianina catiónica sintetizada, contendo grupos amino quaternizados, foi reportada por Leznoff.⁷² Neste caso, 3-*N,N*-dietilaminoprop-1-ino e iodo-ftalonitrilo foram usados

como reagentes de partida, sendo a correspondente ftalocianina catiónica **TMe(EtN)Pc** obtida após ciclotetramerização do ftalonitrilo e subsequente quaternização com iodeto de metilo (**Esquema 8**).



Esquema 8. Síntese da primeira ftalocianina catiónica.

O tipo de ftalocianinas catiónicas mais conhecido são substituídas com grupos piridilo, podendo ser preparadas seguindo uma estratégia de três passos, partindo da funcionalização do nitroftalonitrilo com piridinas funcionalizadas. As piridinas mais utilizadas são a 4-hidroxipiridina,⁷³ 3-hidroxipiridina,⁷⁴ 2-hidroxipiridina,⁷⁵ 2-mercaptopiridina⁷⁶ e 4-hidroximetilpiridina,⁷⁷ sendo que, após ciclotetramerização dos ftalonitrilos correspondentes, as ftalocianinas obtidas são então quaternizadas nos azotos piridínicos, obtendo-se desse modo as ftalocianinas substituídas com grupos piridilo carregados positivamente (**Esquema 10**).



Esquema 9. Estratégia geral para a síntese de ftalocianinas substituídas com grupos piridilo quaternizados.

Um outro tipo de substituição em ftalocianinas para melhorar a solubilização destas em água consiste no acoplamento de substituintes neutros, os quais pelas suas características fortemente hidrofílicas ou pelo número de substituintes na periferia do anel do macrociclo, conferem a solubilidade desejada,³⁰ sendo normalmente sub-divididos em derivados de polietilenoglicol e hidratos de carbono.

Assim, uma estratégia relevante para melhorar a solubilidade de ftalocianinas em meios biológicos consiste na derivatização destes macrociclos com polietilenoglicol (PEG).^{78,80,82,79} Neste contexto, têm surgido na literatura várias publicações usando estes substituintes, com variações no número e/ou tamanho da cadeia de PEG (**figura 11**).^{80,81,82,83}

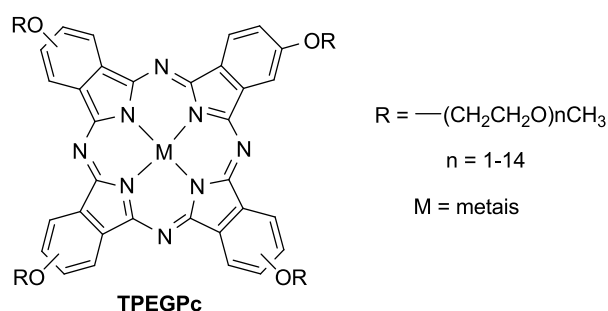


Figura 11. Ftalocianinas contendo grupos polietilenoglicol (PEG).

Desde a publicação na literatura em 1989 do primeiro complexo de ftalocianina contendo quatro grupos hexose na sua periferia (**ThexosePc**, **figura 12**),⁸⁴ apenas alguns exemplos surgiram até 2006, altura em que houve um ressurgimento da utilização deste padrão de substituição, coincidente com a publicação da primeira ftalocianina substituída com grupos glucose, ligados pelo carbono anomérico do hidrato de carbono, por Calvete e Hanack^{85,86,87} (**Esquema 10**).

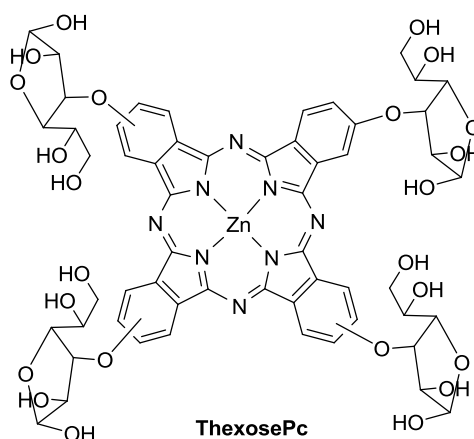
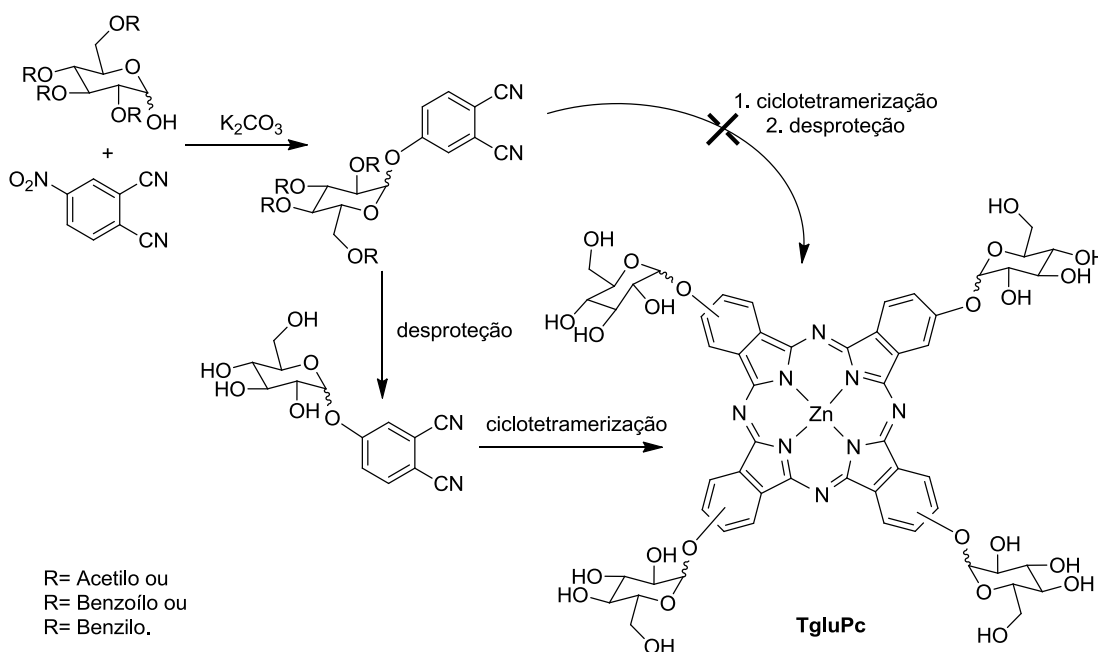


Figura 12. Ftalocianina substituída com hidratos de carbono.

Neste primeiro exemplo de síntese de ftalonitrilos glicosídicos, a estratégia de síntese da correspondente ftalocianina baseou-se na ciclometamerização do ftalonitrilo contendo grupos protetores (acetilo, benzoílo ou benzilo). A posterior remoção destes grupos revelou-se inadequada, uma vez que, não se conseguiu obter a ftalocianina **TgluPc** (**Esquema 10**).⁸⁵ O método foi então modificado: foram removidos os grupos protetores nos ftalonitrilo glicosilados e ciclometamerizados, a 100°C, usando uma mistura 2:1 de DMAE:butan-1-ol, respetivamente, como solvente.



Esquema 10. Ftalocianinas anericamente substituídas com grupos glucose.

Em jeito de remate, e analisando todos os exemplos supra referidos, existe uma enorme variedade de estratégias de modelação da anfifilicidade destes macrociclos tetrapirrólicos visando a

sua solubilidade em meios aquosos e/ou biológicos. Para além disso, é bem conhecida a facilidade deste tipo de compostos complexarem com uma grande variedade de metais, sendo que já existem alguns exemplos na literatura de complexos metálicos de ftalocianinas usados no tratamento e diagnóstico de patologias, ao longo das últimas décadas. Desta forma, e atendendo às inúmeras vantagens das ftalocianinas que foram abordadas ao longo deste capítulo, pode afirmar-se que a aplicação de ftalocianinas em imagiologia ótica de fluorescência e/ou em imagiologia de ressonância magnética nuclear surge com grandes potencialidades. Nesta dissertação pretende-se sintetizar novas ftalocianinas biocompatíveis com propriedades anfífilas e de vectorização tumoral desejáveis para as aplicações medicinais pretendidas.

Assim, dada a importância da otimização estrutural de potenciais biomarcadores/agentes de contraste para diagnóstico de tumores recorrendo a técnicas de imagiologia médica, foram sintetizados conjugados de ftalocianinas e seus complexos metálicos com diferentes resíduos de aminoácidos e derivados da colina, estando os resultados descritos nos Capítulos 2, 3 e 4 desta dissertação.

1.4 Referências

-
- [1] A. Braun, J. Tcherniac, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1907**, *40*, 2709.
- [2] H. de Diesbach, E. von der Weid, *Helv. Chim. Acta*, **1927**, *10*, 886.
- [3] A.G. Dandridge, H. A. E. Drescher, J. Thomas, Patent BP 322169, **1929**.
- [4] R. P. Linstead, *Br. Ass. Adv. Sci. Rep.*, **1933**, 465.
- [5] R. P. Linstead, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1016.
- [6] (a) G. T. Byrne, R. P. Linstead, A. R. Lowe, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1017; (b) R. P. Linstead, A. R. Lowe, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1022; (c) C. E. Dent, R. P. Linstead, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1027; (d) C. E. Dent, R. P. Linstead, R. Lowe, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1033; (e) R. P. Linstead, C. E. Dent, *Nature*, **1935**, *135*, 506; (f) J. S. Anderson, E. F. Bradbrook, A. H. Cook, R. P. Linstead, *J. Chem. Soc.*, **1938**, 1151; (g) R. P. Linstead, *Ber. Dtsch. Chem. Ges. A.*, **1939**, *72*, 93.
- [7] M. J. F. Calvete; “*Binuclear Phthalocyanines: Synthesis, Characterisation and Optical Limiting Properties*”, Tese de Doutorado, Eberhard Karls Universität Tübingen, Germany, **2004**.
- [8] (a) L. L. Li, E. W. G. Diau, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 291; (b) G. Bottari, G. de la Torre, D. M. Guldi, T. Torres, *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 6768; (c) A. M. V. M. Pereira, A. R. M. Soares, M. J. F. Calvete, G. de la Torre, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2009**, *13*, 419.
- [9] (a) M. G. Walter, A. B. Rudine, C. C. Wamser, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2010**, *14*, 759; (b) G. de la Torre, P. Vázquez, F. Agulló-López, T. Torres, *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 3723.
- [10] (a) M. J. F. Calvete, *Int. Rev. Phys. Chem.*, **2012**, *31*, 319; (b) M. Calvete, G. Y. Yang, M. Hanack, *Synthetic Met.*, **2004**, *141*, 231.
- [11] (a) A. B. Sorokin, *Chem. Rev.*, **2013**, *113*, 8152; (b) M. Silva, M. J. F. Calvete, M. M. Pereira, H. D. Burrows, *RSC Adv.*, **2013**, *3*, 22774.
- [12] (a) G. Jori, *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **2006**, *25*, 505; (b) G. Jori, O. Coppellotti, *Anti-Infect. Agents Med. Chem.*, **2007**, *6*, 119.
- [13] (a) L. B. Josefsen, R. W. Boyle, *Theranostics*, **2012**, *2*, 916; (b) N. Sekkat, H. Bergh, T. Nyokong, N. Lange, *Molecules*, **2012**, *17*, 98.
- [14] (a) M. Ethirajan, Y. Chen, P. Joshi, R. K. Pandey, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 340; (b) M. M. Pereira, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, C. J. P. Monteiro, WO Patent 053707, **2006**; (c) F. Giuntini, R. Boyle, M. Sibrian-Vazquez, M. G. H. Vicente, in *The Handbook of Porphyrin Science*, G. Ferreira (Ed.), World Scientific Publishers, Singapore, Vol. 27, Cap. 135, pp 303-416, **2013**.
- [15] S. G. Makarov, O. N. Suvorova, D. Wöhrle, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2011**, *15*, 791.

-
- [16] Y.F. Wang, K. Wu, J. Kroger, R. Berndt, *AIP Advances*, **2012**, 2, 041402.
- [17] D. Dini, M. Hanack, in *The Porphyrin Handbook*, K. M. Kadish, K. M. Smith e R. Guilard (Eds.), Academic Press, NovaIorque-E. U. A., Vol. 17, Cap. 107, pp 1-36, **2003**.
- [18] (a) M. Gouterman, G. H. Wagnière, L. C. Synder, *J. Mol. Spectrosc.*, **1963**, 11, 108; (b) C. Weiss, H. Kobayashi, M. Gouterman, *J. Mol. Spectrosc.*, **1965**, 16, 415; (c) A. J. McHugh, M. Gouterman, *Theor. Chim. Acta*, **1972**, 24, 346.
- [19] Y. Rio, M. S. Rodríguez-Morgade, T. Torres, *Org. Biomol. Chem.*, **2008**, 6, 1877.
- [20] C. Rager, G. Schmid, M. Hanack, *Chem Eur. J.*, **1999**, 5, 280.
- [21] W. M. Sharman, J. E. van Lier, in *The Porphyrin Handbook*, K. M. Kadish, K. M. Smith e R. Guilard (Eds.), Academic Press, Nova Iorque-E. U. A., Vol. 15, Cap. 97, pp 1-60, **2003**.
- [22] N. B. McKeown, in *The Porphyrin Handbook*, , K. M. Kadish, K. M. Smith e R. Guilard (Eds.), Academic Press, Nova Iorque-E. U. A., Vol. 15, Cap. 98, pp 61-124, **2003**.
- [23] V. N. Nemykin, E. A. Lukyanets, *Arkivoc*, **2010**, 1, 138.
- [24] E. A. Lukyanets, V. N. Nemykin, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2010**, 14, 1.
- [25] (a) T. J. Hurley, M. A. Robinson, S. I. Trotz, *Inorg. Chem.*, **1967**, 6, 389; (b) S. W. Oliver, T. D. Smith, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans*, **1987**, 2, 1579; (c) S. Gaspard, P. Maillard, *Tetrahedron*, **1987**, 43, 1083; (d) C. D. Molek, J. A. Halfen, J. C. Loe, E. W. McGaff, *Chem Commun.*, **2001**, 2644.
- [26] T. Nyokong, *Pure Appl. Chem.*, **2011**, 83, 1763.
- [27] M. Hanack, G. Crucius, M. J. F. Calvete, T. Ziegler, *Curr. Org. Synth.*, **2014**, 11, 59.
- [28] (a) T. Nyokong, *Coord. Chem. Rev.*, **2007**, 251, 1707; (b) I. J. MacDonalds, T. J. Dougherty, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2001**, 5, 105; (c) M. C. DeRosa, R. J. Crutchley, *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 233-234, 351.
- [29] F. Ginevra, S. Biffanti, A. Pagnan, R. Biolo, E. Reddi, G. Jori, *Cancer Letters*, **1990**, 49, 59.
- [30] H. Kolarova, P. Nevrelava, R. Bajgar, D. Jirova, K. Kejlova, M. Strnad, *Toxicology in Vitro*, **2007**, 21, 249.
- [31] G. Jori, E. Reddi, *International Journal of Biochemistry*, **1993**, 25, 1369.
- [32] L. B. Josefsen, R. W. Boyle, *Theranostics*, **2012**, 2, 916.
- [33] (a) A. S. Sobolev, E. F. Stranadko, In *International Photodynamics. A PDT Forum.*, S. Brown (Ed.), West Sussex, UK: Eurocommunication Publications, **1997**, 1, 2; (b) V. V. Sokolov, V. I. Chissov, E. V. Filonenko, R. I. Yakubovskaya, G. M. Sukhin, M. G. Galpern, G. N. Vorozhtsov, A. V. Gulin, M. B. Zhitkova, N. N. Zharkova, D. N. Kozlov, V. V. Smirnov, In *Photodynamic Therapy of Cancer II. Proceedings of the photo-optical*

-
- instrumentation engineers*, G. Jori, J. Moan, W. M. Star, (Eds.), Washington: SPIE, Bellingham, **1995**, 2325, 364; (c) N. N. Zharkova, D. N. Kozlov, V. V. Smirnov, V. V. Sokolov, V. I. Chissov, E. V. Filonenko, G. M. Sukhin, M. G. Galpern, G. N. Vorozhtsov, In *Photodynamic Therapy of Cancer II. Proceedings of the photo-optical instrumentation engineers*. G. Jori, J. Moan, W. M. Star, (Eds.), Washington: SPIE, Bellingham, **1995**, 2325, 400.
- [34] (a) C. M. Whitacre, D. K. Feyes, T. Satoh, J. Grossmann, J. W. Mulvihill, H. Mukhtar, N. L. Oleinick, *Clin. Cancer Res.*, **2000**, *6*, 2021; (b) P. C. Lo, S. C. H. Leung, E. Y. M. Chan, W. P. Fong, W. H. Ko, D.N.P. Ng, *Photodiagnosis Photodynamic Ther.*, **2007**, *4*, 117; (c) V. C. Colussi, D. K. Feyes, J. W. Mulvihill, Y.-S. Li, M. E. Kenney, C. A. Elmetts, N. L. Oleinick, H. Mukhtar, *Photochem. Photobiol.*, **1999**, *69*, 236; (d) C. M. Whitacre, T. H. Satoh, L. Y. Xue, N. H. Gordon, N. L. Oleinick, *Cancer Letts.*, **2002**, *179*, 43; (e) J. E. George, Y. Ahmad, D. Varghai, X. Li, J. Berlin, D. Jackowe, M. Jungermann, M. S. Wolfe, L. Lilge, A. Totonchi, R. L. Morris, A. Peterson, W. D. Lust, M. E. Kenney, C. L. Hoppel, J. Sun, N. L. Oleinick, D. Dean, *Lasers Surg. Med.*, **2005**, *36*, 383.
- [35] Z. Malik, H. Ladan, Y. Nitzan, *J. Photochem. Photobiol. B.*, **1992**, *14*, 262.
- [36] (a) M. Soncin, C. Fabris, A. Buseti, D. Dei, D. Nistri, G. Roncucci, G. Jori, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2002**, *1*, 815; (b) F. Giuntini, D. Nistri, G. Chiti, L. Fantetti, G. Jori, G. Roncucci, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 515.
- [37] (a) A. Minnock, D. I. Vernon, J. Schofield, J. Griffiths, J. H. Parish, S. B. Brown, *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **2000**, *44*, 522; (b) A. Minnock, D. I. Vernon, J. Schofield, J. Griffiths, J. H. Parish, S. B. Brown, *J. Photochem. Photobiol. B.*; **1996**, *32*, 159.
- [38] V. Ntziachristos, J. Ripoll, L. H. V. Wang, R. Weissleder, *Nat. Biotech.*, **2005**, *23*, 313.
- [39] V. Ntziachristos, D. Razansky, *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 2783.
- [40] C. J. R. Simal, *Rev. Med. Minas Gerais*, **2011**, *21*, 289.
- [41] Visualizing Chemistry: The Progress and Promise of Advanced Chemical Imaging, National Academy Press, <http://www.nap.edu/catalog/11663.html>, **2006** (acedido em 17 de Maio de 2015).
- [42] M. J. F. Calvete, A. V. C. Simões, C. A. Henriques, S. M. A. Pinto, M. M. Pereira, *Curr. Org. Synth.*, **2014**, *11*, 127.
- [43] Molecular Imaging Probes for Cancer Research, X. Chen (Ed.), World Scientific Publishing, Singapore, **2012**.
- [44] M. P. S. Dunphy, *J. Nucl. Med.*, **2009**, *50*, 106S.
- [45] H. Kobayashi, M. Ogawa, R. Alford, P. L. Choyke, Y. Urano, *Chem. Rev.*, **2010**, *110*, 2620.

-
- [46] G. S. Filonov, A. Krumholz, J. Xia, J. Yao, L. V. Wang, V. V. Verkhusha, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2012**, *51*, 1448.
- [47] C. F. G. C. Geraldès, S. Laurent, *Contrast Media Mol. Imaging*, **2009**, *4*, 1.
- [48] L. Frullano, T. J. Meade, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2007**, *12*, 939.
- [49] E. R. Ranyuk, N. Cauchon, H. Ali, R. Lecomte, B. Guérin, J. E. van Lier, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 7470.
- [50] F. Lv, X. He, L. Wu, T. Liu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 1878.
- [51] I. Sehgal, H. Li, B. Ongarora, D. Devillier, M. G. H. Vicente, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2013**, *17*, 150.
- [52] S. K. Saini, A. Jena, J. Dey, A. K. Sharma, R. Singh, *Magn. Reson. Imaging*, **1995**, *13*, 985.
- [53] M. Hanack, G. Crucius, M. J. F. Calvete, T. Ziegler, *Curr. Org. Synth.*, **2014**, *11*, 59.
- [54] S. Tuncel, F. Dumoulin, J. Gailer, M. Sooriyaarachchi, D. Atilla, M. Durmus, D. Bouchu, G. Savoie, R.W. Boyle, V. Ahsen, *Dalton Trans.*, **2011**, *40*, 4067.
- [55] F. Lv, B. Cao, Y. Cui, T. Liu, *Molecules*, **2012**, *17*, 6348.
- [56] F. Baumann, U.S. Patent 2613128, **1952**.
- [57] N. Fukada, *Nippon Kagaku Zasshi*, **1954**, *76*, 1141.
- [58] J. H. Weber, D. H. Busch, *Inorg. Chem.*, **1965**, *4*, 469.
- [59] Z. Li, J. E. van Lier, C. C. Leznoff, *Can. J. Chem.*, **1999**, *77*, 138.
- [60] (a) V. M. Negrimovsky, V. M. Derkacheva, E. A. Lukyanets, A. Weitemeyer, D. Wöhrle, G. Schneider, *Phosphor. Sulfur. Silicon Relat. Elem.*, **1995**, *104*, 161; (b) H. Kliesch, A. Weitemeyer, S. Müller, D. Wöhrle, *Liebigs Ann.*, **1995**, 1269.
- [61] S. Arslan, I. Yilmaz, *Polyhedron*, **2007**, *26*, 2387.
- [62] M. G. Lagorio, L. E. Dicelio, E. A. San Roman, S. E. Braslavsky, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **1989**, *3*, 615.
- [63] B. N. Achar, G. M. Fohlen, J. A. Parker, *J. Polym. Sci.*, **1983**, *21*, 589.
- [64] H. Shirai, A. Maruyama, K. Kobayashi, N. Hojo, K. Urushido, *Makromol. Chem.*, **1980**, *181*, 575.
- [65] G. P. Shaposhnikov, V. E. Maizlish, V. P. Kulinich, *Russ. J. Gen. Chem.*, **2005**, *75*, 1480.
- [66] (a) R. M. Negri, A. Zalts, E. A. San Roman, P. F. Aramendia, S. Braslavsky, *Photochem. Photobiol.*, **1991**, *53*, 317; (b) J. L. Bourdelande, M. Karzazi, L. E. Dicelio, M. I. Litter, G. Marqués-Tura, E. San Roman, V. Vinent, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **1997**, *108*, 273.
- [67] M. A. Daraio, P. F. Aramendia, E. A. San Roman, S. Braslavsky, *Photochem. Photobiol.*, **1991**, *54*, 367.
- [68] J. Griffiths, J. Schofield, M. Wainwright, S. B. Brown, *Dyes Pigments*, **1997**, *33*, 65.

- [69] (a) D. Wöhrle, T. Buck, G. Schneider, G. Schulz-Ekloff, H. Fischer, *J. Inorg. Metallorg. Polym.*, **1991**, *1*, 115; (b) X. Song, Y. She, H. Ji, Y. Zhang, *Org. Proc. Res. Dev.*, **2005**, *9*, 297.
- [70] R. W. Boyle, J. E. van Lier, *Synlett*, **1993**, *5*, 351.
- [71] U. D. Rechsler, M. Pfaff, M. Hanack, *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, *12*, 3441.
- [72] C. C. Leznoff, S. Vigh, P. I. Svirskaya, S. Greenberg, D. M. Drew, E. Ben-Hur, I. Rosenthal, *Photochem. Photobiol.*, **1989**, *49*, 279.
- [73] (a) S. Banfi, E. Caruso, L. Buccafurni, R. Ravizza, M. Gariboldi, E. Monti, *J. Organomet. Chem.*, **2007**, *692*, 1269, (b) I. Scalise, E. N. Durantini, *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, *13*, 3037; (c) M. B. Spesia, D. A. Caminos, P. Pons, E. N. Durantini, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2009**, *6*, 52.
- [74] (a) S. Gaspard, T. T. Thi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1989**, 383; (b) M. Durmus, T. Nyokong, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2007**, *6*, 659; (c) L. Lapok, G. Schnurpfeil, R. Gerdes, S. M. Gorun, O. Suvorova, G. S. Kudryavtseva, D. Wöhrle, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2009**, *13*, 346.
- [75] N. Masilela, T. Nyokong, *Dyes Pigments*, **2010**, *84*, 242.
- [76] (a) M. Durmus, V. Ahsen, *J. Inorg. Biochem.*, **2010**, *104*, 297; (b) N. Saydan, M. Durmus, M. G. Dizge, H. Yaman, A. G. Gürek, E. Antunes, T. Nyokong, V. Ahsen, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2009**, *13*, 681.
- [77] H. R. P. Karaoglu, A. Gül, M. B. Koçak, *Dyes Pigments*, **2008**, *76*, 231.
- [78] (a) A. Safavy, K. P. Raisch, S. Mantena, L. L. Sanford, S. W. Sham, N. R. Krishna, J. A. Bonner, *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 6284; (b) C. Gentilini, F. Evangelista, P. Rudolf, P. Franchi, M. Lucarini, L. Pasquato, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 15678.
- [79] (a) C. Piechocki, J. Simon, *Nouv. J. Chim.*, **1985**, *3*, 159; (b) T. Toupance, V. Ahsen, J. Simon, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 5352; (c) G. J. Clarkson, N. B. McKeown, K. E. Treacher, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1995**, *1*, 1817; (d) M. Karabork, S. Serin, *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, **2002**, *32*, 1635; (e) D. Atilla, N. Saydan, M. Durmus, A. G. Gürek, T. Khan, A. Rueck, H. Walt, T. Nyokong, V. Ahsen, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2007**, *186*, 298.
- [80] J. Vacus, J. Simon, *Adv. Mater.*, **1995**, *7*, 797.
- [81] D. D. Dominguez, A. W. Snow, J. S. Shirk, R. G. S. Pong, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **2001**, *5*, 582; (b) J. Simon, P. Bassoul, in: *Phthalocyanines-Properties and Applications*, C. C. Leznoff, A. B. P. Lever (Eds.), vol. 2, p. 223, VCH, Nova Iorque, **1992**.
- [82] N. B. McKeown, J. Painter, *J. Mater. Chem.*, **1994**, *4*, 1153.

-
- [83] (a) S. Dabak, V. Ahsen, F. Heinemann, P. Zugenmaier, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2000**, 348, 111; (b) M. Durmus, M. M. Ayhan, A. G. Gürek, V. Ahsen, *Dyes Pigments*, **2008**, 77, 570.
- [84] P. Maillard, J. L. Guerquin-Kern, M. Momenteau, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 9125.
- [85] X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack, T. Ziegler, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 3283.
- [86] X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack, T. Ziegler, *Carbohydr. Res.*, **2007**, 342, 440.
- [87] X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack, T. Ziegler, *Synthesis*, **2007**, 2186.

Capítulo 2

Síntese e modelação estrutural de ftalonitrilos

Se por um lado a modelação das propriedades anfílicas das ftalocianinas no diagnóstico oncológico é fundamental para a sua solubilidade em meios biológicos e para a sua difusão através das membranas celulares; por outro lado a seletividade e especificidade destas para células cancerígenas é também crucial para melhorar a eficácia do diagnóstico. Desta forma, torna-se determinante desenvolver estratégias que suportem sistemas de transporte específico das ftalocianinas até ao tecido-alvo. Uma importante estratégia visa a ligação destes macrociclos tetrapirrólicos a moléculas de interesse biológico, como por exemplo a aminoácidos,¹ a derivados da colina,² a anticorpos,³ a ácido fólico,⁴ a hidratos de carbono^{5,6} ou a polímeros sintéticos biocompatíveis, como o polietilenoglicol.⁷

As células tumorais reprogramam o seu metabolismo energético de forma a sustentar as elevadas taxas proliferativas, o que implica um maior aporte e consumo de nutrientes por estas. Neste contexto, é de realçar os aminoácidos e a colina, que assumem um papel crucial, na medida em que são nutrientes essenciais à sobrevivência e à proliferação dos tumores.^{8,9,10,11,12}

Como referido no Capítulo 1, uma das formas mais eficazes de modular as propriedades físico-químicas e a biocompatibilidade das ftalocianinas consiste na modelação estrutural prévia dos seus precursores de síntese (ftalonitrilos). Partindo deste pressuposto, o trabalho apresentado neste capítulo descreve as rotas sintéticas utilizadas para preparar ftalonitrilos substituídos com grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo (precursor da colina), que são grupos contendo uma amina quaternizável, e com vários grupos carboxamida derivados de aminoácidos (**figura 2.1**). Para além disso, a funcionalização de ftalonitrilos com o agente quelante biocompatível DO₃A-NH₂- α poderá apresentar *à posteriori* resultados bastante promissores dado o crescente interesse pela preparação destes conjugados como agentes bimodais em técnicas de imagiologia médica.

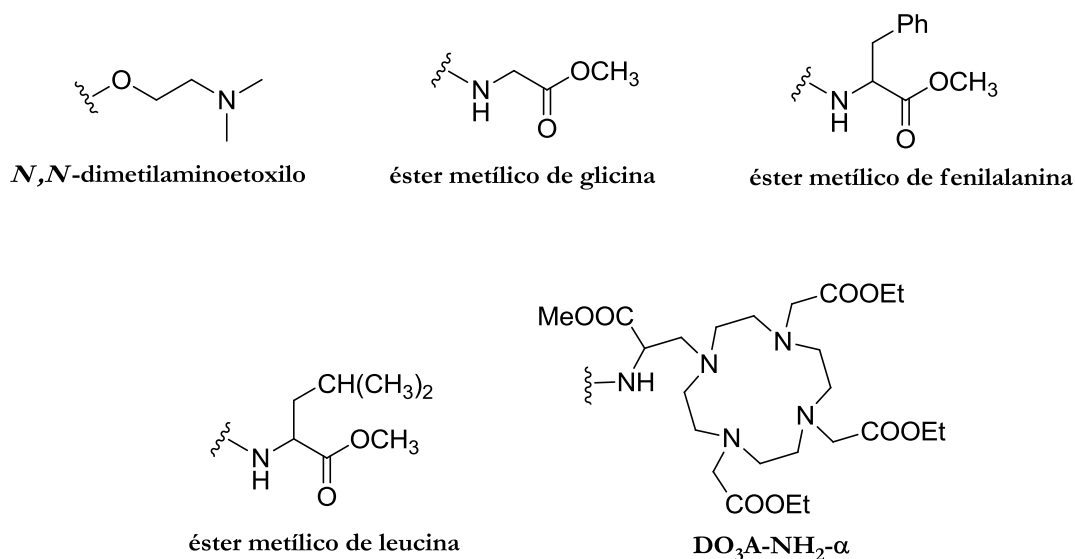


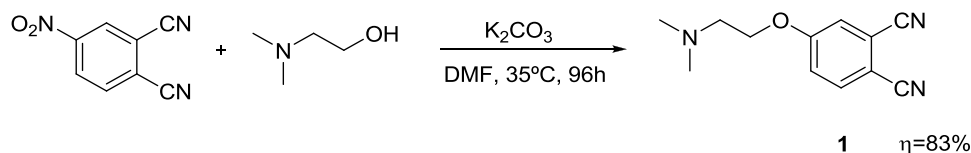
Figura 2.1. Grupos substituintes nos ftalonitrilos usados neste trabalho.

Estas rotas sintéticas tiveram por base o mesmo reagente de partida – o 4-nitroftalonitrilo – que é um dos precursores mais versáteis para a preparação de ftalocianinas simétricas.¹³ O 4-nitroftalonitrilo para além de ser suscetível a ataques por espécies nucleofílicas como alcóois e aminas, pode ser sujeito ainda a reações de transformação do grupo nitro de forma a obter grupos funcionais adequados para posterior derivatização.¹³

2.1 Preparação de ftalonitrilos substituídos por reação de substituição nucleofílica aromática

Tendo em vista a preparação de ftalocianinas tetrassubstituídas contendo grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo em posições periféricas, iniciou-se este trabalho com a síntese dos respetivos ftalonitrilos monossubstituídos.

O ftalonitrilo sintetizado encontra-se representado no **Esquema 2.1**. O composto inicial 4-nitroftalonitrilo, pode sofrer ataques por parte de variadas espécies nucleofílicas, nomeadamente a substituição *ipso*, que envolve o ataque direto da espécie nucleofílica ao carbono onde está localizado o grupo nitro, originando o ftalonitrilo substituído na posição 4. Desta forma, o 4-nitroftalonitrilo é convertido no composto **1**, por reação com o nucleófilo *N,N*-dimetilaminoetanol (DMAE), usando um excesso de carbonato de potássio como base, em DMF como solvente, à temperatura de 35°C.



Esquema 2.1. Síntese do 4-(2-aminoetoxi)ftalonitrilo **1**.

Apesar de no TLC ainda se observar uma pequena quantidade de reagente de partida, após 96 horas, decidimos terminar o processo, uma vez que, já não se observava nenhuma evolução conducente ao aumento da formação do produto **1**. Após o arrefecimento da mistura reacional até à temperatura ambiente, procedeu-se à sua lavagem com água, extração com diclorometano, passagem da fase orgânica por sulfato de sódio anidro e à evaporação do solvente a pressão reduzida. O resíduo foi retomado em diclorometano e aplicado numa coluna de sílica gel para se proceder à purificação do resíduo obtido, usando inicialmente diclorometano como eluente, sendo recolhida uma primeira fração identificada como sendo o composto de partida. De seguida, foi recolhida uma segunda fração identificada como o produto **1**, usando como eluente uma mistura de diclorometano/metanol (20:2). Assim, após separação cromatográfica e evaporação do solvente obteve-se o ftalonitrilo **1**, com um rendimento de 83%, cuja caracterização espectroscópica se encontra na secção experimental, Capítulo 5.

Atendendo a que a otimização de parâmetros reacionais é um objetivo importante no desenvolvimento de uma estratégia de síntese orgânica, foram efetuados estudos de otimização da reação da síntese do 4-(2-aminoetoxi)ftalonitrilo **1**. Assim, numa primeira tentativa, utilizou-se a irradiação de micro-ondas, tentando manter-se a reação a uma temperatura inferior a 40°C, devido ao meio básico no qual a reação é efetuada, pois um aumento da temperatura poderia provocar a dimerização do ftalonitrilo (ver ponto **1.2** do Capítulo 1, relativo ao mecanismo de formação de ftalocianinas), concomitante com degradação parcial do produto. Uma vez que o aparelho de micro-ondas CEM® Discovery disponível no laboratório não permite fazer um arrefecimento prolongado, dessa forma mantendo a temperatura abaixo dos 40°C, realizou-se a reação durante apenas cinco minutos, findos os quais se observou que o reagente de partida 4-nitroftalonitrilo não havia sido totalmente consumido, para além de se observarem várias manchas no TLC efetuado, pelo que se concluiu que esta não era a metodologia mais adequada para a preparação deste tipo de ftalonitrilos substituídos.

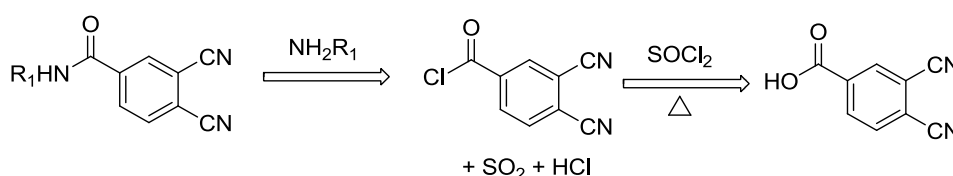
Numa segunda abordagem, recorreu-se ao uso de ultrassons, efetuando a reação à temperatura ambiente. Este método permitiu uma significativa diminuição do tempo de reação (aproximadamente de 96 horas para 6 horas), sendo que os rendimentos obtidos com o processo ultrassónico foram da mesma ordem de grandeza da do aquecimento por processo convencional (cerca de 85%). Contudo, é de salientar a economia de tempo e energia recorrendo a esta

metodologia, pelo que consideramos ser esta a melhor forma de preparar este tipo de ftalonitrilos substituídos.

2.2 Preparação de ftalonitrilos substituídos por reação de aminocarbonilação

Uma das maneiras mais eficientes de conjugação de moléculas com relevância biológica a moléculas orgânicas é feita através de ligações amida, por uma questão de conveniência sintética, existindo uma variedade de métodos sintéticos para a formação destas ligações.¹⁴

Destas metodologias, destaca-se o método de síntese clássica, que envolve a utilização de moléculas contendo substituintes do tipo ácido carboxílico, posteriormente transformadas em cloretos de ácido por reação com agentes desidratantes, nos quais se inclui o cloreto de tionilo, sendo estes então convertidos em carboxamidas após acoplamento com as correspondentes aminas, como representado no **Esquema 2.2**.¹⁵



Esquema 2.2. Representação retro-sintética de uma síntese clássica de ftalonitrilos substituídos com grupos carboxamida.

No entanto, esta metodologia apresenta vários inconvenientes, tais como a relativa indisponibilidade comercial de ácidos carboxílicos devidamente funcionalizados, bem como a sensibilidade dos grupos ciano à presença de ácidos fortes, gerados pela utilização de cloreto de tionilo, podendo induzir a sua hidrólise. Por outro lado, este tipo de reação recorre ao uso de agentes extremamente tóxicos e poluentes, devendo-se a todo o custo evitar a sua utilização.

Tendo por princípio a utilização de soluções inovadoras dentro do âmbito da Química Sustentável, e também tendo em conta a experiência do Grupo de Catálise & Química Fina na obtenção de produtos de valor acrescentado utilizando métodos catalíticos,¹⁶ idealizou-se uma alternativa envolvendo a reação de aminocarbonilação de arenos halo-funcionalizados,¹⁷ catalisada por complexos de paládio na presença de monóxido de carbono (CO), que tem emergido como uma estratégia sintética muito promissora para a preparação de carboxamidas. Esta estratégia permite uma síntese eficiente das correspondentes amidas, num só passo e com fácil *work-up*. Após

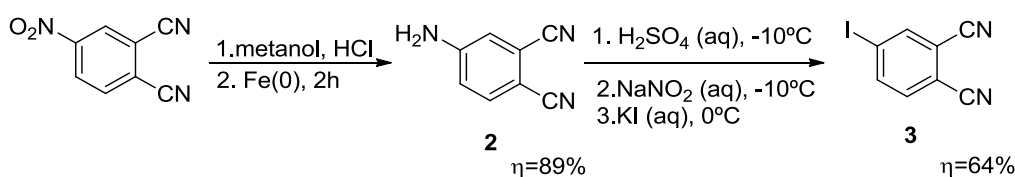
uma aturada análise da literatura, constatámos que este tipo de metodologia nunca foi utilizada para preparar ftalonitrilos funcionalizados com grupos amida.

Tal como havia sido referido no Capítulo 1 desta dissertação e reforçado no início deste capítulo, o objetivo deste trabalho centra-se no desenvolvimento de novas moléculas derivadas de ftalocianinas com especificidade para células/tecidos-alvo bem como conferir-lhes propriedades anfífilas. Com isto em mente, decidiu-se estudar estratégias para a ligação deste tipo de moléculas a compostos biológicos, nomeadamente a aminoácidos. Neste contexto, descreve-se pela primeira vez uma nova estratégia para a modelação direta de ftalonitrilos através de reações de aminocarbonilação do 4-iodoftalonitrilo utilizando diferentes aminoácidos como nucleófilos, produzindo os respetivos derivados conjugados. Além disso, e dado o nosso particular interesse na obtenção de ftalocianinas biocompatíveis para aplicação em imagiologia médica, sintetizámos também pela primeira vez um ftalonitrilo conjugado com o DO₃A-NH₂- α , um agente quelante versátil com grande potencial para o desenvolvimento de agentes de contraste de alta relaxividade em imagiologia de ressonância magnética nuclear bem como potenciais radiofármacos em tomografia por emissão de positrões, após complexação com Gd(III) e Ga-68 ou Cu-64,¹⁸ respetivamente.

2.2.1 Síntese dos precursores

2.2.1.1 Síntese do substrato 4-iodoftalonitrilo

Como supramencionado, o 4-nitroftalonitrilo pode ser transformado em 4-iodoftalonitrilo mediante uma sequência de dois passos, explícita no **Esquema 2.3**.



Esquema 2.3. Síntese do 4-iodoftalonitrilo **3**

Assim, o 4-nitroftalonitrilo foi reduzido com alto rendimento ao correspondente 4-aminoftalonitrilo (**2**) usando ferro metálico em ácido clorídrico.¹⁹ De seguida, é a conversão no respetivo sal diazónio, e conseqüente halogenação com KI, de forma a obter o 4-iodoftalonitrilo (**3**)

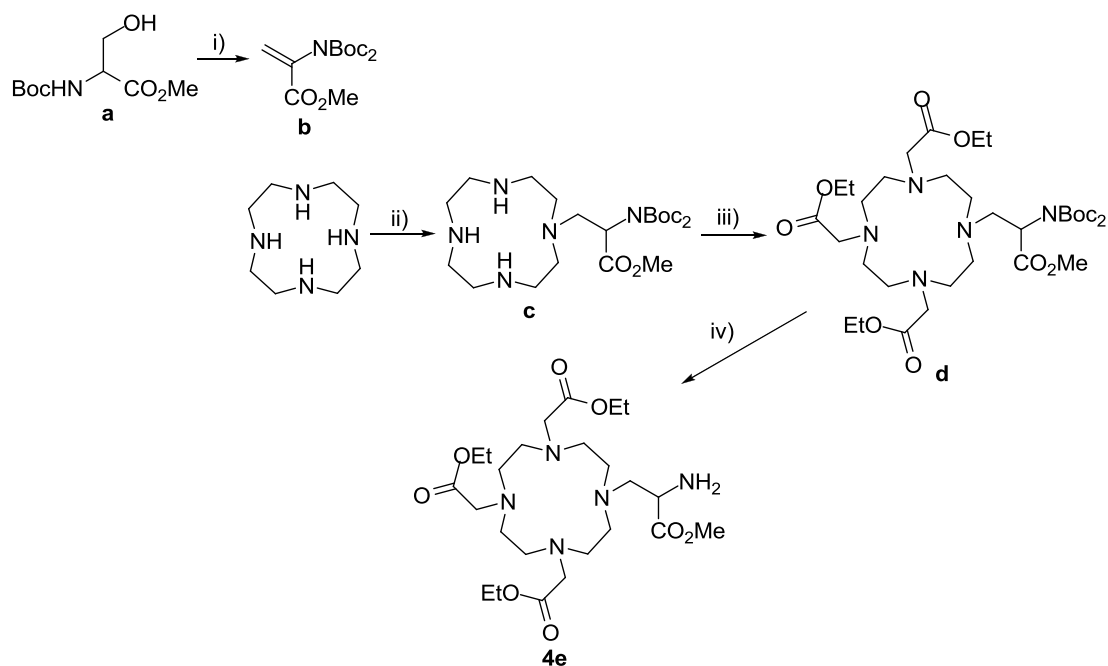
com um rendimento de 64%. Os dados espectroscópicos encontram-se de acordo com a literatura e são apresentados na secção experimental,¹⁹ Capítulo 5.

2.2.1.2 Síntese do nucleófilo DO₃A-NH₂- α

A partir duma análise crítica da literatura relativa ao uso de agentes quelantes como sondas para imagiologia médica, é notório que estes deverão preencher alguns requisitos essenciais. Se por um lado pertencer à classe de agentes quelantes macrocíclicos, do tipo DOTA, para garantir uma elevada estabilidade cinética e termodinâmica dos respetivos complexos de Gd³⁺, é um dos requisitos fundamentais; por outro a presença de grupos funcionais pendentes reativos para acoplamento a outras moléculas orgânicas, ou para o endereçamento para recetores celulares em tecidos-alvo, também se tornou um dos parâmetros fulcrais a ter em conta no *design* de agentes quelantes ideais. Para além disso, é fundamental que o agente quelante permita, pelo menos, uma posição de coordenação livre para ser ocupada por moléculas de água que estejam em constante permuta com as moléculas de água do meio, para possibilitar uma elevada relaxividade e ser um bom agente de contraste em MRI.^{20,21}

Neste âmbito, Geraldês e colaboradores sintetizaram um agente quelante, DO₃A-NH₂- α (**4e**), que reúne todas estas propriedades. Este agente quelante macrocíclico, baseado no esqueleto do DOTA, inclui na sua estrutura um braço propionato ao invés de um braço acetato o que leva ao consequente aumento da velocidade de permuta entre moléculas de água diretamente coordenadas ao metal. Adicionalmente, o grupo amina pendente no braço propionato pode então ser usado para conjugação a outras moléculas. Devido às características supramencionadas deste agente quelante, os estudos prosseguiram no sentido de se utilizar a cadeia α -aminopropionato como espaçador de forma a obter o nucleófilo desejado, para a funcionalização do 4-iodoftalonitrilo *via* reação de aminocarbonilação. Os resultados estão apresentados na **secção 2.2.2**.

Neste contexto, a introdução do braço α -aminopropionato no esqueleto do ciclono é a etapa determinante na síntese de DO₃A-NH₂- α (**Esquema 2.4**), envolvendo reações de adição de Michael do reagente *N*-Boc₂- Δ -AlaOMe ao ciclono. Esta estratégia baseou-se no trabalho descrito por Geraldês e colaboradores,²¹ no qual o reagente *N*-Boc₂- Δ -AlaOMe (**b**) é sintetizado e usado em reações de adição de Michael a aminas, em condições suaves e com elevados rendimentos.²²



Esquema 2.4. Síntese de DO₃A-NH₂-α. Reagentes e condições reacionais: i) (Boc)₂O, DMAP, MeCN, 24h, temperatura ambiente, η=90% ; ii) K₂CO₃, MeCN, 30°C, 4h, η=77%; iii) bromoacetato de etilo, K₂CO₃, MeCN, temperatura ambiente, 6h, η=57%; iv) ácido trifluoracético (5%) em CH₂Cl₂, 12h, 17°C, η=85%.

Assim, o reagente *N*-Boc₂-Δ-AlaOMe (**b**) foi preparado num passo por desidratação de *N*-Boc-metilserina (**a**);²² para tal adicionou-se a uma solução de **a** em acetonitrilo, o reagente (Boc)₂O e uma quantidade catalítica de DMAP. A mistura reacional permaneceu em agitação durante 24h, à temperatura ambiente, e após isolamento e purificação obteve-se o produto **b**, com um rendimento de 90%.

Seguidamente, efetuou-se a reação de adição de Michael do composto *N*-Boc₂-Δ-AlaOMe **b** (1,0 equivalentes) ao ciclono utilizando um excesso deste (1,5 equivalentes), na presença de um excesso de base, K₂CO₃, em acetonitrilo. O uso de ciclono em excesso visou maximizar o rendimento da reação em produto mono-alkilado **c**, em detrimento da possível formação dos produtos *bis*-, *tris*- e *tetra*- alkilados. A evolução da reação foi controlada por TLC, sendo possível verificar a presença de pequenas quantidades dos compostos *bis*- e *tris*- alkilados e o desaparecimento do ciclono inicial. Assim, com o intuito de isolar o produto mono-alkilado da mistura contendo os produtos *bis*- e *tris*- alkilados e o excesso de ciclono utilizado, procedeu-se à purificação com uma coluna cromatográfica de gel de sílica utilizando primeiramente diclorometano como eluente e depois uma mistura de diclorometano:etanol:amónia (na proporção 50:50:1) como eluente. Após a cromatografia e evaporação do solvente, obteve-se o produto **c** com um rendimento isolado de 77%, cuja caracterização espectroscópica se encontra descrita na secção experimental.²¹

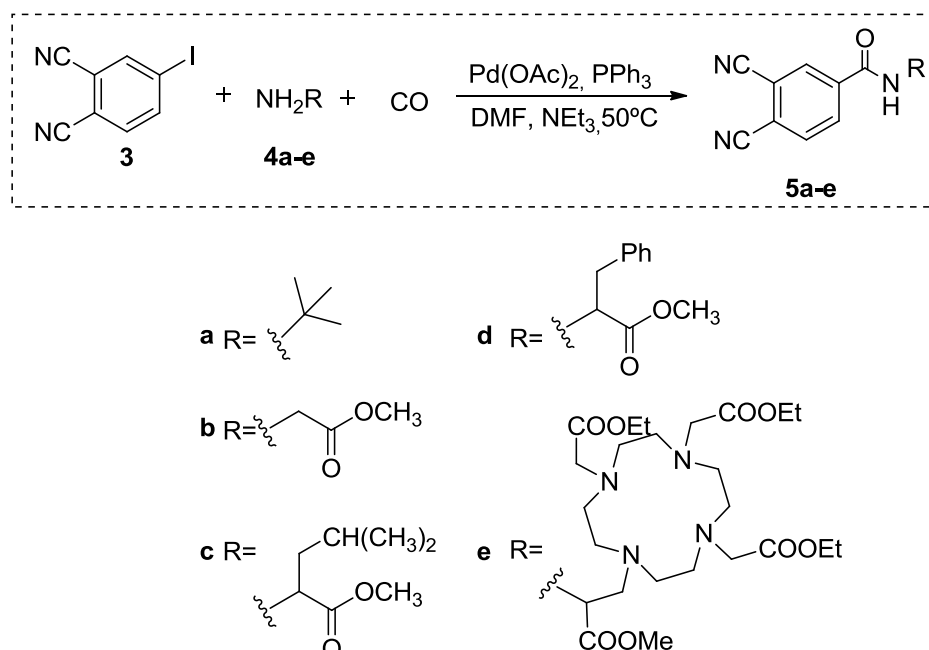
Para a obtenção do composto **d** procedeu-se a uma segunda alquilação do tipo SN_2 , na qual se fez reagir 4 equivalentes de bromoacetato de etilo com 6 equivalentes de K_2CO_3 em acetonitrilo, à temperatura ambiente, durante 6h. Por TLC, verificou-se ao fim deste tempo que o composto **c** tinha sido totalmente consumido, observando-se, para além de um produto maioritário, pequenas manchas. Após filtração do excesso de base e evaporação do solvente, por análise de RMN de 1H do crude de uma amostra reacional, verificou-se que poderá ter ocorrido uma retroadição de Michael, uma vez que se revelou o aparecimento de uma pequena quantidade de *N*-Boc $_2$ - Δ -AlaOMe **b**. Com o objetivo de obter o produto alquilado puro **d**, efetuou-se uma coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária gel de sílica e diclorometano:etanol (5/1) como eluente, obtendo-se o composto **d** com um rendimento de 57%.²¹

De forma a obter o composto **4e**, que possui o grupo amina livre, foi necessário efetuar a desproteção seletiva dos grupos protetores *tert*-butilooxicarbonilo (*Boc*) do composto completamente alquilado **d**. Numa primeira aproximação utilizámos as condições experimentais anteriormente descritas por Gerald e colaboradores,²¹ que consistiam na suspensão do composto **c** em diclorometano na presença de 10% de TFA, à temperatura ambiente. No entanto, com estas condições de reação observou-se a desproteção dos grupos protetores *Boc* e também a hidrólise parcial dos grupos ésteres etílicos. Decidiu-se então diminuir a concentração de ácido utilizada e a temperatura a que ocorria a reação. Sendo assim, a desproteção foi levada a cabo dissolvendo o composto **d** numa solução de 5% de TFA em diclorometano, a uma temperatura de 17°C. A monitorização do evoluir da reação foi efetuada utilizando RMN de 1H , e após a observação do desaparecimento total dos sinais dos prótons relativos ao grupo protetor *Boc* no crude da mistura reacional a reação foi dada como terminada. Após evaporar o solvente a pressão reduzida, o óleo viscoso obtido foi redissolvido em diclorometano e evaporado novamente, sendo este processo repetido várias vezes. Não sendo necessário qualquer outro tipo de purificação, e após secagem sob vácuo obteve-se o produto **4e**, com um rendimento de 85%, cuja caracterização se encontra na secção experimental, Capítulo 5.

2.2.2 Síntese de ftalonitrilos funcionalizados com grupos carboxamida

Após a síntese de 4-iodoftalonitrilo **3**, iniciaram-se os estudos conducentes à sua funcionalização *via* aminocarbonilação catalítica, de modo a obter as respetivas carboxamidas. Com este objetivo, efetuaram-se estudos de síntese usando diversas aminas como nucleófilos para obter os ftalonitrilos funcionalizados com os grupos carboxamida desejados. Tal como está indicado no **Esquema 2.5**, a reação de aminocarbonilação foi realizada em DMF a 50°C, sob atmosfera de

monóxido de carbono (5bar), usando Pd(OAc)₂ como precursor do catalisador de paládio, PPh₃ como ligando e trietilamina como base.



Esquema 2.5. Síntese de ftalonitrilos substituídos com grupos carboxamida *via* aminocarbonilação catalisada por complexos de paládio.

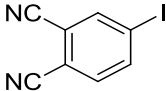
No sentido de averiguar a potencialidade desta reação como estratégia sintética procedeu-se primeiramente à reação de aminocarbonilação do ftalonitrilo **3** na presença *tert*-butilamina **4a**, por este ser um nucleófilo frequentemente testado neste tipo de reações.²³ Após esta validação prévia, os estudos foram posteriormente estendidos às restantes aminas, das quais se destacam o hidrocloreto do éster metílico de glicina **4b**, o hidrocloreto do éster metílico de leucina **4c**, o hidrocloreto do éster metílico de fenilalanina **4d** e o DO₃A-NH₂- α **4e**.

Numa experiência tipo, colocou-se no interior do reator e dentro de um copo de vidro o precursor catalítico Pd(OAc)₂ e o ligando PPh₃, na relação estequiométrica 1:2, e o substrato. Após três ciclos de monóxido de carbono/vácuo, estando o reator sob vácuo, introduziu-se o nucleófilo dissolvido em DMF, *via* canula, com o auxílio de uma seringa, mantendo a válvula que liga o reator ao sistema de gases fechado. Posteriormente, abriu-se a válvula de entrada do monóxido de carbono e, com a ajuda de um manómetro, o reator foi pressurizado com a pressão pretendida (5 bar). Por fim, regulou-se o sistema de aquecimento do reator para a temperatura de 50°C e todas as reações foram realizadas sob agitação. Para a monitorização do evoluir da reação, foram retiradas, ao longo do tempo, algumas alíquotas *via* canula que foram analisadas por TLC. Após se observar a conversão completa do ftalonitrilo de partida **3** na correspondente carboxamida (detetado por TLC

e cuja estrutura foi confirmada por GC-MS), com um menor valor de R_f , deu-se por terminada a reação. O reator foi deixado arrefecer à temperatura ambiente, sendo a sua despressurização efetuada lentamente.

Com o intuito de isolar e caracterizar os produtos obtidos das reações, efetuou-se o tratamento da reação, procedendo primeiramente à filtração das partículas de paládio metálico formadas, posterior extração com diclorometano, com subsequente lavagem da fase orgânica com soluções aquosas de HCl, NaHCO₃ e solução saturada de cloreto de sódio. Após evaporação da fase orgânica, os crudes dos produtos foram sujeitos a uma cromatografia de coluna em sílica de gel usando, para cada uma delas, uma mistura de eluentes apropriada ou a uma recristalização em acetato de etilo/*n*-hexano (ver secção experimental). Depois de isoladas e purificadas, as carboxamidas **5a-5d** foram devidamente caracterizadas por RMN de ¹H e ¹³C e espectrometria de massa, sendo que na **tabela 2.1** se apresentam as condições de reação e os rendimentos de produto isolado para cada uma das carboxamidas sintetizadas (**Esquema 2.5**).

Tabela 2.1. Condições reacionais e rendimentos de produto isolado para as reações de aminocarbonilação e respetivas carboxamidas, de acordo com o Esquema 2.5.

| Entrada ^a | Substrato | Nucleófilo | Tempo (h) | Rendimento(%) |
|----------------------|---|------------------------|-----------|---------------|
| 1 | | 4a ^a | 18 | 75 |
| 2 |  | 4b ^b | 72 | 55 |
| 3 | | 4c ^b | 72 | 46 |
| 4 | | 4d ^b | 72 | 54 |
| 5 | | 4e ^b | 72 | ^c |

Condições da reação: 0,025 mmol Pd(OAc)₂; 0,05 mmol PPh₃, 50°C

^a 0,85 mmol substrato; 3.3 mmol *tert*-butilamina; 9 mL DMF; 0,55 mL Et₃N ou ^b 1.1 mmol substrato; 1.3 mmol de éster de aminoácido; 10 mL DMF; 1 ml Et₃N

^c Produto não isolado.

Observou-se que, na presença de *tert*-butilamina **4a** como nucleófilo, a reação ocorreu com conversão completa em apenas 18h tendo-se obtido um rendimento de produto isolado, após cromatografia em coluna, de 75% para a carboxamida **5a** (**tabela 2.1**, entrada 1).

No entanto, ao efetuar a reação de aminocarbonilação usando como nucleófilos os três derivados de ésteres de aminoácidos com diferentes estruturas observou-se que um tempo de 72 horas foi necessário para que ocorresse a conversão completa do substrato, o que poderá ser resultado de uma menor nucleofilicidade e impedimento estérico destas aminas em comparação com a *tert*-butilamina **4a**.

Os rendimentos de produtos isolados nas reações com os ésteres metílicos de aminoácidos **4b**, **4c** e **4d** foram de 55 %, 46 %, 54 %, respectivamente (**tabela 2.1**, entradas 2-4), não se observando por isso qualquer efeito significativo da estrutura dos derivados de aminoácidos nos rendimentos das reações. Contudo, é de realçar que estes valores obtidos são superiores aos descritos na literatura para a aminocarbonilação de iodo-benzeno com diferentes ésteres de aminoácidos.²⁴

A exemplo ilustrativo, selecionou-se o ftalonitrilo **5b** resultante da aminocarbonilação do 4-iodoftalonitrilo com o hidrocloreto do éster metílico da glicina para apresentação da sua caracterização espectroscópica, sendo que a caracterização dos outros compostos se encontra detalhada na secção experimental. A zona aromática do espectro de RMN de ¹H (**figura 2.2**) apresenta um singuleto a δ 8,26 que corresponde ao protão H_a e dois dupletos a δ 8,16-8,14 ppm e a 7,94-7,92 ppm que correspondem aos protões H_b e H_c, respetivamente. O protão do grupo amida surge no espectro na forma de um singuleto largo a δ 6,77 ppm. O sinal relativo aos protões -CH₂ surge como um duplete entre δ 4,27-4,26 ppm, integrando para um total de 2 protões. Ainda na zona alifática do espectro de RMN ¹H, surge um sinal na forma de singuleto a δ 3,84 ppm integrando um total de 3 protões, sendo atribuídos à ressonância dos protões -OCH₃.

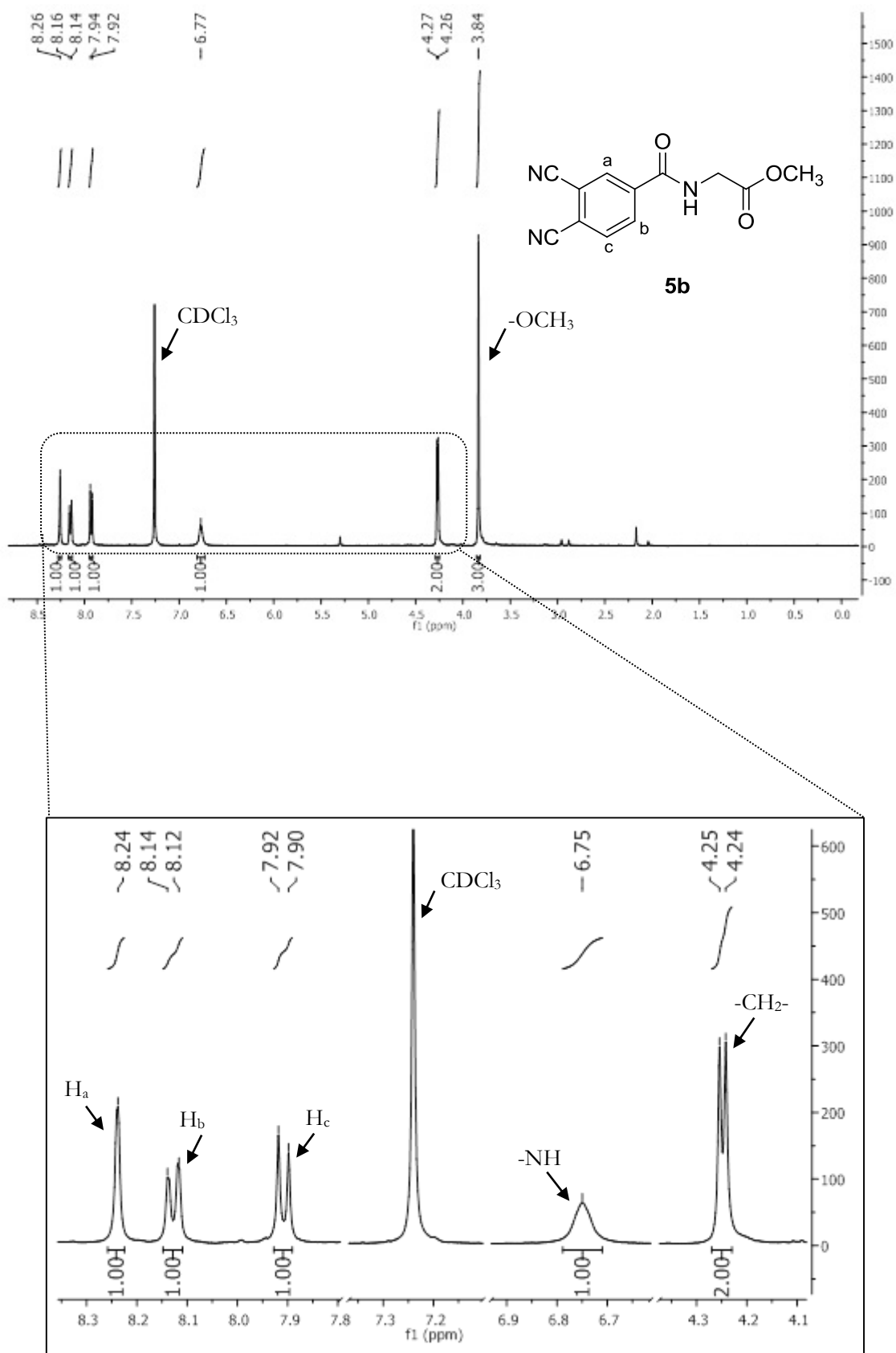


Figura 2.2. Espectro de RMN de ^1H do ftalonitrilo **5b**.

Pela análise do espectro RMN de ^{13}C (**figura 2.3**) podemos fazer uma atribuição inequívoca da ressonância dos carbonos dos grupos $-\text{CH}_2$ e $-\text{OCH}_3$ a δ 42,0 e 52,9 ppm, respectivamente. O carbono mais desprotegido deste composto é o do grupo carbonilo do éster metílico (δ 169,9 ppm). O sinal a δ 163,5 ppm corresponde à ressonância do carbono do grupo carbonilo que se encontra ligado ao átomo de azoto, razão pela qual surge mais desprotegido. Os sinais no intervalo de frequências entre δ 140-115 ppm correspondem à ressonância dos carbonos aromáticos. Por último o sinal correspondente à ressonância do carbono do grupo CN aparece a δ 114,6 ppm

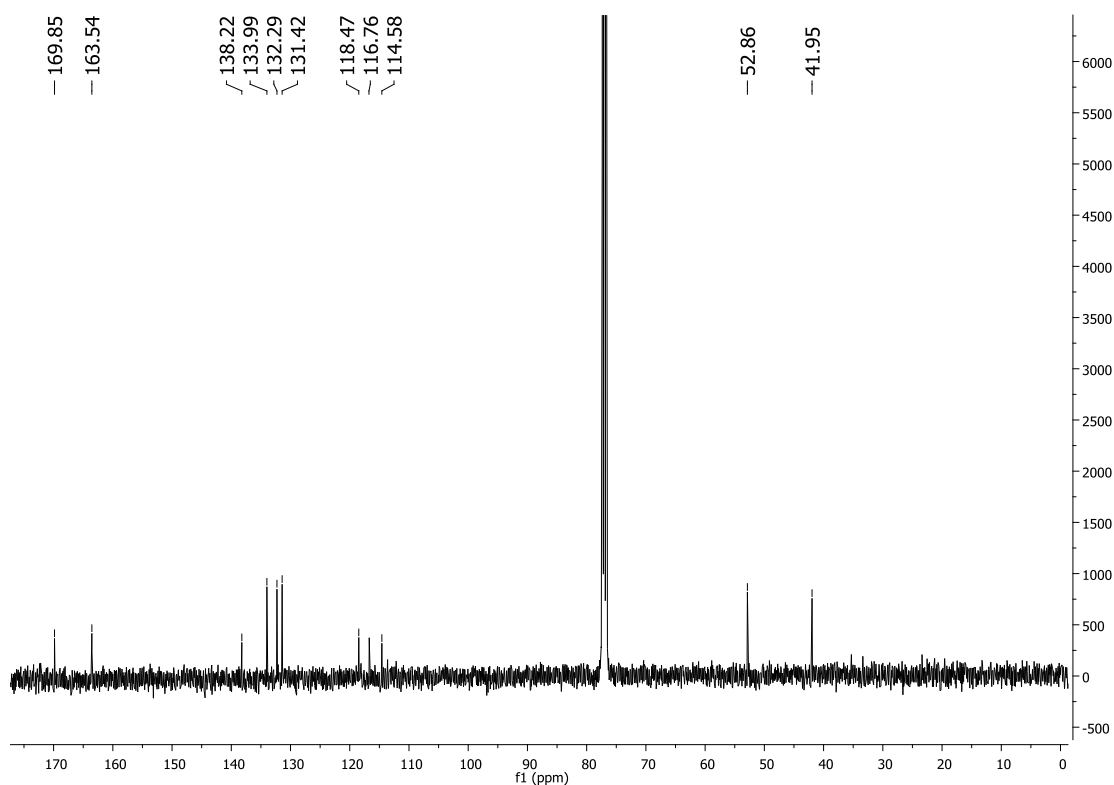


Figura 2.3. Espectro de RMN de ^{13}C do ftalonitrilo **5b**.

Para complementar a caracterização dos ftalonitrilos acima apresentados, recorreu-se à espectrometria de massa. Nos espectros de ESI-TOF obtidos para os ftalonitrilos **5b-d**, observou-se sempre a presença do ião molecular $(\text{M}+\text{Na})^+$, assim como uma excelente concordância entre o padrão isotópico calculado e o observado, como se pode verificar na secção experimental. Na **figura 2.4** apresenta-se, como exemplo, a comparação entre o espectro de massa calculado e observado para o ião molecular $(\text{M}+\text{Na})^+$ do ftalonitrilo **5b**.

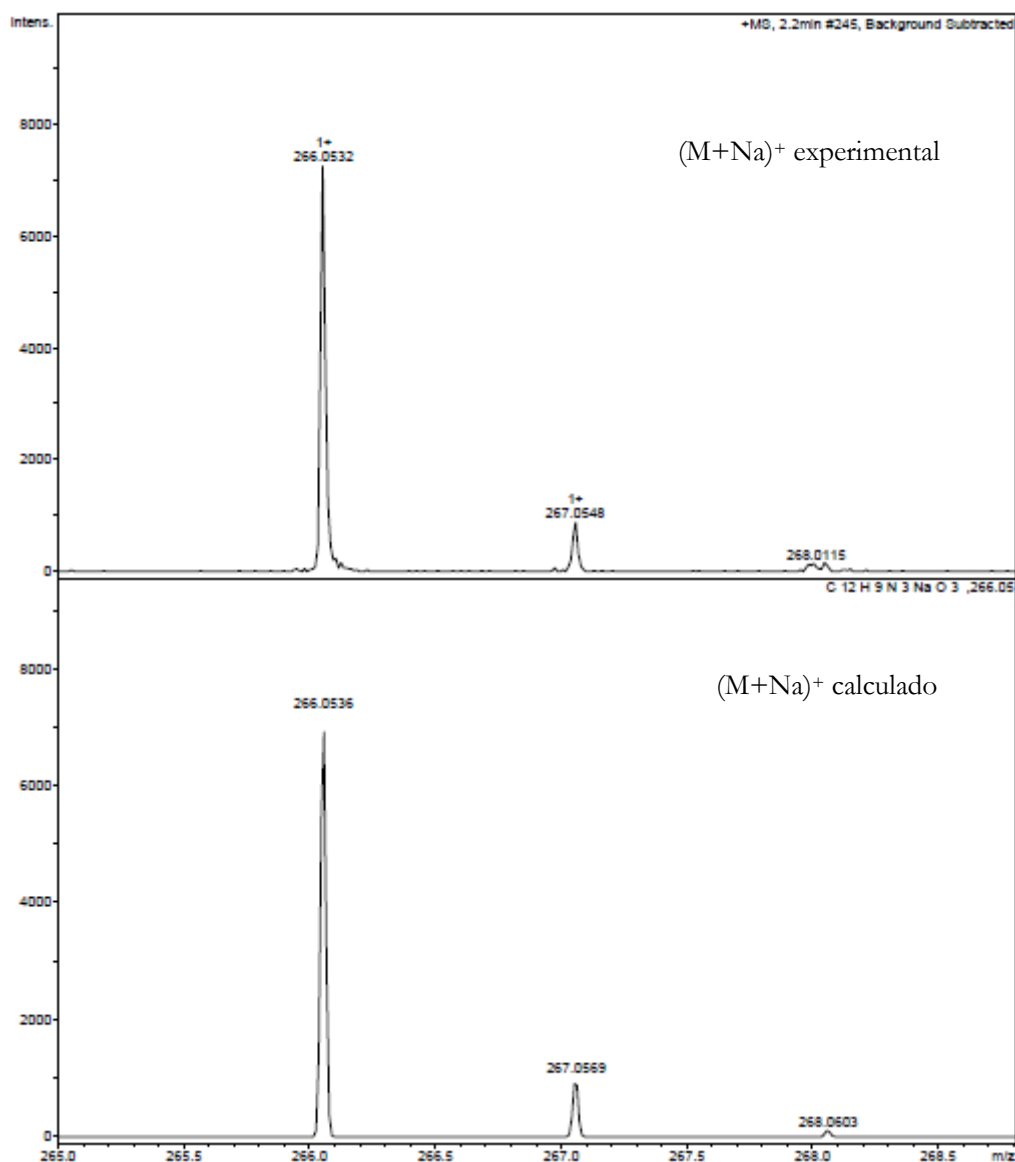


Figura 2.4. Ião molecular $[M+Na]^+$ observado e teórico, obtido por ESI-TOF de alta resolução do ftalonitrilo **5b**.

Nos espectros apresentados na **figura 2.4**, observa-se uma excelente concordância entre o espectro de massa calculado e observado experimentalmente para o ião molecular $(M+Na)^+$, com uma distribuição isotópica compreendida entre 266-268,5 m/z , cujo pico de maior intensidade com o valor de 266,0532 m/z corresponde à massa do ião molecular $(M+Na)^+$ do ftalonitrilo **5b** e os restantes picos dizem respeito aos outros isótopos.

No caso específico da reação de aminocarbonilação com o $DO_3A-NH_2-\alpha$ **5e** (ver **Esquema 2.5**), verificou-se a conversão completa do substrato em 72h, sendo que à semelhança do que se observou anteriormente o produto maioritário apresentava um menor valor de R_f , o que é indicativo de maior polaridade. Para além disto, apesar de não ter sido possível o isolamento do produto puro, os espectros de RMN de 1H e de ^{13}C da mistura reacional bem como o espectro de

massa ESI-TOF (observa-se o pico do íon molecular $[M+H]^+$ a 686,3506 m/z que está de acordo com o pico calculado teóricamente, $[M+H]^+$ de 686,3508 m/z) comprovaram a formação da carboxamida desejada. Contudo, por limitação de tempo, visto este composto ter sido sintetizado já na parte final do decurso deste trabalho, a purificação deste produto ainda está a ser efetuada.

De acordo com o mecanismo simplificado proposto na literatura^{25,26,27} para esta reação, um esquema simplificado do mecanismo catalítico para a formação dos carboxifaltonitrilos apresenta-se na **figura 2.5**. Em primeiro lugar ocorre a adição oxidativa do substrato 4-iodofaltonitrilo ao paládio (0) originando o intermediário iodo-faltonitrilo-paládio(II) **A**. A coordenação do monóxido e a sua inserção na ligação Pd-I resulta na formação do intermediário Pd(II) **B** que, por sua vez, é suscetível de sofrer ataque nucleofílico da amina, e na presença de trietilamina forma-se o carboxifaltonitrilo, enquanto que a eliminação redutiva do HI conduz à regeneração do catalisador. É de salientar ainda que, a base desempenha um papel fundamental na reação, na medida em que evita a acidificação do meio da reação devido à formação de HI no decorrer do ciclo catalítico.

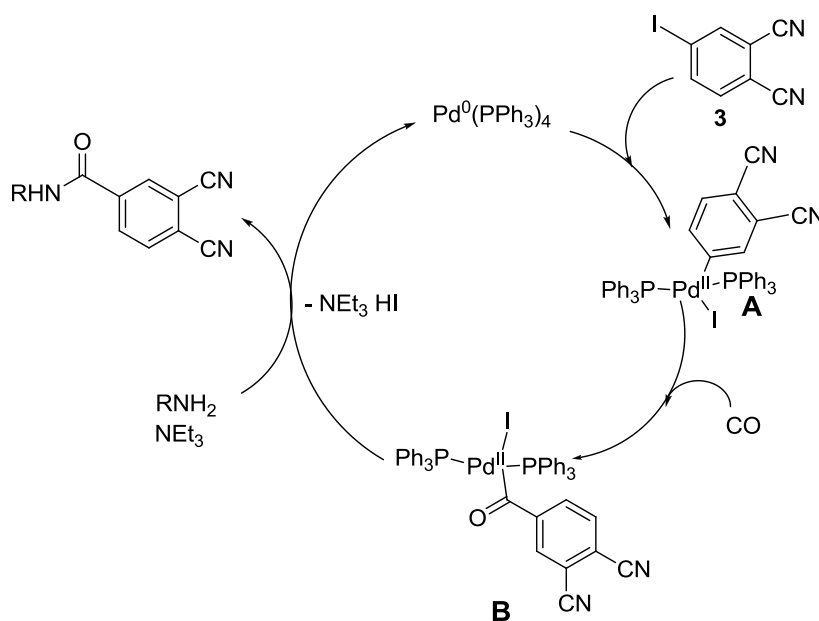


Figura 2.5. Ciclo catalítico simplificado que descreve a formação das carboxamidas *via* reação de aminocarbonilação.

É ainda importante realçar que, de acordo com o descrito na literatura a seletividade de reações de aminocarbonilação de iodoarenos simples é claramente dependente da pressão de CO utilizada.²⁴ Assim, quando a reação é efetuada com uma pressão de monóxido de carbono baixa (atmosférica) obtêm-se 100 % de seletividade para a formação da mono-carboxamida. Por outro lado, quando a reação é efetuada com pressões de CO mais elevadas (20-30 bar) obtêm-se preferencialmente cetocarboxamidas, resultantes da dupla inserção do grupo carbonilo.²⁴

No nosso caso, sendo o objetivo a preparação de ftalonitrilos contendo a função mono-carboxamida, concluiu-se que as condições de reação utilizadas (50°C e 5 bar de CO) foram adequadas para se obter seletivamente os produtos pretendidos. É pois, possível concluir que esta é uma estratégia sintética eficiente para a funcionalização de ftalonitrilos com diversos grupos amida.

2.3 Conclusão

Em suma, neste capítulo descreveu-se a síntese, e simultaneamente a modelação estrutural de diversos ftalonitrilos, como precursores para a síntese de ftalocianinas. Para além disso, nestes estudos desenvolveu-se um método para sintetizar carboxamidas num só passo, a partir da aminocarbonilação de iodo-ftalonitrilos catalisada por complexos de paládio. Assim, a reação de aminocarbonilação do 4-iodofatlonitrilo, utilizando diferentes nucleófilos revelou-se um método bastante atrativo na medida em que, permitiu obter ftalonitrilos funcionalizados com as respetivas carboxamidas, com rendimentos bastante satisfatórios.

2.4 Referências

-
- [1] J. McConathy, M. M. Goodman, *Cancer Metastasis Rev.*, **2008**, 27, 55.
- [2] J. K. Uppal, P. P. Hazari, Raunak, K. Chuttani, M. Allard, N. K. Kaushik, A. K. Mishra, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 1591.
- [3] K. Smith, N. Malatesti, N. Cauchon, D. Hunting, R. Lecomte, J. E. Lier, J. Greenman, R. W. Boyle, *Immunology*, **2010**, 132, 256.
- [4] P. Khoza, E. Antunes, J.-Y. Chen, T. Nyokong, *J. Lumin.*, **2013**, 134, 784
- [5] C.-K. Lim, J. Shin, I. C. Kwon, S. Y. Jeong, S. Kim, *Bioconjugate Chem.*, **2012**, 23, 1022.
- [6] S. M. Abdelghany, D. Schmid, J. Deacon, J. Jaworski, F. Fay, K. M. McLaughlin, J. A. Gormley, J. F. Burrows, D. B. Longley, R. F. Donnelly, C. J. Scott, *Biomacromolecules*, **2013**, 14, 302.
- [7] M. S. Vazquez, T. J. Jensen, M. G. H. Vicente, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **2007**, 86, 9.
- [8] R. van der Meel, W. M. Gallagher, S. Oliveira, A. E. O'Connor, R. M. Schiffelers, A. T. Byrne, *Drug Discovery Today*, **2010**, 15, 103.
- [9] K. J. Isselbacher, *N. Eng. J. Med.*, **1972**, 286, 929.
- [10] R. Kubota, K. Kubota, S. Yamada, *J. Nucl. Med.*, **1995**, 36, 484.
- [11] G. Treglia, E. Giovannini, D. Di Franco, M. L. Calcagni, V. Rufini, M. Picchio, A. Giordano, *Ann. Nucl. Med.*, **2012**, 26, 451.
- [12] R. Katz-Brull, R. Margalit, P. Bendel, H. Degani, *Magnetic Resonance Materials in Biology, Physics and Medicine*, **1998**, 6, 44.
- [13] V. N. Nemykin, E. A. Lukyanets, *Arkhivoc*, **2010**, 1, 138.
- [14] (a) G. T. Hermanson, in *Bioconjugate Techniques*, Elsevier Academic Press, 2nd Edition, London, **2008**. (b) C. Alric, J. Taleb, G. Le Duc, C. Mandon, C. Billotey; A. Le Meur-Herland, T. Brochard; F. Vocanson, M Janier, P. Perriat; S. Roux; O. Tillement, *J. Am. Chem.Soc.*, **2008**, 130, 5908.
- [15] F. A. Carey, in *Organic Chemistry*, McGraw Hill, 4th Edition, United States of America, **2000**, Chapter 20, pages 774-830.
- [16] (a) M. M. Pereira, M. J. F. Calvete, R. M. B. Carrilho, A. R. Abreu, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 6990. (b) M. C. B. Jaimes, F. Rominger, M. M. Pereira, R. M. B. Carrilho, S. A. C. Carabineiro, A. S. K. Hashmi, *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 4937. (c) A. C. B. Neves, M. J. F. Calvete, T. M. V. D. P. Melo, M. M. Pereira, *Eur. J. Org. Chem.*, **2012**, 32, 6309. (d) A. F. Peixoto, D. S. de Melo, T. F. Fernandes, Y. Fonseca, E. V. Gusevskaya, A. M. S.

- Silva, R. R. Contreras, M. Reyes, A. Usubillaga, E. N. dos Santos, M. M. Pereira, J. C. Bayon, *Appl. Catal. A: Gen.*, **2008**, *340*, 212. (e) A. F. Peixoto, M. M. Pereira, A. M. S. Silva, C. M. Foca, J. C. Bayon, M. J. S. M. Moreno, A. M. Beja, J. A. Paixao, M. R. Silva, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2007**, *275*, 121. (f) M. Dieguez, M. M. Pereira, A. M. Masdeu-Bulto, C. Claver, J. C. Bayon, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **1999**, *143*, 111
- [17] (a) R. M. B. Carrilho, A. R. Almeida, M. Kiss, L. Kollar, R. Skoda-Foldes, J. M. Dabrowski, M. J. S. M. Moreno, M. M. Pereira, *Eur. J. Org. Chem.*, **2015**, *8*, 1840. (b) R. M. B. Carrilho, M. M. Pereira, M. J. S. M. Moreno, A. Takacs, L. Kollar, *Tetrahedron Lett.*, **2013**, *54*, 2763. (c) R. M. B. Carrilho, V. Heguaburu, V. Schapiro, E. Pandolfi, L. Kollar, M. M. Pereira, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 6935. (d) R. M. B. Carrilho, M. M. Pereira, A. Takacs, L. Kollar, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 204.
- [18] D. Zeng, A. V. Desai, D. Ranganathan, T. D. Wheeler, P. J. A. Kenis, D. E. Reichert, *Nuclear Medicine and Biology*, **2013**, *40*, 42.
- [19] (a) S. I. Yang, J. Li, H. S. Cho, D. Kim, D. F. Bocian, D. Holten, J. S. Lindsey, *J. Mater. Chem.*, **2000**, *10*, 283. (b) S. M. Marcuccio, P. I. Svirskaya, S. Greenberg, A. B. P. Lever, C. C. Leznoff, *Can. J. Chem.*, **1985**, *63*, 3057.
- [20] P. Caravan, J. J. Ellison, T. J. McMurry, R. B. Lauffer, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2293.
- [21] M. F. Ferreira, A. F. Martins, J. A. Martins, P. M. Ferreira, E. Tóth. C. F. G. C. Geraldés, *Chem. Commun.*, **2009**, 6475.
- [22] P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, J. Sacramento, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1999**, *1*, 3697.
- [23] R. M.B. Carrilho, M. M. Pereira, A. Takács, L. Kollár, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 204.
- [24] (a) E. Muller, G. Peczey, R. Skoda-Foldes, E. Takács, G. Kokotos, E. Bellis, L. Kollár, *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 797. (b) A. Takacs, A. R. Abreu, A. F. Peixoto, M. Pereira, L. Kollár, *Synthetic Commun.*, **2009**, *39*, 1534.
- [25] L. Kollar, in *Modern Carbonylation Methods*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, (Ed.), Weinheim, Germany, **2008**.
- [26] (a) W. Fang, H. Zhu, Q. Deng, S. Liu, X. Liu, Y. Shen, T. Tu, *Synthesis*, **2014**, *46*, 1689; (b) A. Brennfuhrer, H. Neumann, M. Beller, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 4114; (c) X. Wu, H. Neumann, M. Beller, *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 9750.
- [27] V. De la Fuente, C. Godard, C. Claver, S. Castellón, *Adv. Synth. Catal.*, **2012**, *354*, 1971.

Capítulo 3

Síntese de ftalocianinas simétricas tetrassubstituídas

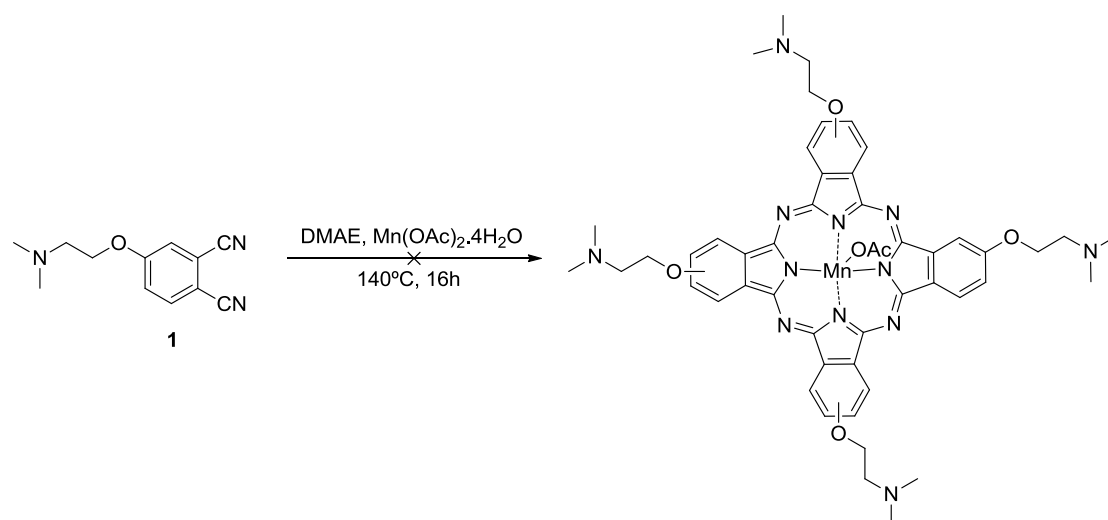
Com base nos pressupostos referidos na Introdução desta dissertação, os estudos apresentados neste capítulo descrevem a síntese e a caracterização de um grupo de complexos de zinco (II) de ftalocianinas conjugadas com diversas moléculas de origem biológica (aminoácidos e um precursor da colina), para desenvolver potenciais biomarcadores fluorescentes para diagnóstico por técnicas como a imagiologia ótica de fluorescência. Para além disso, é também do nosso interesse a síntese de uma nova ftalocianina de manganésio (III) funcionalizada com grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo (precursor da colina) para avaliar as suas propriedades que podem potenciar a sua aplicação como agente de contraste em MRI.

A estratégia de síntese adotada neste capítulo centrou-se na metodologia descrita no Capítulo 1, envolvendo a condensação dos ftalonitrilos sintetizados no Capítulo 2 com o sal metálico adequado para os fins em vista, num solvente de elevado ponto de ebulição, ou através da preparação de uma ftalocianina complexada com metais lábeis, para posterior descomplexação e re-complexação com os metais apropriados para os fins pretendidos. Assim, no primeiro tópico deste capítulo serão abordadas as reações que conduziram à síntese de ftalocianinas funcionalizadas com grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo, seguindo-se depois a descrição da obtenção de uma nova série de ftalocianinas funcionalizadas com diversos grupos carboxamida, contendo resíduos de aminoácidos e um outro agente quelante, o DO₃A-NH₂- α para potenciar o desenvolvimento de agentes bimodais.

3.1 Síntese de ftalocianinas substituídas com grupos *N, N*-dimetilaminoetoxilo

Tendo em conta o nosso interesse na síntese de ftalocianinas simétricas e respetivos complexos metálicos, e com base nos pressupostos referidos anteriormente, decidimos iniciar os

estudos promovendo a auto-condensação do ftalonitrilo **1** na presença de $\text{Mn}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ utilizando DMAE como solvente. (**Esquema 3.1**).

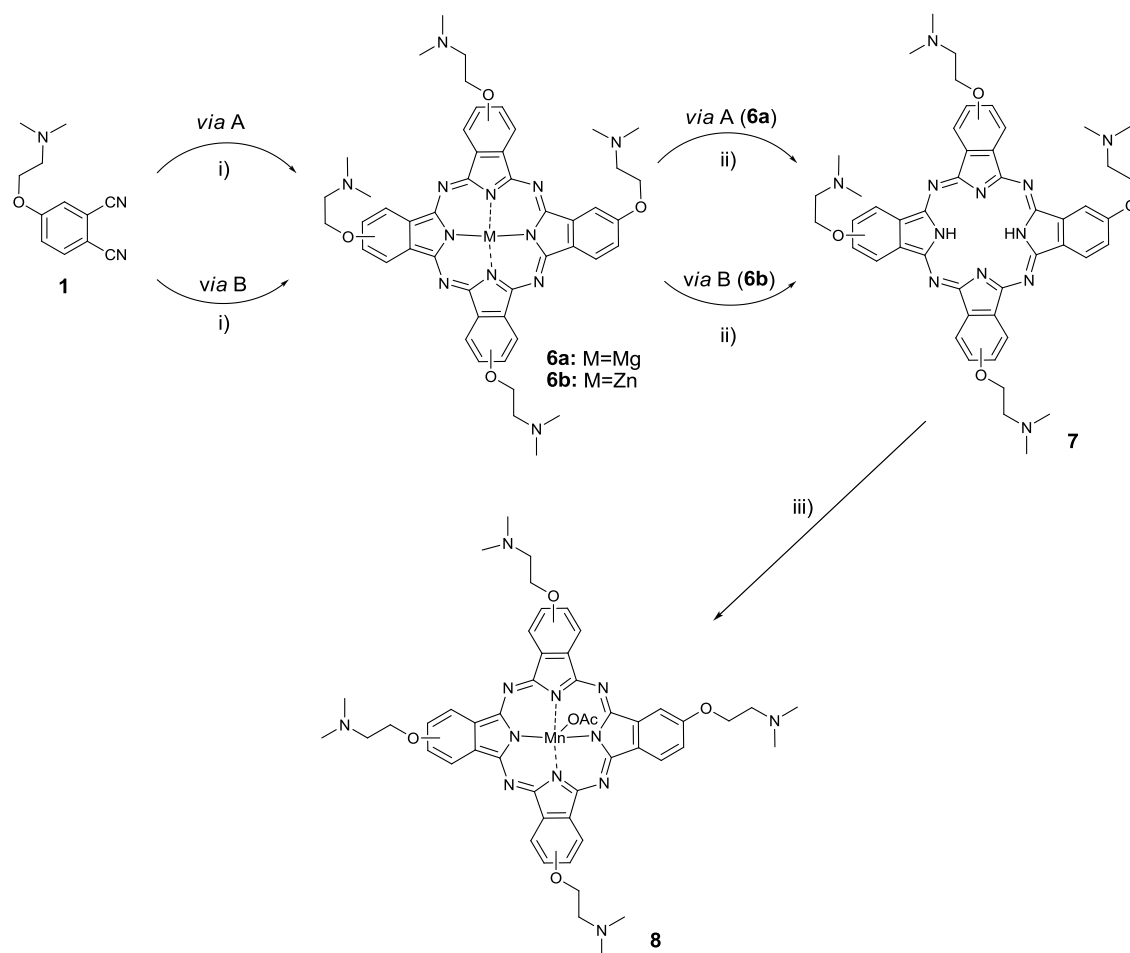


Esquema 3.1 Tentativa de síntese de metaloftalocianina de manganésio

A mistura reacional foi colocada a 140°C , durante 16 horas. Contudo, após este período não se observou a formação do complexo metálico de ftalocianina, devidamente corroborado pela não obtenção de um espectro de absorção UV-vis em alíquotas retiradas do meio reacional ao longo do tempo. Uma possível explicação para não ter ocorrido a reação de ciclotetramerização prende-se com o facto da inserção de manganésio nas ftalocianinas, analogamente às porfirinas, ser efetuada usando sais de $\text{Mn}(\text{II})$, com subsequente auto-oxidação em condições aeróbicas para produzir o mais estável estado de oxidação $\text{Mn}(\text{III})$. Se, por questões experimentais, durante a reação, ocorrer a oxidação do sais metálicos $\text{Mn}(\text{II})$ ao estado de oxidação $\text{Mn}(\text{III})$, a reação de ciclotetramerização torna-se ineficiente.¹

Dado que este método se revelou ineficaz na preparação da ftalocianina de manganésio os estudos prosseguiram no sentido de preparar complexos metálicos de ftalocianina lábeis que permitissem a fácil descomplexação, seguido da complexação com sais metálicos de manganésio (II), como está ilustrado no **Esquema 3.2**.

Para sintetizar a ftalocianina de base livre, precursora da metaloftalocianina de $\text{Mn}(\text{III})$ duas metodologias foram seguidas: na primeira, baseada no método desenvolvido por Calvete e Hanack;² denotada como *via A* no **Esquema 3.2**, usou-se um sal de magnésio(II) formado *in situ* na reação de ciclotetramerização, e removido da cavidade da ftalocianina por ação de um ácido orgânico, o ácido trifluoroacético; na segunda, (*via B*), baseado no método de Luedtke,³ recorreu-se à complexação com um sal de zinco (II), seguida de descomplexação com hidrócloro de piridina, para finalmente se obter o complexo de base livre.



Esquema 3.2. Síntese da ftalocianina de Mn(III) **8**. Condições reacionais: **via A**: i) Mg, pentan-1-ol, 150°C, 1h, depois octan-1-ol, 160°C, 5h, 48%, ii) THF, metanol, TFA, 50°C, 18h, 45%; **via B**: i) Zn(OAc)₂·2H₂O, DMAE, butan-1-ol, N₂, 120°C, 24h, 60%, ii) piridina, piridina·HCl, 110°C, N₂, 17h, 79%; iii) DMF, Mn(OAc)₂·4H₂O, 80°C, 4h, 77%.

Deste modo, a síntese da ftalocianina **6a** envolveu a formação *in situ* de bispentanolato de magnésio por reação de pentan-1-ol com limalha de magnésio, seguida de condensação do ftalonitrilo **1** com o pentanolato de magnésio usando octan-1-ol como solvente. O controlo do evoluir da reação por TLC, permitiu comprovar que a reação terminou após 5 horas a 160 °C. Após o tratamento da mistura reacional por precipitação com *n*-hexano, o resíduo obtido foi aplicado numa coluna em óxido de alumina de grau 2, usando como eluente uma mistura de metanol:diclorometano (1:1), obtendo-se o novo complexo metálico **6a** com 48% de rendimento, após reprecipitação com *n*-hexano.

Em paralelo, os nossos estudos de síntese centraram-se também no desenvolvimento do complexo metálico de zinco (II) da respetiva ftalocianina, para promover a posterior descomplexação (**Esquema 3.2**). Assim, o complexo de zinco **6b** foi preparado por condensação

do ftalonitrilo **1** na presença de $Zn(OAc)_2 \cdot 2H_2O$ e DMAE/butan-1-ol (2:1) como solvente. Ao fim de 24 horas a 120 °C, concluiu-se a reação uma vez que já se tinha consumido o ftalonitrilo de partida. Após o arrefecimento da mistura reacional até à temperatura ambiente procedeu-se à lavagem com água e extraiu-se o produto com diclorometano. Purificou-se por cromatografia em coluna usando como fase estacionária óxido de alumina e como eluente clorofórmio para recolher o produto pretendido, obtendo-se a Pc **6b** com um rendimento de 60%.

Tabela 3.1. Rendimentos das metaloftalocianinas sintetizadas a partir do ftalonitrilo 1.

| | Rendimento (%) (isolado) | Rendimento (%) (literatura) |
|----------------|-----------------------------|--------------------------------|
| MgPc 6a | 48 | ----- |
| ZnPc 6b | 60 | 14 ⁴ |

Analisando a **tabela 3.1**, ambas as estratégias de síntese se revelaram eficientes para a obtenção das correspondentes metaloftalocianinas. No entanto, salienta-se que a estratégia de síntese usada para obter a ftalocianina **6b** conduziu a um rendimento de produto isolado muito superior ao descrito na literatura, para a obtenção da mesma ftalocianina (60% *vs* 14%).⁴

O método aqui utilizado permitiu obter o complexo metálico de zinco **6b** com um rendimento três vezes superior ao da literatura devido à utilização de uma mistura DMAE/butan-1-ol como solvente, uma vez que o DMAE permite uma solubilização total dos reagentes, mas a presença de butan-1-ol facilita a precipitação da ftalocianina diretamente a partir do meio reacional, reduzindo assim a possível decomposição do macrociclo durante a reação, salientando-se a eficácia deste método quando a ftalocianina possui substituintes polares ou sensíveis.⁵

Os dados de caracterização obtidos por RMN de ¹H, MS e UV-vis confirmaram serem estes os derivados obtidos. Devido ao facto dos dois derivados possuírem uma estrutura semelhante, divergindo apenas no metal, os espectros de RMN conseqüentemente serão similares, como tal, apenas faremos a discussão dos espectros do derivado **6a**, que não se encontra descrito na literatura. Pela análise do espectro de ¹H (**figura 3.1**) do composto **6a**, facilmente se distingue, na zona alifática, um singuleto atribuído à ressonância dos protões (\underline{CH}_3)₂ a δ 2,27ppm e um tripleto a δ 2,70-2,72 ppm devido à ressonância do grupo $-\underline{CH}_2$. Ainda podemos observar a presença do sinal do grupo metilénico diretamente ligado ao oxigénio ($O-\underline{CH}_2$), que apresenta um desvio mais elevado do que os restantes protões metilénicos devido à proximidade do átomo de azoto, justificando o aparecimento da respetiva ressonância a δ 4,09-4,11 ppm. Quanto à zona aromática do espectro, os sinais atribuídos à ressonância dos protões H_b e H_c surgem como um singuleto e um duplete a δ 7,21 ppm e a δ 7,07-7,09 ppm, respetivamente. A δ 7,61-7,63 ppm

encontra-se o sinal correspondente à ressonância do próton H_a na forma de um duplete, desvio químico típico da ressonância dos prótons aromáticos externos da ftalocianina.

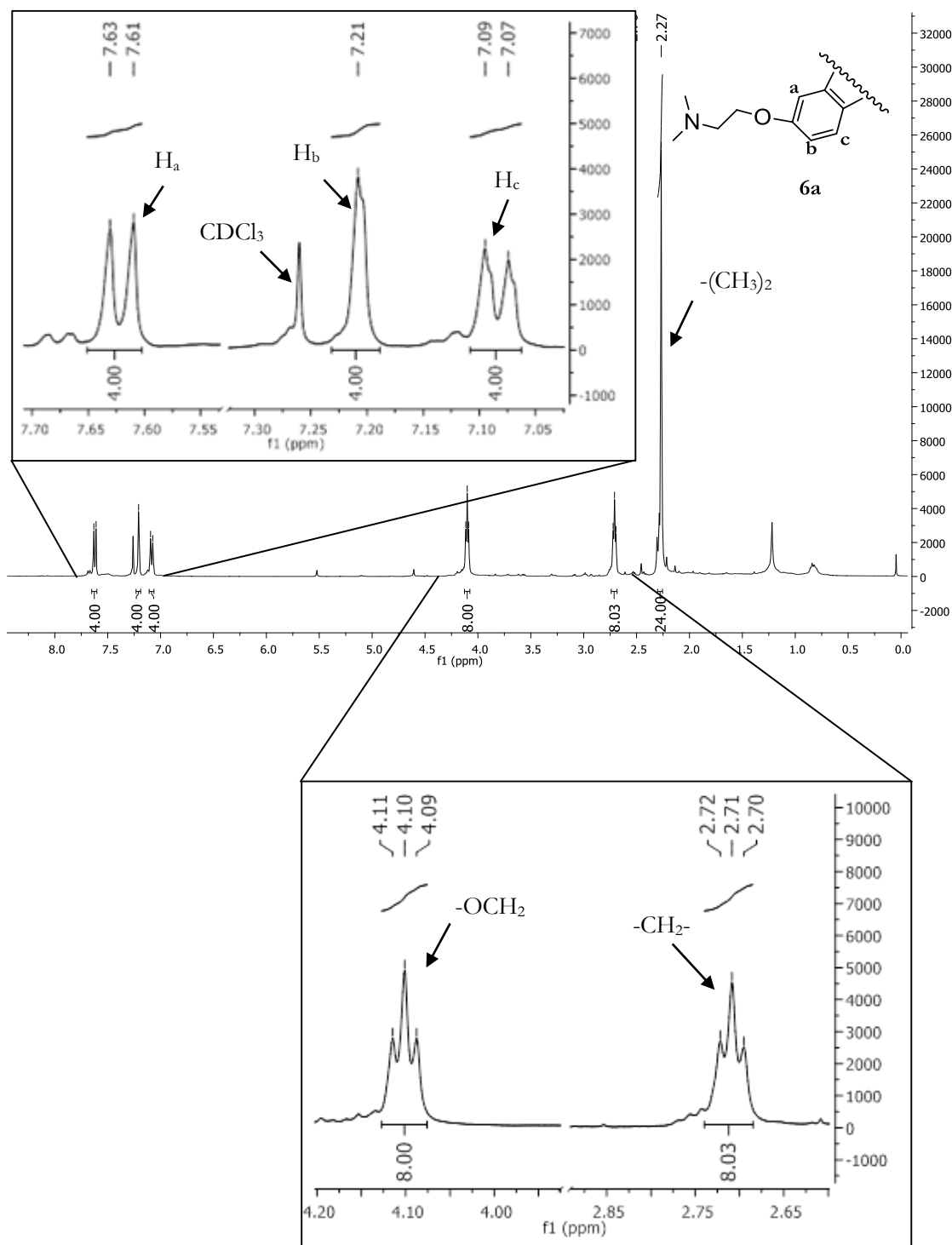


Figura 3.1. Espectro de RMN de ^1H da $\text{MgPc } \mathbf{6a}$ com ampliações de algumas regiões do espectro.

A estrutura das ftalocianinas **6a** e **6b** também foi confirmada pelos seus espectros de massa de alta resolução. A Pc **6a** apresenta um íão com m/z 885,4070 que corresponde ao íão $[M+H]^+$ (esperado: 884,4100) e o espectro da Pc **6b** apresenta um pico a 925,3598 correspondente ao íão $[M+H]^+$ (esperado: 925,3599).

Na **figura 3.2** está representado o espectro de UV-vis da MgPc **6a** registado no intervalo de comprimento de onda de 300 a 800 nm. O espectro apresenta uma banda Soret larga a 356 nm e uma banda Q a 682 nm, esta última banda apresenta-se estreita mas de elevada intensidade, mesmo em relação à banda Soret. Na mesma figura também está representado o espectro UV-vis da ZnPc **6b**.

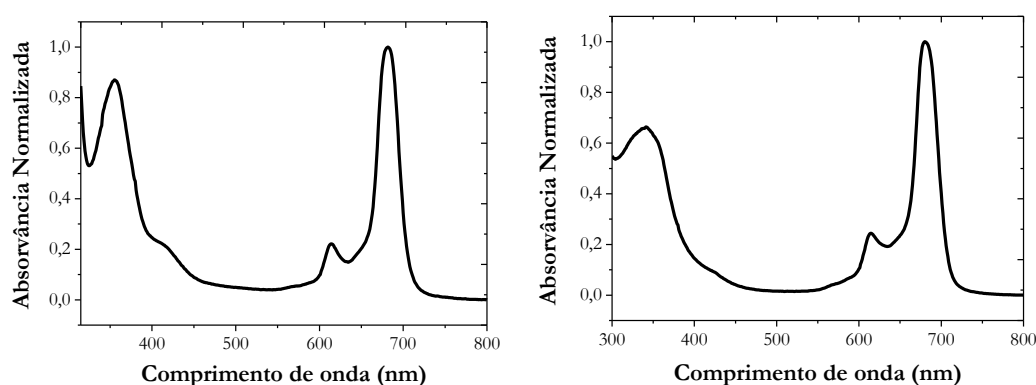


Figura 3.2. Espectros normalizados UV-vis das metaloftalocianinas obtidas. Lado esquerdo: espectro de UV-vis da ftalocianina **6a**; Lado direito: espectro de UV-vis da ftalocianina **6b**, em DMSO.

Após a obtenção das metaloftalocianinas de zinco(II) e magnésio(II) procedeu-se à sua desmetalização. A ftalocianina de base livre **7** foi preparada utilizando duas rotas sintéticas diferentes (**Esquema 3.2**), partindo num caso da MgPc **6a** e no outro da ZnPc **6b**.

Abordando a primeira rota sintética, a ftalocianina **6a** foi dissolvida numa mistura de THF/metanol (10:1). De seguida foi adicionado lentamente ácido trifluoracético (TFA) (aproximadamente 15mL) para a remoção do respetivo metal (magnésio) do centro da ftalocianina (**Esquema 3.2, via A, ii**). A evolução da reação foi controlada por espectroscopia UV-vis, e após 18 horas a 50°C a reação foi dada como terminada, depois de se observar o aparecimento das bandas típicas das ftalocianinas desmetaladas (**figura 3.3**). Após o arrefecimento da mistura reacional, esta foi concentrada para um volume de cerca de metade do inicial, sobre a qual se verteu uma solução aquosa de NaOH 1M (aproximadamente 30 mL) para precipitar o complexo de base livre. De seguida, o produto foi retomado numa mistura de diclorometano:metanol (20:1) e reprecipitado por adição de *n*-hexano, o que permitiu a obtenção do composto pretendido **7** puro com um rendimento de 45%.

Utilizando a outra abordagem sintética (**Esquema 3.2, via B, ii**), usando a ZnPc **6b** como material de partida, adicionou-se hidrócloro de piridina a uma solução de ZnPc **6b** em piridina, tendo a

reacção ficado sob agitação magnética durante 17h, a 110°C, e após proceder ao mesmo tipo de tratamento pós-reacional da anterior reacção de descomplexação, obteve-se o produto **7** com um rendimento de 79%, cuja caracterização espectroscópica se encontra na secção experimental.

Analisando os dois métodos de preparação da ftalocianina de base livre **7**, enquanto que o primeiro método, que utiliza o “template” de magnésio, proporciona um rendimento global de 22%, a utilização do método de complexação/descomplexação de zinco origina a ftalocianina **7** com um rendimento global de 48%, pelo que se revelou uma estratégia mais adequada à obtenção de bons rendimentos para a formação de ftalocianinas de base livre. É ainda de salientar que o mesmo composto foi descrito anteriormente com um rendimento de apenas 12%, fruto da tetramerização direta do ftalonitrilo **1**, sem a presença de sais metálicos, para a obtenção do derivado de base livre.⁴

Atendendo a que um dos nossos objetivos era sintetizar uma metaloftalocianina de manganésio (III), uma vez obtida o derivado de base livre procedeu-se à introdução do metal. A síntese do complexo metálico **8** envolveu a utilização de DMF como solvente, uma vez que este permite a dissolução tanto do sal metálico ($\text{Mn}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) como da ftalocianina **7**. Iniciou-se a respetiva reacção, dissolvendo a $\text{H}_2\text{Pc} **7** numa pequena quantidade de DMF e adicionando o respetivo sal, em excesso, a 80°C, como está ilustrado no **Esquema 3.2**. A evolução da reacção foi efetuada utilizando espectroscopia de absorção UV-vis (**figura 3.3**), por observação de um desvio no vermelho da banda Q para uma zona de maiores comprimentos de onda (de 704nm para 733nm), sendo que a reacção foi dada como terminada ao fim de 4 horas. Deixou-se a mistura arrefecer até a temperatura ambiente e precipitou-se o produto mediante a adição de éter dietílico. O crude da reacção foi aplicado no topo de uma coluna de óxido de alumina e eluído com uma mistura de diclorometano/metanol (10:1). O produto **8** foi obtido com um rendimento de 77%, sob a forma de um sólido castanho, após se ter procedido à sua reprecipitação com éter dietílico.$

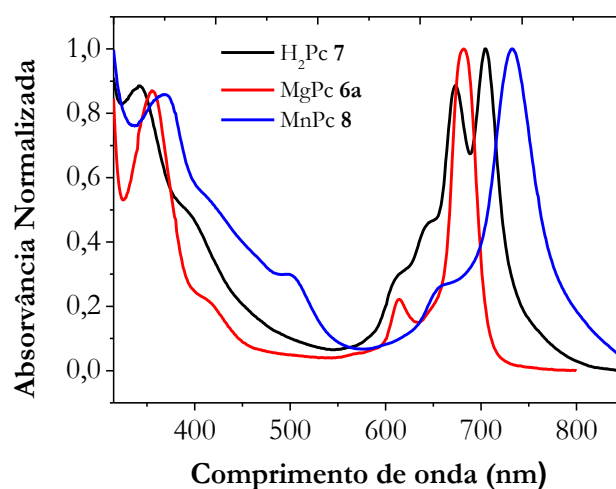


Figura 3.3. Espectro normalizado de UV-Vis da MgPc (composto **6a**), da H_2Pc (composto **7**) e da Mn(III)Pc (composto **8**), em DMSO.

Desta forma, a subsequente complexação da ftalocianina de base livre com acetato de manganésio(II) conduzida na presença de ar, utilizando DMF como solvente na presença de um excesso do sal metálico, originou o respetivo complexo metálico de Mn(III) **8** com um rendimento global de 61%, calculado a partir da correspondente ftalocianina de Zn(II) **6b**.

Dada a importância de complexos de Mn(II) para potenciais agentes de contraste em MRI,^{6,7} neste trabalho tentou-se obter também o correspondente complexo metálico coordenado com Mn(II). Numa experiência tipo, a complexação da ftalocianina de base livre com acetato de manganésio(II) foi conduzida na ausência de ar, sob atmosfera de argón, de forma a minimizar a oxidação do metal, utilizando DMF como solvente na presença de um excesso do sal metálico. Esta estratégia revelou-se infrutífera, uma vez que se obteve sempre uma mistura de ftalocianinas de Mn(II) e Mn(III) inseparável, como está ilustrado na **figura 3.4**. Ao analisar a **figura 3.4** observa-se a presença de uma banda Q com um máximo a um comprimento de onda de 725 nm, que é característico do estado de oxidação +3 do metal central manganésio da ftalocianina em estudo. Contudo, adicionalmente também se observa no espectro UV-vis uma outra banda cujo máximo surge a cerca de 680 nm, que corresponde à presença do complexo metálico de manganésio no estado de oxidação +2. Um possível motivo para a impossibilidade de se obterem ftalocianinas de manganésio(II) deste tipo dever-se-à ao facto de ftalocianinas possuindo substituintes com características dadoras de eletrões, tais como os grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo, são mais estáveis na forma de complexos de Mn(III) e não como complexos Mn(II), o quais apenas podem ser obtidos quando as respetivas ftalocianinas são substituídas com grupos fortemente atratores de eletrões, como por exemplo os grupos sulfónicos.⁸

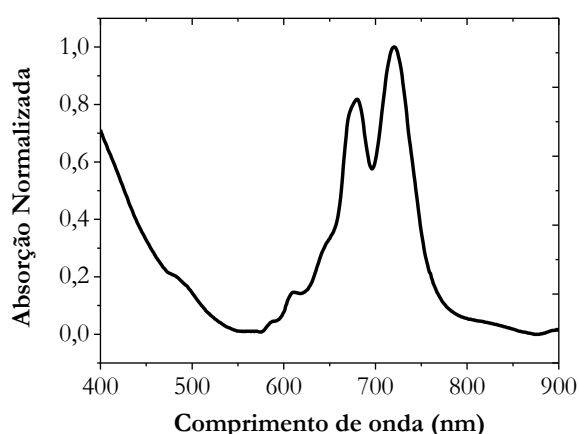


Figura 3.4. Espectro normalizado de UV-vis da mistura reacional da tentativa de metalização da ftalocianina de base livre **7** com acetato de manganésio (II), em DMF.

Dada a impossibilidade de se utilizar a técnica de RMN devido à presença de um metal paramagnético, recorreu-se à espectrometria de massa MALDI-TOF para identificar o composto **8**. Na **figura 3.5 a)** encontra-se representado o espectro de massa do composto **8**, enquanto que a

figura 3.5 b) exibe a matriz utilizada no ensaio MALDI-TOF. Subtraindo-se a matriz pode observar-se que o pico a m/z 915,3860, com menos 59 unidades de massa do que o composto esperado **8** (valor esperado m/z 974,3700) corresponde ao íon molecular. O valor de m/z obtido é representativo da perda do grupo $-OAc$, axialmente ligado ao metal na cavidade da ftalocianina, devido ao carácter lábil desta ligação nas condições de medida das massas.

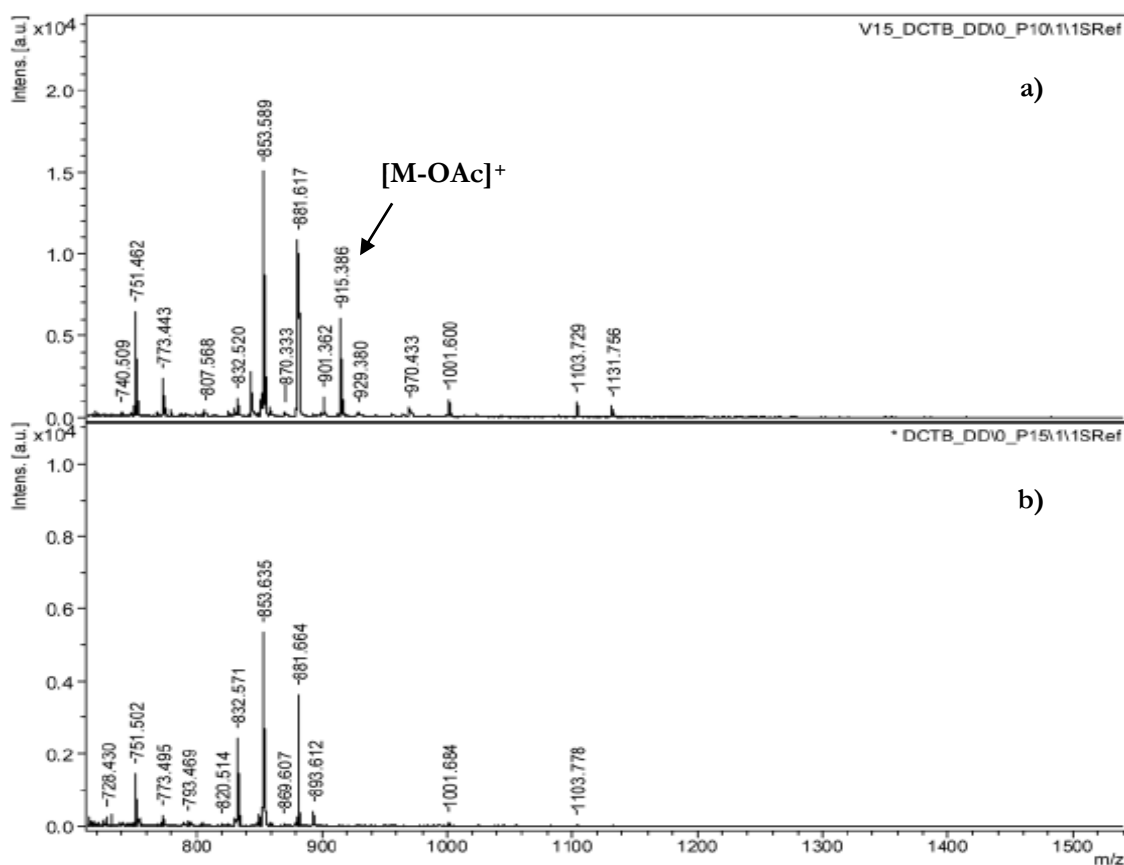


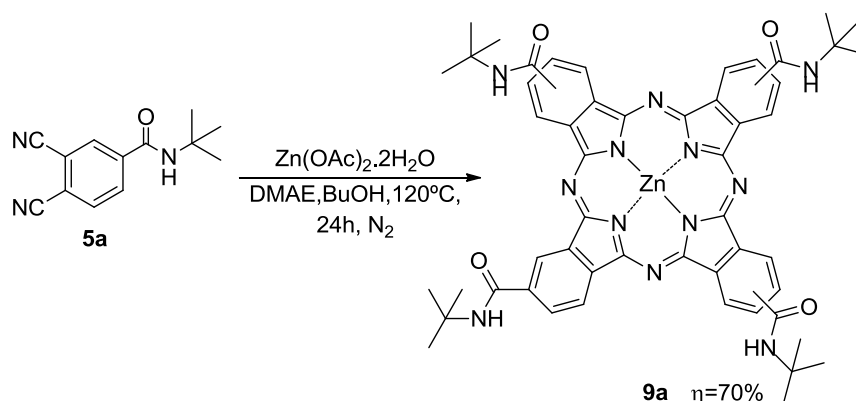
Figura 3.5. a) Espectro MALDI-TOF da MnPc **8** e b) Espectro de massa da matriz usada - 2-[(2E)-3-(4-tert-butilfenil)-2-(metilprop-2-enilidene)malononitrilo – no ensaio MALDI-TOF.

3.2 Síntese de ftalocianinas funcionalizadas com diversas carboxamidas

Tal como havia sido referido no Capítulo 1 desta dissertação e reforçado no início deste capítulo, pretendiam-se obter compostos com as funcionalidades adequadas para serem utilizados como potenciais biomarcadores fluorescentes em técnicas de diagnóstico por imagiologia ótica de fluorescência. Assim, neste tópico são abordadas algumas estratégias sintéticas que permitam a obtenção de um conjunto de compostos tetra-funcionalizados com substituintes derivados de aminoácidos. Deste modo, após a síntese dos diversos ftalonitrilos funcionalizados com grupos

amida, já descrita no capítulo anterior, pretendeu-se realizar a síntese das respetivas ftalocianinas de zinco simétricas tetrassubstituídas.

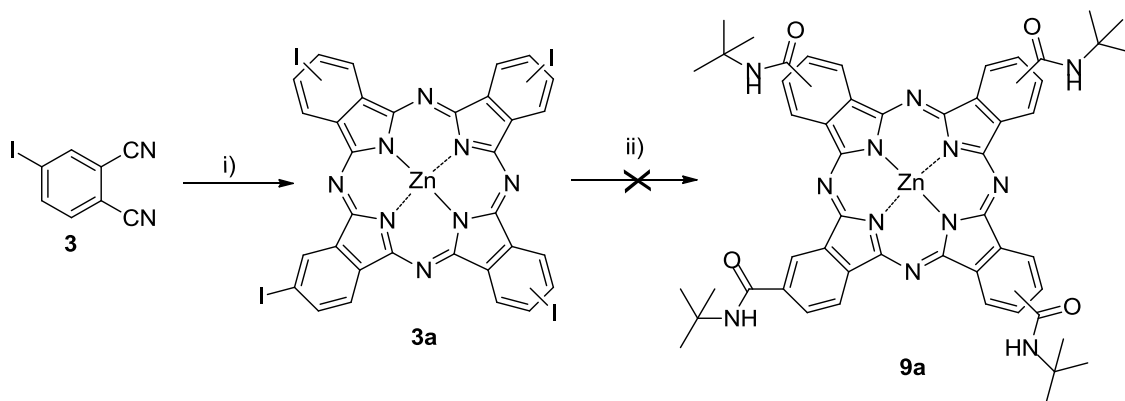
Os estudos de síntese das ftalocianinas substituídas iniciaram-se com a reação de ciclometamerização do ftalonitrilo **5a**, como modelo,⁹ como está ilustrado no **Esquema 3.3**.



Esquema 3.3. Síntese da ftalocianina de zinco **9a**.

Assim, numa experiência tipo, a condensação do ftalonitrilo **5a** foi efetuada na presença de acetato de zinco di-hidratado em uma mistura de DMAE e butan-1-ol (2:1, respetivamente), a 120°C, sob atmosfera de azoto, sendo que, ao fim de 24h, um controlo por TLC mostrou que o reagente de partida havia sido totalmente consumido. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente e precipitou-se a ftalocianina por adição de *n*-hexano. Após filtração e lavagem com água, a purificação do resíduo obtido, recorrendo a cromatografia em coluna com gel de sílica como fase estacionária e como eluente uma mistura de diclorometano/metanol (20:1), permitiu obter o pretendido macrociclo ftalocianínico funcionalizado com 4 unidades carboxamida **9a** com um rendimento de 70%, **Esquema 3.3**. A caracterização estrutural do composto obtido **9a** foi efetuada recorrendo a técnicas de RMN de ¹H, à espectrometria de massa e UV-vis, sendo que os dados espectroscópicos encontram-se na secção experimental, Capítulo 5.

Por outro lado, como já referido no Capítulo 1 desta dissertação a própria modificação de ftalocianinas previamente sintetizadas também se afigura uma alternativa válida, ainda que seja uma área que não está tão desenvolvida como em relação às modificações efetuadas com porfirinas, seus compostos análogos. Neste contexto, considerou-se relevante explorar o método da aminocarbonilação catalisada por complexos de paládio na funcionalização do próprio macrociclo tetrapirrólico. Desta forma, neste estudo promoveu-se a reação de aminocarbonilação com *tert*-butilamina como nucleófilo, partindo do macrociclo tetraiodado **3a**. A ftalocianina tetra-iodada **3a** foi previamente sintetizada pela ciclometamerização do 4-iodoftalonitrilo, e usada na reação de aminocarbonilação catalisada por complexos de paládio para obter a respetiva função amida no macrociclo (**Esquema 3.4**).

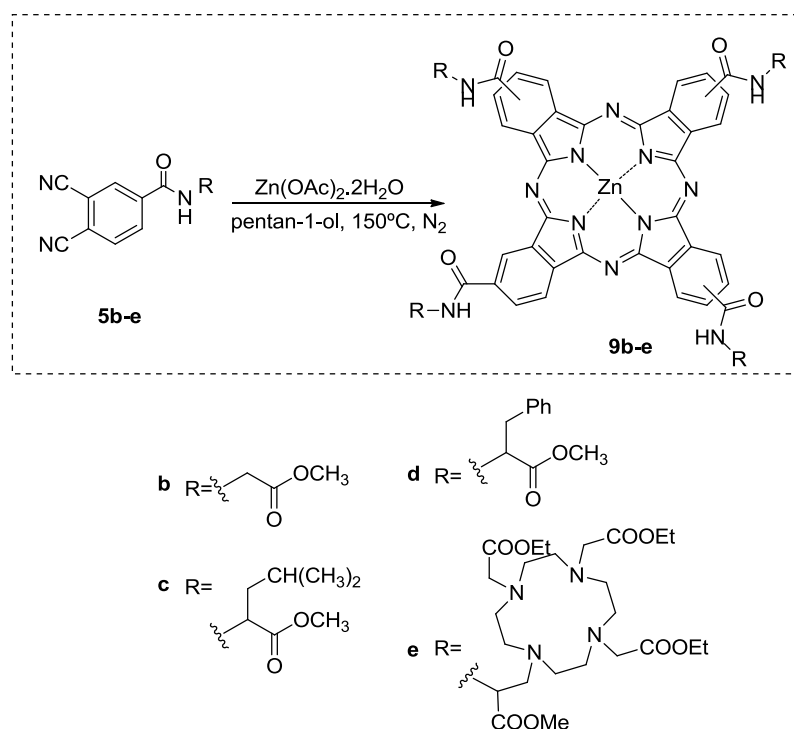


Esquema 3.4. Condições e reagentes: i) $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DMAE, 140°C , 15h, 76%; ii) *tert*-butilamina, NEt_3 , DMF, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PPh_3 , 65°C , 10bar, 56h, produto não isolado.

Assim, adicionou-se acetato de zinco di-hidratado a uma solução de 4-iodoftalonnitrilo **3** em DMAE, que reagiu durante 15h sob refluxo. Após isolamento por precipitação com metanol, obteve-se o composto **3a** com um rendimento de 76% (**Esquema 3.4**). A caracterização espectroscópica encontra-se descrita detalhadamente na secção experimental.¹⁰

Depois de efetuada a síntese do substrato **3a**, procedeu-se à tentativa de funcionalização periférica da ZnPc **3a**. Assim, usando o procedimento já anteriormente usado para a síntese das carboxamidas *via* aminocarbonilação, fez-se reagir a ZnPc **3a** com um grande excesso de nucleófilo *tert*-butilamina (cerca de 40 equivalentes), em DMF a 65°C , sob atmosfera de monóxido de carbono (10 bar), usando o sistema catalítico $\text{Pd}(\text{OAc})_2(\text{PPh}_3)_2$ e trietilamina como base (**Esquema 3.4**). Após 56h deu-se por terminada a reação, e observou-se a presença de várias manchas no TLC da mistura reacional, correspondendo a uma mistura complexa de compostos com diferentes graus de substituição, conseqüentemente muito difíceis de separar, para além da presença de material de partida. Devido necessidade de um trabalho moroso de separação das diversas manchas, optou-se pela metodologia baseada na ciclometamerização do ftalonnitrilo **5a**, explícita no **Esquema 3.3**.

Tendo em conta que o principal objetivo deste trabalho era a síntese de ftalocianinas simétricas tetrassubstituídas com diversas carboxamidas, decidiu-se enveredar pela via de síntese que recorre aos ftalonnitrilos substituídos previamente, uma vez que o único produto obtido da ciclometamerização de ftalonnitrilos é a correspondente ftalocianina simétrica tetra-substituída. Assim, os estudos foram então posteriormente estendidos às restantes carboxamidas sintetizadas previamente (**5b-5d**) (**Esquema 3.5**).



Esquema 3.5. Síntese das metalofalocianinas de zinco funcionalizadas com carboxamidas derivadas de aminoácidos e do agente quelante $\text{DO}_3\text{A-NH}_2\text{-}\alpha$.

A reação de ciclotetramerização do ftalonitrilo **5b** foi otimizada e os resultados encontram-se na **tabela 3.2**.

Tabela 3.2 Condições de reação utilizadas na tentativa de síntese da ftalocianina **9b**.

| Entrada | Composto | Condições reacionais | Rendimento de produto isolado (%) |
|---------|-----------|---|-----------------------------------|
| 1 | 9b | $\text{Zn(OAc)}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DMAE, 120°C , 17h, N_2 | 4,3 |
| 2 | 9b | $\text{Zn(OAc)}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, butan-1-ol/DMAE (1:2), 120°C , 24h, N_2 | 5,8 |
| 3 | 9b | $\text{Zn(OAc)}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pentan-1-ol, 150°C , 8h, N_2 | 58 |

Numa primeira abordagem, a ciclotetramerização do ftalonitrilo **5b** foi efetuada usando sal metálico acetato de zinco di-hidratado em DMAE, a 120°C (**tabela 3.2**, entrada 1). Ao fim de 17 horas observou-se por TLC o consumo total do reagente de partida, bem como a formação de ftalocianina, por UV-vis. Quando se tentou isolar e purificar o produto, observou-se que a metalofalocianina sintetizada apresentava uma solubilidade muito baixa em diclorometano, e grande parte do produto obtido era solúvel em água (observou-se este facto quando se procedeu à

extração com água/diclorometano visando a remoção de impurezas solúveis em água). Após fazer um espectro UV-vis da fase aquosa confirmou-se a presença do complexo metálico de zinco. Este resultado pode interpretar-se pela ocorrência de hidrólise parcial dos ésteres metílicos do derivado de aminoácido resultando numa mistura de compostos com diferentes graus de desproteção/proteção. Esta hipótese foi corroborada por TLC, que revelou a presença de três manchas verdes com R_f diferentes. Procedeu-se ao isolamento da primeira banda (menos polar), por coluna cromatográfica com gel de sílica, como fase estacionária, usando acetato de etilo/etanol (10:1), uma vez que as restantes bandas permaneceram no ponto de aplicação. Este composto isolado, por evidência experimental, confirmou-se ser o composto **9b**. O motivo para a ocorrência de hidrólise parcial dos grupos éster poderá ser decorrente das condições reacionais básicas, devido à utilização de DMAE, um álcool que possui carácter básico, favorecendo a ocorrência da hidrólise básica dos grupos protetores.

De seguida, usaram-se as mesmas condições utilizadas na reação de condensação anteriormente descrita, mas usando ftalonitrilo **5b** como reagente de partida (**tabela 3.2**, entrada 2). Após 24 horas, a reação foi dada como terminada uma vez que todo o ftalonitrilo de partida havia sido consumido, observando-se por espectroscopia UV-vis o espectro típico de um macrociclo ftalocianínico. Na tentativa de isolamento do produto, observou-se a mesma situação descrita anteriormente, pelo que se concluiu que a presença de uma base (DMAE) pode ser prejudicial à formação do composto **9b**, devido à ocorrência de hidrólise. Para ultrapassar este problema decidiu-se efetuar estudos no sentido de encontrar uma estratégia para obter seletivamente a metaloftalocianina **9b** e com rendimentos mais satisfatórios. Assim, dissolveu-se o ftalonitrilo **5b** em pentan-1-ol, e em seguida adicionou-se o acetato de zinco di-hidratado e, a reação foi colocada a uma temperatura de 150°C, sob atmosfera de azoto (**Esquema 3.5**). A reação foi controlada por TLC após 8 horas, já não existia evidência da presença de material de partida. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, isolamento e purificação por coluna cromatográfica utilizando como fase estacionária gel de sílica e, usando primeiramente uma mistura de clorofórmio/acetato de etilo (2:1) e depois uma mistura de acetato de etilo/etanol (10:1) como eluentes, obteve-se a ftalocianina **9b** com um rendimento de produto isolado de 58 % (**tabela 3.2**, entrada 3).

Uma vez encontradas as condições de reação adequadas para obter as ftalocianinas pretendidas com bons rendimentos, decidiu-se estendê-las à reação de ciclotetramerização com os ftalonitrilos funcionalizados com as diversas carboxamidas de estruturas diferentes. Começou-se por promover a reação dos ftalonitrilos **5c**, **5d** e **5e** com acetato de zinco di-hidratado nas condições acima descritas (**Esquema 3.5**). A reação foi controlada por TLC e, após 8 horas, já não se observava a presença de material de partida. Após evaporação do solvente e precipitação do produto com *n*-hexano, filtração e lavagem com água, o crude foi posteriormente purificado por cromatografia em coluna, usando como fase estacionária gel de sílica e como fase móvel uma mistura de eluentes apropriada para a obtenção dos produtos **9b**, **9c** e **9d**. Após purificação por

cromatografia a estrutura das metalofalocianinas de zinco **9b-9d** foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H , espectrometria de massa e espectroscopia UV-vis. A caracterização destes compostos encontra-se descrita detalhadamente na seção experimental, Capítulo 5. Na **tabela 3.3** apresentam-se as condições de reação e os rendimentos de produto isolado para cada uma das ftalocianinas funcionalizadas com grupos carboxamida sintetizadas.

Tabela 3.3. Condições reacionais e rendimentos de produto isolado para as reações de ciclotramerização e respectivas metalofalocianinas.

| Entrada | Composto | Condições reacionais | Tempo (h) | Rendimento (%) |
|---------|-----------|--|-----------|----------------|
| 1 | 9a | Zn(OAc) ₂ .2H ₂ O, butan-1-ol, DMAE, 120°C, N ₂ | 24 | 70 |
| 2 | 9b | Zn(OAc) ₂ .2H ₂ O, pentan-1-ol, 150°C, N ₂ | 8 | 58 |
| 3 | 9c | Zn(OAc) ₂ .2H ₂ O, pentan-1-ol, 150°C, N ₂ | 8 | 53 |
| 4 | 9d | Zn(OAc) ₂ .2H ₂ O, pentan-1-ol, 150°C, N ₂ | 8 | 60 |
| 5 | 9e | Zn(OAc) ₂ .2H ₂ O, pentan-1-ol, 150°C, N ₂ | 8 | ^a |

^aProduto não isolado.

Fazendo uma análise crítica dos resultados apresentados na **tabela 3.3**, observou-se que, na presença do ftalonitrilo **5a** como material de partida, a reação de ciclotramerização ocorreu em 24 horas tendo-se obtido um rendimento de produto isolado de 70% para a ftalocianina-carboxamida **9a** (**tabela 3.3**, entrada 1). Quando se efetuou a reação de ciclotramerização usando como ftalonitrilos de partida os três derivados de ésteres de aminoácidos, observou-se que foi necessário apenas 8 horas para que ocorresse a conversão do ftalonitrilo na respectiva ftalocianina, o que poderá ser resultado da utilização de temperaturas mais elevadas na reação, que normalmente favorecem a reação de ciclotramerização de ftalonitrilos.⁵ Os rendimentos de produtos isolados das metalofalocianinas conjugadas com os ésteres metílicos de aminoácidos **9b**, **9c** e **9d** foram de 58 %, 53 %, 60 %, respetivamente (**tabela 3.3**, entradas 2-4). Estas pequenas alterações nos rendimentos poderão não ser atribuídas à diferente reatividade dos ftalonitrilos de partida na reação de ciclização, mas sim ao processo de isolamento e de *work-up* dos produtos. Contudo, os rendimentos obtidos para as diferentes ftalocianinas conjugadas com aminoácidos **9b-9d** são ligeiramente inferiores quando comparados com o rendimento da ftalocianina funcionalizada com *tert*-butilcarboxamida.

Uma vez sintetizado o ftalonitrilo conjugado com o DO₃A-NH₂- α foram ainda efetuados estudos preliminares no sentido de sintetizar a respectiva ftalocianina de zinco (**Esquema 3.5**). A reação foi seguida por TLC e o ftalonitrilo foi consumido ao longo do tempo, formando-se um produto mais polar que permanecia no ponto de aplicação do TLC, quando eluído com

diclorometano/acetato de etilo (1:1). Por limitação de tempo, a caracterização deste produto ainda está a ser efetuada e por isso não se encontra na secção experimental. Contudo e apenas como resultado preliminar, na **figura 3.6** encontra-se o espectro de absorção UV-vis. O espectro normalizado de UV-vis da ftalocianina **9e** em THF mostra os máximos das bandas Q a 678 e a 612nm e o máximo da banda Soret a 346nm, indicativos da presença da ftalocianina pretendida.

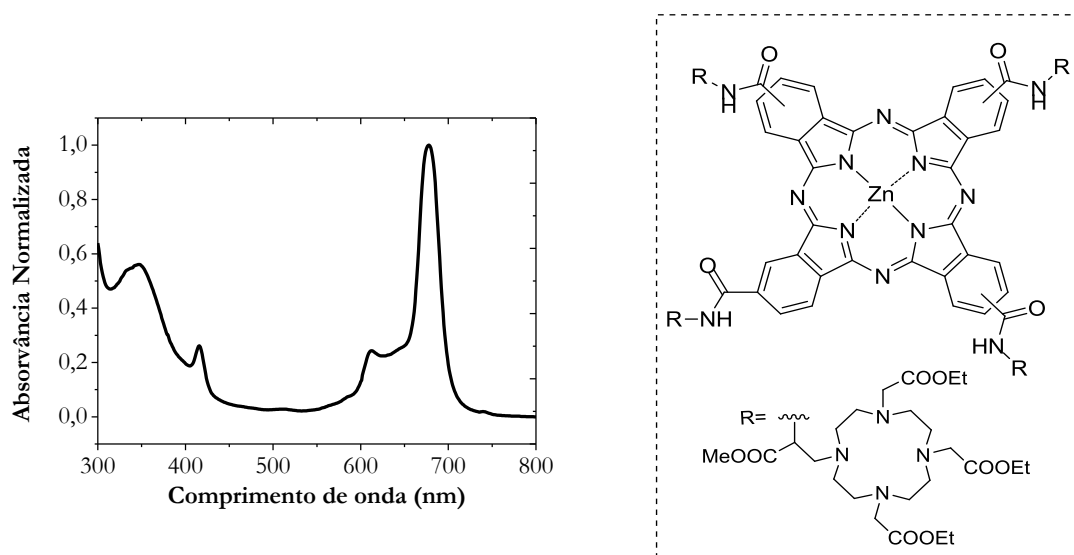


Figura 3.6. Lado esquerdo: espectro normalizado de UV-vis do composto formado pela ciclotetramerização do ftalonitrilo funcionalizado com um grupo DO₃A-NH₂- α (**9e**), em THF. Lado direito: estrutura do composto **9e**.

3.3 Conclusão

Neste capítulo descreveram-se métodos de síntese eficientes de complexos metálicos de ftalocianinas, incorporando como substituintes grupos carboxamida derivatizados com aminoácidos ou grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo, previamente selecionados pela biocompatibilidade e especificidade que oferecem para tecidos tumorais. No caso do primeiro grupo de derivados de ftalocianinas sintetizadas, conclui-se que a síntese do complexo metálico de manganésio (III), *via* complexo de zinco (ou alternativamente de magnésio), seguido de desmetalção e transmetalção, com a prévia introdução de grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo no ftalonitrilo de partida é um método viável e reprodutível para obter a ftalocianina pretendida, com um rendimento global de síntese de 61%.

Por outro lado, a síntese de novas ftalocianinas derivatizadas com aminoácidos desenvolvidas nesta secção *via* reação de ciclotetramerização com a prévia modulação das propriedades anfífilicas e de biocompatibilidade nos precursores, *via* reação de aminocarbonilação, constitui um método inovador para obter as estruturas pretendidas, possibilitando a preparação de

compostos com as características estruturais desejadas como potenciais biomarcadores fluorescentes para aplicação em diagnóstico por imagiologia ótica de fluorescência, e com bons rendimentos de síntese (53-60%). Destacamos ainda o composto **6e**, uma metalofalocianina tetra-funcionalizada com 4 grupos $\text{DO}_3\text{A-NH}_2\text{-}\alpha$, que após purificação e caracterização estrutural completa poderá abrir novos horizontes não só como potencial biomarcador fluorescente, mas sim como uma promissor agente de contraste bimodal, na medida em que a complexação do agente quelante $\text{DO}_3\text{A-NH}_2\text{-}\alpha$ com metais paramagnéticos com elevados tempos de relaxação como o Gd(III) potencia a sua utilização em MRI.

3.4 Referências

- [1] T. P. Wijesekera, D. Dolphin, in *Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations*, Ed. R. A. Sheldon, Marcel Dekker Inc., New York, **1994**, 193-239.
- [2] M. J. F. Calvete, D. Dini, S. R. Flom, M. Hanack, R. G. S. Pong, J. S. Shirk, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, *16*, 3499.
- [3] J. Alzeer, P. J. C. Roth, N. W. Luedtke, *Chem. Commun.*, **2009**, 1970.
- [4] L. Zhang, J. Huang, L. Ren, M. Bai, L. Wu, B. Zhai, X. Zhou, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 303.
- [5] X. Alvarez-Mico, M. J. F. Calvete, M. Hanack, T. Ziegler, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 3283.
- [6] M. Kueny-Stotz, A. Garofalo, D. Felder-Flesch, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2012**, *12*, 1987.
- [7] S.K. Saini, A. Jena, J. Dey, A.K. Sharma, R. Singh, *Magn. Reson. Imag.*, **1995**, *13*, 985.
- [8] O. V. Dolotova, N. I. Bundina, O. L. Kaliya, E. A. Lukyanets, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **1997**, *1*, 355.
- [9] R. M.B. Carrilho, M. M. Pereira, A. Takács, L. Kollár, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 204.
- [10] E. M. Maya, P. Haisch, P. Vázquez, T. Torres, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 4397.

Capítulo 4

Avaliação das propriedades das ftalocianinas sintetizadas para potencial aplicação em imagiologia médica

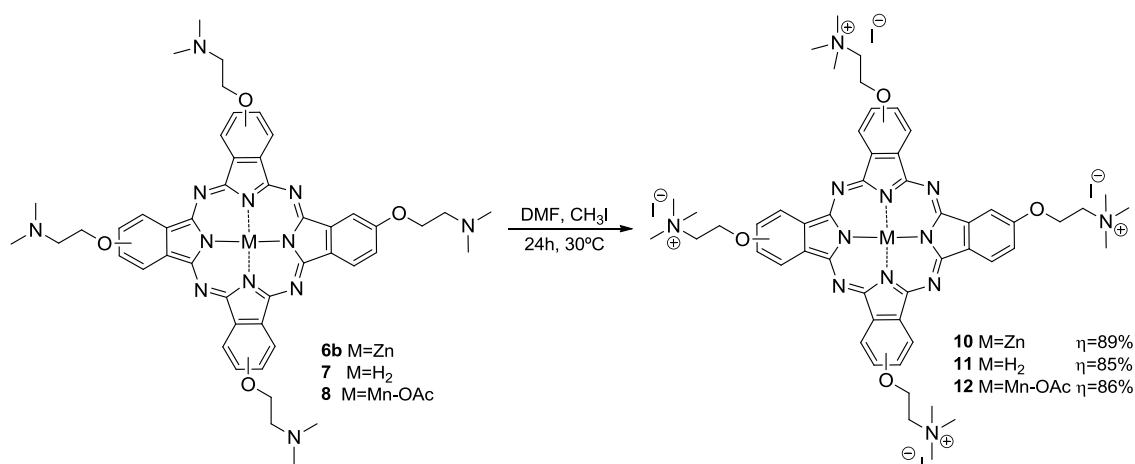
Tal como tinha sido referido, o objetivo central desta dissertação consiste na modelação estrutural das ftalocianinas de modo a aumentar a sua solubilidade e biocompatibilidade para potencialmente poderem ser utilizados na área da biomedicina. Assim, a fim de obter compostos com características desejáveis para serem usados como potenciais agentes de diagnóstico em técnicas de imagiologia médica, é então importante que estes apresentem uma moderada/alta solubilidade em água. Para tal, é necessário procurar estratégias que permitam transformar o grupo de ftalocianinas previamente sintetizadas nos respetivos derivados solúveis em água. Neste contexto existem duas possíveis estratégias com vista à modelação das propriedades anfífilas das ftalocianinas: i) metilação da unidade dimetilamino das ftalocianinas que contêm na sua estrutura substituintes *N,N*-dimetilaminoetoxilo, dando origem aos correspondentes análogos carregados positivamente (grupos colina) e ii) hidrólise do grupo éster metílico dos aminoácidos no correspondente ácido carboxílico livre.

Por questões temporais, nos estudos que conduziram à escrita desta dissertação apenas efetuámos a primeira estratégia, procedendo à cationização de alguns compostos da série anterior. Procedeu-se ainda a uma avaliação preliminar de algumas propriedades fotofísicas das ftalocianinas sintetizadas ao longo deste trabalho, e a um estudo de relaxividade, no caso particular da ftalocianina de manganésio (III) catiónica para avaliar a sua eficácia como potencial agente de contraste para MRI.

4.1 Síntese das ftalocianinas catiónicas

Como já referido no Capítulo 2 desta dissertação, a introdução do grupo colina na periferia do macrociclo permite a criação de um sistema anfílico e específico para as células tumorais. A carga positiva é facilmente gerada através da formação de azotos quaternários, por reação da unidade trietilamino, existente nos compostos sintetizados na secção anterior, com halogenetos de alquila de cadeias variáveis. De acordo com a literatura,¹ a metilação com iodometano (muito reativo em reações S_N2) é um dos métodos mais utilizados para cationizar ftalocianinas que contêm na sua estrutura grupos amino terciários. Assim, as ftalocianinas **6b**, **7** e **8** foram previamente dissolvidas em DMF e adicionou-se um largo excesso de CH_3I (cerca de 230 equivalentes). A mistura reacional

permaneceu a 30°C durante aproximadamente 24 horas, para garantir que todos os grupos amino ficavam metilados (**Esquema 4.1**).



Esquema 4.1 Síntese das ftalocianinas tetracatiónicas

Após o término da reação, isolou-se o produto final por precipitação com éter dietílico a partir do meio reacional, obtendo-se as ftalocianinas **10**, **11** e **12** com rendimentos elevados (89%, 85% e 86%, respetivamente).

Os rendimentos de produto isolado e caracterização por RMN ¹H e análise elemental dos compostos **10** e **11**, encontram-se de acordo com os dados da literatura.² O composto **12** não está descrito na literatura e apresenta-se pela primeira vez a sua caracterização, cujos dados espectroscópicos se encontram na secção experimental, Capítulo 5.

4.2 Espectroscopia de absorção UV-vis e de emissão de fluorescência

4.2.1 Estudos fotofísicos de ftalocianinas substituídas com grupos colina

Após concluído o isolamento e purificação das ftalocianinas solúveis em água efetuou-se a respetiva caracterização fotofísica, de modo a comprovar a adequabilidade destes compostos aos objetivos definidos nesta dissertação. Neste contexto, um aspeto fotofísico importante para caracterizar as ftalocianinas sintetizadas é o cálculo do valor da absorvidade molar para cada banda do espectro de absorção, com recurso à lei de Beer-Lambert,

$$A = \epsilon lc$$

(Equação 4.1)

Onde A é a absorvância, ϵ é o coeficiente de absorvidade molar (em $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), l é o caminho ótico percorrido pela luz (espessura do meio absorvente em cm) e c é a concentração da solução (em mol L^{-1}). Assim, foram preparadas soluções em DMSO com concentrações entre 10^{-5} e 10^{-6} M, tendo-se determinado os espectros de absorção UV-visível com as respectivas absorvâncias de cada banda. Posteriormente, representou-se num gráfico os valores das absorções máximas correspondentes a cada banda do espectro UV-vis, em função da concentração, **Figura 4.1**, e através do declive da reta ajustada determinou-se o valor do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) para a banda pretendida. A título de exemplo apresenta-se uma das retas utilizadas na determinação do ϵ para a banda Q do complexo metálico da ftalocianina **10**, dada a relevância da banda Q para as aplicações em imagiologia médica. Todos os outros valores de ϵ foram determinados de igual modo e apresentam-se na **Tabela 4.1**. É de referir que os coeficientes de correlação obtidos para as retas foram bastante bons e na gama de concentrações utilizadas não se observou qualquer desvio à lei de Beer-Lambert, o que permitiu concluir a ausência de agregação entre as moléculas de ftalocianinas.

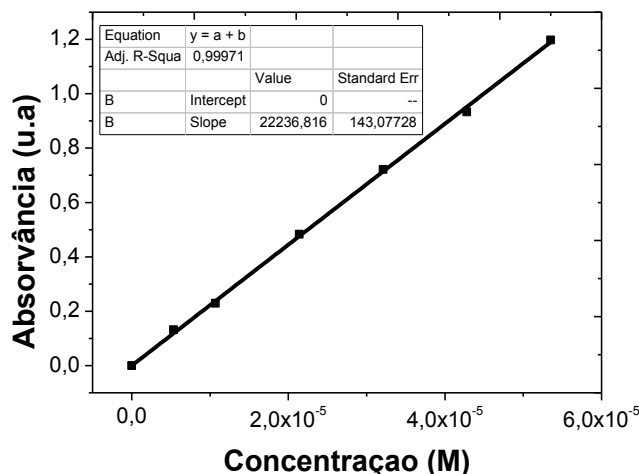


Figura 4.1. Gráfico de absorvância em função da concentração para a banda Q ($\lambda=681$ nm) da ftalocianina **10**.

Na **Figura 4.2** encontram-se os espectros de absorção das ftalocianinas **10-12**.

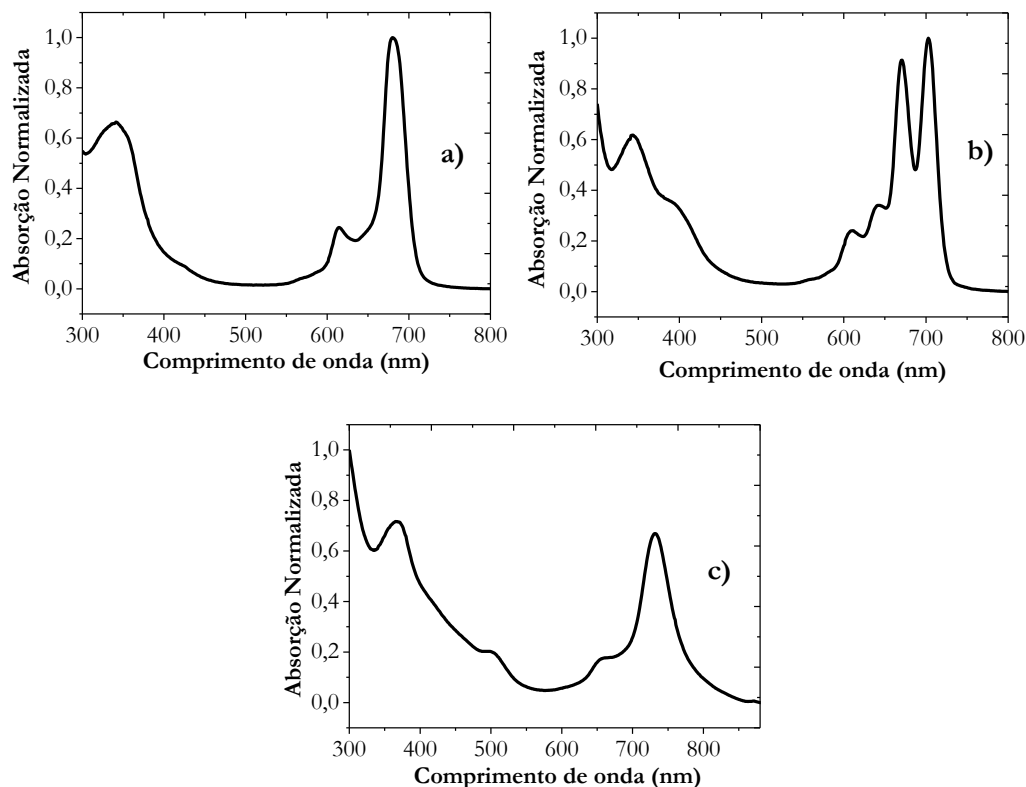


Figura 4.2. Espectros normalizados de absorção Uv-vis das ftalocianinas: a) Zn(II)Pc **10**; b) H₂Pc **11**; c) Mn(III)Pc **12**

Analisando os espectros de absorção apresentados na **figura 4.2**, observa-se que no caso do complexo metálico de zinco (II) **10**, o espectro apresenta a banda Soret a 342 nm e uma banda Q a 680 nm. Por outro lado, no caso do complexo de base livre **11** observa-se o desdobramento típico da banda Q e um desvio desta para comprimentos de onda superiores (de 680 nm para 704 nm) (ver **tabela 4.1**). Na mesma figura é apresentado o espectro de absorção do complexo de manganésio (III) **12**. Comparando com o obtido para a base livre **11**, além de se observar a transformação esperada das bandas Q, observa-se um desvio de 25 nm da banda Soret (de 343 nm para 368 nm) e um desvio de 27 nm da banda Q (de 704 nm para 732 nm) para a zona do vermelho. O desvio batocrômico observado pode ser atribuído à presença do metal Mn(III) na cavidade central do macrociclo que provoca uma diminuição da diferença de energia entre as orbitais HOMO e LUMO da ftalocianina.

Tabela 4.1. Absorção e emissão e rendimentos quânticos de fluorescência das ftalocianinas sintetizadas, em DMSO.

| Composto | Banda Soret $\lambda_{\max}/\log \epsilon$ | Banda Q $\lambda_{\max}/\log \epsilon$ | Desvio de stokes | Emissão λ_{\max} (nm) | Φ_F |
|----------------|---|---|---------------------|----------------------------------|----------|
| ZnPc 10 | 342 (3,66) | 612 (3,61), 680 (4,30) | 7 | 694 | 0,12 |
| H2Pc 11 | 343 (4,60) | 673 (4,40), 705 (4,42) | 8 | 715 | 0,30 |
| MnPc 12 | 368 (4,22) | 652 (3,52), 732 (4,21) | ----- | ----- | ----- |

Seguidamente com o intuito de estudar a potencial aplicação dos derivados de ftalocianinas como biomarcadores fluorescentes em imagiologia ótica de fluorescência recorreu-se à espectroscopia fluorescência para determinar alguns parâmetros fotofísicos.

Quando uma molécula absorve luz pode sofrer uma sucessão de processos radiativos e não radiativos, como é mostrado no diagrama de *Jablonski*,³ **figura 4.3**.

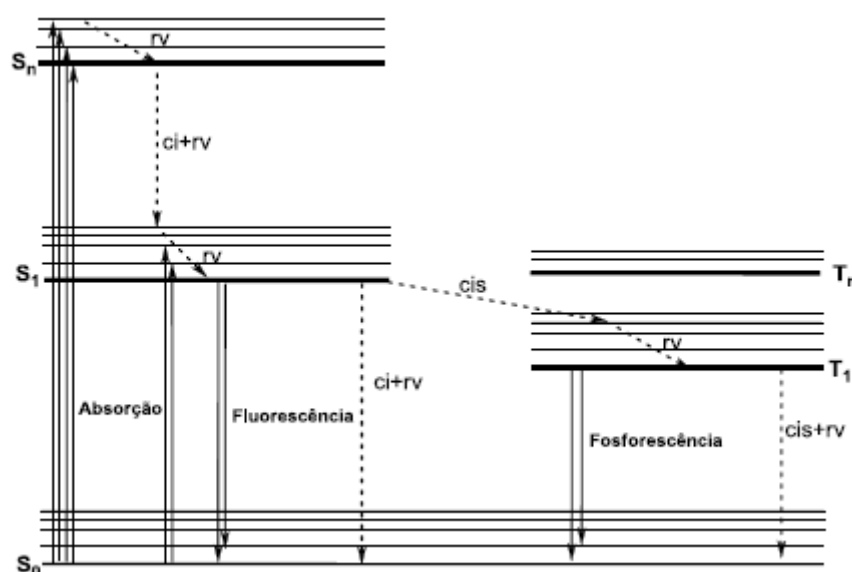


Figura 4.3. Diagrama de *Jablonski* indicando os processos fotofísicos: fluorescência, fosforescência, conversão interna (ci), conversão intersistemas (cis) e relaxação vibracional (rv). As setas a cheio indicam os processos radiativos e as setas a tracejado indicam os processos não radiativos.

Segundo este diagrama quando uma molécula, inicialmente no seu estado fundamental S₀, absorve um fóton de radiação transita para um estado excitado de mais alta energia; S₁, S₂, S_n. De referir que apesar da absorção poder levar o eletrão para estados de excitação elevados, este vai decair até ao estado de mais baixa energia (S₁) através de colisões com outras moléculas vizinhas, sem a

emissão de luz. Assim, após a passagem do eletrão para o estado excitado S_1 , este pode regressar para o estado fundamental S_0 , sob a forma de emissão luz (fluorescência), ou pode sofrer conversão intersistemas e passar ao estado tripleto, com o conseqüente retorno ao estado fundamental através de emissão de luz (fosforescência). É de referir que as ftalocianinas obedecem à regra de Kasha,⁴ e desta forma os espectros de fluorescência apenas apresentam bandas de emissão do tipo Q e não do tipo Soret, uma vez que não ocorre emissão a partir de estados eletrónicos superiores ao estado S_1 como já referido anteriormente. Assim, quando a transição é realizada entre o nível vibracional mais baixo do estado excitado e o nível vibracional mais baixo do estado fundamental origina a banda Q, que no respetivo espectro é identificada como a banda de maior energia.

Após a obtenção dos espectros de absorção os estudos prosseguiram no sentido de determinar os espectros de emissão dos compostos sintetizados bem como os seus rendimentos quânticos de fluorescência.

Na **figura 4.4** são apresentados os espectros de emissão de fluorescência sobrepostos com os de absorção das ftalocianinas **10** e **11**, em DMSO. Analisando estes observa-se que o complexo de zinco **10** tem emissão máxima a um comprimento de onda de 694 nm enquanto que o complexo de base livre **11** tem emissão máxima a 715 nm. Da sobreposição dos espectros de emissão e absorção facilmente se observa que o desvio de Stokes para o complexo **10** é de 7 nm enquanto para a base livre **11** é de 8 nm. De salientar que para o complexo de manganésio (III) **12**, não foi possível obter o espectro de emissão, uma vez que estes complexos não têm um comportamento emissivo.⁵

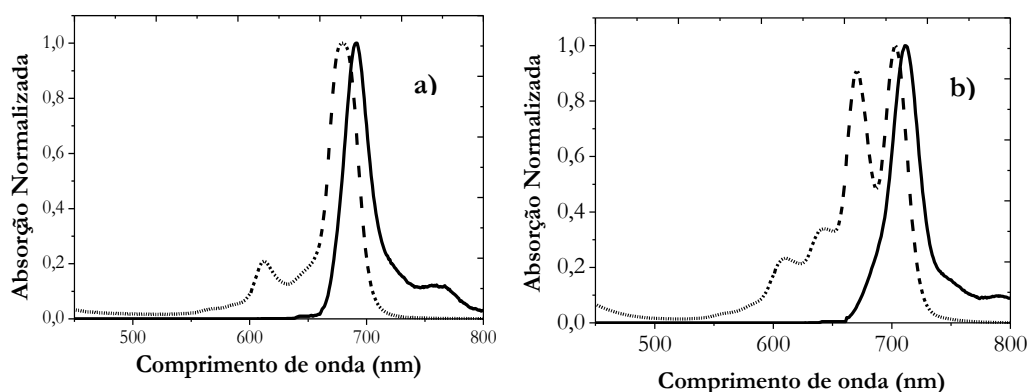


Figura 4.4. Espectros de emissão de fluorescência (a cheio) e absorção (a tracejado) da banda Q da a) Zn(II)Pc **10** e b) H₂Pc **11**.

Para efetuar os cálculos dos rendimentos quânticos de fluorescência é necessário escolher uma referência, cujas características fotofísicas sejam conhecidas, e cuja absorção ocorra na mesma gama de comprimentos de onda da dos compostos em estudo. Nestes estudos selecionou-se a ZnPc não substituída como padrão.⁶ Assim, preparámos soluções de ZnPc não substituída e das ftalocianinas em estudo (**10** e **11**) em DMSO, e com uma absorvância aproximadamente de 0,1 ao comprimento de onda de excitação de 677 nm para ambas as amostras. Após desarejamento das amostras calculou-se a área de integração de cada amostra e da referência, na mesma gama de

comprimentos de onda, utilizando-se a **Equação 4.2** para calcular os rendimentos quânticos de fluorescência.

$$\Phi_F(\text{amostra}) = \frac{\text{Área}(\text{amostra})}{\text{Área}(\text{referência})} \cdot \frac{\text{Abs}(\text{referência})}{\text{Abs}(\text{amostra})} \cdot \frac{\eta^2(\text{amostra})}{\eta^2(\text{ref})} \cdot \Phi_F(\text{referência})$$

(Equação 4.2)

Onde n é o índice de refração do solvente no qual o composto ou referência foram dissolvidos, Abs é a absorvância medida no comprimento de onda de excitação e a área refere-se à integração do espectro de emissão.

Na **tabela 4.1**, apresentam-se os comprimentos de onda máximos para a banda Q de emissão de fluorescência e o rendimento quântico de fluorescência das ftalocianinas sintetizadas.

Fazendo uma análise crítica dos valores obtidos, observou-se uma diminuição do rendimento quântico de fluorescência do complexo metálico de zinco **10** ($\Phi_F = 0,12$) relativamente à correspondente base livre **11** ($\Phi_F = 0,30$). Este comportamento poderá ser devido ao *efeito de átomo pesado*.⁷ O valor do rendimento quântico de fluorescência, do complexo de zinco **10** encontra-se em concordância com o valor obtido na literatura para complexos de zinco funcionalizados com grupos amino carregados positivamente ($\Phi_F = 0,12$).⁸ Da análise dos resultados pode concluir-se que o complexo de base livre **11** possui as características fotofísicas mais favoráveis para os objetivos gerais em que se insere o presente trabalho, que consistem no desenvolvimento de compostos com forte emissão no infra-vermelho próximo (NIR) para além de potenciais biomarcadores fluorescentes.

Como referido no Capítulo 3, era do nosso interesse a obtenção do complexo de Mn(II). Desta forma, após a cationização do complexo de Mn(III) **7** tentou-se induzir a redução do complexo metálico do estado de oxidação de Mn(III) para Mn(II) usando agentes redutores como o ditionito de sódio e o boro hidreto de sódio. Assim, numa experiência tipo efetuaram-se titulações de uma solução em DMSO/água (75%/25%) e DMSO/metanol (75%/25%) do complexo de Mn (III) **12** com os diferentes agentes redutores, adquirindo o respetivo espectro de absorção UV-vis entre cada adição. Na **figura 4.5** são apresentados os espectros UV-vis obtidos.

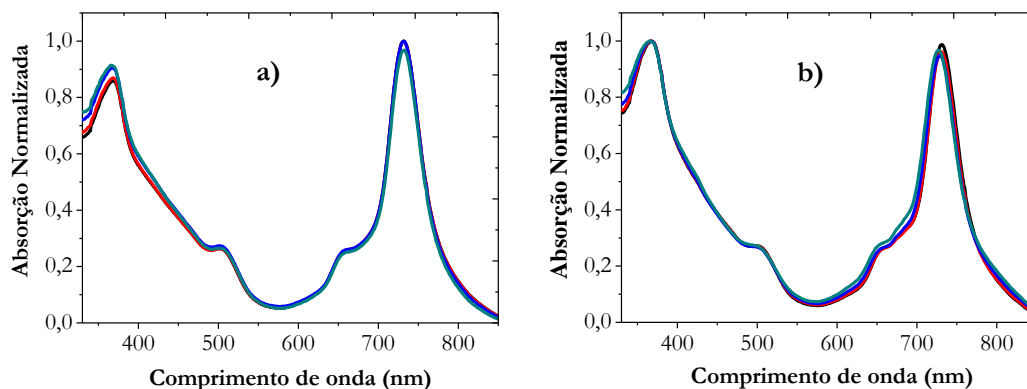


Figura 4.5 Espectro de absorção do complexo Mn(III) **12** obtido pela adição de quantidades incrementais de agente redutor: a) Ditionito de sódio em DMSO/H₂O (75%/25%) – (preto) 0 mol, (vermelho) 4.0×10^{-9} mol, (azul) 3.4×10^{-8} mol, (verde) 1.2×10^{-7} mol; b) borohidreto de sódio em DMSO/metanol (75%/25%) – (preto) 0 mol, (vermelho) 4.0×10^{-9} mol, (azul) 3.4×10^{-8} mol, (verde) 1.2×10^{-7} mol. O número de moles de **12** usado na célula de Uv-vis foi 3.8×10^{-8} mol em ambos os casos.

A análise dos gráficos a) e b) apresentados na **figura 4.5** permite concluir que não se observou nenhum desvio ou modificação espectral da banda Q, nomeadamente um desvio hipsocrómico (as ftalocianinas de Mn(II) apresentam um máximo de absorção para a banda Q ao comprimento de onda de, aproximadamente, 680nm)⁹ após a adição de quantidades incrementais de ambos os agentes redutores, para a gama de moles utilizadas. Esta observação indica que não foi possível efetuar a redução do metal central de Mn(III) para Mn(II). De facto, como já referido no Capítulo 3, uma justificação plausível para a impossibilidade de se obter ftalocianinas de manganésio (II) dever-se-á ao facto da ftalocianina em estudo possuir substituintes dadores de eletrões, os grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo. Estes resultados estão de acordo com a literatura, o que explica que ftalocianinas de manganésio (III) só podem ser eficientemente reduzidas quando possuem na sua estrutura substituintes muito eletronegativos,⁹ como ocorre quando se reduz a $[\text{Mn(III)TPPS}_4]^{3-}$ a $[\text{Mn(II)TPPS}_4]^{3-}$ na presença de ditionito de sódio como agente redutor.^{10,14} Desta forma, o interesse no desenvolvimento de potenciais agentes de contraste para MRI, indica que será importante prosseguir estudos no sentido de se obter compostos com grupos eletronegativos capazes de estabilizar os complexos de manganésio no estado de oxidação +2.

4.2.2 Estudos fotofísicos das ftalocianinas funcionalizadas com grupos carboxamida

Embora não tenhamos procedido à síntese dos derivados solúveis em água dos complexos metálicos de ftalocianinas conjugados com os mais diversos grupos carboxamida **9a-9d**, decidiu-se

proceder à sua caracterização fotofísica, como um estudo preliminar para avaliar a potencialidade destes em imagiologia ótica de fluorescência.

Iniciou-se a caracterização fotofísica dos compostos sintetizados utilizando a espectroscopia UV-vis. Assim fez-se a aquisição dos espectros de absorção dos compostos em estudo utilizando THF como solvente, e seguidamente determinou-se os coeficientes de absorvidade molar dos complexos metálicos de zinco, utilizando soluções com concentrações entre 10^{-5} e 10^{-6} M, e seguindo o procedimento previamente descrito na secção anterior. Os espectros de absorção UV-vis encontram-se na **figura 4.6**, e os valores obtidos dos coeficientes de absorvidade molar para cada banda são apresentados na **tabela 4.2**.

Tabela 4.2. Absorção e emissão e rendimentos quânticos de fluorescência das ftalocianinas sintetizadas, em THF.

| Composto | Banda Soret $\lambda_{\max}/\log \epsilon$ | Banda Q $\lambda_{\max}/\log \epsilon$ | Desvio de stokes | Emissão λ_{\max} (nm) | Φ_F |
|----------------|---|---|---------------------|----------------------------------|----------|
| ZnPc 9a | 351 (4,41) | 610 (4,49); 676 (5,10) | 9 | 685 | 0,38 |
| ZnPc 9b | 350 (4,52) | 611 (4,22), 676 (4,87) | 9 | 685 | 0,26 |
| ZnPc 9c | 352 (4,21) | 612 (3,91), 676 (4,52) | 10 | 686 | 0,31 |
| ZnPc 9d | 350 (4,14) | 610 (3,81), 675 (4,48) | 11 | 686 | 0,31 |

Analisando os espectros de absorção apresentados na **figura 4.6**, observa-se que a introdução dos diferentes substituintes na periferia da ftalocianina, não perturba o espectro de UV-vis, pois, tanto o máximo das bandas de absorção, como os coeficientes de absorvidade molar (ver **Tabela 4.2**), praticamente não apresentam alterações.

Uma vez mais, seguiu-se a estratégia da determinação dos espectros de emissão bem como dos rendimentos quânticos de fluorescência para obter informações acerca da potencialidade deste tipo de compostos em técnicas de diagnóstico por imagiologia ótica de fluorescência. Deste modo, seguindo o procedimento descrito na **secção 4.2.1** determinaram-se os espectros de emissão de fluorescência em THF, excitando a 640nm, os quais estão representados na **figura 4.6**.

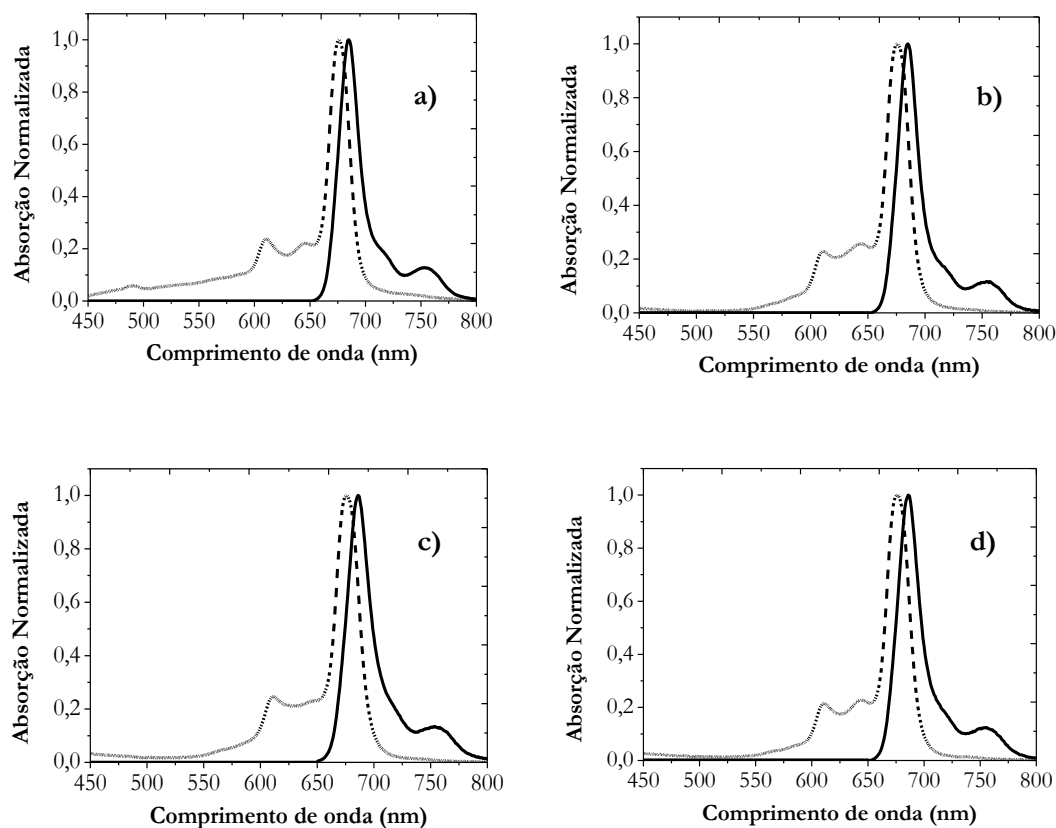


Figura 4.6. Sobreposição dos espectros de emissão de fluorescência (a cheio) e absorção (a tracejado) da banda Q da: a) ZnPc **9a**; b) ZnPc **9b**; c) ZnPc **9c** e d) ZnPc **9d**.

Analisando a **figura 4.6**, os espectros de emissão de fluorescência de todas as ftalocianinas foram semelhantes, na medida em que todos os complexos metálicos de zinco têm emissão máxima ao mesmo comprimento de onda. Da sobreposição dos espectros de emissão e absorção, e em concordância com o observado anteriormente, todos os complexos metálicos apresentam desvios de Stokes na mesma ordem de grandeza.

Recorrendo à **Equação 4.2** foi possível determinar os rendimentos quânticos de fluorescência. Para tal prepararam-se soluções do padrão fluorescente, a ZnPc não substituída, e das ftalocianinas em estudo (**9a-9d**) em THF, e com uma absorvância aproximadamente de 0,1 ao comprimento de onda de excitação de 674nm. Os valores obtidos encontram-se na **tabela 4.2**.

Pela análise dos valores calculados, salienta-se que o composto **9a** apresenta um rendimento quântico de fluorescência superior ($\Phi_F = 0,38$) quando comparado aos compostos funcionalizados com os ésteres de aminoácidos **9b-d**, que apresentam valores de rendimento quântico de fluorescência na mesma ordem de grandeza ($\Phi_F = 0,26-0,31$). No entanto, atendendo aos valores moderados de rendimentos quânticos de fluorescência para esta série de ftalocianinas, bem como os desvios de Stokes observados (de 9 a 11nm) e a emissão por fluorescência destas para a região no vermelho do espectro eletromagnético, poder-se-á concluir que estes compostos apresentam características

fotofísicas promissoras para serem aplicados como biomarcadores fluorescentes em imagiologia médica.

4.3 Estudos preliminares de relaxometria da ftalocianina de manganésio (III) derivatizada com grupos colina

Apesar da MRI possuir uma elevada resolução espacial em comparação com outras técnicas de imagiologia médica, a resolução da imagem muitas vezes não é suficientemente satisfatória, na medida que podem não se visualizar todos os tecidos ou lesões pretendidas. Neste contexto, surgem os agentes de contraste utilizados em MRI, que permitem a redução dos tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) dos prótons da água presentes nos tecidos humanos. O tempo de relaxação dos prótons da água decresce substancialmente quando o oxigénio da molécula de água se encontra próximo de um agente paramagnético, melhorando-se assim o contraste das imagens, e consequentemente permitindo uma melhor diferenciação das estruturas presentes, podendo realçar lesões existentes face aos tecidos normais.¹¹

A eficiência de um agente de contraste é normalmente estudada exclusivamente em soluções aquosas, e é quantificada pela relaxividade, que pode ser longitudinal (r_1) ou transversal (r_2). Neste sentido, a relaxividade é definida como o aumento da velocidade de relaxação ($R_1 = 1/T_1$; $R_2 = 1/T_2$) para uma concentração de 1mM de AC (expressa em $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$)¹² (Equação 4.3).

$$R_i(\text{obs}) = \frac{1}{T_i(\text{obs})} = \frac{1}{T_i(\text{diam})} + r_i[\text{AC}], \quad i = 1 \text{ ou } 2$$

(Equação 4.3)

Onde $R_i(\text{obs})$ e $1/T_i(\text{obs})$ é a velocidade de relaxação do sistema (s^{-1}), $T_i(\text{diam})$ é o tempo de relaxação para uma concentração nula de AC, $[\text{AC}]$ é a concentração do agente paramagnético (mmol L^{-1}) e r_i é a relaxividade ($\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$).

Tendo em conta que um dos objetivos deste trabalho é avaliar a potencialidade de utilização do complexo paramagnético Mn(III) **12** como agente de contraste em MRI, os estudos prosseguiram com a realização de ensaios preliminares que visavam a determinação dos tempos de relaxação T_1 e T_2 . Assim, a ftalocianina de Mn(III) derivatizada com grupos colina **12** foi sujeita a um estudo de relaxividade usando um relaxómetro Bruker Minispec mq20, de 20 MHz, às temperaturas de 25°C e a 37°C, utilizando água como solvente. Foram usadas soluções do composto em estudo com concentrações entre 1mM e 0.25mM, e para cada amostra foram obtidas três medidas dos parâmetros T_1 e T_2 , fazendo-se de seguida a média desses três valores. A título de exemplo apresenta-se de seguida na **tabela 4.3** os valores dos tempos de relaxação do composto **12** em água obtidos à temperatura de 25°C.

Tabela 4.3. Tabela demonstrativa dos valores de relaxação paramagnética longitudinal e transversal das diferentes concentrações em água do complexo Mn(III) 12 obtidos a 20 MHz e a 25°C.

| Medições a 25°C Bruker Minispec mq20 (20 MHz), em água | | | | | | |
|--|---|------------------------|---|------------------------|--|--|
| [PcMn(III) 12] | T _{1obs} (s ⁻¹) | Erro(s ⁻¹) | T _{2obs} (s ⁻¹) | Erro(s ⁻¹) | 1/T _{1obs} -1/T ₁ água (s ⁻¹) | 1/T _{2obs} -1/T ₂ água (s ⁻¹) |
| 1mM | 0,597 | 0,0030 | 0,2569 | 0,0006 | | |
| | 0,598 | 0,0030 | 0,2578 | 0,0006 | | |
| | 0,598 | 0,0030 | 0,2589 | 0,0006 | | |
| média | 0,5977 | 0,0030 | 0,2579 | 0,0006 | 1,3085 | 3,3957 |
| 0.75mM | 0,934 | 0,003 | 0,3831 | 0,0007 | | |
| | 0,929 | 0,004 | 0,3843 | 0,0007 | | |
| | 0,929 | 0,004 | 0,3854 | 0,0007 | | |
| média | 0,931 | 0,003667 | 0,3843 | 0,0007 | 0,7098 | 2,1201 |
| 0,5mM | 1,080 | 0,004 | 0,497 | 0,0003 | | |
| | 1,079 | 0,001 | 0,4986 | 0,0003 | | |
| | 1,081 | 0,001 | 0,4993 | 0,0003 | | |
| média | 1,080 | 0,0020 | 0,4983 | 0,0003 | 0,5613 | 1,5246 |
| 0,25mM | 1,629 | 0,003 | 0,8290 | 0,0006 | | |
| | 1,643 | 0,002 | 0,8321 | 0,0006 | | |
| | 1,643 | 0,003 | 0,8355 | 0,0006 | | |
| média | 1,638 | 0,0027 | 0,8322 | 0,0006 | 0,2457 | 0,7194 |
| Água | 2,740 | 0,010 | 2,051 | 0,002 | | |
| | 2,742 | 0,010 | 2,075 | 0,002 | | |
| | 2,745 | 0,010 | 2,095 | 0,002 | | |
| média | 2,742 | 0,010 | 2,074 | 0,0020 | | |

Partindo da **Equação 4.3**, a **Equação 4.4** demonstra como se pode obter o valor da relaxividades longitudinal e transversal. Para tal, ao valor observado do tempo de relaxação longitudinal (T_{1obs}) foi subtraído o tempo de relaxação antes da adição do agente de contraste (o tempo de relaxação da água pura – T_{1água}). O mesmo procedimento foi utilizado no caso do valor da relaxividade transversal.

$$r_i = \frac{1}{\frac{1}{T_{i\text{obs}}} - \frac{1}{T_{i\text{diam}}}} \cdot \frac{1}{[AC]}, \quad i = 1 \text{ ou } 2$$

(Equação 4.4)

Seguidamente, e de modo a obter os valores de relaxividade (r_1 e r_2) para a ftalocianina contendo o ião Mn(III) traçou-se um gráfico da velocidade de relaxação longitudinal e transversal ($1/T_{i\text{obs}} - 1/T_{i\text{diam}}$, $i=1$ ou 2) *versus* a concentração da ftalocianina de Mn(III) **12**. No gráfico o declive do ajuste linear corresponde ao valor de relaxividade para amostra em estudo. Na **figura 4.7**, apresenta-se a título de exemplo, a representação gráfica das velocidades de relaxação em função da concentração do potencial agente de contraste **12**, em água, à temperatura de 25°C.

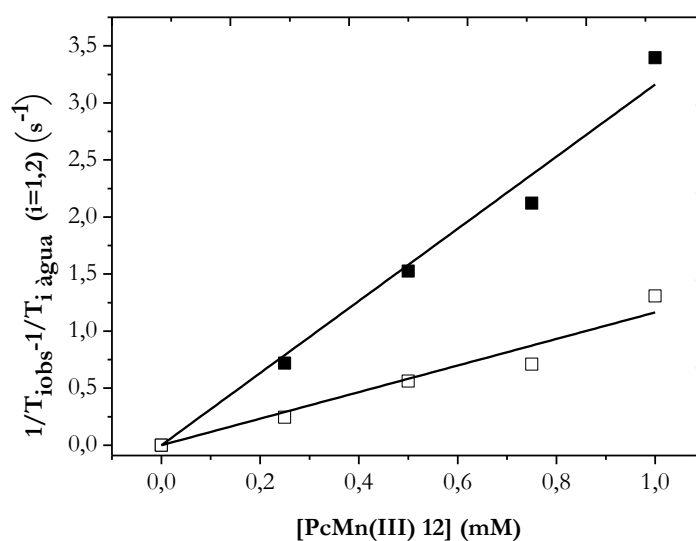


Figura 4.7 – Gráfico representativo da velocidade de relaxação paramagnética longitudinal (quadrados branco) e transversal (quadrados a cheio) em função da concentração da ftalocianina de Mn(III) **12**, a 25°C, em água.

Assim, através do declive da reta ajustada obtiveram-se os valores de $r_1=1,16423 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2 = 0,97588$) e $r_2=3,16156 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ($R^2 = 0,99165$). Os valores a 37°C foram determinados utilizando o mesmo procedimento, e apresentam-se na **tabela 4.4**.

Tabela 4.4 Resumo dos valores (r_1 e r_2) obtidos para a ftalocianina **12**, utilizando água como solvente.

| Temperatura | r_1 ($s^{-1} \text{ mM}^{-1}$) | r_2 ($s^{-1} \text{ mM}^{-1}$) |
|-------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 25°C | 1,16423 | 3,16156 |
| 37°C | 1,07285 | 3,15603 |

Pela análise da **tabela 4.4**, observa-se que os valores de relaxividade r_1 e r_2 a 37°C são ligeiramente inferiores comparativamente aos obtidos a 25°C, o que se deve ao aumento da energia cinética das moléculas causando um aumento dos valores de T_1 e T_2 , e consequentemente a diminuição das relaxividades.¹³

A comparação dos valores de relaxividade longitudinal e transversal obtidos com valores referidos na literatura não foi possível visto não haver estudos com ftalocianinas de Mn(III), tornando assim este estudo pioneiro. Contudo, fazendo uma comparação entre os valores obtidos das relaxividades longitudinal em água, a 20MHz, do complexo de Mn(III) **12** com os valores descritos na literatura para a ftalocianina tetra-sulfonada de Mn(II), $[\text{Mn(II)PcS}_4]^{4-}$,¹⁴ e para os complexos metálicos de porfirinas de Mn(II) e Mn(III), $[\text{Mn(III)TPPS}_4]^{3-}$ e $[\text{Mn(II)TPPS}_4]^{4-}$,^{15,16,17} respetivamente, facilmente se observa que os valores do complexo de Mn(III) **12** são menores. Este facto poderá ser explicado pela possível elevada agregação da ftalocianina em solução aquosa, como já verificado anteriormente.^{18,19}

4.4 Conclusão

Em resumo, nesta secção foi descrito um método eficiente de síntese de ftalocianinas funcionalizadas com grupos colina (*N,N*-dimetilaminoetoxilo catiónicos) e determinados alguns dos seus parâmetros fotofísicos. Para além disso também se procedeu à caracterização fotofísica da nova série de ftalocianinas conjugadas com os diversos grupos carboxamida.

Dado que em aplicações em diagnóstico para imagiologia ótica de fluorescência interessam-nos compostos fotoestáveis com elevado rendimento quântico de fluorescência, elevados valores de desvio de Stokes,²⁰ e atendendo às propriedades fotofísicas referidas das ftalocianinas sintetizadas, podemos considerar que as ftalocianinas conjugadas com derivados de aminoácidos **9b-9d**, bem como o complexo livre funcionalizado com grupos colina **11** são compostos com propriedades espectroscópicas bastante atrativas para utilização em técnicas de diagnóstico por imagiologia médica. Estas propriedades são muito relevantes, uma vez que a emissão seletiva de luz na zona vermelho ($\lambda_{\text{max de emissão}} = 685-715\text{nm}$) pode levar, à aplicação destes compostos na designada “janela fototerapêutica” e, associado aos elevados valores dos rendimentos quânticos de fluorescência obtidos ($\Phi_F = 0,26-0,31$) abrem múltiplas potencialidades destes compostos como biomarcadores fluorescentes em imagiologia ótica de fluorescência. Como perspetiva futura seria fundamental realizar estudos de toxicidade *in vitro* destes compostos, bem como posteriormente estudos *in vivo*.

Neste capítulo ainda se procedeu à realização de um estudo preliminar de relaxividade da ftalocianina de Mn(III) **12** com o intuito de avaliar a sua potencialidade com agente de contraste em MRI. Os valores das relaxividades obtidos em água, a 25°C e a 37°C, indicam que o composto pode ser explorado como um agente de contraste, no entanto, mais estudos são necessários para uma

conclusão definitiva, principalmente, levando-se em consideração que os valores obtidos são preliminares. Uma das principais conclusões retiradas deste tópico é a necessidade de uma modelação das ftalocianinas de manganésio(III) de forma a poder obter compostos com menor predisposição para se agregarem. Por outro lado, e de acordo com a literatura,⁹ poder-se-á introduzir substituintes na periferia do macrociclo que sejam atratores de elétrons, e dessa forma obter ftalocianinas de manganésio(II) estáveis como potenciais agentes de contraste com melhores valores de relaxividade para imagiologia de ressonância magnética nuclear.

4.5 Referências

-
- [1] F. Dumoulin, M. Durmus, V. Ahsen, T. Nyokong, *Coord. Chem. Rev.*, **2010**, 254, 2792.
- [2] L. Zhang, J. Huang, L. Ren, M. Bai, L. Wu, B. Zhai, X. Zhou, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16, 303.
- [3] H. D. Burrows, M. M. Pereira, *Química: Síntese e Estrutura- Uma abordagem prática*, Escolar Editora, **2006**.
- [4] M. Kasha, H. R. Rawis, M. A. El-Bayoumi, *Pure Appl. Chem.*, **1965**, 11, 375.
- [5] X. Yan, C. Kirmaier, D. Holten, *Inorg. Chem.*, **1986**, 25, 4774.
- [6] I. Gurol, M. Durmus, V. Ahsen, T. Nyokong, *Dalton Trans.*, **2007**, 3782.
- [7] E. G. Azenha, A. C. Serra, M. Pineiro, M. M. Pereira, J. S. de Melo, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, A. Gonsalves, *Chem. Phys.*, **2002**, 280, 177.
- [8] C. Uslan, M. Durmus, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2012**, 235, 56.
- [9] O.V. Dolotova, N.I. Bundina, O.L. Kaliya, E.A. Lukyanets, *J. Porphyr. Phthalocya.*, **1997**, 1, 355.
- [10] S. Aime, M. Botta, E. Gianolio, E. Terreno, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 747.
- [11] C.F.G.C. Geraldes, S. Laurent, *Contrast Media Mol. Imaging*, **2009**, 4, 1.
- [12] P. Caravan; J. J. Ellison; T. J. McMurry; R. B. Lauffer, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2293.
- [13] D.G. Mitchell, M. Cohen, in *MRI Principles*, Elsevier, Philadelphia, **2004**.
- [14] S.K. Saini, A. Jena, J. Dey, A.K. Sharma, R. Singh, *Magn. Reson. Imaging*, **1995**, 131, 985.
- [15] S.H. Koenig, R.D. Brown III, M. Spiller, *Magn. Reson. Med.*, **1987**, 4, 252.
- [16] S. Aime, M. Botta, E. Gianolio, E. Terreno, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 747.
- [17] L. H. Bryant Jr, M. W. Hodges, R. G. Bryant, *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 1002.
- [18] B. Bertini, L. Banci, R. D. Brown III, S. H. Koenig, *Inorg. Chem.*, **1988**, 27, 951.
- [19] K. E. Kellar, N. Foster, *Inorg. Chem.*, **1992**, 31, 1353.
- [20] L. B. Josefsen, R. W. Boyle, *Theranostics*, **2012**, 2, 916.

Capítulo 5

Experimental

Este capítulo encontra-se dividido em cinco secções experimentais, a 5.1 onde se encontram descritos os reagentes e os solventes utilizados nos capítulos 2 a 4; a 5.2 onde se encontra a instrumentação utilizada nos Capítulos 2 a 4; a 5.3, a 5.4 e a 5.5 onde se encontra descrita a síntese e caracterização dos compostos sintetizados no Capítulo 2, Capítulo 3 e Capítulo 4, respetivamente.

5.1. Solventes e reagentes

Os reagentes e os solventes foram adquiridos à *Sigma-Aldrich*, *Fluka* e/ou *Acros Organics*. Os reagentes foram utilizados com a pureza descrita pelo fornecedor, enquanto que todos os solventes usados no decorrer deste trabalho foram purificados ou secos, sempre que necessário, seguindo os métodos referidos na literatura¹.

5.2. Instrumentação e metodologia

I- Cromatografia de camada fina

O controlo das reações, quando necessário, foi feito por cromatografia de camada fina (TLC) usando placas de sílica 60 (*Merk*), com indicador de fluorescência UV₂₅₄. A revelação com uma solução de permanganato de potássio foi usada na deteção dos vários precursores/intermediários do DO₃A-NH₂- α , por esta ser característica da função amina. A solução de permanganato de potássio oxida os compostos de forma não específica. No local onde estes se encontram o permanganato fica reduzido e descora, permitindo assim a identificação dos compostos em análise. O eluente usado no TLC variou com a reação em causa.

II- Cromatografia em coluna

Alguns dos compostos sintetizados foram purificados por cromatografia de adsorção em coluna, usando gel de sílica 60 (*Merk*) ou óxido de alumina (*Merk*) como fase estacionária e o eluente apropriado, tal como apresentado posteriormente nas secções 5.3 a 5.5.

III- Ultra-sons

Com o objetivo de facilitar a dissolução dos compostos estudados utilizou-se como sistema de ultra-sons um aparelho da marca *Bandelin Sonorex TK52* do Departamento de Química da Universidade de Coimbra.

IV- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear protão (RMN ^1H) e de RMN carbono (RMN ^{13}C) foram obtidos num espectrómetro *Bruker Avance 400MHz* e *100,61MHz* do Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade de Coimbra, respetivamente. Os desvios químicos (δ) apresentados são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). O padrão interno para o RMN ^1H e RMN ^{13}C é o tetrametilsilano (TMS) ($\delta=0,00$ ppm). Os dados obtidos encontram-se indicados pela ordem seguinte: Núcleo (frequência do aparelho, solvente): desvio químico (δ , ppm) [multiplicidade do sinal (s – singuleto, d – duplete, t – tripleto, q – quarteto, dd – duplo duplete, m – multiplete, sil – singuleto largo, sl – sinal largo), constante de acoplamento (J , em Hertz), intensidade relativa (nH, como número de prótons), atribuição na estrutura]. O solvente utilizado para os compostos estudados por esta técnica dependeu do composto.

V- Espectrometria de massa

Os espectros de massa MALDI-TOF e ESI-TOF foram realizados num espectrómetro *Bruker Daltonics flexAnalysis Spectrometer* da Unidade de Espectrometria de Massa da Universidade de Santiago de Compostela, Espanha. No caso da técnica MALDI-TOF, a matriz usada em todos os ensaios foi a 2-[(2E)-3-(4-tert-butilfenil)-2-(metilprop-2-enilidene)]malononitrilo (DCTB).

VI- Espectroscopia de absorção UV-vis

Os espectros de absorção UV-vis foram obtidos no espectrofotómetro *Hitachi U-2010* com células de quartzo de duas faces com 1 cm de percurso ótico e utilizando sempre como referência o solvente utilizado. Os coeficientes de absorção molar das ftalocianinas sintetizadas foram determinados após a preparação de soluções entre 10^{-6} e 10^{-5} M nos solventes apropriados. Representou-se graficamente a absorção para o máximo da banda considerada em função da concentração das diferentes soluções, obtendo-se uma reta cujo valor do declive corresponde ao valor do coeficiente de absorvidade molar. Esta conexão é transmitida pela lei de Beer-Lambert, $A = \epsilon bc$, onde A é a absorvância, ϵ é o coeficiente de absorvidade molar, b é o caminho óptico percorrido pela luz e c é a concentração da solução.

VII- Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência foram realizados à temperatura ambiente utilizando um espectrofluorímetro *SPEX Fluoromax 3.22* equipado com uma lâmpada de Xenon de 450 W e um sistema de detecção de contagem monofotónica, usando células de quartzo de quatro faces com um percurso óptico de 1 cm. Estes foram obtidos utilizando a configuração FF (front face), fendas 0,5nm de modo a evitar problemas de auto-absorção e excitando no comprimento de onda máximo de absorção de cada amostra.

O cálculo do rendimento quântico de fluorescência foi efetuado segundo um método publicado na literatura.² A referência utilizada foi a ftalocianina de zinco não substituída em DMSO, sendo o seu rendimento quântico de fluorescência de 0,18.³ Foram preparadas soluções de ftalocianina de zinco e das ftalocianinas cujo rendimento se quer determinar em DMSO ou THF de forma a apresentarem no espectro de absorção UV-visível uma absorvância de aproximadamente 0,1 no comprimento de onda de excitação de cada amostra. As soluções foram desarejadas durante 20 minutos com N_2 , registando-se de seguida os espectros de emissão de fluorescência. Comparou-se a integração da área do espectro de emissão da referência, com a área do espectro de emissão de cada ftalocianina sintetizada. Este cálculo foi obtido através da **Equação 4.2** (ver secção 4.2.1 do Capítulo 4).

VIII – Microanálise

A análise de carbono, hidrogénio e azoto foi efetuada num analisador *Thermo Finnigan modelo Flash 1112*, pertencente à *Unidade de Análisis Elemental* da Universidade de Santiago de Compostela, Espanha.

IX – Cromatografia gasosa

As análises em cromatografia gasosa foram efetuadas num cromatógrafo *HP-Agilent 6890* do Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, equipado com um detetor de ionização em chama (FID) e uma coluna capilar HP-5 da *Hewlett Packard*, com 30m de comprimento e 0,32mm de diâmetro interno. Este equipamento está ligado a um computador com software indicado para a aquisição dos dados. Foi selecionado um programa adequado para permitir a visualização dos produtos das reações: temperatura de 50 °C durante os primeiros 12 minutos; rampa de aumento de 15 °C por minuto; temperatura final de 320 °C durante 5 minutos; temperatura do injetor 250 °C; temperatura do detetor 180 °C.

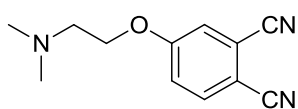
X – Medições dos tempos de relaxação protónica longitudinal e transversal

Os valores de tempo de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2) de protão foram obtidos usando um relaxómetro *Bruker Minispec mq20*, de 20 MHz, usando as sequências de Inversão-Recuperação (IR) e spin-echo, respetivamente. Foram feitos estudos de soluções aquosas do composto com concentrações entre 1mM e 0.25mM, a 25°C e a 37°C.

5.3. Síntese e caracterização estrutural dos compostos do Capítulo 2

4-(2-aminoetoxi)ftalonitrilo (1)

A uma solução de 1,2-dimetilamino-etanol (0.8mL, 8mmol) em DMF (30 mL), a 35°C, foi adicionado K_2CO_3 (4 g, 28.9mmol). Posteriormente foi adicionado o 4-nitroftalonitrilo (1g, 5.78mmol). A mistura reacional manteve-se a essa temperatura durante 96h (ou 6h com num banho de ultrasons). Quando se atingiu a temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida para uma mistura de gelo e água (75 mL). A mistura foi extraída com diclorometano. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, evaporada sob pressão reduzida e purificada por cromatografia de coluna de gel de sílica, usando primeiramente diclorometano, e posteriormente uma mistura de diclorometano e metanol (20:2) como eluente. Obteve-se um óleo viscoso com um rendimento de 83% (1,03g) (85% no caso da reação de ultrasons). A caracterização deste composto encontra-se de acordo com dados descritos na literatura.⁴



RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): δ 7,65-7,63 (d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H, Ar-H); 7,23-7,22 (d, $J=2.3\text{Hz}$, 1H, Ar-H); 7,17-7,14 (dd, $J_1=2.4$ e $J_2=8.8$, 1H, Ar-H); 4,09-4,06 (t, $J=5.5\text{Hz}$, 2H, O-CH₂); 2,71-2,69 (t, $J=5.4\text{Hz}$, 2H, CH₂); 2,27 (s, 6H, N(CH₃)₂).

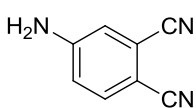
RMN de ^{13}C (100.6 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): δ 45,7 (N(CH₃)₂); 57,5 (-CH₂-); 67,1 (O-CH₂); 107,2 (C_{aromático}); 115,04 (CN); 115,45 (CN); 117,2 (C_{aromático}); 119,3 (C_{aromático}); 119,4 (C_{aromático}); 135,0 (C_{aromático}); 161,7 (Ar-C-O).

5.3.1 Síntese dos precursores para a reação de aminocarbonilação

5.3.1.1 Síntese do substrato 4-iodoftalonitrilo

4-aminoftalonitrilo (2)

4-nitroftalonitrilo (3.89 g, 22.5mmol) foi colocado em suspensão numa mistura de metanol (80mL) e ácido clorídrico concentrado (17,5mL) à temperatura de refluxo. Posteriormente, pó de ferro (4g, 71.42mmol) foi adicionado em pequenas quantidades durante uma hora, e a mistura de reação continuou em refluxo por mais uma hora. Findo esse tempo, deixou-se a mistura reacional atingir a temperatura ambiente, sendo depois vertida lentamente sobre uma mistura de água e gelo (100mL). O sólido formado foi filtrado, lavado com água destilada e seco sob vácuo. O produto resultante foi purificado por dissolução em acetato de etilo, seguida de adição de *n*-hexano para promover a precipitação, obtendo-se o 4-aminoftalonitrilo (2,86g, 89%). Os dados espectroscópicos estão de acordo com os descritos na literatura.⁵



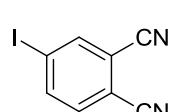
RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ , ppm): 7,62-7,66 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H, Ar-H); 7,02 (s, 1H, Ar-H); 6,86-6,88 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H, Ar-H); 6,71 (s, 2H, -NH₂).

RMN de ^{13}C (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (δ , ppm): 153,1 (C-NH₂); 135,0 (C_{aromático}); 117,5 (C_{aromático}); 117,2 (C_{aromático}); 116,9 (C_{aromático}); 116,4 (C_{aromático}); 115,5 (CN).

4-iodoftalonitrilo (3)

Uma suspensão de 4-aminoftalonitrilo **2** (2.86 g, 20mmol) numa solução de 2.5 M de H_2SO_4 foi arrefecida a -10°C . Uma solução de nitrito de sódio (1.6 g, 22.67mmol) em água (8mL) foi adicionada gota-a-gota, com agitação, enquanto que a temperatura era mantida entre -10°C e 0°C . Após a adição completa, a mistura de reação resultante foi rapidamente filtrada por filtração de

sucção. O filtrado frio foi adicionada gota-a-gota a uma solução de iodeto de potássio (3.6 g, 21.33 mmol) em 20mL de água a 0°C. A mistura de reação castanha resultante foi deixada a arrefecer até à temperatura ambiente com agitação, e o precipitado castanho foi recolhido por precipitação. Posteriormente, o sólido foi dissolvido em diclorometano (50mL), lavado com água gelada (2 x 50mL), uma solução de NaHCO₃ (10%, 1 x 50mL), água gelada (1 x 5mL), uma solução saturada de Na₂S₂O₃ (2 x 50mL), e outra vez com água (3 x 50mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado e o resíduo purificado por coluna cromatográfica de gel de sílica usando diclorometano como eluente. Desta purificação resultou o composto **3** com um rendimento de 64% (3,26 g). A caracterização do composto sintetizado encontra-se em concordância com os dados espectroscópicos encontrados.⁵



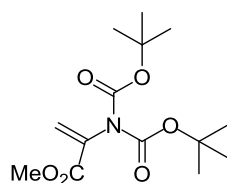
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 7,43-7,45 (d, *J*=8.2Hz, 1H, Ar-H); 8,03-8,09 (m, 2H, Ar-H).

RMN de ¹³C (100.6 MHz, CDCl₃), δ, ppm: 142,5 (C_{aromático}); 142,0 (C_{aromático}); 134,0 (C_{aromático}); 117,1 (C_{aromático}); 115,1 (C_{aromático}); 114,9 (CN); 113,8 (C_{aromático}); 99,7 (C-I).

5.3.1.2 Síntese do nucleófilo DO₃A-NH₂-α

Boc₂-Δ-Ala-OMe (a)

A uma solução de Boc-Ser-OMe (2g, 0.0091mol) em acetonitrilo (10mL), foi adicionado DMAP (0,22g, 0,0018 mol) e (Boc₂)O (5.96g, 0,0273 mol). A mistura foi deixada em agitação vigorosa à temperatura de 30°C durante 24h. Após o término da reação, evaporou-se o solvente a pressão reduzida, e redissolveu-se o produto em éter etílico. A fase orgânica foi lavada com uma solução de 1M de bissulfato de sódio (3x100mL), com uma solução de 1M de bicarbonato de sódio (3x100mL) e com uma solução saturada de hidróxido de sódio (1x100mL), e foi seca sobre sulfato de sódio anidro. Após filtração, evaporação do solvente, e secagem sob vácuo obtiveram-se 2,46g (0,0082 mol) do composto **a** (rendimento 90%). Os dados espectroscópicos encontram-se de acordo com a literatura.⁶

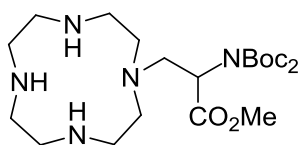


RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 6,26 (s, 1H, C=H); 5,57 (s, 1H, C=H); 3,72-3,66 (s, 3H, -OMe); 1,39-1,43 (s, 18H, Boc₂)

RMN de ¹³C (100.6 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 163,9 (CH₃O-C=O); 150,5 (N-C=O); 136,0 (N-C=CH₂); 105,0 (CH₂); 80,0 (C(CH₃)₃); 52,2 (-OCH₃); 27,2 (C(CH₃)₃).

2-(bis(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano-1-il)propanoato de metilo (b)

A uma solução de 1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano (0,920 g, 5,34 mmol) em MeCN (40mL) adicionou-se K_2CO_3 (1,46 g, 10,6 mmol). A esta solução foi adicionado $Boc_2\text{-}\Delta\text{-Ala-OMe}$ (1,065 g, 3,53 mmol). A mistura reacional ficou a agitar durante 4hh à temperatura de 30°C. Terminado esse tempo, o sólido foi removido por filtração e a solução concentrada a pressão reduzida. O crude foi purificado por cromatografia de coluna de gel de sílica usando primeiramente diclorometano e depois uma mistura de diclorometano/etanol/ NH_4^+ (50:50:1) obtendo-se 1,287g (0,0027mol) do composto pretendido (rendimento:77%). Os dados espectroscópicos encontram-se de acordo com a literatura.⁷

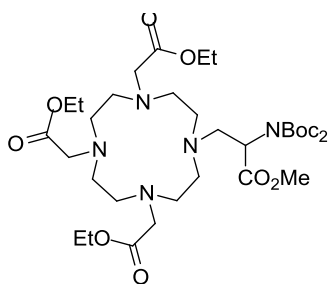


RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) (δ , ppm): 5,01-4,98 (t, $J=5.2\text{Hz}$, 1H, $N(\underline{CH}_2)\underline{CH}$); 3,71-3,55 (observa-se um conjunto de sinais largos que integram para 5H, OMe e $N(\underline{CH}_2)\underline{CH}$); 2,77-2,57 (m, 16H, $N-(\underline{CH}_2)_2-N$); 1,5 (s, 18H, Boc_2).

MS (HRMS-ESI-TOF) $[M]^+$, m/z: 474,3286; calculado para $[C_{22}H_{44}N_5O_6]$: 474,3292

Trietil-2,2',2''-(10-(2-(bis(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-metoxi-3-oxopropil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano-1,4,7-triil)triacetato (c)

A uma solução de 2-(bis(*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-(1,4,7,10-tetraazociclododecano-1-il)propanoato de metilo, em MeCN (40 mL) foi adicionado K_2CO_3 (1,53 g, 11,07 mmol). A esta suspensão adicionou-se o bromoacetato de etilo (1,1 mL, 7,35 mmol). A suspensão foi agitada à temperatura de 30°C durante 6 horas. Findo esse tempo, o sólido foi removido por filtração e a solução foi concentrada a pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizando primeiramente como eluente diclorometano e depois diclorometano/etanol (5:1). Após evaporação do solvente obteve-se 0,852g (0,0012 mol) de produto (rendimento: 57%). Os dados espectroscópicos encontram-se de acordo com a literatura.⁷

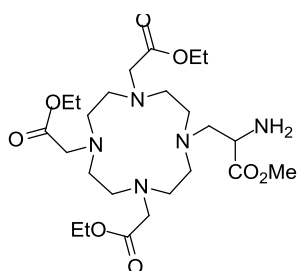


RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) (δ , ppm): 5,65 (sl, 1 H, $NCH_2\underline{CH}$); 4,29-4,15 (m, 6H, $OCH_2\underline{CH}_3$); 3,80-2,05 (observa-se um conjunto de sinais largos que integram para 27H, $N(\underline{CH}_2)_2N$, $NCH_2\underline{CH}$, $NCH_2C(O)$ e OMe); 1,50 (s, 18H, Boc_2); 1,27-1,24 (m, 9H, $-OCH_2\underline{CH}_3$).

MS (HRMS-ESI-TOF) $[M]^+$, m/z: 732,4398; calculado para $[C_{34}H_{62}N_5O_{12}]$: 732,4395

Trietil-2,2',2''-(10-(2-amino-3-metoxi-3-oxopropil)-1,4,7,10-tetraaza-ciclododecano-1,4,7-triil)triacetato (4e)

O composto protegido anterior **c** (0,822 g, 1,01 mmol) foi dissolvido numa solução de diclorometano com 10% de TFA, e colocado sob agitação vigorosa a sensivelmente 17°C durante 12 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, o sólido foi redissolvido em diclorometano e evaporado novamente. Este processo foi repetido várias vezes. Após evaporação do solvente, o produto foi seco sob vácuo obtendo-se assim o correspondente composto **4e** com um rendimento de 85%. Os dados espectroscópicos encontram-se de acordo com a literatura.⁷



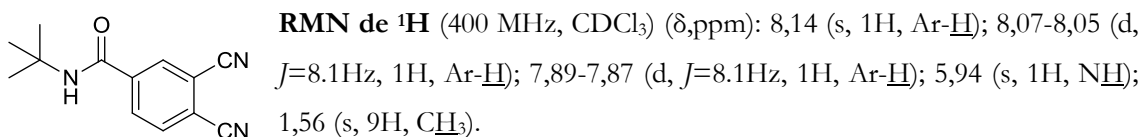
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 4,72-2,02 (observa-se um conjunto de sinais largos que integram para 34H, N(CH₂)₂N, NCH₂CH, NCH₂C(O), NCH₂CH, OCH₂CH₃ e OMe); 1,28-1,25 (m, 9H, OCH₂CH₃); (*o sinal a 1,50ppm correspondente aos 18 prótons dos grupos Boc protetores da amina desapareceu).

5.3.2 Síntese de ftalonitrilos funcionalizados com grupos carboxamida

Procedimento geral: Numa reação típica de aminocarbonilação, o precursor Pd(OAc)₂, o ligando trifenilfosfina (PPh₃), o substrato 4-iodoftalonitrilo e o nucleófilo foram introduzidos diretamente no copo de vidro do reator com um agitador magnético. Efetuaram-se três ciclos de vácuo e de gás CO e uma vez mantido o reator em vácuo foi adicionado o solvente da reação (DMF) e a base trietilamina. O reator foi pressurizado com uma pressão de CO de 5bar e a mistura de reação foi mantida a 50°C, durante um período de tempo designado. Após este período o reator foi arrefecido à temperatura ambiente e despressurizado. As partículas de paládio foram filtradas, o solvente foi evaporado e o resíduo foi novamente dissolvido em diclorometano e lavado uma vez com água, duas vezes com uma solução de HCl (5%), duas vezes com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, e finalmente duas vezes com uma solução *brine* (solução saturada com NaCl). À fase orgânica extraída foi adicionado sulfato de sódio anidro, e o diclorometano foi evaporado à secura. O produto carboxamida obtido é posteriormente purificado de acordo com o procedimento descrito, para cada exemplo, nas secções seguintes.

***N*-(*tert*-butil)-3,4-dicianobenzamida (5a)**

Seguindo o procedimento geral acima descrito, 5,3mg (0.024mmol) do precursor Pd(OAc)₂ e 8mg (0.030mmol) de trifenilfosfina (PPh₃), 215mg (0.85mmol) de 4-iodoftalonitrilo, 0,35 ml (3.3mmol) de *tert*-butilamina e 0.55ml de trietilamina foram dissolvidos em 9mL de DMF. O reator foi pressurizado com a 5bar de CO e a mistura de reação foi mantida a 50°C, durante 18h. O produto foi purificado por cromatografia de gel de sílica usando como eluente diclorometano/acetato de etilo (20:1) e obtido com um rendimento de 75% (126 mg).

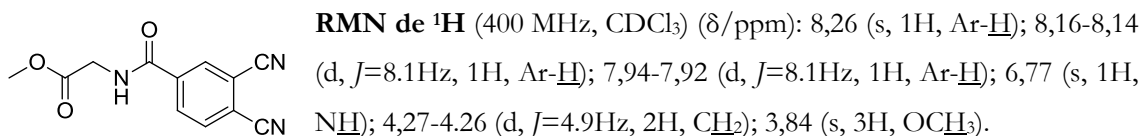


RMN de ¹³C (100.6 MHz, CDCl₃) (δ,ppm): 163,0 (NH-C=O); 140,6 (Ar-C=O); 132,5 (C_{aromático}); 132,0 (C_{aromático}); 131,4 (C_{aromático}); 117,1 (C_{aromático}); 116,6 (C_{aromático}); 114,9 (CN); 53,6 (-CH(CH₃)₃); 28,8 (CH₃).

MS (ESI-TOF) [M]⁺, m/z: 227,1059; calculado para [C₁₃H₁₃N₃O]: 227,1100

***N*-(3,4-dicianobenzóil)-glicinato de metilo (5b)**

Seguindo o procedimento geral acima descrito, 6.9 mg (0.031mmol) do precursor Pd(OAc)₂ e 17 mg (0.065 mmol) de trifenilfosfina (PPh₃), 300 mg (1.18 mmol) de 4-iodoftalonitrilo, 163,4 mg (1.30 mmol) de hidrocloreto de glicina metil éster e 1 ml de trietilamina foram dissolvidos em 10 mL de DMF. O reator foi pressurizado com a 5bar de CO e a mistura de reação foi mantida a 50°C, durante 72h. O sólido beje escuro obtido após filtração e evaporação total do solvente, foi recristalizado com acetato de etilo/*n*-hexano, originando o produto final (157,8mg, 55%).

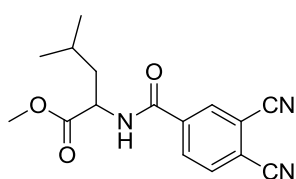


RMN de ¹³C (100.6 MHz, CDCl₃) (δ/ppm): 169,8 (CH₃O-C=O); 163,5 (NH-C=O); 138,4 (C_{aromático}); 134,1 (C_{aromático}); 132,4 (C_{aromático}); 131,6 (C_{aromático}); 118,6 (C_{aromático}); 116,9 (C_{aromático}); 114,6 (CN); 52,9 (O-CH₃); 41,9 (-CH₂-).

MS (ESI-TOF) [M+Na]⁺, m/z: 266.0532; calculado para [C₁₂H₉N₃NaO₃⁺]: 266.0500

(S)-N-(3,4-dicianobenzoil)-leucinato de metilo (5c)

Seguindo o procedimento geral acima descrito, 7.6 mg (0.034 mmol) do precursor Pd(OAc)₂ e 17 mg (0.065 mmol) de trifetilfosfina (PPh₃), 300 mg (1.18 mmol) de 4-iodoftalonitrilo, 236,6 mg (1.30 mmol) de hidrocloreto de leucina metil éster e 1 ml de trietilamina foram dissolvidos em 10 mL de DMF. O reator foi pressurizado com a 5bar de CO e a mistura de reação foi mantida a 50 °C, durante 72h. O produto foi purificado por cromatografia de gel de sílica usando como eluente clorofórmio e posteriormente clorofórmio/etanol (40:1) e obtido com um rendimento de 46% (161.4 mg), após lavagem com *n*-hexano.



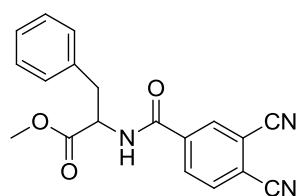
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ,ppm): 8,26 (s, 1H, Ar-H); 8,17-8,14 (d, *J*=8.1Hz, 1H, Ar-H); 7,90-7,88 (d, *J*=8.1Hz, 1H, Ar-H); 7,07-7,05 (sil, 1H, NH); 4,84-4,78 (m, 1H, CH); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 1,78-1,66 (m, 3H, CH₂ e CH); 0,98-0,96 (m, 6H, (CH₃)₂).

RMN de ¹³C (100.6 MHz, CDCl₃) (δ,ppm): 173,3 (CH₃O-C=O); 163,5 (NH-C=O); 138,7 (C_{aromático}); 134,1 (C_{aromático}); 132,4 (C_{aromático}); 131,7 (C_{aromático}); 118,4 (C_{aromático}); 116,7 (C_{aromático}); 114,8 (CN); 52,9 (O-CH₃); 51,8 (O-CH₃); 41,8 (-CH₂-); 25,2 (CH(CH₃)₂); 22,9 (CH₃); 22,1 (CH₃).

MS (ESI-TOF) [M+Na]⁺, *m/z*: 322,1152; calculado para [C₁₆H₁₇N₃NaO₃]⁺: 322,1162

(S)-N-(3,4-dicianobenzoil)-fenilalaninato de metilo (5d)

Seguindo o procedimento geral acima descrito, 6.9 mg (0.031 mmol) do precursor Pd(OAc)₂ e 17 mg (0.065 mmol) de trifetilfosfina (PPh₃), 300 mg (1.18 mmol) de 4-iodoftalonitrilo, 290 mg (1.34 mmol) de hidrocloreto de leucina metil éster e 1 ml de trietilamina foram dissolvidos em 10 mL de DMF. O reator foi pressurizado com a 5bar de CO e a mistura de reação foi mantida a 50 °C, durante 72h. O produto foi purificado por cromatografia de gel de sílica usando como eluente clorofórmio e posteriormente clorofórmio/etanol (40:1) e obtido com um rendimento de 54% (247.1 mg), após lavagem com *n*-hexano.



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ,ppm): 8,07 (s, 1H, Ar-H); 7,96-7,94 (d, *J*=8.1, 1H, Ar-H); 7,80-7,78 (d, *J*=8.1Hz, 1H, Ar-H); 7,23-7,19 (m, 3H, Fenil-H); 7,04-7,03 (m, 2H, Fenil-H); 6,83-6,81 (d, *J*=7.4Hz, 1H, NH); 5,00-4,96 (m, 1H, CH); 3,73 (s, 3H, OCH₃); 3,26-3,10 (m, 2H, CH₂).

RMN de ¹³C (100.6 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 171,6 (CH₃O-C=O); 163,2 (NH-C=O); 138,5 (C_{aromático}); 135,4 (C_{fenilo}); 133,9 (C_{aromático}); 132,3 (C_{aromático}); 131,5 (C_{aromático}); 129,2 (C_{fenilo}); 128,0

(C_{fenilo}); 127,5 (C_{fenilo}); 118,3 (C_{aromático}); 116,5 (C_{aromático}); 114,7 (CN); 53,9 (HN-CH-CH₂); 52,8 (O-CH₃); 37,6 (-CH₂-Fenilo).

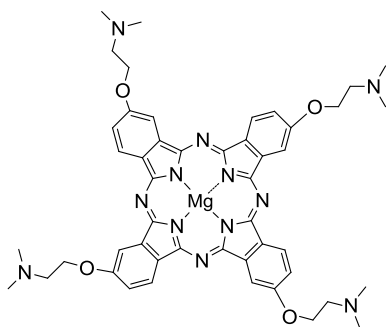
MS (ESI-TOF) [M+Na]⁺, m/z: 356,1003; calculado para [C₁₉H₁₅N₃NaO₃]⁺: 356,1006

5.4. Síntese e caracterização estrutural dos compostos do Capítulo 3

5.4.1 Síntese das ftalocianinas tetrassubstituídas com grupos *N,N*-dimetilaminoetoxilo

[3,10,17,24-Tetra-(2-aminoetoxi)ftalocianinato]de magnésio (6a)

Limpa de magnésio (50 mg) foi colocada em suspensão em pentan-1-ol (2 mL). Esta suspensão foi aquecida a 150°C (refluxo) e um cristal de iodo foi adicionado, e a reação mantida a esta temperatura até se formar uma pasta branca (≈1 hora). Adicionou-se octan-1-ol (2 mL) a esta pasta e de seguida o 4-(2-aminoetoxi)ftalonitrilo **1** (500 mg, 2,56 mmol). Esta suspensão ficou em agitação a 160°C durante 5 horas. Findo esse tempo, deixou-se a mistura reacional atingir a temperatura ambiente e adicionou-se *n*-hexano para promover a precipitação. Depois de se ter procedido à filtração e lavagem com *n*-hexano quente, o resíduo obtido foi sujeito a uma coluna em óxido de alumina de grau 2 usando como eluente uma mistura de metanol e diclorometano (1:1). O complexo MgPc foi, então, reprecipitado em *n*-hexano e obtido com um rendimento de 48% (246mg).



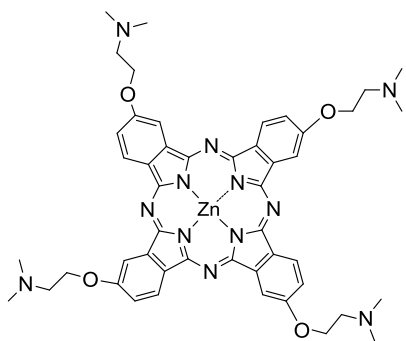
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): δ 7,63-7,61 (d, *J*=8.3Hz, 4H, Ar-H); 7,21 (síl, 4H, Ar-H); 7,09-7,07 (d, *J*=8.3Hz, 4H, Ar-H); 4,14-4,17 (t, *J*=5.4Hz, 8H, O-CH₂); 2,81-2,79 (t, *J*=5.3Hz, 8H, CH₂); 2,36 (s, 24H, N(CH₃)₂)

MS (MALDI-TOF) [M+H]⁺, m/z: 885,40700; calculado para [C₄₈H₅₂N₁₂O₄Mg]: 884,4100

UV-Visível (DMSO), λ_{máx}/nm (log ε): 682 (4,4); 614 (3,7); 356 (4,4)

[3,10,17,24-Tetra-(2-aminoetoxi)ftalocianinato] de zinco (II) (6b)

4-(2-aminoetoxi)ftalonitrilo **1** (200 mg, 3,62x10⁻⁴ mol) e Zn(OAc)₂.2H₂O (20.2 mg, 1,21x10⁻⁴ mol) foram adicionados a uma mistura de DMAE:butan-1-ol (2:1). A mistura foi aquecida a 140°C e agitada durante 24 horas, sob atmosfera de azoto. Após o Términus da reação, adicionou-se diclorometano, lavou-se 3 vezes com água destilada e adicionou-se sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado e o produto foi lavado com *n*-hexano. Finalmente, o composto foi purificado através de uma coluna de óxido de alumina de grau 2 com clorofórmio como eluente, obtendo-se o produto após evaporação e secagem sob vácuo com um rendimento de 60% (250mg). A caracterização encontra-se em concordância com os dados espectroscópicos encontrados na literatura.⁴



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): δ 7,65-7,62 (sl, 4H, Ar-H); 7,30 (sl, 4H, Ar-H); 7,10 (sl, 4H, Ar-H); 4,15-4,19 (t, J=5.4Hz, 8H, O-CH₂); 2,90-2,82 (t, J=5.3Hz, 8H, CH₂); 2,36 (s, 24H, N(CH₃)₂)

MS (MALDI-TOF): [M+H]⁺, m/z: 925,3598 calculado para [C₄₈H₅₂N₁₂O₄Zn]: 925,3599

UV-Visível (DMSO), λ_{máx}/nm (log ε): 681 (3,9); 615 (3,3); 342 (3,7).

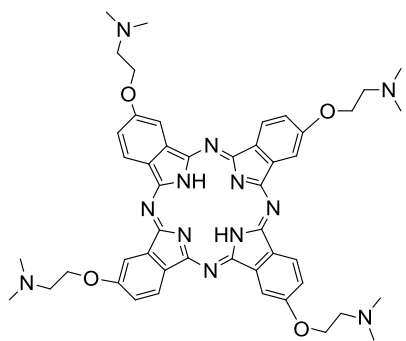
3,10,17,24-Tetra-(2-aminoetoxi) ftalocianina (7)

A desmetalção das ftalocianinas foi efetuada segundo métodos descritos na literatura.^{8,9} Ambas as reações em causa foram monitorizadas por espectroscopia UV-vis, até que a banda Q característica da metaloftalocianina se tivesse transformado em 2 bandas Q típicas da base livre.

Método A:⁸ A uma solução do composto MgPc **6a** (3.89g, 4.4x10⁻³mol) em uma mistura THF (120mL) e metanol (30mL), em agitação vigorosa, adicionou-se 15ml TFA lentamente. Esta mistura foi aquecida a 50 °C durante 18 horas. Findo esse período de tempo, o THF foi evaporado a pressão reduzida para cerca de metade do seu volume, e adicionou-se uma solução aquosa de NaOH (1M) (cerca de 30mL) para ocorrer a precipitação e a neutralização do composto. O precipitado foi filtrado e lavado com água destilada. O produto, depois de seco na bomba de vácuo, foi retomado em diclorometano:metanol (20:1) e, precipitado por adição de *n*-hexano. O produto foi filtrado e lavado várias vezes com *n*-hexano. Rendimento: 2.84g (45%).

Método B:⁹ O complexo ZnPc **6b** (82mg; 0.88mmol) e a piridina-HCl (1.6g) foram dissolvidos em piridina (32mL). A mistura permaneceu sob aquecimento (110°C), em atmosfera de N₂, durante

17h. Terminada a reação de descomplexação, esta reação foi arrefecida até à temperatura ambiente à qual se adicionou uma solução aquosa de NaOH (1M) (cerca de 30mL) para ocorrer a precipitação e a neutralização do composto. O precipitado foi filtrado e lavado com água destilada. Após precipitação com *n*-hexano o sólido foi seco sob vácuo, obtendo-se assim a correspondente base livre com um rendimento de 79% (60mg). A caracterização do composto sintetizado encontra-se em concordância com os dados espectroscópicos encontrados.⁴



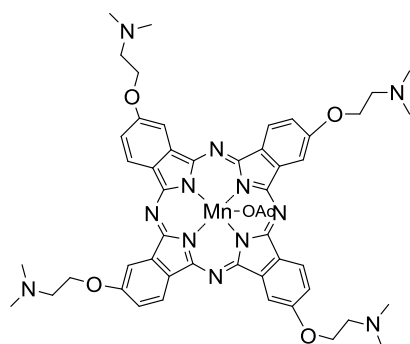
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): δ 7,69-7,71 (d, *J*=8.3Hz, 4H, Ar-H); 7,28-7,29 (d, *J*=2.2Hz, 4H, Ar-H); 7,20-7,23 (d, *J*=8.3Hz, 4H, Ar-H); 4,14-4,17 (t, *J*=5.5Hz, 8H, O-CH₂); 2,81-2,79 (m, 8H, CH₂); 2,36 (s, 24H, N(CH₃)₂).

MS (MALDI-TOF): [M+H]⁺, *m/z*: 863,4400; calculado para [C₄₈H₅₄N₁₂O₄]: 862,4400.

UV-Visível (DMSO), λ_{máx}/nm (log ε): 704 (4.4), 673 (4.4), 343 (4.3)

[3,10,17,24-Tetra-(2-aminoetoxy)ftalocianinato] de manganésio (8)

Dissolveu-se o complexo de base livre **7** (200mg, 0.23mmol) em DMF (8mL) e adicionou-se o sal metálico Mn(OAc)₂·4H₂O (360 mg, 1.47mmol). A mistura foi aquecida a 70°C, em agitação constante durante, aproximadamente, 4 horas. Depois de se atingir a temperatura ambiente, a mistura reaccional foi vertida em éter dietílico. O precipitado foi filtrado, lavado várias vezes com éter dietílico e secou-se sob vácuo. O complexo MnPc foi purificado por cromatografia de coluna (óxido de alumina) usando como eluente uma mistura diclorometano/metanol (10:1). O resíduo foi então retomado em diclorometano/metanol (10:1) e, após concentração, foi reprecipitado por adição de éter dietílico. O produto foi filtrado, lavado com éter dietílico e seco sob vácuo obtendo-se um pó castanho escuro, com rendimento de 77% (174,6mg).



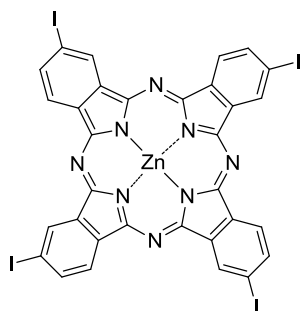
MS (MALDI-TOF) [M-OAc]⁺, *m/z*: 915,3860; calculado para [C₄₈H₅₂N₁₂O₅Mn]: 974,3700

UV-Visível (DMSO), λ_{máx}/nm (log ε): 733 (4,2); 654 (3,6); 369 (4,2)

5.4.2 Síntese das ftalocianinas tetrassubstituídas com carboxamidas

[3,10,17,24-Tetra-iodo ftalocianinato] de zinco (II) (3a)

4-iodoftalonitrilo **3** (800 mg, $3,2 \times 10^{-3}$ mol) e $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (181 mg, 4×10^{-4} mol) foram adicionados a DMAE (2,5 mL). A mistura foi aquecida a 140°C (refluxo) durante 15 horas, em agitação e sob atmosfera de argon. Após o arrefecimento, a mistura reacional foi vertida sobre metanol (15 mL) e o precipitado formado foi filtrado e lavado várias vezes com metanol frio. O

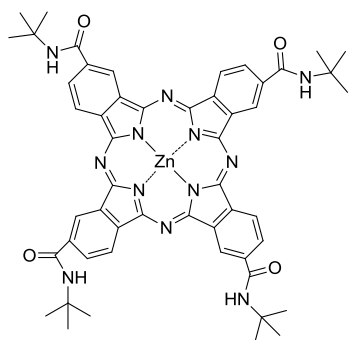


composto azul foi seco sob vácuo obtendo-se 66 mg (76%). A caracterização encontra-se em concordância com os dados espectroscópicos encontrados na literatura.¹⁰

RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (δ ,ppm): δ 9,14-9,06 (sl, 4H, Ar-H); 8,63 (sl, 4H, Ar-H); 8,42-8,39 (sl, 4H, Ar-H)

3,10,17,24-Tetra-[*N*-(*terc*-butil)-carboxamidoftalocianinato] de zinco (II) (9a)

Ftalonitrilo **5a** (100 mg, $5,02 \times 10^{-4}$ mol) e $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (38 mg, $1,21 \times 10^{-4}$ mol) foram adicionados a uma mistura de DMAE (0,5mL) e butan-1-ol (0,25mL). A mistura foi aquecida a 120°C e agitada durante 24 horas. Após o arrefecimento, a mistura reacional foi vertida sobre *n*-hexano (15mL). Para ajudar a formação do precipitado a solução foi deixada à temperatura ambiente, protegida da luz, durante 35h. O precipitado formado foi filtrado e lavado com *n*-hexano e posteriormente com água. O complexo ZnPc **9a** foi purificado por cromatografia de coluna de sílica gel usando diclorometano/metanol (20:1) como eluente. Após reprecipitação com *n*-hexano resultou o composto **9a** com um rendimento de 70% (91,2mg).



RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) (δ ,ppm): 8,28-8,26 (d, $J=6.5\text{Hz}$, 4H, Ar-H); 8,20 (s, 4H, Ar-H); 7,88-7,87 (d, $J=6.7\text{Hz}$, 4H, Ar-H); 7,58 (s, 4H, NH); 1,48 (s, 36H, -CH₃).

UV-vis (THF), λ_{max} /nm (log ϵ): 676 (5,10); 610 (4,49); 351 (4,41).

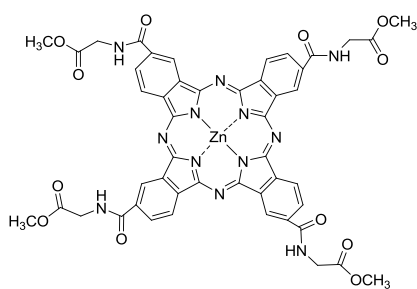
MS (MALDI-TOF) $[\text{M}]^+$, m/z : 972,3000; calculado para $[\text{C}_{52}\text{H}_{52}\text{N}_{12}\text{O}_4\text{Zn}]$: 972,3500; $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z : 995,3000; calculado para $[\text{C}_{52}\text{H}_{52}\text{N}_{12}\text{O}_4\text{ZnNa}^+]$: 995,3400

5.4.2.1 Síntese das ftalocianinas conjugadas com aminoácidos

Procedimento geral: Numa experiência tipo o ftalonitrilo e $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foram dissolvidos em pentan-1-ol seco e a mistura foi colocada a 150°C , sob atmosfera de azoto. Depois de se atingir a temperatura ambiente, e após evaporação total do solvente, precipitou-se o produto com *n*-hexano. O precipitado formado foi filtrado, lavado com *n*-hexano e depois com água. O produto obtido é posteriormente purificado de acordo com o procedimento descrito, para cada exemplo, nas secções seguintes.

3,10,17,24-Tetra-[(*S*)-(1-metoxi-1-oxo-etan-2-il-carbamoil)ftalocianinato] de zinco (II) (9b)

A 0.74 mmol (180 mg) de ftalonitrilo **5b** adicionou-se 0.5 equivalentes (81,2 mg) de $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Passadas 24 horas obteve-se o respetivo complexo metálico, que depois de purificação por coluna cromatográfica de sílica, usando primeiramente clorofórmio/acetato de etilo (2:1) e depois acetato de etilo/etanol (10:1), originou 111,4 mg de ftalocianina, com rendimento de 58%.



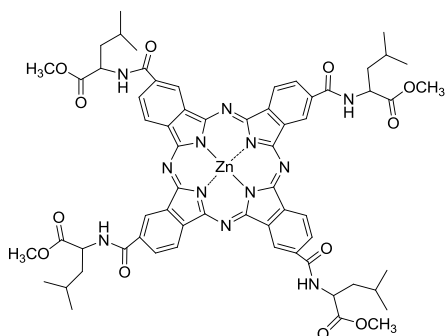
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (δ ,ppm): 8,17 (sl, 4H, Ar-H); 8,02 (sl, 4H, Ar-H); 7,85 (sl, 4H, Ar-H); 7,00 (s, 4H, NH); 4,24-4,22 (sl, 8H, CH_2); (*Não se conseguiu atribuir, de forma inequívoca, o sinal correspondente aos 3 prótons do grupo éster metílico).

UV-vis (THF), λ_{max} /nm (log ϵ): 676 (4,87); 611 (4,22); 350 (4,52).

MS (ESI-TOF-INFUSION) $[\text{M}+\text{Li}]^+$, m/z : 1043,7450; calculado para $[\text{C}_{48}\text{H}_{36}\text{LiN}_{12}\text{O}_{12}\text{Zn}^+]$: 1043,2023.

3,10,17,24-Tetra-[(*S*)-(1-metoxi-1-oxo-3-*iso*-propilpropan-2-il-carbamoil)ftalocianinato] de zinco (II) (9c)

A 0.10 mmol (30 mg) de ftalonitrilo **5c** adicionou-se 0.5 equivalentes (11 mg) de $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Passadas 8 horas obteve-se o respetivo complexo metálico, que depois de purificação por coluna cromatográfica de sílica, usando primeiramente diclorometano/acetato de etilo (3:1) e depois diclorometano/acetato de etilo (1:1), originou 15.3 mg de ftalocianina, com rendimento de 53%



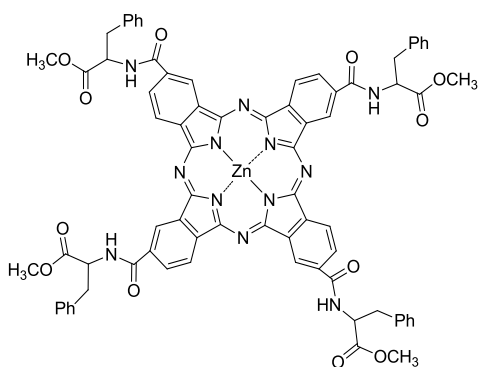
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (δ ,ppm): 8,24-8,21 (sl, 4H, Ar-H); 7,94-7,90 (sl, 4H, Ar-H); 7,18-7,16 (sl, 4H, Ar-H); 6,73-6,71 (sil, 4H, NH); 4,85-4,81 (m, 4H, CH); 1,85-1,78 (m, 12H, CH_2 e CH); 1,10-0,98 (m, 24H, $(\text{CH}_3)_2$); (*Não se conseguiu atribuir, de forma inequívoca, o sinal correspondente aos 3 prótons do grupo éster metílico).

UV-vis (THF), λ_{max} /nm (log ϵ): 676 (4,52); 612 (3,91); 352 (4,21).

MS (ESI-TOF-INFUSION) $[\text{M}+\text{Li}]^+$, m/z: 1268,5742; calculado para $[\text{C}_{64}\text{H}_{69}\text{LiN}_{12}\text{O}_{12}\text{Zn}^+]$: 1268,5609.

3,10,17,24-Tetra-[(S)-(1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il-carbamoil)ftalocianinato] de zinco (II) (9d)

A 0.10 mmol (30 mg) de ftalonitrilo **5d** adicionou-se 0.5 equivalentes (11 mg) de $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Passadas 8 horas obteve-se o respetivo complexo metálico, que depois de purificação por coluna cromatográfica de sílica, usando primeiramente diclorometano/acetato de etilo (3:1) e depois diclorometano/acetato de etilo (1:1), originou 31 mg de ftalocianina, com rendimento de 65%.



RMN de ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) (δ ,ppm): 8,34-8,33 (d, $J=6.6\text{Hz}$, 4H, -NH); 8,25-8,23 (d, $J=7.8\text{Hz}$, 4H, Ar-H); 8,20 (s, 4H, Ar-H); 7,91-7,89 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 4H, Ar-H); 7,32-7,27 (m, 20H, Fenil-H); 4,92-4,90 (m, 4H, -CH); 3,33-3,28 (m, 8H, $\text{CH-CH}_2\text{-Ph}$); (*Não se conseguiu atribuir, de forma inequívoca, o sinal correspondente aos 3 prótons do grupo éster metílico).

UV-vis (THF), λ_{max} /nm (log ϵ): 675 (4,48); 610 (3,81); 350 (4,14).

MS (ESI-TOF-INFUSION) $[\text{M}]^+$, m/z: 1396,6020; calculado para $[\text{C}_{76}\text{H}_{60}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{Zn}^+]$: 1396,4745

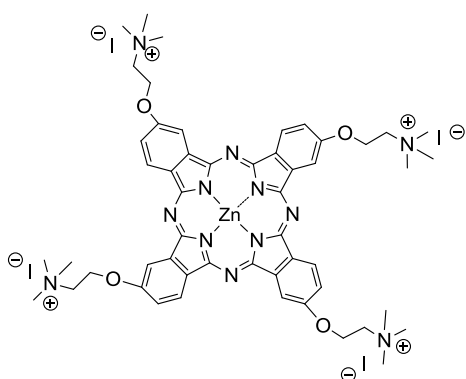
5.5 Síntese e caracterização estrutural dos compostos do Capítulo 4

Procedimento Geral: A uma suspensão da ftalocianina em DMF adicionou-se, lentamente, um largo excesso de iodeto de metilo. A mistura reacional foi mantida em agitação durante 26 horas a 30°C

(para ter a certeza de que todos os grupos amino ficavam metilados). Terminado este período, precipitou-se o produto com éter dietílico. Para ajudar a formação do precipitado a solução foi deixada no frigorífico durante 24h. O sólido foi filtrado, lavado com éter dietílico e seco sob vácuo.

Tetraiodeto de [3,10,17,24-tetra-(2-aminoetoxi)ftalocianinato] de zinco (II) (10)

Seguindo o procedimento geral acima descrito, o composto **6b** (65mg, 0.070mmol) foi dissolvido em DMF (3.5mL), e iodeto de metilo (2.28g, 16.06mmol) foi adicionado a esta solução. Obteve-se 92.4mg de produto, com rendimento de 89%. Dados espectroscópicos de acordo com descrito na literatura.⁴

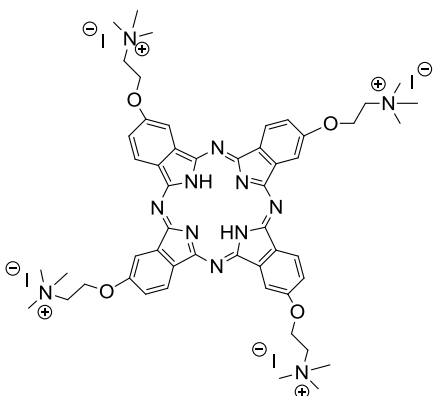


RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) (δ, ppm): δ 7,77-7,73 (sl, 4H, Ar-H); 7,37 (sl, 4H, Ar-H); 7,31-7,28 (sl, 4H, Ar-H); 4,59 (sl, 8H, O-CH₂); 3,79-3,77 (sl, 8H, CH₂); 3,13 (s, 36H, N(CH₃)₂).

UV-Visível (DMSO), λ_{máx}/nm (log ε): 680 (4,3); 612 (3,6); 342 (4,0).

Tetraiodeto de [3,10,17,24-tetra-(2-aminoetoxi)] de ftalocianina (11)

Seguindo o procedimento geral acima descrito o composto **7** (60mg, 0.070mmol) foi dissolvido em DMF (3.5mL), e iodeto de metilo (2.28g, 16.06mmol) foi adicionado a esta solução. Obteve-se 85mg de produto, com rendimento de 85%. Dados espectroscópicos de acordo com descrito na literatura.⁴



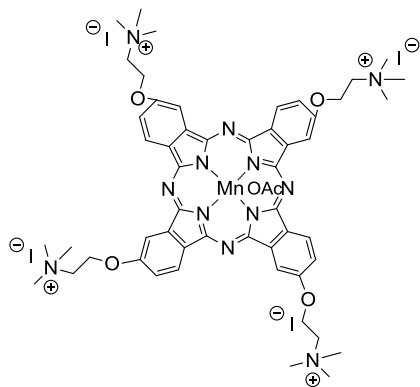
RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) (δ, ppm): δ 9,15 (sl, 4H, Ar-H); 8,12 (sl, 4H, Ar-H); 7,86 (sl, 4H, Ar-H); 5,09 (sl, 8H, O-CH₂); 4,16 (sl, 8H, CH₂); 3,42 (s, 36H, N(CH₃)₂).

UV-Visível (DMSO), λ_{máx}/nm (log ε): 705 (4,4); 673 (4,4); 343 (4,3).

Análise elemental: calculado para C₅₂H₆₆I₄N₁₂O₄·2H₂O: C, 42.60; H, 4.64; N, 11.46. Encontrado: C, 42.53; H, 4.81; N, 11.61

**Tetraiodeto de [3,10,17,24-tetra-(2-aminoetoxi)ftalocianinato]de manganésio (III)
(12)**

Seguindo o procedimento geral acima descrito o composto **8** (80mg, 0.082 mmol) foi dissolvido em DMF (4.5mL), e iodeto de metilo (3.42g, 24.09mmol) foi adicionado a esta solução. Obteve-se 112mg de produto, com rendimento de 86%.



Análise elemental: calculado para $C_{54}H_{67}I_4MnN_{12}O_6 \cdot 2H_2O$: C, 41.08; H, 4.53; N, 10.65. Encontrado: C, 41.67; H, 4.53; N, 10.09.

UV-Visível (DMSO), $\lambda_{m\acute{a}x}/nm$ (log ϵ): 732 (4,2); 652 (3,5); 368 (4,2).

5.6 Referências

-
- [1] H. D. Burrows, M. M. Pereira, *Química: Síntese e Estrutura – Uma abordagem prática*, Escolar Editora, **2006**.
- [2] M. Pineiro, A. L. Carvalho, M. M. Pereira, A. M. A. R. Gonsalves, L. G. Arnaut, S. J. Formosinho, *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, 2299.
- [3] I. Gurol, M. Durmus, V. Ahsen, T. Nyokong, *Dalton Trans.*, **2007**, 3782.
- [4] L. Zhang, J. Huang, L. Ren, M. Bai, Lin Wu, B. Zhai, X. Zhou, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 303.
- [5] S. I. Yang, J. Li, H. S. Cho, D. Kim, D. F. Bocian, D. Holten, J. S. Lindsey, *J. Mater. Chem.*, **2000**, *10*, 283.
- [6] P. M. T. Ferreira, H. L. S. Maia, L. S. Monteiro, J. Sacramento, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1999**, *1*, 3697.
- [7] M. F. Ferreira, A. F. Martins, J. A. Martins, P. M. Ferreira, E. Tóth, C. F. G. C. Geraldès, *Chem. Commun.*, **2009**, 6475.
- [8] M. J. F. Calvete, D. Dini, S. R. Flom, M. Hanack, R. G. S. Pong, J. S. Shirk, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 3499.
- [9] J. Alzeer, P. J. C. Roth, N. W. Luedtke, *Chem. Commun.*, **2009**, 1970.
- [10] E. M. Maya, P. Haisch, P. Vázquez, T. Torres, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 4397.