Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Metaloporfirinas e compostos salen como modelos biomiméticos do citocromo P450 no metabolismo de fármacos anticonvulsivante e antidepressivo

Tatiana Cristina de Oliveira Mac Leod

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

RIBEIRÃO PRETO – SP

2008

Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Metaloporfirinas e compostos salen como modelos biomiméticos do citocromo P450 no metabolismo de fármacos anticonvulsivante e antidepressivo

Tatiana Cristina de Oliveira Mac Leod

Profa. Dra. Marilda das Dores Assis
Orientadora

Profa. Dra. Maria Eugênia Queiroz Nassur
Co-orientadora

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

RIBEIRÃO PRETO – SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA
Prepara pela Biblioteca Central do Campus Administrativo
de Ribeirão Preto – USP

Mac Leod, Tatiana Cristina de Oliveira
Metaloporfirinas e compostos salen como modelos biomiméticos do citocromo P-450 no metabolismo de fármacos anticonvulsivante e antidepressivo.
215 p.

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP – Departamento de Química.
Orientadora: Assis, Marilda das Dores

1. Metaloporfirinas e complexos salen. 2. oxidação de fármacos.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Folha de Aprovação

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de Tatiana Cristina de Oliveira Mac Leod, apresentada ao Departamento de Química, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, ___ / ___ / ____.

Comissão Julgadora:

_____
(Nome / Instituição)

_____
(Nome / Instituição)

_____
(Nome / Instituição)

_____
(Nome / Instituição)

_____
(Nome / Instituição)

DURANTE ESTE TRABALHO...

As dificuldades não foram poucas...

Os desafios foram muitos...

Agora, ao olhar para trás, a sensação do dever cumprido se faz presente e posso constatar que as noites de sono perdidas, os experimentos realizados em outros laboratórios, os longos tempos de leitura, discussões intermináveis de resultados, a ansiedade em querer fazer e a angústia de muitas vezes não o conseguir, não foram em vão, apesar da sinuosidade do caminho.

Dedico esta tese:

À meus pais Sérgio e Vera, a quem devo a vida e minha formação moral. Obrigada por tantas vezes que abdicaram dos seus sonhos para realizarem os meus, abrindo mão das suas vontades para realizar meus caprichos.

Aos meus irmãos Rodrigo e Alessandro pelo companheirismo, pela amizade, pela nossa união que a palavra família faz sentido.

Ao meu namorado Tiago por ter estado ao meu lado mesmo com um oceano nos separando, por entender que a distância se torna necessária para a realização de um sonho, por acreditar em mim, me esperar e não desistir do nosso amor mesmo diante de tantos obstáculos.

A minha orientadora Marilda pela oportunidade, pelo incentivo, pelos grandes ensinamentos e por abrir muitas portas visando meu crescimento pessoal e profissional.

Essa tese, essa conquista não é só minha porque ao meu lado estavam todos vocês, cada um ao seu modo me apoiando e incentivando sempre.

Agradecimentos

À Prof. Dra. Maria Eugênia Queiroz Nassur por sua orientação, sugestões e ensinamentos de cromatografia líquida de alta eficiência para análise de fármacos.

Ao Prof. Dr. António M. d A. Rocha Gonsalves, pelas sugestões e por ter me acolhido durante parte do meu doutorado em seu laboratório em Coimbra.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Beraldo de Moraes pelas discussões de espectros de massas.

Ao Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães, por ter cedido o fármaco carbamazepina.

À Prof. Dra. Katia J. Ciuffi pela sua colaboração nos estudos com materiais sol-gel.

Ao Prof. Dr. Marco A. Schiavon pela sua colaboração nos estudos com membranas poliméricas.

Ao Prof. Fernando Mauro Lanças por disponibilizar o equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a espectrometria de massas (LC-MS).

Ao Prof. Dr. Antônio Cláudio Tedesco e ao Prof. Dr. Jair S. dos Santos.

Aos amigos do laboratório de Bioinorgânica e Catálise do Departamento de Química da FFCLRP-USP (BioCat): Ádamo, André Faria, André Guedes, Carol, Debora, Joyce, José Olavo, Marina, Patrícia, Thiago, Valéria, Vinícius.

Ao Anízio e Glória pelo apoio e incentivos constantes e por tudo que fizeram por mim e pelos meus irmãos, vocês sempre terão um lugar especial na minha vida.

Aos meus avós: Israel, Lídia e Nelson (in memorian) que ficariam muito orgulhosos deste trabalho e minha avó Tude que sempre procurou entender o que eu estudava tanto.

As minhas tias Deise e Ivana (madrinha) que sempre me apoiaram para a realização do doutorado.

Ao tio João pelo seu exemplo de vida e inúmeros conselhos fundamentais para trilhar este caminho.

Aos meus primos: Gustavo, Dani, Breno, João Pedro, Luís Henrique, Nati, Fabi, Guilherme, Priscila e Sylvia.

Aos meus familiares: tio Dort, tia Rosa, Sílvio, Raquel, Valéria, Laércio, Juliana, Matheus e Lucas.

Ao Marco Aurélio, por todo apoio, exemplo, incentivo e participação na minha vida, desde a escolha da carreira de química até a realização do doutorado.

À Paty, pela grande amizade que surgiu há 8 anos atrás, marcando nossa história com importantes momentos compartilhados, compreensão, estudo, convívio, diferenças, fraquezas, tombos e vitórias.

À Deza, uma pessoa especial desde a época na faculdade, pela sua presença em todos os momentos.

As minhas cunhadinhas: Má (Sam) e Nati (Ro); as minhas amigas de longa data: Mariana, Marcela, Luciana, Verônica e Roberta; e aos amigos de faculdade: Dani Maranho, Priscilla, Chris, Carlos, Jorge, Neila, Marquinhos, Fernando, Miguel, Pitião, Dani Dani, Nara, Daniele, Daniela.

Ao Romeuzinho, minha calopsita, que esteve ao meu lado, ouvindo todas as prévias de seminários (com certeza aprendeu alguma coisa de química) e pela companhia na frente do computador por horas a fio.

À Lâmia, Isabel, Emerson, André, Sônia e Inês pela eficiência, atenção e paciência dedicadas.

Aos técnicos Cristina (CG-MS), Thomas (ESI), Luciano (MEV), Virgínia (^{1}H RMN), Djalma (IR) e Zanatto (técnico do laboratório).

A todos que contribuíram para a minha formação e para a realização deste trabalho, mesmo que indiretamente.

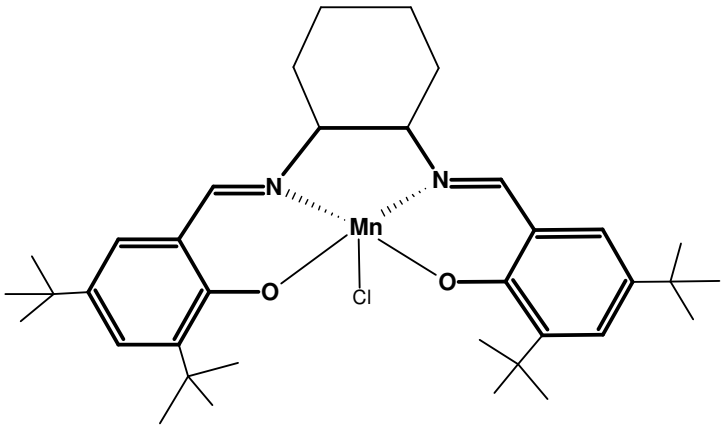
À Fapesp pela bolsa concedida (Bolsa de Doutorado Direto – Processo 04/01859-6) e pela reserva técnica, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

ABREVIATURAS

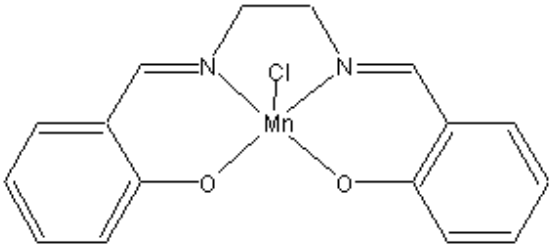
ACN	Acetonitrila
BL	α-fenil-γ-butirolactona
BTMF	Benzoato de 4-trifluorometilfenil
CBZ	5-carbamoil-5H-dibenzapina, carbamazepina
CBZ-DiOH	10,11-diidro-10,11-diidróxi-carbamazepina
CBZ-EP	10,11-epóxido-carbamazepina
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectroscopia no ultravioleta
CLAE-ESI	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um espectrômetro de massa
DCE	Dicloroetano
DCM	Diclorometano
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
EtOH	Etanol
FENO	Fenobarbital
^{1}H RMN	Ressonância magnética nuclear de próton
$iPr_2$0	Éter diisopropílico
m-CPBA	Ácido *meta*-cloroperbenzóico
MeMont1	Metaloporfirina ancorada em montorillonita K-10 modificada com 3-aminopropiltrietoxissilano
MeMont2	Metaloporfirina ancorada em montorillonita K-10 modificada com *N*-(6-aminoexil)-3-aminopropiltrietoxissilano
MeOH	Metanol
MeSil1	Metaloporfirina ancorada em sílica modificada com 3-aminopropiltrietoxissilano
MeSil2	Metaloporfirina ancorada em sílica modificada com *N*-(6-aminoexil)-3-aminopropiltrietoxissilano
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mn(salen)	Catalisador de Jacobsen
Mn(salen)-Chit	Catalisador de Jacobsen imobilizado em membrana de quitosana
Mn(salen)-NHG	Catalisador de Jacobsen entrapeado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica

MnS-PDMS-PVA	Catalisador de Jacobsen imobilizado em membrana híbrida contendo polidimetilssiloxano e acetato de polivinila
NH_4OAc	Acetato de amônio
Mont	Montorillonita K-10
P450	Citocromo P450
$PhIAc_2$	Iodobenzenodiacetato
PhIO	Iodosilbenzeno
$PhIO_2$	Iodoxibenzeno
PBA	2-fenilbutiramida
PDMS	Polidimetilssiloxano
PDMS/PVA	Membrana híbrida contendo polidimetilssiloxano e acetato de polivinila
PEMA	Feniletilmalonamida
PRM	Primidona
PRM-OH	2-hidroxiprimidona
PVA	Acetato de polivinila
Sil	Sílica
t-BOOH	*Terc*-butil hidropéroxido
TFMF	p-trifluorometilfenol
TFP	N-(3-(4-(trifluorometil)fenoxi)-3-fenilpropilideno)metanamina
TEOS	Tetraetoxissilano
TG	Análise termogravimétrica
TOF	Frequência de “turnovers”

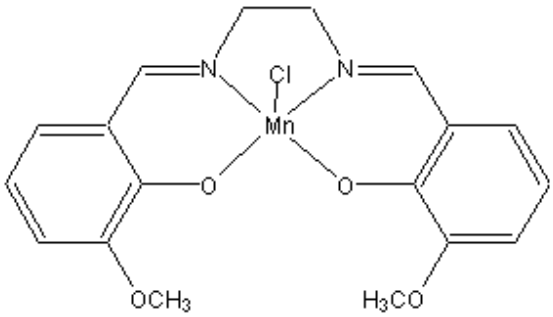
ESTRUTURAS DOS COMPLEXOS SALEN E METALOPORFIRINAS ESTUDADAS



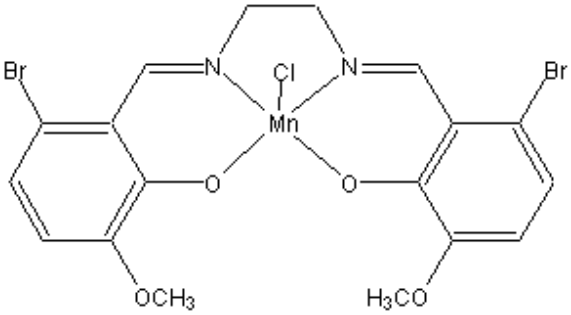
Mn(salen)
Cloreto de N,N'-bis(3,5-di-*tert*-butilsalicilideno)-1,2-diaminocicloexil manganês (III)



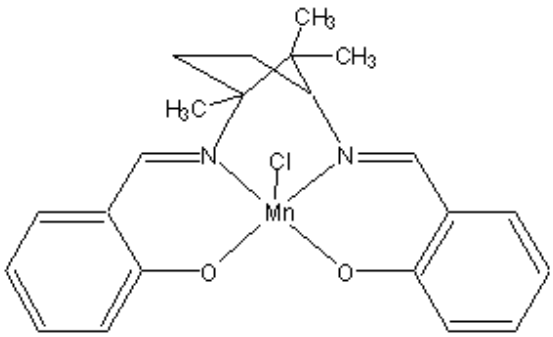
EDA-Sal
Cloreto de N,N'-bis(salicilideno)-1,2-diaminoetil manganês (III)



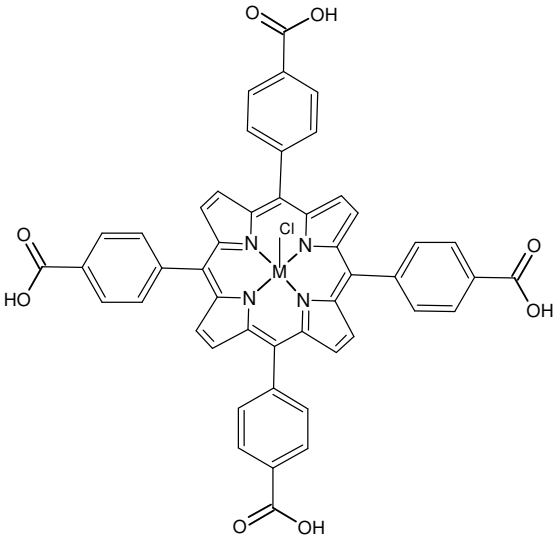
EDA-Van
Cloreto de N,N'-bis(5-di-metoxisalicilideno)-1,2-diaminoetil manganês (III)



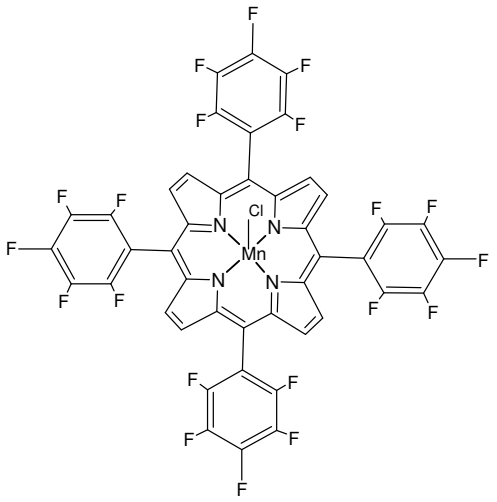
EDA-Br
Cloreto de N,N'-bis(3-di-bromo 5-di-metoxisalicilideno)-1,2-diaminoetil manganês (III)



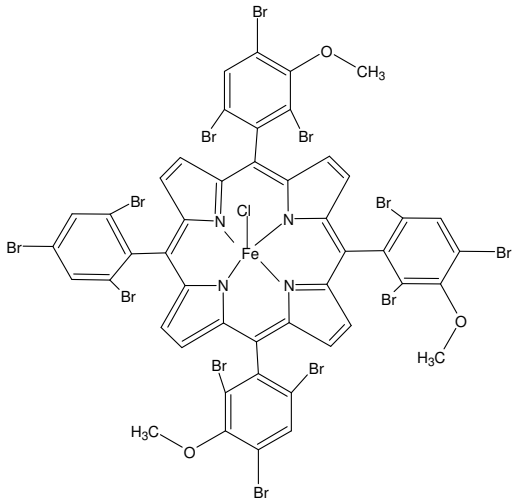
AG-20
Cloreto de N,N'-bis(salicilideno)-1,2-diamino(1,2,2-trimetil-1,3-ciclopentano) manganês (III)



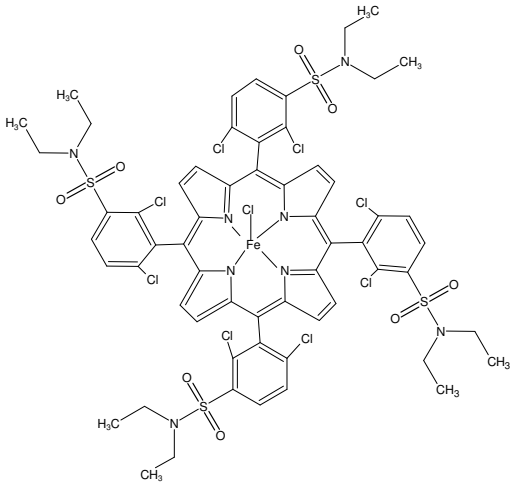
Mn(TCPP)Cl ou Fe(TCPP)Cl
Cloreto de [5,10,15,20-tetraquis(4-carboxifenil)porfirina]metal(III)



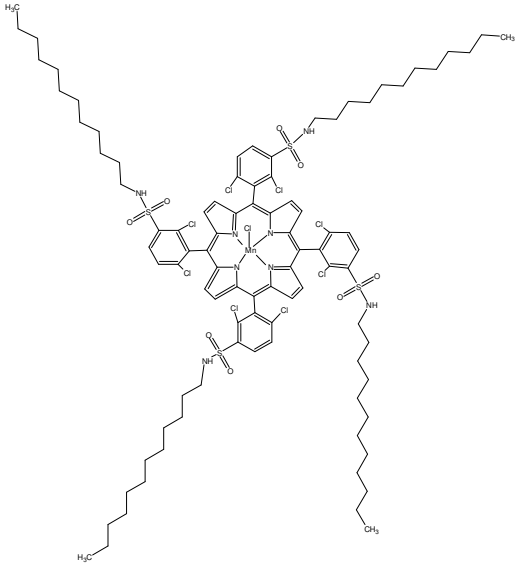
Mn(TFPP)Cl
Cloreto de [5,10,15,20-tetraquis (pentafluorofenil)porfirina] manganês (III)



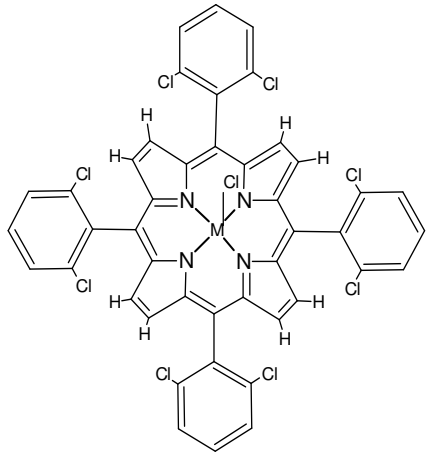
$FeBrOCH_3$
Cloreto de [5,10,15,20-tetraquis(2,4,6-tribromo-3-metóxifenil)porfirina] ferro(III)



$FeSO_2NEt$
Cloreto de [5,10,15,20-tetraquis(2,6-dicloro-3-N,N'-dimetilsulfamoilfenil) porfirina] ferro(III)



MnC_{12}
Cloreto de [5,10,15,20-tetraquis(2,6-dicloro-3-N-dodecilsulfamoilfenil) porfirina] ferro(III)



M(TDCPP)Cl
Cloreto de [5,10,15,20-tetraquis(2,6-diclorofenil) porfirina] ferro(III)

RESUMO

Neste trabalho foram estudadas a atividade catalítica de metaloporfirinas e complexos salen (catalisador de Jacobsen), em solução e imobilizados em diferentes suportes, na oxidação de hidrocarbonetos e fármacos anticonvulsivantes (carbamazepina e primidona) e antidepressivo (fluoxetina), utilizando os seguintes doadores de oxigênio: peróxido de hidrogênio, *terc*-butil hidroperóxido (*t*-BOOH), ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) e iodosilbenzeno (PhIO).

Os catalisadores contendo o complexo salen imobilizado em alumina, membranas de quitosana e membranas polidimetilssiloxano/acetato de polivinila (PDMS/PVA), foram preparados e caracterizados por espectroscopia UV-Vis, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial, análise térmica diferencial, infravermelho, microscopia eletrônica de varredura, raios-X e área superficial. Foi investigada a atividade destes materiais inicialmente na catálise oxidativa de hidrocarbonetos (cicloocteno, estireno e cicloexano). Estes sistemas heterogêneos se mostraram bastante eficientes para oxidação destes substratos, com rendimentos de até 79 % de ciclooctenóxido e elevada seletividade para formação de epóxido ou cetona, quando se utilizam os substratos alcenos ou cicloexano, respectivamente.

As membranas de quitosana e membranas híbridas PDMS/PVA foram avaliadas em sistema trifásico, nos quais a membrana se localiza na interface entre a fase apolar (substrato orgânico) e a fase aquosa (contendo o oxidante). Os resultados catalíticos foram excelentes, obtendo-se freqüências de “turnovers” da ordem de 138 h^{-1}.

As reações de oxidação dos fármacos (carbamazepina, primidona e fluoxetina) foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV) em fase reversa, por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-ESI) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS), para identificação dos produtos.

Na oxidação da carbamazepina (CBZ) foi produzido apenas o 10,11-epóxido-carbamazepina (CBZ-EP), que corresponde ao principal metabólito obtido

no metabolismo *in vivo* catalisado pelo P450*,* indicando que os sistemas catalíticos utilizados são excelentes modelos biomiméticos desta enzima. Observou-se que a formação de CBZ-EP é dependente do oxidante e do pH do meio, principalmente nas reações com peróxido de hidrogênio, resultando em mecanismos de clivagem homolítica ou heterolítica conforme o pH da reação. Os oxidantes *m*-CPBA e *t*-BOOH mostraram que a natureza dos substituintes ligados ao grupo –OOH do peróxido exerce grande efeito na oxidação da CBZ.

Na oxidação da primidona foram obtidos dois metabólitos encontrados no sistema *in vivo*: feniletilmalonamida e fenobarbital, além de três outros produtos (2-fenilbutiramida, γ-fenil-γ-butirolactona e um produto em nível de traços, não identificado). A formação destes compostos foi altamente dependente do oxidante, co-catalisador, pH e oxigênio, o que possibilitou a proposta de um esquema de oxidação com os possíveis intermediários envolvidos.

Todos os sistemas catalíticos utilizados na oxidação da fluoxetina estudados geraram o produto de N-desalquilação, o p-trifluorometilfenol (TFMF). A norfluoxetina principal metabólito deste fármaco *in vivo,* resultante de N-desmetilação, não foi produzida, indicando que a reação de O-desalquilação prevalece e, portanto, os catalisadores não seguem a rota biomimética para este fármaco.

Este trabalho demonstrou a habilidade do complexo salen e das metaloporfirinas para mimetizar a ação do citocromo P450 na oxidação de fármacos. Os resultados mostram também o grande potencial de aplicação de modelos biomiméticos para sintetizar metabólitos e fornecer amostras para testes farmacológicos e toxicológicos, visando elucidação do metabolismo do fármacos, e como uma alternativa aos estudos enzimáticos.

ABSTRACT

In this work, the catalytic activities of metalloporphyrins and the salen complex (Jacobsen catalyst) in solution and immobilized on different supports were studied in the oxidation of hydrocarbons, anticonvulsivant drugs (carbamazepine and primidone) and antidepressives (fluoxetine) by the following oxygen donors: hydrogen peroxide, *terc*-butyl hydroperoxide (*t*-BOOH), 3-chloroperoxybenzoic acid (*m*-CPBA), and iodosylbenzene (PhIO).

The catalysts containing the salen complex immobilized on alumina, chitosan membranes and poly(dimethylsiloxane)/polyvinyl acetate membranes (PDMS/PVA) were prepared and characterized by UV-Vis spectroscopy, thermogravimetric analysis, differential thermal analysis, differential scanning calorimetry, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, X-ray diffraction, and surface area analysis. The activity of these materials was initially investigated in the oxidative catalysis of hydrocarbons (cyclooctene, styrene and cyclohexane). These heterogeneous systems were efficient for the oxidation of these substrates, with yields as high as 79 % for cyclooctene oxide. The selectivity for epoxide or ketone formation was high when the substrate alkenes or cyclohexane were used, respectively.

The chitosan membranes and hybrid membranes PDMS/PVA were available in a triphasic system, where the membrane was located in the interface between the apolar phase (organic substrate) and the aqueous phase (containing the oxidant). The catalytic results were excellent, with turnover frequencies of 138 h^{-1}.

Drug oxidation (carbamazepine, primidone and fluoxetine) products were analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC-UV) in reverse phase, liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-ESI), and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), for products identification.

In the case of carbamazepine (CBZ) oxidation only carbamazepine 10,11-epoxide (CBZ-EP) was produced. This is to the main metabolite obtained in

carbamazepine metabolism by P450 *in vivo,* indicating that the catalytic systems employed here are excellent biomimetic models of this enzyme. Formation of CBZ-EP is highly dependent on the oxidant and pH, especially in the reaction with hydrogen peroxide, resulting in homolytic and/or heterolytic cleavage, according to the pH of the reaction medium. The oxidants *m*-CPBA and *t*-BOOH showed that the presence of substituents linked to the -OOH group of the peroxide affects the catalytic activity of the studied system significantly.

As for primidone oxidation, two metabolites found in the *in vivo* system were obtained: phenylethylmalondiamide and phenobarbital, besides three other products (2-phenylbutyramide, γ-phenyl-γ-butyrolactone and, a product in trace amounts, not identified). The formation of these compounds was highly dependent on the oxidant, co-catalyst, pH and presence of oxygen. These results enabled the proposition of a scheme for Mn(salen)-catalyzed primidone oxidation and the possible intermediate involved.

All the studied catalytic systems used in fluoxetine oxidation generated the product obtained via the O-dealkylation mechanism, p-trifluoromethylphenol (TFMF). Norfluoxetine, the main metabolite in vivo and formed via the N-demethylation mechanism, was not obtained. This indicates that the O-dealkylation mechanism prevails and, therefore, the catalysts do not follow the biomimetical route in the case of this drug.

This work demonstrated the ability of the salen complex and metalloporphyrins to mimic the action of cytochrome P450 in drug oxidation. These results showed the potential application of these biomimetic models in the synthesis of drug metabolites, which should provide samples for pharmacological and toxicological tests, as well as aid studies that pursue the elucidation of *in vivo* drug metabolism, being an alternative to enzymatic studies.

ÍNDICE

I.INTRODUÇÃO..... 01

I.1 - Aspectos gerais..... 01
I.2 - Enzimas citocromo P450..... 03
I.3 - Modelos biomiméticos do citocromo P450: metaloporfirinas e complexo salen..... 10
I.4 - Histórico das principais contribuições de enzimas citocromo P450 e modelos biomiméticos..... 15
I.5 - Múltiplas espécies oxidantes em reações com modelos de citocromo P450..... 19
I.6 - Espécies intermediárias do Mn(salen)..... 23
I.7 - Mecanismo de epoxidação catalisado por Mn(salen)..... 26
I.8 - Oxidação de fármacos..... 27
I.9 – Anticonvulsivantes..... 32
I.10 - Antidepressivo: fluoxetina..... 37

II- OBJETIVOS..... 42

III- PARTE EXPERIMENTAL..... 43

III.1 – Reagentes..... 43
III.2 - Equipamentos e dispositivos utilizados..... 44
III.3- Métodos..... 45
III.3.1- Preparação e caracterização do catalisador de jacobsen entrapeado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica (NHG)..... 45
III.3.2 - Imobilização e caracterização do catalisador de Jacobsen na membrana de quitosana..... 46
III.3.3 - Cálculo do grau médio de acetilação (GA) da quitosana..... 47
III.3.4 - Preparação e caracterização do catalisador de Jacobsen ocluído nas membranas poliméricas híbridas PDMS/PVA..... 47
III.3.5 - Intumescimento das membranas poliméricas de PDMS/PVA..... 48

III.3.6- Oxidação de hidrocarbonetos..... 48
III.3.6.1- Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen entrapeado na matriz de alumina – Mn(salen)-NHG..... 49
III.3.6.2 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen imobilizado na membrana de quitosana, Mn(salen)-Chit..... 50
III.3.6.3 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen ocluído nas membranas poliméricas híbridas PDMS/PVA..... 50

III.3.7- Oxidação da carbamazepina..... 51
III.3.7.1- Otimização do processo de extração para o catalisador de Jacobsen e metaloporfirinas..... 51
III.3.7.2 - Otimização e padronização das condições cromatógraficas (CLAE-UV), para análise da carbamazepina e seus produtos de oxidação..... 52
III.3.7.3 - Otimização das condições cromatográficas para análise dos produtos de oxidação da CBZ por CLAE acoplado a um espectrômetro de massa (CLAE-ESI)..... 52
III.3.7.4 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação da carbamazepina, monitorado por CLAE-UV e por CLAE-ESI..... 53
III.3.7.5- Avaliação da atividade catalítica de ferro “crowned” porfirinas.... 54
III.3.7.6- Catálise heterogênea na oxidação da carbamazepina..... 54
III.3.7.6- A) Utilizando catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas..... 54
III.3.7.6- B) Utilizando metaloporfirinas ancoradas em suportes aminofuncionalizados..... 55

III.3.8 – Oxidação da primidona..... 56
III.3.8.1- Otimização do processo de extração do catalisador de Jacobsen e metaloporfirinas..... 56
III.3.8.2– Otimização e padronização das condições cromatográficas (CLAE-UV), para análise da primidona e seus produtos de oxidação..... 57
III.3.8.3– Otimização das condições cromatográficas do CG acoplado a um espectrômetro de massas (CG-MS) para análise da primidona e seus produtos de oxidação..... 58
III.3.8.4 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação da primidona, monitorado por CLAE-UV e GC-MS..... 58

III.3.9 – Oxidação da fluoxetina..... 60

III.3.9.1- Otimização e padronização das condições cromatográficas (CLAE-UV), para análise da fluoxetina e seus produtos de oxidação..... 60

III.3.9.2 - Otimização das condições cromatográficas do CG acoplado a um espectrômetro de massas (CG-MS) para análise da fluoxetina e seus produtos de oxidação..... 61

III.3.9.3 - Estudo da atividade catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação da fluoxetina, monitorado por CLAE-UV..... 61

III.3.9.4 - Estudo da atividade catalítica de metaloporfirinas e complexos salen na oxidação da fluoxetina num sistema bifásico por peróxido de hidrogênio..... 62

III.3.9.5 - Estudo da atividade catalítica de uma porfirina base livre na fotoxidação da fluoxetina..... 63

III.3.10- Catalise heterogênea utilizando o catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas..... 63

IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 65

IV.1- Preparação e caracterização dos catalisadores sólidos..... 65

IV.1.1- Preparação do catalisador de Jacobsen entrapeado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica (NHG)..... 65

IV.1.2- Caracterização do catalisador de Jacobsen entrapeado, Mn(salen)-NHG..... 68

IV.1.3- Imobilização do catalisador de Jacobsen por coordenação em membrana de quitosana..... 74

IV.1.4 - Caracterização do catalisador de Jacobsen imobilizado em membrana de quitosana, Mn(salen)-Chit..... 75

IV.1.5 - Cálculo do grau médio de desacetilação (GD) da quitosana..... 79

IV.1.6 - Preparação e caracterização do catalisador de Jacobsen ocluído em membranas poliméricas..... 83

IV.1.7 - Intumescimento das membranas poliméricas..... 87

IV.2. Estudo da atividade catalítica do Mn(salen) imobilizado na oxidação de hidrocarbonetos..... 89

IV.2.1- Mn(salen) imobilizado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica, Mn(salen)-NHG..... 89

IV.2.2 - Mn(salen) imobilizado na membrana de quitosana, Mn(salen)-Chit... 98

IV.2.3- Mn(salen) imobilizado em membranas poliméricas PDMS/PVA..... 100

IV.3- Atividade Catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação de fármacos..... 105

IV.3.A- Carbamazepina..... 105

IV.3.A.1- Otimização do processo de extração para o catalisador de Jacobsen e para as metaloporfirinas..... 105

IV.3.A.2- Padronização das condições cromatógraficas (CLAE-UV), para análise da carbamazepina e seus produtos de oxidação..... 106

IV.3.A.3- Otimização das condições cromatográficas para análise da carbamazepina e seus produtos de oxidação por CLAE acoplado a um espectrômetro de massas (CLAE-ESI)..... 110

IV.3.A.4 - Estudos de oxidação da carbamazepina..... 114

IV.3.A.5 - Avaliação da atividade de ferro “crowned” porfirinas na oxidação da carbamazepina..... 123

IV.3.A.6 – Oxidação da CBZ na presença do catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas..... 129

IV.3.A.7 – Oxidação da CBZ na presença de metaloporfirinas ancoradas em suportes aminofuncionalizados..... 132

IV.3.B- Primidona..... 137

IV.3.B.1 - Desenvolvimento de método de análise da primidona e seus produtos de oxidação..... 137

IV.3.B.2 - Estudo da oxidação da primidona catalisada pelo Mn(salen) e metaloporfirinas..... 142

IV.3.B.3 - Oxidação da primidona utilizando o catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas..... 157

IV.3.C- Fluoxetina..... 159

IV.3.C.1 - Desenvolvimento de método de análise da fluoxetina e produtos de oxidação..... 159

IV.3.C.2 - Estudo da oxidação da fluoxetina catalisada pelo Mn(salen), monitorado por CLAE-UV..... 161

IV.3.C.3 - Estudo da atividade catalítica de metaloporfirinas e complexos salen na oxidação da fluoxetina por peróxido de hidrogênio num sistema bifásico..... 164

IV.3.C.4 - Oxidação da fluoxetina utilizando o catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas..... 182

IV.3.C.5 - Estudo da atividade catalítica de uma porfirina base livre na fotoxidação da fluoxetina..... 183

V - CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 187

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 190

VII - ANEXOS..... 215

I- INTRODUÇÃO

I.1 - Aspectos gerais

As reações de oxidação compreendem apenas 3 % das reações usadas em escala preparativa na indústria farmacêutica, devido aos métodos tradicionais de oxidação envolverem quantidades estequiométricas de reagentes inorgânicos tóxicos tais como permanganatos, dicromato e compostos derivados de cloro, os quais possuem sérias restrições em função da difícil eliminação de grande quantidade de subprodutos gerados nos processos de oxidação [Caron et al., 2006]. Assim, há necessidade do desenvolvimento de alternativas catalíticas mais limpas, sendo que o sistema ideal para a oxidação "verde" seria a utilização do oxigênio molecular como oxidante primário, na ausência de solventes orgânicos, juntamente com catalisadores recicláveis e atóxicos [Hill, 1999; Caron et al., 2006].

Estima-se que aproximadamente 50 % dos medicamentos que se encontram atualmente em desenvolvimento são produtos biológicos ou derivados de processos biotecnológicos, utilizando principalmente enzimas, as quais apresentam alto custo e condições específicas de temperatura e pH para alcançar elevados valores de atividade enzimática [Ulhoa; Silva, 2008].

Neste contexto, os sistemas biomiméticos economicamente viáveis e eficientes poderiam ser utilizados como catalisadores promissores para a síntese de medicamentos e metabólitos.

Sistemas biomiméticos são análogos sintéticos que reproduzem uma ou mais propriedades significativas de um sítio ativo de uma proteína. O princípio operacional de um análogo sintético pode ser definido como uma molécula de peso molecular relativamente baixo, idealmente obtida na forma cristalina e que reproduza a unidade biológica em termos de composição, tipo de ligantes, estrutura e estados de oxidação. Estes modelos naturalmente não podem simular os efeitos ambientais e impedimentos estéricos impostos pela conformação da proteína, o que pode ser considerado uma vantagem dos análogos sintéticos, pois eles refletem as propriedades intrínsecas do sítio de coordenação não modificado

pelo meio da proteína [Holm; Solomon, 2004]. Um análogo apropriado simula a esfera de coordenação e estereoquímica do sítio nativo. Um análogo *estrutural* permite reproduzir as características do sítio comuns ao próprio sítio. Um análogo *funcional* reproduz a reação catalítica que transforma substrato em produto, como faz a enzima, mesmo que a diferentes velocidades e não necessariamente com a mesma estereoquímica.

Deve-se ter em mente que o mecanismo enzimático somente pode ser desenvolvido pela própria enzima. Modelos funcionais podem dar alguma idéia dos possíveis mecanismos, delimitando os caminhos de reação. Dado a evolução dos métodos espectroscópicos e magnéticos, os quais permitem um conhecimento incisivo dos sítios metálicos, perseguir modelos estruturais não é uma prioridade atualmente. Análogos funcionais e seus sistemas de reação são os grandes desafios atualmente, uma vez que o químico necessita ainda entender transformações fundamentais como N_2 a NH_3; CH_4 a CH_3OH; H_2O a O_2, sob condições brandas, para desenvolvê-las de maneira similar ao centro catalítico nativo [Holm; Solomon, 2004].

O progresso da pesquisa nesta área nas três últimas décadas tem levado ao desenvolvimento de diversos sistemas biomiméticos que são capazes de reproduzir as reações de oxidação e oxigenação mediadas pelo citocromo P450 e peroxidases, ao menos em termos do tipo de reações, mecanismos e, freqüentemente, velocidades [Meunier et al., 2000; Suslick, 2000; Rani et al., 2005; Nazari et al., 2005]. Os esforços nesta direção têm levado à obtenção de sistemas metaloporfirínicos já com possibilidades de aplicação na química fina, como a oxidação seletiva de fármacos visando à obtenção de seus metabólitos em nível de grama [Nazari et al., 2005; Othman et al., 2000]. Estas conquistas têm estimulado o desenvolvimento de catalisadores de baixo custo e análogos às metaloporfirinas, que sejam eficientes e estáveis suficientes para tornarem-se competitivos para processos industriais em larga escala.

I.2 - Enzimas citocromo P450

Citocromo P450 constitui uma superfamília de enzimas cruciais para o metabolismo oxidativo, peroxidativo e redutivo de diversos grupos de compostos, desde endógenos, como esteróides, ácidos graxos e prostaglandinas, até exógenos, que incluem os fármacos e poluentes ambientais. O primeiro relato da existência da enzima P450 ou um "pigmento microssomal coordenante de monóxido de carbono", como foi chamado na época, foi publicado em 1958 por Klingenberg [Klingenberg, 1958]. O nome P450 refere-se à banda Soret do composto na forma reduzida e complexada com CO [Montellano, 2004; Meyer et al., 2005].

Enzimas da família citocromo P450 são expressas em diferentes formas de vida: animais, plantas, fungos e bactérias [Nelson et al., 1996]. Elas parecem ser indispensáveis para espécies eucariontes, mas não para procariontes, uma vez que certas bactérias não possuem enzimas da família do P450 [Nelson et al., 1996]. Eucariontes precisam do P450 para biossíntese de esteróides, que são constituintes da membrana plasmática [Omura, 1999]. Enzimas P450 de eucariontes são ligadas a membranas, geralmente localizadas no retículo endoplasmático, mas algumas P450s estão presentes nas membranas internas das mitocôndrias. Todos os citocromos P450 descritos contém a ferro protoporfirina IX como grupo prostético (Figura 1), o qual é enterrado dentro das cadeias de polipeptídeos da proteína, com um sítio de ligação bem definido que confere acessibilidade específica ao substrato (Figura 2) [Montellano, 2004]. Dentre as reações catalisadas pelo citocromo P450, as principais são epoxidações, N-,S-,O-desalquilações, N-oxidações, sulfoxidações, desalogenações e hidroxilações [Isin; Guengerich, 2007]. *In vivo*, o citocromo P450 catalisa a transferência de um átomo de oxigênio molecular para o substrato e o segundo átomo de oxigênio é reduzido à água por equivalentes redutores fornecidos por NADPH ou NADH:

$$R\text{-}H + O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O$$

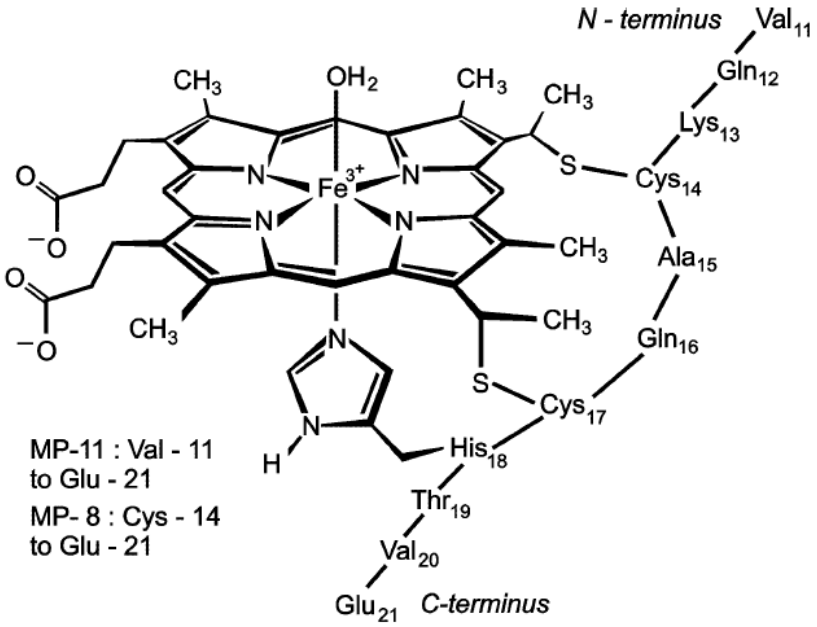


Figura 1. Ferroprotoporfirina IX na matriz protéica [Vashi; Marques, 2004].

A nomenclatura dos citocromos é baseada nos dados genéticos e dividida em família, subfamília e isorforma, conforme a similaridade da seqüência de aminoácidos, a qual, em uma dada família, é pelo menos 40 % idêntica, e a seqüência dentro de uma subfamília é mais que 55 % idêntica (por exemplo: CYP3A4 e CYP3A5 onde CYP=citocromo P450, 3A4 e 3A5 designam a família, subfamíllia e isoforma respectivamente). As enzimas P450 têm em comum uma estrutura terciária global, apresentando uma alta conservação da região central, apesar de possuir similaridades menores que 20 % em sua seqüência de aminoácidos nas diferentes famílias de P450 [Denisov et al., 2005]. Apesar da

estrutura terciária ser altamente conservada, há diversidade estrutural suficiente para permitir a ligação de substratos de tamanhos significativamente diferentes para diferentes P450, e com vários graus de especificidade. Alguns P450 são altamente régio e estéreo específicos na oxigenação do substrato, enquanto outros, tais como o CYP3A4 do fígado humano, metaboliza cerca de 50 % de todos os fármacos comerciais [Denisov et al., 2005].

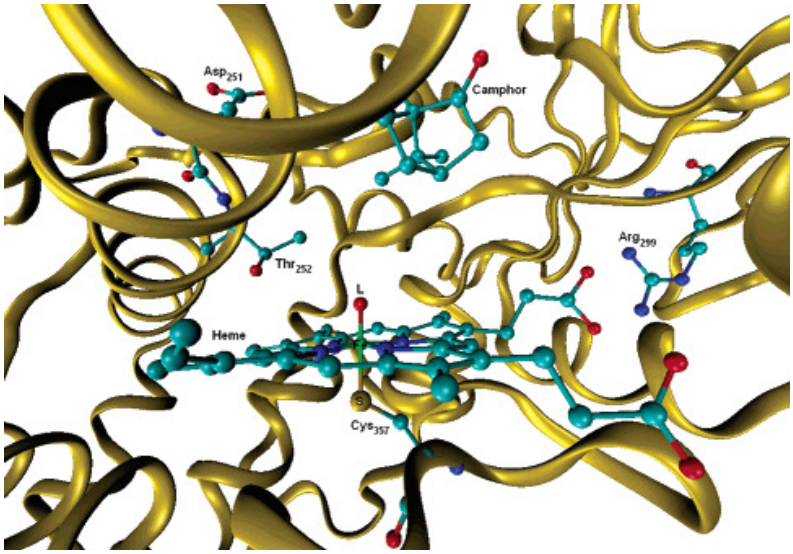


Figure 2. Sítio ativo do P450 de cânfora, obtido a partir da estrutura de Raios-X [Shaik et al., 2005].

Muitos membros da superfamília das hemeproteínas citocromo P450 são conhecidos e o número continua a crescer à medida que mais genomas são seqüenciados [Denisov et al., 2005]. Atualmente, a superfamília do citocromo P450 engloba mais de 5500 seqüências identificadas, sendo aproximadamente 1300 encontrados em animais [Seliskar; Rozman, 2007]. O número de citocromos P450 é diferente dependendo da espécie, 3 na espécie de levedura *S. cerevisiae,* 38 no fungo *Neurospora crassa*, 57 em humanos, 102 em ratos e centenas em muitas espécies de plantas. A maioria dos citocromos P450 tem funções desconhecidas, portanto, um dos desafios futuros seria a atribuição de funções para estes citocromos P450. Das 57 isoformas de P450 em humanos, a função de

12 permanece desconhecida, outros 15 são responsáveis pelo metabolismo de xenobióticos, e pertecem às famílias CYP1, CYP2 e CYP3, o restante atua no metabolismo de compostos endógenos (Tabela 1) [Nelson et al., 2004; Seliskar; Rozman, 2007].

Tabela 1. Citocromos P450 em humanos e suas principais funções [Seliskar; Rozman, 2007].

Citocromos P450	Principal Função
CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7	Metabolismo de xenobióticos
CYP2A7, CYP2S1, CYP2W1, CYP3A43, CYP4A22, CYP4F11, CYP4F22, CYP4V2, CYP4X1, CYP4Z1, CYP20, CYP27C1	Funções desconhecidas
CYP11A1,CYP11B1, CYP11B2, CYP17, CYP19, CYP21A2	Síntese do hormônio esteróide
CYP7A1, CYP7B1, CYP8B1, CYP27A1, CYP39	Síntese do ácido bile
CYP46, CYP51	Biossíntese do colesterol
CYP1B1	Metabolismo do andrógeno, metabolismo do ácido retinóico
CYP26A1, CYP26B1, CYP26C1	Metabolismo do ácido retinóico
CYP2R1	Hidroxilação C-25 da vitamina D3
CYP24	Hidroxilação C-24 da 1,25-diidroxi-vitamina D3
CYP27B1	Hidroxilação C-24 da 25-hidroxi-vitamina D3
CYP4A11, CYP4B1	Hidroxilação de ácido graxo saturado
CYP2U1	Hidroxilação de cadeia longa de ácido graxo

CYP2J2	Epoxidação do ácido araquidônico
CYP5A1	Síntese do tromboxano
CYP4F8, CYP8A1	Síntese de prostanglandinas
CYP4F12, CYP4F2, CYP4F3	Metabolismo de leucócitos

Esta classificação dos citocromos P450 não é absoluta. Muitos CYPs listados no metabolismo de compostos endógenos também participam do metabolismo de xenobióticos e alguns CYPs envolvidos no metabolismo de xenobióticos podem ser envolvidos na transformação de substratos endógenos. Por exemplo, CYP3A4 e CYP2D6 participam na biossíntese do colesterol e na hidroxilação do carbono 25 da vitamina D3. A classificação dos P450s citados está de acordo com a revisão de F.P. Guengerich [Guengerich, 2004].

O sítio ativo do citocromo P450 contém a protoporfirina IX (Figura 1) situada em uma cavidade hidrofóbica na proteína, tendo a quinta posição de coordenação do metal ocupada por um átomo de enxofre de uma cisteína residual, responsável pela ligação do sítio ativo à enzima (Figura 2), e o sexto sítio de coordenação está ligado a uma molécula de água. É neste sexto sítio que ocorre a ativação do oxigênio molecular [Montellano, 2004]. Apesar da diversidade de substratos que podem ser oxidados e do tipo de reação, todos os citocromos P450 envolvem um ciclo catalítico comum (Figura 3).

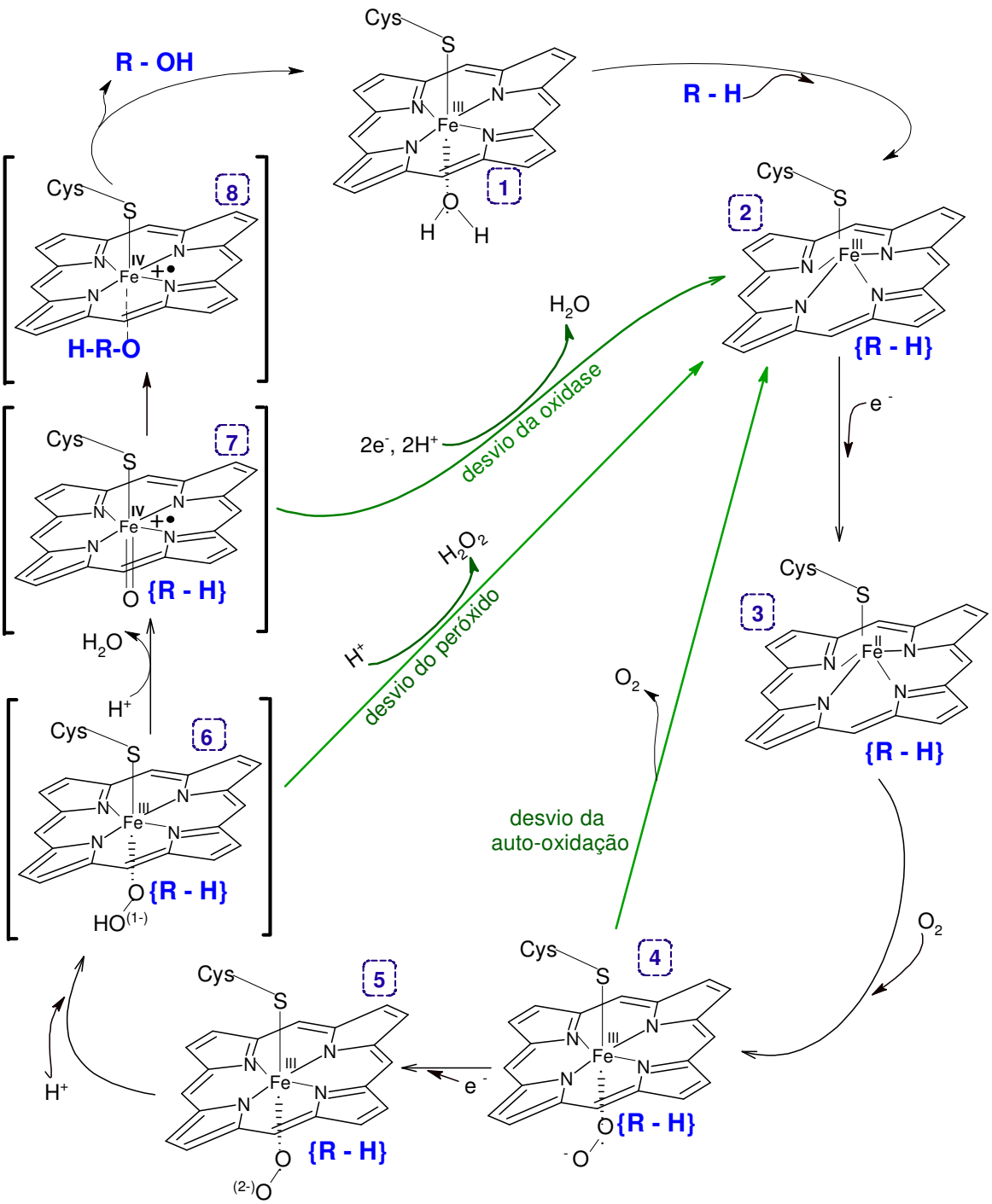


Figura 3. Ciclo catalítico proposto para o citocromo P450 [adaptado de Denisov et al., 2005].

O ciclo catalítico foi primeiramente desvendado para o citocromo bacterial de cânfora ($P450_{cam}$, CYP101). Ligação do substrato à enzima em seu estado de repouso ferro(III) baixo spin (**1**) desloca a água coordenada como sexto ligante do ferro heme e muda o estado de spin para um complexo alto spin ligado ao substrato (**2**). Este complexo tem um potencial de redução mais positivo e, assim, é mais facilmente reduzido ao estado ferroso (**3**) no CYP101. Foi observado em outros sistemas que a mudança de spin não é uma etapa obrigatória do ciclo [Denisov et al., 2005]. Ligação do oxigênio leva a um complexo oxi-P450 (**4**), o qual é o último intermediário relativamente estável do ciclo. A redução deste complexo, formação seqüencial de um complexo férrico-peróxido (**5**), sua forma protonada férrico-hidroperóxido (**6**), segunda protonação do átomo de oxigênio distal com subseqüente heterólise da ligação O-O e formação do composto I (**7**) e água, e oxigenação do substrato para formar um produto complexo (**8**) têm sido estudada por muitos métodos experimentais, mas poucas medidas diretas têm sido possível devido à alta reatividade e impossibilidade de acúmulo suficiente destes intermediários em estudos cinéticos.

Cada intermediário pode desenvolver sua rica química, o que resulta em pelo menos três ramificações envolvendo reações laterais: i) autooxidação da enzima na forma oxo-ferro(II) (**4**), com concomitante produção de um ânion superóxido e retorno da enzima ao seu estado de repouso; ii) o desvio do peróxido (ou ciclo catalítico curto), em que o peróxido coordenado ou o ânion hidroperóxido (**6,7**) dissocia do ferro, formando peróxido de hidrogênio, completando assim a improdutiva (em termos de substrato) redução de 2 elétrons do oxigênio; e iii) um desacoplamento tipo oxidase, através do qual o intermediário oxo-ferril (**7**) é oxidado à água ao invés de oxigenação do substrato, resultando assim em redução de 4 elétrons da molécula de dioxigênio, com a formação de 2 moléculas de água. A espécie oxo-ferril (**7**) tem sido aceita como o oxidante eletrofílico ativo do P450, embora não tenha sido ainda detectada, mesmo através das técnicas mais sofisticadas a ultrabaixas temperaturas [Chandrasena et al., 2004]. Recentemente, as espécies ferro(III)-hidroperoxo (composto 0, **6**) e ferro(III)-peroxo (**5**) têm sido também propostas como intermediários capazes de oxidar

substratos em algumas famílias de P450, embora sejam menos reativos que a espécie (**7**) (composto I) [Chandrasena et al., 2004; Volz et al., 2002; Dowers et al., 2004; Hirao et al., 2006; Li et al., 2007].

A utilização de múltiplas espécies oxidantes na catálise pelo P450 pode explicar a notável versatilidade desta família de enzimas em uma ampla variedade de transformações. A participação destas três espécies (peroxo, hidro-peróxido e oxo) é um parâmetro crucial no projeto farmacêutico de novas drogas. Como a natureza química dos três oxidantes varia significativamente em termos de caráter eletrofílico, há o desafio, por exemplo, de se prever em um futuro próximo, estratégias para se obter determinados produtos de oxidação de drogas, sabendo-se qual é o oxidante que está operando em determinada reação [Denisov et al., 2005].

I.3 - Modelos biomiméticos do citocromo P450: metaloporfirinas e complexo salen

Visando compreender o mecanismo das oxidações mediadas pelo citocromo P450, surgiu um campo de pesquisa em catálise oxidativa, na década de 70, utilizando metaloporfirinas sintéticas.

Na tentativa de desenvolver sistemas biomiméticos do citocromo P-450 foram sintetizadas metaloporfirinas de diferentes gerações (Figura 4), visando uma maior estabilidade das mesmas, uma vez que os primeiros sistemas desenvolvidos eram rapidamente degradados no meio reacional [Dolphin et al. 1997; Sheldon, 1994]. A maior estabilidade à degradação oxidativa foi obtida através da introdução de substituintes halogenados ou outros substituintes (NO_2, SO_3H, etc.) nas posições ß-pirrólicas e *mesoarila* do anel porfirínico [Sheldon, 1994]. Além de conferir estabilidade ao catalisador, são eficientes na promoção de reações de oxifuncionalização de hidrocarbonetos, já que os átomos de flúor e cloro presentes deslocam o potencial redox do metal, e assim confere ao intermediário da reação um caráter mais eletrofílico, e, conseqüentemente, mais

reativo, principalmente em reações de oxidação de substratos mais inertes, como por exemplo, alcanos [Meunier, 1992; Dolphin et al., 1997].

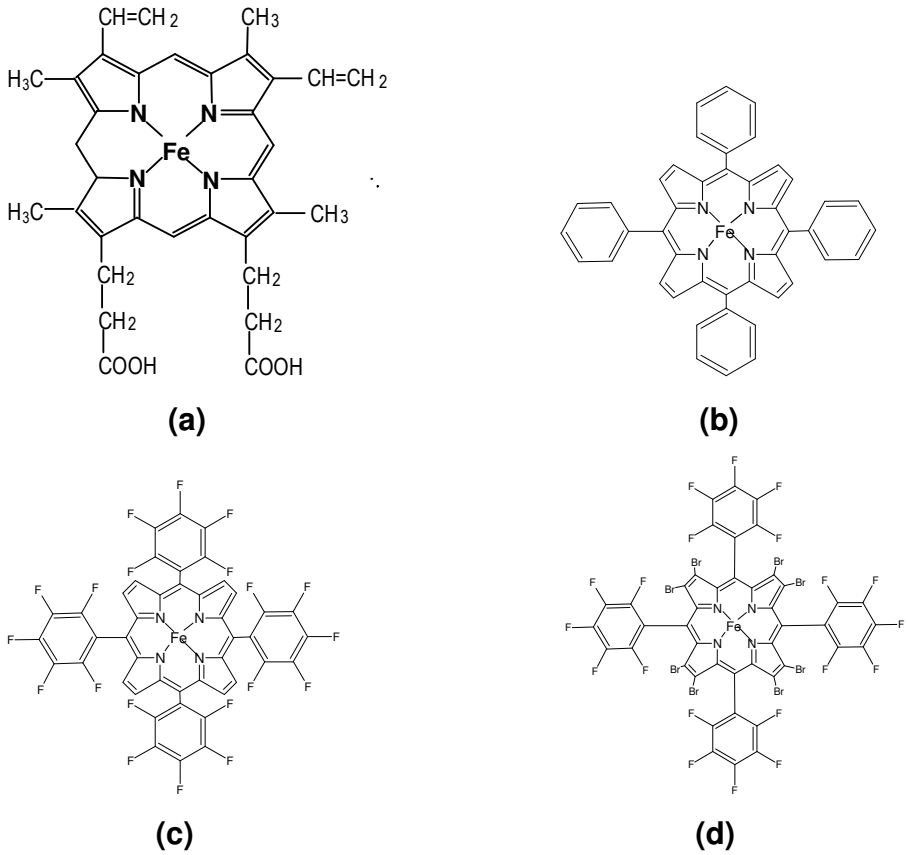


Figura 4. Ferroprotoporfirina IX (a) e metaloporfirinas de 1ª geração (b), 2ª geração (c) e 3ª geração (d).

Apesar de serem os modelos mais fiéis do P450, os catalisadores metaloporfirínicos apresentam algumas desvantagens que inviabilizam sua utilização em larga escala: (i) são de difícil síntese e purificação, o que aumenta consideravelmente seu custo e (ii) embora apresentem alta atividade catalítica, não atingem níveis necessários para sua utilização industrial. Sendo assim, os catalisadores metaloporfirínicos possuem maior potencial de aplicação na química fina e em estudos biomiméticos de mecanismos.

Paralelamente a química das metaloporfirinas, o uso do ligante salen como catalisadores de reação de ativação do oxigênio tem sido investigada, devido às

características similares às metaloporfirinas: estrutura eletrônica e atividade catalítica. Entretanto, os complexos salen e as metaloporfirinas diferem em relação à estrutura (Figura 5). Os complexos salen tetradentados (que não são macrociclos), possuem como ligantes dois nitrogênios (formando bases de Schiff) e dois oxigênios (ao invés dos quatro nitrogênios porfirínicos). Além disso, os ligantes porfirínicos apresentam todos os átomos de carbonos periféricos com hibridizações sp^2, e o ligante salen possui dois átomos de carbonos (C1'' e C2'') com hibridização sp^3, que pode ser substituído por átomos de carbonos estereogênicos. Além disso, substituintes quirais podem ser adicionados às posições C3 e C3' (*orto* em relação a hidroxila) e C5 e C5' (*para* em relação a hidroxila) no ligante salen e nas posições *meso* e β-pirrólicas nas porfirinas. A proximidade do metal ao centro estereogênico no ligante salen faz com que este catalisador seja um excelente "template" para reações assimétricas [Katsuki, 1995, Venkataramanan et al., 2005].

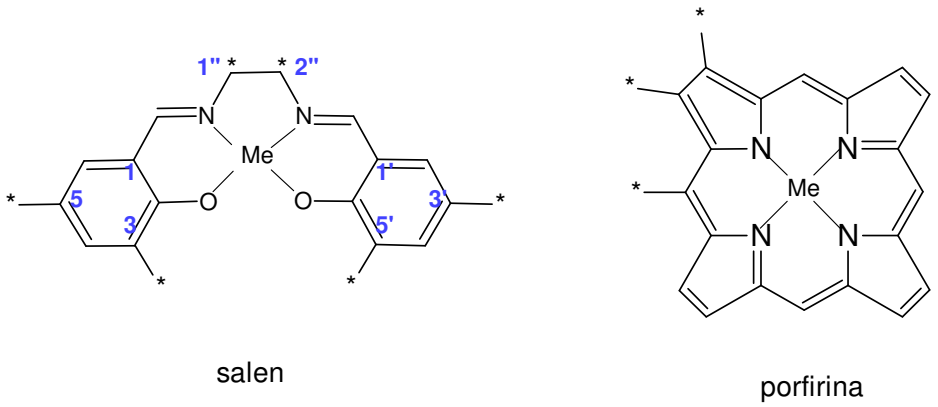


Figura 5. Estrutura de um complexo salen e de uma porfirina, * indica os carbonos estereogênicos.

Uma diferença significativa entre os catalisadores salen e as metaloporfirinas é a grande estabilidade dos complexos salen, conseqüentemente estes complexos dificilmente sofrem degradação oxidativa sob condições normais, e a facilidade de sua síntese, por condensação de derivados de salicilaldeídos e etilenodiamina, os quais são precursores comerciais. Além disso, esta síntese geralmente apresenta um rendimento superior a 90 % [Bottcher et al., 1996;

Kureshy et al., 2004; Gupta; Sutar, 2008], e tem ainda a vantagem de permitir o controle das propriedades estéricas e eletrônicas através de alterações nos substituintes precursores.

Uma grande quantidade de complexos salen com Cr(III), Mn(III), Fe(III) ou Co(II) foram sintetizados e estudados. Os Fe(III)salen alcançaram aproximadamente 2/3 da atividade catalítica dos melhores catalisadores metaloporfirínicos em reações de epoxidações e hidroxilações [Bottcher et al., 1996]; os complexos contendo Mn(III) apresentam rendimentos acima de 97 % na epoxidação de olefinas simples, e o doador de oxigênio pode ser um oxidante aquoso como o hipoclorito de sódio ou um perácido orgânico, por exemplo o ácido *m*-cloroperbenzóico [Zhang et al., 2008; Canali et al., 1999]. Os Co(II)salen são capazes de catalisar hidroxilações, ciclopropanações e reações de abertura de epóxido, enquanto os Cr(III)salen são usados como catalisadores em reações de Diels-Alder e na epoxidação de olefinas com 83 % de excesso enantiomérico [Gupta; Sutar, 2008; Yang et al, 2007; Jacobsen, 2000; Takenaka et al., 2002]. Com estes exemplos fica evidente o potencial e aplicabilidade destes catalisadores.

Um complexo muito estudado é o chamado catalisador de Jacobsen, que é essencialmente um complexo quiral de Mn(salen) contendo grupos *terc*-butil nas posições 3, 3', 5 e 5' e um substituinte cicloexano nos carbonos C1'' e C2''(Figura 6) [Serrano et al, 2008; Renehan et al., 2005]. Este catalisador foi avaliado comercialmente como "o reagente do ano de 1994" por converter olefinas não quirais a epóxidos quirais com um excesso enantiomérico maior do que 90 % e algumas vezes excediam 98 % [Lee et al., 1991; Houk et al., 2008]. Outra vantagem deste complexo é sua simples preparação, podendo ser sintetizado em larga escala (da ordem de quilogramas) com baixo custo (24,20 dólares o grama) [Sigma Aldrich Handbook 2007-2008]. Em reações catalisadas pelo catalisador de Jacobsen utilizam-se pequenas quantidades do catalisador em relação ao substrato, e o oxidante geralmente é de baixo custo (NaOCl e H_2O_2). Estas condições simples resultam num baixo consumo de produtos químicos, que é essencial para a indústria.

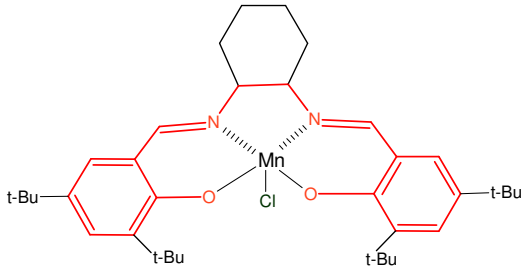


Figura 6. Catalisador de Jacobsen.

Uma diferença significativa entre estes modelos, metaloporfirinas ou complexos salen, e as enzimas é a presença de uma matriz protéica nos sistemas biológicos (Figura 2). Esta matriz controla o acesso do substrato à espécie ativa oxidante, tornando-a seletiva para a oxidação, proporcionando um ambiente hidrofóbico para a ligação do substrato, além de ser um isolante do centro catalítico, controlando sua reatividade e prevenindo sua inativação por agregação ou auto-oxidação biomolecular [Lindsay, 1994; Guedes et al., 2005B].

Estudos comparativos de seletividade e estabilidade com modelos sintéticos e sistemas naturais levaram à conclusão de que a seletividade origina-se dos efeitos estéricos impostos pelo ambiente do sítio ativo. Esse é o motivo pelo qual tem havido um intenso esforço no sentido de mimetizar a cavidade protéica das enzimas naturais [Bedioui, 1995; Gotardo et al., 2005].

Nos sistemas modelos permanecem algumas dificuldades a serem superadas: a recuperação, reutilização e o custo do catalisador. A heterogenização de catalisadores em suportes sólidos inertes prolonga a vida dos mesmos. Além disso, a catálise heterogênea oferece vantagens, como o maior controle do meio e condições reacionais, prevenindo a auto-destruição; grande dispersão do sítio ativo do catalisador graças às altas áreas superficiais fornecidas pelos suportes e ainda fornece uma fácil separação do meio reacional, possibilitando a reutilização, assim, minimizando o seu custo e gerando menos poluição ambiental. Deste modo combinam-se as vantagens de um catalisador ancorado (catálise heterogênea) com a alta atividade catalítica exibida por catalisadores em solução (catálise homogênea) [Costa et al., 2008; Matachowski et al., 2006; Kureshy et al., 2004]. Uma variedade de suportes sólidos têm sido

testados, como as matrizes inorgânicas, tais como sílica, alumina, zeólitas, argilas aniônicas e catiônicas, bem como polímeros e resinas [Rani et al., 2005; Nazari et al., 2005; Mac Leod et al., 2006; Faria et al., 2004; Guedes et al., 2005B; Nakagaki; Wypych, 2007].

I.4 - Histórico das principais contribuições de enzimas citocromo P450 e modelos biomiméticos

Em uma revisão recente Mansuy traça um paralelo entre o desenvolvimento dos conhecimentos sobre as enzimas citocromo P450 e os modelos metaloporfirínicos [Mansuy, 2007]. Uma imensa quantidade de estudos tem sido desenvolvida nestes últimos trinta anos com modelos químicos baseados em metaloporfirinas, resultando em diversas contribuições importantes para entender os processos oxidativos relacionados ao citocromo P450, conforme mostra o esquema da Figura 7.

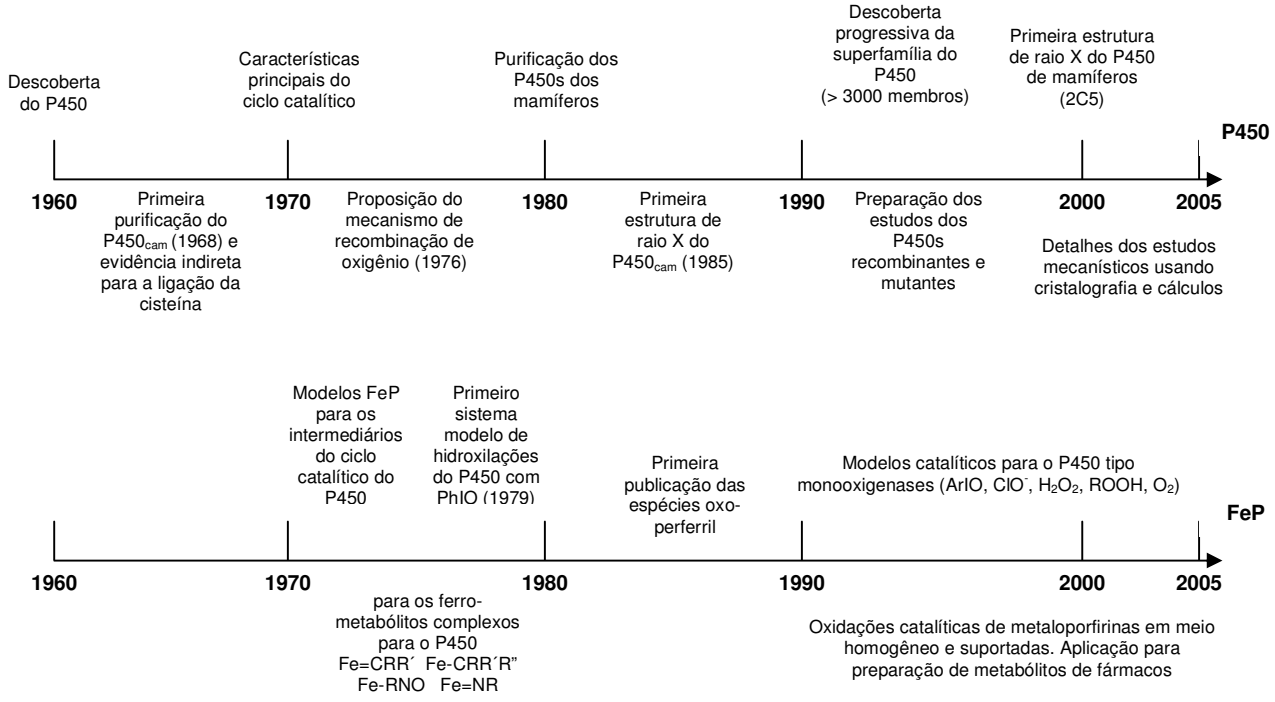


Figura 7. Esquema de comparação do histórico do desenvolvimento dos conhecimentos sobre o P450 e do uso de modelos metaloporfirínicos.

Mansuy destaca que historicamente houveram quatro contribuições principais dos estudos do P450 e metaloporfirinas [Mansuy, 2007]. As principais contribuições da primeira fase, no início dos anos 70, incluem: i) a proposta das etapas principais do ciclo catalítico do P450 na ativação do oxigênio para hidroxilação de substratos, baseado em estudos espectroscópicos e enzimáticos utilizando frações microssomais e $P450_{cam}$; ii) a síntese de modelos estruturais de intermediários do ciclo catalítico do P450 sugere a presença de um ligante axial tiolato no ferro, baseados em dados espectrais do P450, muito antes da publicação da primeira estrutura de raios-X da enzima; iii) as ferroporfirinas foram aplicadas como modelos biomiméticos do P450 em epoxidações de alcenos e hidroxilação de alcanos utilizando iodosilbenzeno. Outros doadores de oxigênio, alquilidroperóxidos, O_2 e ClO^-, foram empregados para hidroxilar ligações C-H de vários substratos na presença de quantidades catalíticas de P450 e metaloporfirinas; iv) Groves e McClusky propuseram o mecanismo *rebound* para hidroxilações de ligação C-H catalisadas pelo P450 [Mansuy, 2007].

A segunda fase principal envolve a determinação de vários P450-ferro-metabólitos complexos (Fe-carbenos, Fe-σ-alquilas, Fe-σ-arilas, etc) de natureza estável, devido à síntese e caracterização completa dos complexos correspondentes ferro-porfirinas metabólitos. Estes estudos levaram à descoberta de uma rica química de coordenação e química organometálica de ferroporfirinas e P450. Tais estudos contribuíram, por exemplo, para interpretar os problemas dos efeitos da inibição do CYP2D6 pela paroxetina, conseqüência de uma interação P450-carbeno formado durante o metabolismo deste fármaco [Bertelsen, 2003]. Ainda nesta segunda fase, a estrutura do primeiro raios-X do citocromo $P450_{cam}$ a partir do *Pseudomonas putida* foi determinada. Desde então, muitas outras estruturas de P450s de diferentes origens foram publicadas [Poulos, 2005]. Entretanto, a primeira estrutura do P450 proveniente de um mamífero foi determinada apenas em 2000 [Williams et al., 2000], e mais recentemente, entre 2004 e 2005, a estrutura dos quatro principais P450s do fígado humano foram publicados [Johnson; Stout, 2005].

A terceira fase envolve a preparação de diversos complexos reativos ferro-peroxo,-hidroperoxo e oxo-peroxo, que correspondem a intermediários transientes do ciclo catalítico do P450, através do uso de ferramentas bioquímicas e biofísicas, como a mutagênese, criocristalografia de alta resolução e estudos espectroscópicos de intermediários isolados usando técnicas criogênicas ou de cinética rápida. Os estudos destes modelos complexos têm gerado importantes dados para a compreensão da estrutura eletrônica e reatividade dos correspondentes intermediários instáveis do P450. Estes dados também foram cruciais para entender a estrutura e a reatividade dos complexos correspondentes de muitas outras hemeproteínas que envolvem a ligação de dioxigênio e/ou ativação em diferentes reações oxidativas. Além disso, estes complexos foram importantes para o entendimento da natureza de complexos correspondentes oxo e peroxo envolvidos no ciclo catalítico de ferro-oxigenases não-heme [Mansuy, 2007].

A quarta fase compreende: i) o desenvolvimento de uma grande variedade de catalisadores seletivos para oxidações: sistemas utilizando principalmente ferro- e manganêsporfirinas, em meio homogêneo ou suportado em diferentes materiais, usando doadores simples de oxigênio (H_2O_2, ClO^-,...) para epoxidar olefinas, hidroxilar alcanos e transferir o átomo de oxigênio para substratos contendo enxofre ou nitrogênio; ii) a preparação de metabólitos através da oxidação de fármacos utilizando metaloporfirinas como modelos biomiméticos do P450; iii) a preparação de modelos semelhantes de catalisadores metálicos não-porfirínicos inspirados nos sistemas seletivos para a transferência de oxigênio [Mansuy, 2007].

Seguindo esta evolução, nosso grupo de pesquisa tem contribuído para a área investigando complexos modelos de P450, metaloporfirinas e complexos análogos salen, aplicados em estudos de oxidação de fármacos, herbicidas e corantes azo, bem como estudos de interação entre fármacos e substituintes ligados ao complexo metálico [Santos et al., 2005; Silva et al., 2005; Gotardo et al., 2006; Barros et al.,2006; Mac Leod et al., 2007; Barros et al., 2008]. Assim, o

esquema de Mansuy pode ser complementado para o período 2005-2008, incluindo a contribuição dos resultados de nossos estudos (Figura 8).

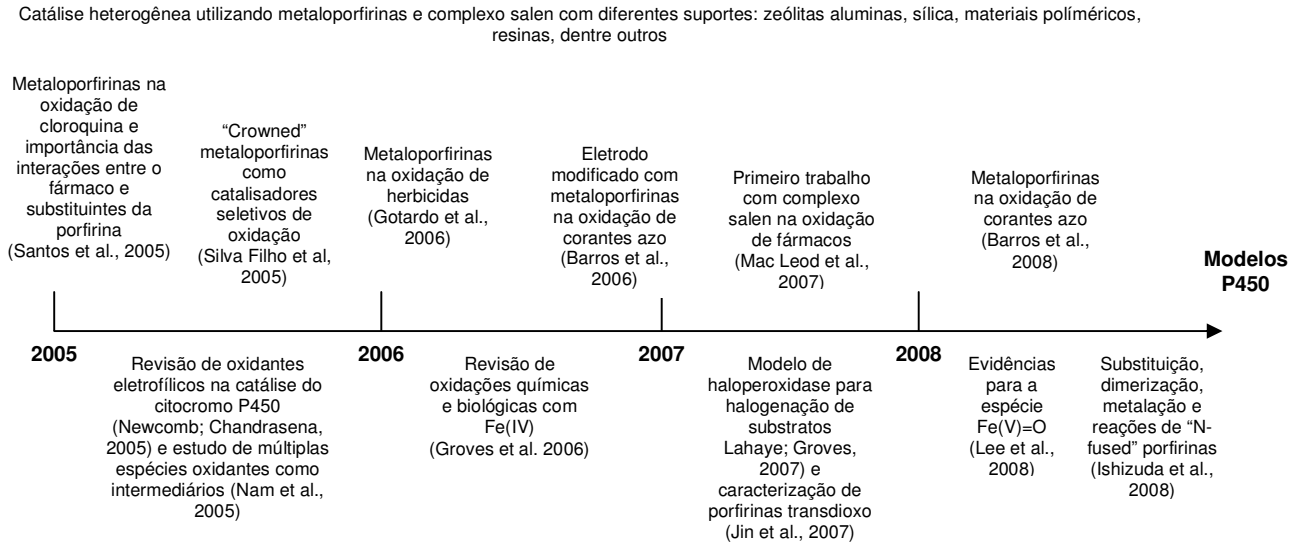


Figura 8. Recentes contribuições do uso de metaloporfirínicos e complexos salen como modelos do P450.

Graças à evolução na área de materiais, nos últimos anos, a catálise heterogênea com os complexos metálicos tem sido objeto de intensas pesquisas com a finalidade de mimetizar a cavidade protéica do citocromo P450, conferindo estabilidade e possibilidade de reutilização do catalisador. O nosso grupo e outros pesquisadores têm trabalhado com metaloporfirinas de segunda e terceira geração, e complexos salen imobilizados por ligação covalente, interações iônicas e hidrofóbicas em vários tipos de suportes (ex. alumina, sílica, materiais poliméricos, zeólitas...) obtendo bons resultados catalíticos, mostrando a aplicabilidade desses sistemas [Mac Leod et al., 2006; Guedes et al., 2005B; Faria et al., 2004; Ferreira et al., 2006; Ciuffi et al., 2007; Nakagaki; Wypych, 2007].

Outras contribuições para a química de modelos do P450 que merecem destaque seriam: i- modelos de haloperoxidade [Layaye; Groves, 2007] para halogenação de substratos orgânicos utilizando H_2O_2 como oxidante; ii- utilização

de porfirinas supramoleculares em diversas aplicações [Ishizuka et al., 2008; Nunes et al., 2005; Mayer et al., 2006; Van Hameren et al., 2008]; iii- caracterização de intermediários e estudos de múltiplas espécies oxidantes eletrofilícas capazes de oxidar substratos [Nam et al., 2004; Song et al., 2005A; Jin et al., 2007; Newcomb; Chandresena, 2005; Groves, 2006; Lee et al., 2007; Kang et al., 2007].

I.5 - Múltiplas espécies oxidantes em reações com modelos de citocromo P450

Por muito tempo acreditou-se que a espécie oxoferro (IV) radical π-cátion era a única espécie reativa envolvida em reações de oxidação catalisadas por sistemas modelos do citocromo P450. Entretanto, existem evidências de que múltiplas espécies oxidantes atuam em reações de transferência de oxigênio e o mecanismo destas reações é muito mais complexo do que se acreditava inicialmente [Nam et al., 2004; Park et al., 2006]. A Tabela 2 mostra alguns exemplos de trabalhos que consideram o envolvimento de intermediários múltiplos participando em reações de oxidação catalisadas por metaloporfirinas e complexos salen e as estruturas destes intermediários se encontram na Figura 9.

Tabela 2. Exemplos do envolvimento de espécies múltiplas oxidantes em reações de oxidação

Reações	Catalisador/ oxidante	Observações	Espécies envolvidas	Referências
Epoxidação competitiva de alceno	Ferroporfirina/ peróxidos e iodosilarenos	Verificou-se que a natureza eletrônica das ferroporfirinas, natureza dos oxidantes, polaridade do solvente e ligantes axiais alteram a seletividade dos produtos de oxidação	1,2 ou 3	[Nam et al., 2000B]; [Nam et al., 2002]; [Suzuki et al., 2002]
Hidroxilação competitiva de alcanos	Fe(TPFPP)Cl/ iodosilarenos	Influência do doador de oxigênio na seletividade do produto	1 ou 3	[Collman et al., 2000]
Hidroxilação de alcano	Ferroporfirinas e *m*-CPBA	Efeito do ligante axial	1 ou 2	[Nam et al., 2000D]
Epoxidação de alceno	Ferroporfirinas e H_2O_2	Altos rendimentos de epóxidos na presença de imidazol	4	[Nam et al., 2000C]
Oxidação de composto organo-metálico	Fe(TPFPP)Cl/ *t*-BOOH	Diferenças na seletividade dos produtos em função de diferentes concentrações de substrato/oxidante e reações competitivas.	5	[Wadhwani et al., 2001]
Oxidação de naftaleno	Ferroporfirinas/ *m*-CPBA, *t*-BOOH, F_5PhIO	Efeito do solvente na seletividade do produto	1 ou 2	[Khavasi et al., 2002]
Epoxidação do cis-estibeno	Mn(salen)X/ vários oxidantes	Efeito do contra-íon e da natureza dos oxidantes terminais	6 ou 7	[Adam et al., 2002]; [Collman et al., 2004]
Sulfoxidação e epoxidação	Mn(corrolazina)/ PhIO	Não ocorre oxidação de substratos por espécies Mn(V)-oxo	8	[Wang et al., 2004]

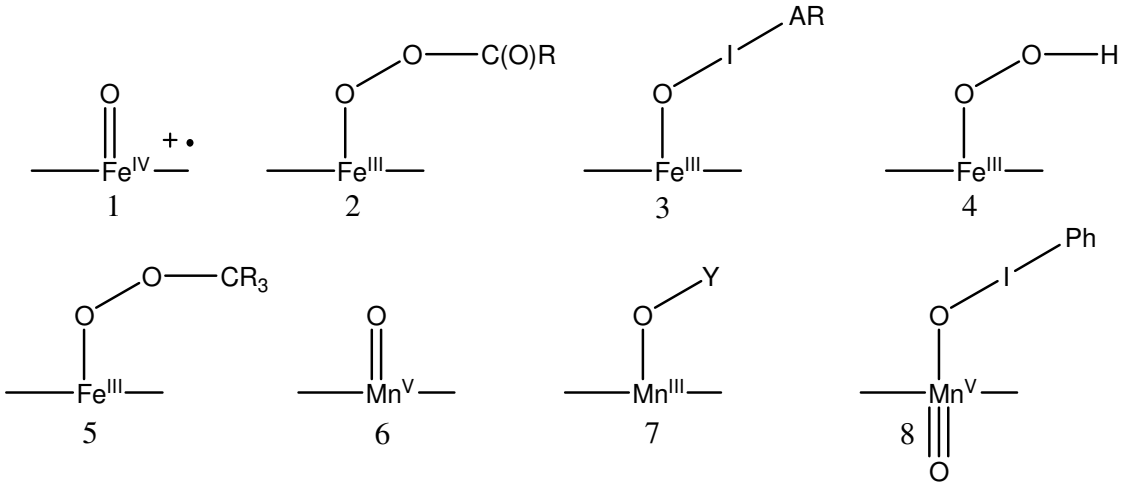


Figura 9. Estruturas dos vários intermediários reativos propostos em reações de oxidação catalisadas por metaloporfirinas e complexos análogos.

As primeiras evidências para a teoria de "múltiplas espécies oxidantes" foram obtidas a partir das distribuições de produtos em função das condições de reação, tais como catalisador, oxidante, solvente, ligantes axiais e reações competitivas [Adam et al., 2002; Khavasi et al., 2002; Collman et al., 2004; Wang et al., 2004; Park et al., 2006]. Adicionalmente, estudos com P450 mutantes T302A e T303A tem demonstrado o envolvimento de três espécies funcionais produzidas durante a redução do oxigênio molecular: ferro-peroxo, ferro-hidroperoxo e ferro-oxo que são capazes de catalisar oxidações características de P450 [Vaz et al., 1998; Coon, 2005]

Estes estudos têm originado várias propostas mecanísticas, bem como, a reavaliação da natureza das espécies ativas oxidantes em sistemas modelos do P450 [Collman et al., 2000; Collman et al., 2004; Park et al., 2006]. Zhang e Newcomb realizaram estudos cinéticos utilizando "*laser flash fotólise"* e mostraram que a espécie transiente Fe(V)-oxo exibe nível apropriado de reatividade sugerindo que esta espécie pode ser o oxidante ativo em enzimas P450, propondo o envolvimento de dois oxidantes ativos que apresentam reatividades e seletividades diferentes, embora a identidade dos múltiplos oxidantes são pontos especulativos [Zhang; Newcomb, 2008]. Assim, as espécies Fe(V)-oxo foram propostas como sendo o principal oxidante que reage com o substrato, e um

processo lento converte estas espécies Fe(V)-oxo em composto I (ferril radical π cátion) que também funciona como oxidante. Na ausência de substratos, apenas o composto I é observado, devido ao curto tempo de vida das espécies Fe(V)-oxo, os quais não apresentam concentrações suficientes para serem detectados (Figura 10) [Zhang; Newcomb, 2008].

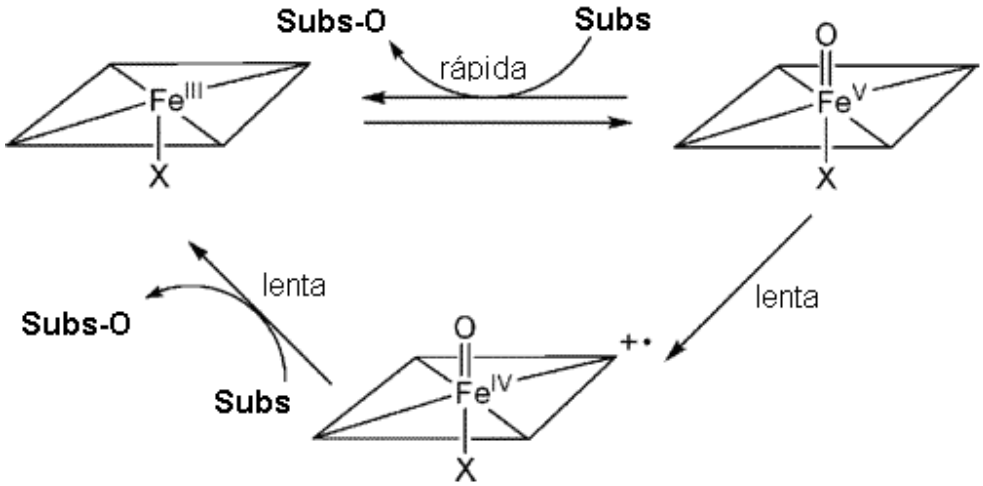


Figura 10. Mecanismo envolvendo duas espécies oxidantes ativas, proposto por Zhang; Newcomb, 2008.

Entretanto, estudos teóricos computacionais levaram à conclusão que apenas a espécie ferril radical π-cátion é capaz de transferir o oxigênio ao substrato, espécies intermediárias Fe(III)-OOH são energeticamente desfavoráveis contrariando, portanto, a teoria de múltiplas espécies oxidantes [Shaik et al., 2004; Schoneboom et al., 2004]. Para explicar as diferenças na distribuição de produtos, Shaik e colaboradores propuseram que a espécie ativa ferril radical π-cátion em dois estados de spin (estado dubleto baixo spin e estado quarteto alto spin), as quais podem mostrar padrões de reatividade diferentes sob influência de diferentes ambientes [Shaik et al., 2004; Hirao et al., 2006; Li et al., 2007]. Song et al., utilizando metaloporfirinas em estudos mecanísticos detalhados através de efeito isotópico cinético e reações competitivas, afirmou que a espécie ferril π-cátion apresenta o comportamento de um "oxidante camaleão" que muda a

reatividade e seletividade de acordo com as condições de reação [Song et al.,2005A].

A fascinante questão da espécie ferril radical π-cátion como única espécie ativa *versus* o envolvimento de oxidantes múltiplos tem sido amplamente discutida. Atualmente, há um consenso de que ferroporfirinas-peroxo podem conduzir reações nucleofílicas com alcenos e aldeídos [Nam et al., 2004]. A participação de adutos de oxidantes-ferroporfirinas em reações de oxidação é ainda ambíguo, assim como a existência de ferro(V)oxo porfirina é questionável. Embora resultados experimentais recentes permitam propor o envolvimento de múltiplas espécies oxidantes na transferência do oxigênio por citocromo P450, metaloporfirinas e complexos salen, nenhuma evidência conclusiva para tais intermediários ativos foi ainda obtida, especialmente para a hidroxilação de alcanos. Consequentemente, a determinação da estrutura e elucidação da reatividade de uma segunda espécie oxidante eletrofílica é um desafio para os químicos bioinorgânicos [Nam et al., 2004; Park et al., 2006; Zhang; Newcomb, 2008].

I.6 - Espécies intermediárias do Mn(salen)

Numerosos estudos têm demonstrado que as espécies derivadas dos complexos Mn(III)salen podem oxidar facilmente alcenos e sulfetos, entretanto a natureza e identidade das espécies reativas ainda não foram elucidadas [Ivanic et al., 2004; Venkataramanan et al., 2005; Chattopadhyay et al., 2007]. Devido a sua similaridade com os análogos metaloporfirínicos, foi postulado o intermediário Mn^{V}(O)(salen) como oxidante ativo em reações de epoxidação utilizando PhIO e/ou NaOCl [Venkataramanan et al., 2005; Chattopadhyay et al., 2007], o qual foi detectado só recentemente por ^{1}H RMN e ESI-MS [Feichtinger; Plattner, 2001; Venkataramanan et al., 2005], e até o momento, não existem informações estruturais experimentais para o íon Mn^{V}(O)(salen), sua geometria e estrutura eletrônica são estimadas por cálculos teóricos e dados de raios-X do Cr^{V}(O)(salen)

e Mn^{V}(N)(salen) [Samsel et al, 1985; Chang et al, 1998; Cavallo; Jacobsen, 2003; Venkataramanan et al., 2005].

Recentemente, pesquisadores determinaram que as espécies Mn^{V}(O)(salen) podem sofrer transformação para as espécies neutras Mn^{IV}(O)(salen) na ausência de substrato, que exibe sinal no espectro de EPR e oxida olefinas via mecanismo radicalar [Campbell et al, 2001; Adam et al, 2000; Venkataramanan et al., 2005]. Também, espécies diméricas como Mn(III)Mn(IV) e Mn(IV)Mn(IV) têm sido propostas em reações de oxidação catalisados por complexos salen [Gupta; Sutar, 2008; Xinwen et al., 2004].

A formação do Mn^{V}(O)(salen) a partir do Mn(III)salen e PhIO está associada ao desaparecimento do pico característico em λ_{max}= 350 nm e aparecimento de uma nova banda eletrônica com λ_{max}= 530 nm, que é atribuída ao dímero μ-oxo Mn(IV), que se encontra em equilíbrio com os íons Mn(III) e Mn(V), conforme equação [Venkataramanan et al., 2005]:

$$[Mn^{V}(O)(salen)] + [Mn(III)salen] \leftrightarrow [(salen)Mn^{IV}(O)Mn^{IV}(salen)] \quad \text{equação 1}$$

Entretanto, as espécies Mn^{V} e Mn^{IV} são espectroscopicamente indistinguíveis. O desproporcionamento do dímero μ-oxo Mn (IV) fornece a espécie ativa Mn^{V}(O)(salen) na equação 1, indicando que o dímero serve como um fonte alternativa do íon Mn^{V}(O)(salen), o qual é a única espécie ativa capaz de promover a oxidação de substratos orgânicos quando o PhIO é o doador de oxigênio [Venkataramanan et al., 2005].

Nas reações que utilizam H_2O_2 ou alquil hidroperóxido e Mn(III)salen são propostos como intermediários ativos as espécies metal-oxo e metal-peroxo e radicais peroxo e peroxil [Khavrutskii et al, 2003; Chattopadhyay et al., 2007]. Estudos espectroscópicos com solução de Mn(III)salen e H_2O_2 mostram uma banda de absorção com λ_{max}= 420 nm, que foi atribuída à Mn^{III}(OOH)(salen). Subseqüente diminuição desta banda pela adição do substrato, indica que esta espécie hidroperóxido pode ser a responsável pela oxidação. A ausência da banda λ_{max}= 530 nm, observada em sistemas Mn(salen)/PhIO, indica que as

espécies Mn^{V}(O)(salen) não participam das reações com hidroperóxidos [Venkataramanan et al., 2005].

Kochi e colaboradores propuseram que complexos Mn^{III}(salen) reagem com *m*-CPBA na presença de olefinas, com formação de Mn^{V}(O)(salen), responsável pela epoxidação. Na ausência de substratos, esta espécie pode reagir com o Mn^{III}(salen) para formar um dímero μ-oxo Mn (IV) [Srinivasan et al., 1986; Venkataramanan et al., 2005].

Hsich e colaboradores estudaram a formação de espécies Mn^{V}(O)(salen) quando Mn^{III}(salen) reage com excesso de *m*-CPBA e propuseram o mecanismo conforme Figura 11. As espécies Mn^{V}(O)(salen) e o íon *meta*-clorobenzoato (*m*-CBA^{-}) são formadas inicialmente através da transferência do átomo de oxigênio pelo *m*-CPBA. Sob estas condições, as espécies Mn^{V}(O)(salen) são altamente reativas e podem epoxidar olefinas. Entretanto, quando a olefina não está presente, o íon *m*-CBA está sujeito à oxidação de um elétron, formando Mn(IV)(OH) e o radial clorobenzo-carbonil (*m*-CBA•). A confirmação de espécies radicalares foi feita por EPR, com sinal em g = 2, e a presença de Mn(IV) foi confirmada pelo sinal em g = 5,4 [Hsieh, Pecoraro, 2002]. O radical clorobenzo-carbonil (*m*-CBA•) sofre descaboxilação produzindo o radical *m*-clorobenzil e liberando CO_2, que pode ser detectado através de espectrometria de massas.

A oxidação do Mn^{III}(salen) por *m*-CPBA pode ocorrer de duas formas: se a espécie Mn^{V}(O)(salen) oxida o íon m-CBA^{-}, a espécie Mn(IV)(OH) é gerada e observa se o sinal em g = 5,1 no EPR. Se a espécie Mn^{V}(O)(salen) reage com o Mn(III)salen, observa-se a formação do dímero Mn(IV/IV), que não deve fornecer sinal no EPR. No entanto, se o dímero Mn(IV/IV) sofrer redução produz a espécie Mn(III/IV), que é responsável pelo sinal em g = 2 [Hsieh, Pecoraro, 2002].

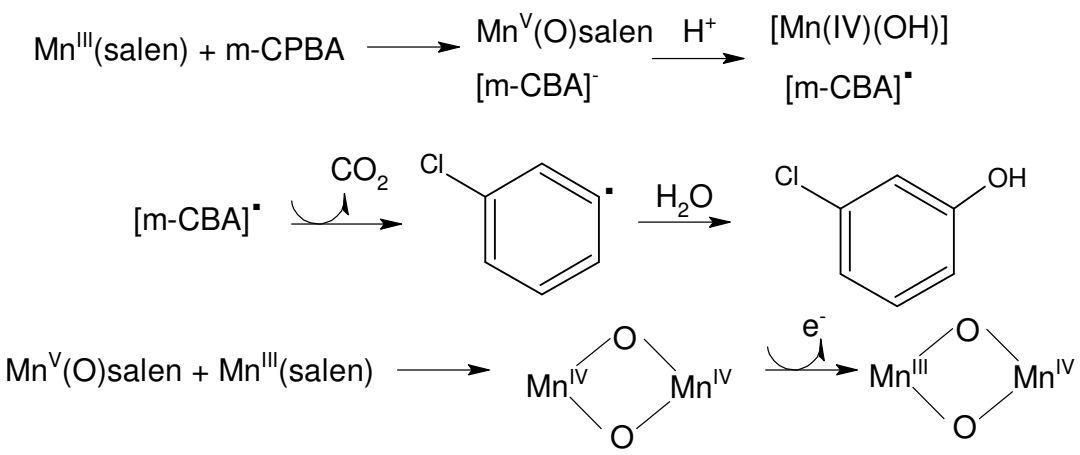


Figura 11. Mecanismo de oxidação de Mn^{III}(salen) por *m*-CPBA [Hsieh, Pecoraro, 2002].

I.7 - Mecanismo de epoxidação catalisado por Mn(salen)

Os mecanismos de reação utilizando sistemas modelos de P450 foram inicialmente investigados para as metaloporfirinas [Groves et al., 1980; Groves; Myers; 1983]. Mais recentemente, o alto grau de indução assimétrica dos catalisadores Mn(salen) tem contribuído para a elucidação de mecanismos de epoxidação de alcenos cis-1,2-dissubstituídos [Linde et al., 1999; Linde et al., 2002; Jónsson et al., 2006].

Vários intermediários têm sido propostos para a transferência de oxigênio para o substrato nos sistemas envolvendo Mn(salen) como é mostrado na Figura 12. Acredita-se que o mecanismo concertado (Figura 12, rota A) ocorre na reação com alcenos isolados. Entretanto, a formação de uma mistura de epóxidos *cis* e *trans* na oxidação de alcenos conjugados indica um processo radicalar (Figura 12, rota B). Outra proposta envolve a formação de um manganoxetano que sofre eliminação redutiva para formação do produto *syn* ou este intermediário se abre para formação de um intermediário radicalar, que produz o produto *anti* (Figura 12, rota C). Resultados de estudos de efeito isotópico cinético não indicam a rota C via manganoxetano, no entanto, evidências baseando-se na utilização de captores de radical na epoxidação de alcenos substituídos demonstrou que o produto *syn*

não procede via um intermediário radicalar. Existe ainda a possibilidade de múltiplas espécies oxidantes atuando na reação de epoxidação, evidenciando a falta de consenso em um único mecanismo como também ocorre no caso das metaloporfirinas [Linde et al., 2002; Jónsson et al., 2006].

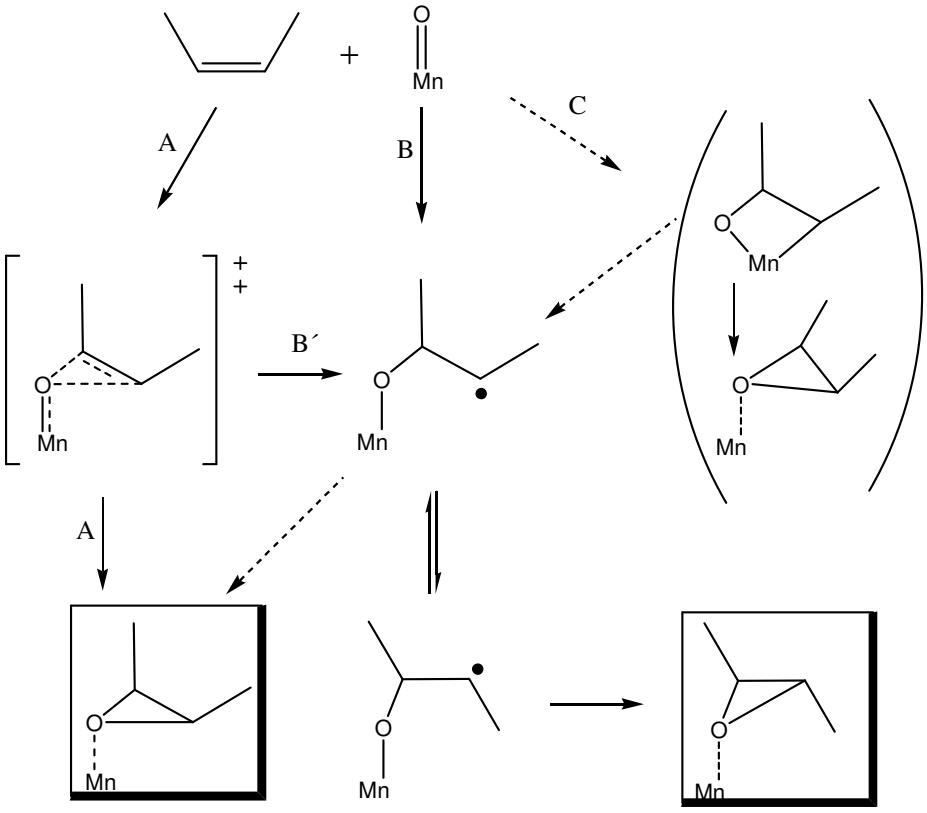


Figura 12. Mecanismos de reação propostos para a epoxidação catalisado por Mn(salen) [Linde et al., 2002].

I.8 - Oxidação de fármacos

Fármacos são geralmente compostos altamente funcionalizados e a maioria deles exibem grupos oxidáveis, o que os tornam alvos ideais para um metabolismo oxidativo quando são introduzidos no organismo humano [Bernadou; Meunier, 2004]. O conhecimento do metabolismo oxidativo catalisado pelo citocromo P450 é fundamental no estudo de novos fármacos, pois o metabolismo

pode levar tanto à formação de compostos com atividade terapêutica igual ou superior ao composto original quanto à metabólitos com alta toxicidade.

Vários métodos foram utilizados no decorrer dos anos com o intuito de desenvolver modelos práticos capazes de predizer o metabolismo de drogas candidatas a fármacos e, eventualmente, produzir em larga escala metabólitos que apresentem uma síntese complicada. Os métodos variam de experimentos diretos com animais ao uso de enzimas, como peroxidases e citocromo P450 monooxigenases [Meunier, 1992; Mansuy, 1993; Sheldon, 1994; Feiters, 2000; Mansuy, 2007]. Contudo, vários problemas podem ser associados ao uso dessas técnicas [Bernadou; Meunier, 2004; Mansuy, 2007].

i. estudos com animais são despendiosos e necessitam do sacrifício do animal
ii. o uso de micromossomo leva à rendimentos não reprodutíveis
iii. o isolamento de intermediários reativos que podem se ligar a polímeros biológicos em oxidações catalisadas por enzimas é difícil e os metabólitos primários são freqüentemente hidrofílicos, dificultando sua separação, especialmente daqueles desconhecidos.

Por estes motivos o uso de modelos biomiméticos que permitem um estudo relativamente simples da atividade intrínseca do sítio ativo das enzimas P450 têm recebido grande atenção. Estes modelos fornecem informações importantes, como, por exemplo, sobre o mecanismo e possíveis rotas do metabolismo de fármacos exógenos.

Vários fármacos têm sido oxidados por sistemas biomiméticos do P450 envolvendo metaloporfirinas [Bernadou; Meunier, 2004]. Estes estudos têm mostrado que, apesar das limitações dos modelos, geralmente os mesmos metabólitos observados "*in vivo*" são produzidos [Bernadou; Meunier, 2004], auxiliando no entendimento do metabolismo dos mesmos pelo P450. Entretanto, outros produtos de oxidação desconhecidos do sistema natural também são muitas vezes observados nestes estudos, o que abre a possibilidade de investigação da ação terapêutica e/ou toxicológica destes compostos.

O complexo FeP IX, que é o grupo prostético do citocromo P450, tem seu uso como modelo biomimético muito limitado. Este complexo não possui substituintes nas posições *meso* do anel porfirínico, muito reativas, e, portanto, nos estudos *in vitro* fica sujeito a destruição auto-oxidativa durante a reação. A fim de superar esta dificuldade metaloporfirinas sintéticas com maior estabilidade têm sido utilizadas como modelos biomiméticos do citocromo P450 [Bernadou; Meunier, 2004].

Um grande número de metaloporfirinas *meso* substituídas já foi utilizado no estudo *in vitro* do metabolismo de vários fármacos como lindocaína, antergan, carbamazepina, entre outros [Bernadou et al., 1991; Chorghade et al., 1996; Vidal et al., 1993; Komuro et al, 1996, Bernadou; Meunier, 2004; Mansuy, 2007; Faria et al., 2008]. Estes estudos mostram que um controle das condições de reação pode levar à produção de determinado metabólito de interesse, o que não pode ser realizado em condições normais. A habilidade biomimética destes compostos pode ser constatada ao se observar que os 15 metabólitos formados pela reação da Mn(TFPP)Cl/H_2O_2/piridina com 1-metil-4-piperidil benzilato são praticamente os mesmos obtidos *in vivo* no metabolismo de ratos [Bernadou; Meunier, 2004]. Outro exemplo é a oxidação do fármaco albendazol por PhIO catalisada pela ferro (III) *meso*-tetraquis(2-nitrofenil)-β-octacloroporfirina, Fe(TNCl_8P), para formar os mesmo metabólitos sulfóxido e sulfona obtidos *in vivo* [Maurin et al., 2003].

Santos et al. [Santos et al., 2005] também estudou sistemas modelos metaloporfirínicos na oxidação do fármaco cloroquina. Neste estudo, vários metabólitos foram identificados, incluindo aqueles observados nos sistemas *in vivo*. Observou-se também que substituintes nos anéis *meso*-arila da porfirina, capazes de interagir com o fármaco através de interações π-π e interações eletrostáticas (tal como o substituinte carbóxi da porfirina e o grupo amino da cloroquina), têm um papel fundamental nos rendimentos e seletividade dos produtos oxidados. Também nos estudos de oxidação da isoniazida catalisada por metaloporfirinas estas interações se mostraram importante para altos rendimentos e seletividade [Guedes, 2006].

Melo e colaboradores relataram a oxidação do fármaco praziquantel pelo iodosilbenzeno utilizando metaloporfirina como catalisador. Este estudo revelou que a hidroxilação ocorre preferencialmente na posição 7, obtendo como principal produto o 7-hidroxipraziquantel [Melo et al., 2005].

O estudo do metabolismo do diclofenaco para a obtenção de metabólitos hidroxilados foi comparado utilizando metaloporfirinas e citocromos CYP2C9 recombinantes [Othman et al., 2000]. A enzima recombinante produziu o diclofenaco hidroxilado na posição 4‘, que corresponde ao principal metabólito obtido *in vivo,* com 70 % de rendimento enquanto que as metaloporfirinas geraram um produto hidroxilado na posição 5, com 90 % de rendimento. Estes estudos mostraram que a utilização de metaloporfirinas e enzimas são complementares e podem ajudar no entendimento de biodegradação deste medicamento.

Sistemas modelos, com metaloporfirinas moduladas podem fornecer diversas informações sobre os mecanismos de oxidação de diversos compostos. Entretanto, a implementação de complexos porfirínicos como catalisadores para preparação de metabólitos para a indústria farmacêutica apresenta algumas desvantagens: estes complexos são de síntese relativamente fácil, mas de difícil purificação, resultando em um catalisador com alto custo, se o objetivo for utilização em larga escala. Mesmo com sua atividade catalítica alta já descrita por vários pesquisadores, estes catalisadores não atingem (por 1-2 ordens de grandeza) a atividade necessária para uma produção industrial do produto oxidado [Gray et al., 1996]. Permanece, então, uma clara necessidade de se encontrar catalisadores mais simples e de fácil obtenção, com ligantes baratos, que exibam uma atividade catalítica maior do que aquela das metaloporfirinas, se o objetivo for a preparação em larga escala.

Reações que utilizam o catalisador de Jacobsen se caracterizam por serem métodos excelentes para síntese de intermediários quirais na preparação de compostos farmacêuticos [Caron et al., 2006]. Senanayake e colaboradores utilizaram o catalisador de Jacobsen para preparar o epóxido indeno com excesso enantiomérico de 88 %, que é um precursor do indinavir, utilizado como inibidor da protease do vírus da imunodeficiência humana (HIV), Figura 13 [Senanayake et

al., 1996]. A oxidação do cromeno por Mn(salen) gera o epóxido correspondente, que é precursor de um ativador do canal de potássio BRL 55834 (Figura 14) [Bell et al, 1996]. Outro exemplo é a preparação de um intermediário do inibidor da fosfodiesterase IV CDP 840 [Lynch et al., 1997]. Embora existam muitos outros exemplos utilizando o catalisador de Jacobsen para epoxidação assimétrica aplicada na indústria farmacêutica, para preparação de intermediários utilizados na síntese de medicamentos, não foram encontrados estudos de metabolismo de fármacos com estes complexos.

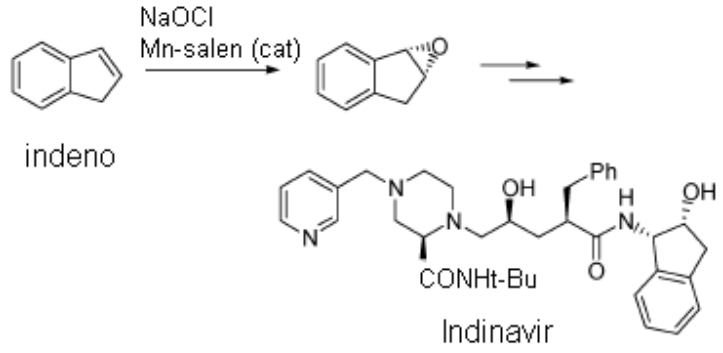


Figura 13. Preparação do Indinavir [Caron et al., 2006].

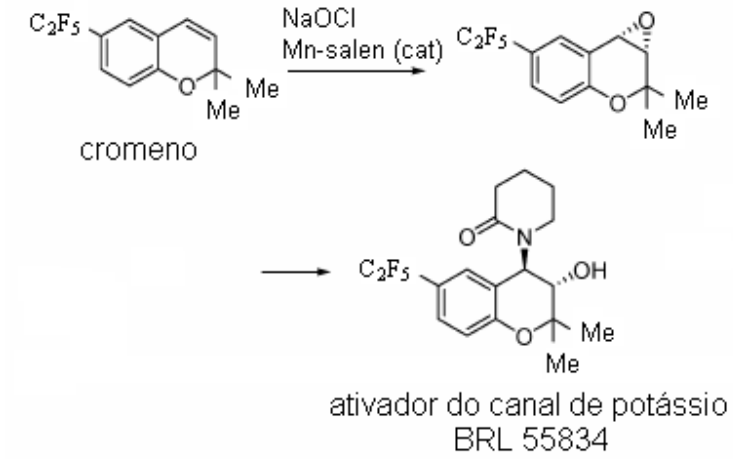


Figura 14. Preparação do ativador do canal de potássio [Caron et al., 2006].

O uso do catalisador de Jacobsen para oxidação biomimética de fármacos como modelo do citocromo P450 começou a ser desenvolvida por nosso grupo

[Mac Leod et al., 2007]. Estes estudos abrem um campo de pesquisa promissor para diversas áreas de conhecimento, que abrange desde a medicina à indústria de medicamentos. Entretanto, para obter tal êxito, vários estudos devem ser desenvolvidos combinando catalisadores modulados com grupos substituintes eficazes, oxidantes e condições reacionais, que possam permitir a obtenção de rendimentos aceitáveis dos produtos, que viabilizaria procedimentos em escala economicamente viável.

I.9 - Anticonvulsivantes

Carbamazepina (CBZ)

A epilepsia tem sido considerada uma das disfunções mais comuns do sistema nervoso central, caracterizada por crises repentinas e transitórias, com ou sem convulsões, resultantes de distúrbios da atividade eletroquímica do cérebro, causados pela descarga excessiva dos neurônios. Há estimativas de que 50 milhoes de pessoas no mundo apresentem epilepsia e cerca de 25 % não possuem as crises controladas com anticonvulsivantes e somente 19 % estão completamente livres de crises após 12 meses de tratamento [Acharya et al., 2008; Elger; Schmidt, 2008].

A carbamazepina, (CBZ, 5-carbamoil-5H-dibenzapina, Carbatrol® e Tegretol®, Figura 15), altamente lipofílica e estruturalmente relacionada com compostos tricíclicos, tem sido um dos fármacos mais freqüentemente prescrito para o tratamento da epilepsia, sendo consumido na Inglaterra em quantidades superiores a 40 toneladas ao ano [Vogna et al, 2004]. Entretanto, o uso deste fármaco está associado com uma variedade de reações adversas que incluem problemas cutâneos, imunológicos, renais e hepatológicos. Embora o mecanismo destas reações seja desconhecido, acredita-se que resultem da formação de metabólitos reativos [Pearce et al., 2002]. Intermediários reativos, tais como óxido arenos, quinonas e 2-hidróxi-iminoestilbeno têm sido propostos como as espécies responsáveis pela toxicidade e efeitos adversos observados, embora a prova

definitiva seja difícil de ser alcançada, pois os microssomos humanos convertem a CBZ em metabólitos capazes de ligar em proteínas [Spielberg et al., 1981; Furst et al., 1995; Ju; Uetrecht, 1999; Bu et al., 2005; Pearce et al., 2005].

Estudos *in vitro* usando [^{14}C]carbamazepina demonstraram que microssomos do fígado humano foram capazes de produzir metabólitos intermediários reativos, embora a identidade destes produtos permaneçam desconhecida [Pearce et al., 2002; Wolkenstein et al., 1998].

A carbamazepina é quase completamente metabolisada no fígado, através de três processos metabólicos principais (Figura 15) com pelo menos 30 metabólitos identificados na urina humana e de ratos, na forma livre e conjugados [Breton et al., 2005]. A via metabólica principal é a oxidação por enzimas do sistema do citocromo P450 (CYP3A4 e CYP2C8) para formar a carbamazepina 10,11-epóxido (CBZ-EP), a qual é também dotada de propriedades anticonvulsivantes (Figura 15) [Breton et al., 2005; Hata et al., 2008]. A hidrólise da CBZ-EP para carbamazepina *trans*-diol (CBZ-OH) é catalisada pela enzima epóxido hidrolase, sendo excretado na forma livre ou na forma conjugada glucurônica. Estudos *in vitro* com microssomos de fígado humano também mostram a formação do 9-hidroximetil-10 carbomoil acridan como um menor metabólito da via principal [Myllynen et al., 1998].

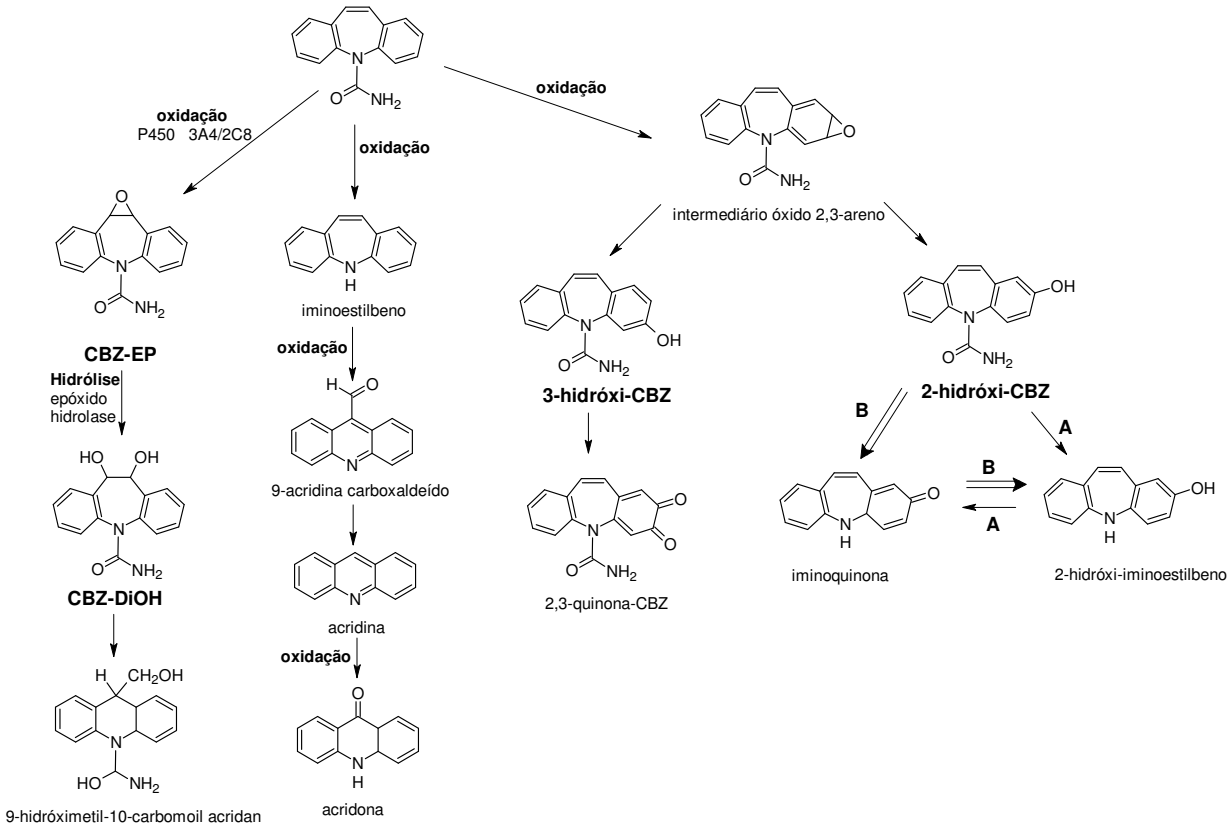


Figura 15. Metabolismo da carbamazepina.

A segunda rota do metabolismo se caracteriza pela produção de metabólitos fenólicos (2- e 3- hidroxicarbamazepina), que são formados via intermediários epóxidos reativos (óxido 2,3-areno). O metabólito 3-hidroxi-CBZ é oxidado a quinona [Uetrecht, 2006] e o 2-hidroxi-CBZ é oxidado a iminoquinona, a qual foi inicialmente proposto ocorrer num processo de duas etapas via 2-hidróxi-iminoestibeno (Figura 15, rota A) [Ju; Uetrecht, 1999]. Entretanto, recentemente, estudos *in vitro* mostraram que o 2-hidroxi-CBZ pode ser oxidado diretamente a iminoquinona por citocromos P450, seguido da redução por NADPH a 2-hidróxi-iminoestibeno (Figura 15, rota B) [Pearce et al., 2005].

A terceira menor rota do metabolismo conduz à formação do iminoestilbeno. Em estudos de oxidação da carbamazepina e do iminoestilbeno com leucócitos ativados, a CBZ foi convertida por uma mieloperoxidase em vários metabólitos,

identificados, como sendo a 9-acridina carboxaldeído, acridina e acridona [Furst; Uetrecht, 1993; Breton et al., 2005].

A investigação do mecanismo catalítico de oxidação da CBZ em solução aquosa já foi avaliada utilizando metaloporfirinas carregadas como catalisadores. Esta reação resultou em altas conversões (99 %) e rendimentos (75-80 %) de epóxido após 1h de reação com o uso de $KHSO_5$ como oxidante [Bernadou et al., 1994]. Outro estudo com este fármaco utilizou a metaloporfirina Mn(III)TMPyP e *m*-CPBA, convertendo a CBZ para o CBZ-EP com rendimentos de 93 % [Groves et al., 1997].

A degradação e parcial mineralização da carbamazepina no tratamento de efluentes e outros ambientes aquáticos utiliza UV/H_2O_2 com a finalidade de remover o fármaco. Nestes tratamentos oxidativos observou-se que o metabólito principal, CBZ-EP, foi degradado à acridina. As análises indicaram também pequenas quantidades de ácido salicílico, catecol e ácido 2-aminobenzóico, provenientes do ataque dos radicais $^{\cdot}OH$ ao anel aromático [Vogna et al., 2004]. Neste estudo foram identificados produtos diferentes dos metabólitos encontrados *in vivo*. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo *in vitro* do metabolismo da CBZ pelo sistema mieloperoxidase/H_2O_2/HOCl, sendo os derivados da acridina os principais metabólitos observados [Furst; Uetrecht, 1993].

Apesar das intensas pesquisas com este anticonvulsivante, muitas questões ainda permanecem, tais como a elucidação dos mecanismos que tentam explicar a formação de novos metabólitos, identificação de intermediários reativos e em quais fases do processo de detoxificação e/ou transformação do composto há participação do P450. Além disso, o uso de CBZ neste estudo é interessante para uma avaliação comparativa dos vários sistemas catalíticos empregados.

Primidona (PRM)

A primidona (PRM, 5-etilexaidro-4,6-dioxo-5-fenilpirimidina, Figura 16) é um barbitúrico usado desde o início dos anos 50 e tem se mostrado eficaz no tratamento das convulsões parciais e tônico-clônicas, embora este medicamento

apresente ação sedativa. A PRM é metabolisada pelo citocromo P450 (CPY2C9/19) em fenobarbital (FENO) e feniletilmalonamida (PEMA) (Figura 16) [Ferranti et al., 1998].

Os metabólitos (FENO e PEMA) possuem ações farmacológicas semelhantes à substância original, assim, os metabólitos ativos fazem com que o efeito terapêutico permaneça mesmo quando a primidona já tenha sido metabolisada. A investigação dos metabólitos é de grande importância, visto que em muitos casos o fármaco empregado é o fenobarbital ao invés da primidona [Gareri et al, 1999; Masri; Portier, 1998]. Contrariamente ao efeito terapêutico, existem evidências toxicológicas atribuídas aos metabólitos deste anticonvulsivante. Estudos utilizando o fenobarbital mostraram potencialidade carcinogênica em roedores [McClain, 1995] e atividade mitogênica do metabólito PEMA na Salmonella [Zeiger et al, 1988].

Estudos do metabolismo *in vivo* mostraram que o processo de biodegradação da primidona está relacionado com a ocorrência da clivagem do anel pirimidínico, com descaboxilação oxidativa do carbono localizado entre os nitrogênios, formando o PEMA. O outro metabólito (FENO) pode ser formado através da rota de degradação oxidativa do fármaco (Figura 16) [Masri; Portier, 1998]. Também foram identificados *para*-hidroxi fenobarbital (FENO-OH) e α-fenil-γ-butirolactona (BL) como metabólitos secundários da primidona [Lafont et al, 1990].

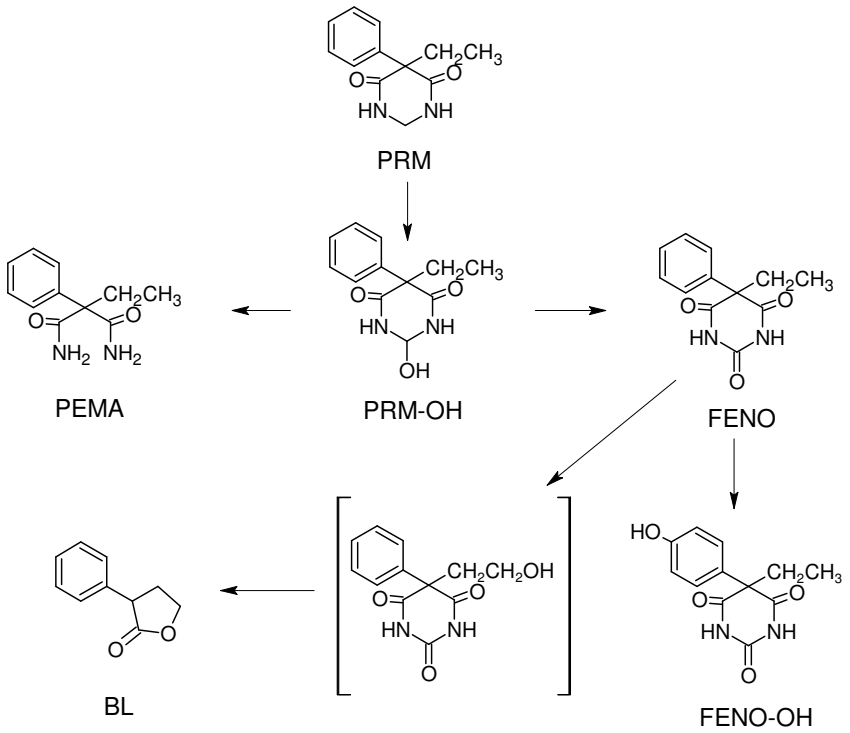


Figura 16. Metabolismo da primidona [Lafont et al., 1990].

Os estudos oxidativos com este fármaco utilizando metaloporfirinas e complexos salen podem ajudar na identificação de novos produtos de oxidação, os quais podem ser intermediários no metabolismo *in vivo*.

I.10 - Antidepressivo: fluoxetina

*B*em diferente da tristeza ou do baixo astral, a depressão é o resultado de uma alteração da ação de neurotransmissores (noradrenalina, dopamina e serotonina) no cérebro, que são as substâncias responsáveis pelas trocas de informações do Sistema Nervoso Central, ou seja, a comunicação entre as células do cérebro (neurônios). No estado normal, os neurônios liberam neurotransmissores, que são capturados por outros neurônios por meio de seus receptores (a substância de comunicação se fixa na célula como uma chave na fechadura). Dentro da célula nervosa, uma bomba de recaptação retira parte dos neurotransmissores da sinapse e uma enzima específica metaboliza o resto das

substâncias (Figura 17 a). Na depressão acontece uma diminuição na quantidade de neurotransmissores liberados, mas a bomba de recaptação e a enzima continuam trabalhando normalmente. Então, o neurônio receptor captura menos neurotransmissores e o sistema nervoso funciona com menos "combustível". (Figura 17 b) [Lucia, 2008].

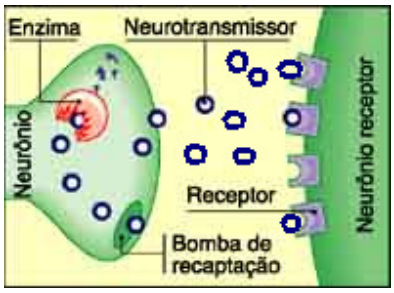


Figura 17 a. estado normal

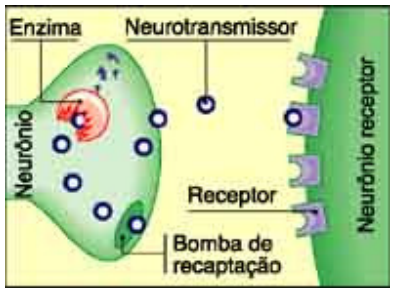


Figura 17 b. depressão

O antidepressivo faz com que haja maior disponibilidade de neurotransmissores na sinapse. Para isso o remédio pode atuar de duas formas: bloqueando a ação da bomba de recaptação (Figura 18 a) ou bloqueando a ação da enzima que degrada os neurotransmissores (Figura 18 b) [Lucia, 2008].

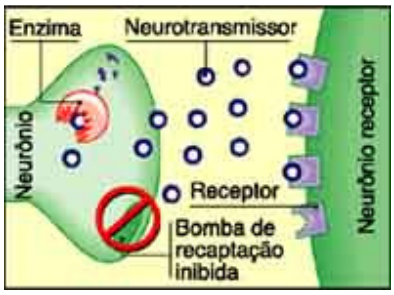


Figura 18 a. inibição da bomba de recaptação

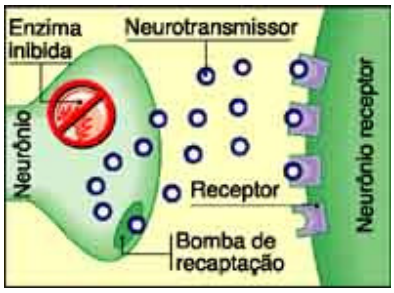


Figura 18 b. inibição da enzima que degrada os neurotransmissores.

Os fármacos antidepressivos podem ser classificados em três diferentes classes: os tricíclicos, os inibidores da monoamino oxidase e os inibidores seletivos de recaptação da serotonina. Os dois primeiros grupos foram descobertos quase que simultaneamente, na segunda metade da década de 1950, e atuam elevando o nível cerebral das monoaminas noradrenalina e serotonina. O

terceiro grupo, os inibidores seletivos de recaptação da serotonina, foi racionalmente desenvolvido na década de 70, como medicamentos psicotrópicos. Estes fármacos iniciaram uma nova era no desenvolvimento de drogas utilizadas no tratamento de transtornos psiquiátricos [Kiss, 2008; Kennedy, 2006].

A fluoxetina (D,L-N-metil-3-fenil-3-[(α,α,α-trifluoro-p-tolil)oxi]propilamina, Prozac®, Figura 19) é um fármaco pertencente à classe dos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), comercializado como uma mistura racêmica de dois enantiômeros, onde o S-enantiômero é aproximadamente 1,5 vezes mais potente que o R-enantiômero em inibir a recaptação de serotonina. Essa diferença de potência farmacológica é ainda mais marcante para o metabólito ativo norfluoxetina, onde o S-enantiômero tem uma capacidade inibidora cerca de 10 a 20 vezes mais potente do que o R-enantiômero [Hilborn et al., 2001]. Apareceu pela primeira vez na literatura científica em 1974 e, em 1987 teve seu uso como antidepressivo aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA), órgão de controle de medicamentos do governo dos Estados Unidos. Desde então, é o fármaco antidepressivo mais prescrito em todo mundo, cerca de 40 milhões de pessoas já utilizaram a fluoxetina, sendo produzido anualmente na Inglaterra e Alemanha aproximadamente 2000 e 4700 kg do composto ativo, respectivamente [Jawecki, 2007]. Posteriormente, teve seu uso aprovado para o tratamento da desordem obsessivo-compulsiva e da bulimia. Atualmente, além destas indicações, tem sido utilizada no combate à ansiedade, às desordens de alimentação, à fobia social e à doença do pânico [Fernandes et al., 2008; Vaswani et al., 2003].

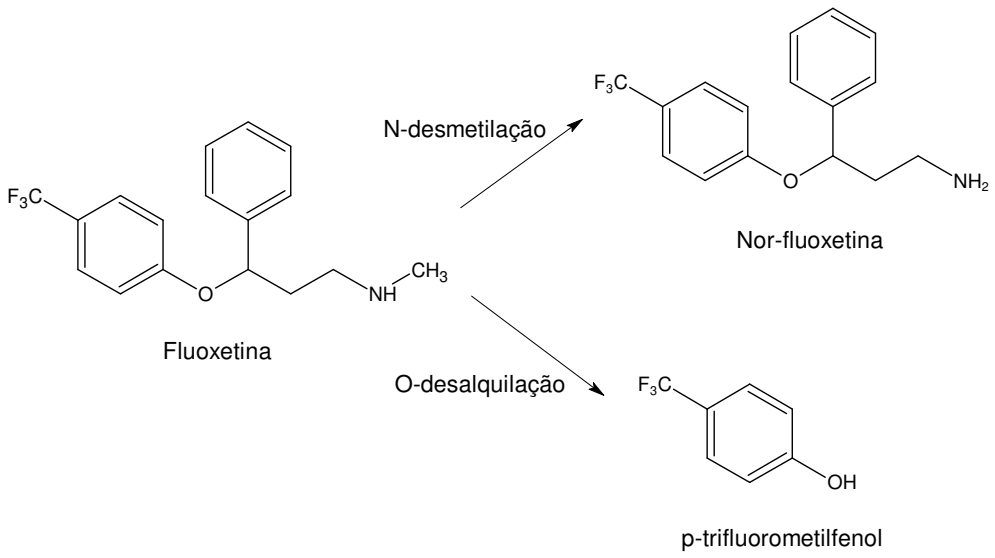


Figura 19. Metabolismo da fluoxetina

No Brasil a história da fluoxetina começou em 1989, dois anos depois de iniciadas as vendas nos Estados Unidos, sendo atualmente um dos dez maiores mercados do mundo. Estima-se que entre 2006 e 2007 o consumo de antidepressivos tem crescido 17 % no Brasil, e cerca de um milhão de pessoas tomam diariamente antidepressivos sendo que, desse total, 25 % tomam a fluoxetina, ou seja, Prozac e similares, o que justifica os estudos com este fármaco [Athayde, 2008].

Apesar do uso extensivo, acredita-se que cerca de 50 % do metabolismo da fluoxetina permanece desconhecido [Lemberger et al., 1985; Urichuk et al., 1997]. A principal rota do metabolismo deste fármaco é a N-desmetilação para formar o metabólito norfluoxetina. No entanto, tem sido proposto que a fluoxetina também pode sofrer O-desalquilação para formar o p-trifluorometilfenol. Estudos utilizando isoformas do citocromo P450 indicam que as espécies CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 e CYP2C9 têm importante papel na N-desmetilação para formar a norfluoxetina, quando a concentração da fluoxetina se encontra no nível terapêutico em ensaios *in vivo* e *in vitro* [Margolis et al., 2000;Jawecki, 2007]. Entretanto, pouco é conhecido a respeito das isoformas do citocromo P450 responsáveis pela O-desalquilação. Conhecer essas isoformas poderia ser

importante, tendo em vista que muitos metabólitos apresentam atividade e podem contribuir para efeitos adversos e resultar em interação fármaco-fármaco de alto risco. Além disso, metabólitos podem competir com outros substratos endógenos e exógenos para atingir o sítio ativo de enzimas, resultando em mudanças de concentrações dos substratos e seus metabólitos em tecidos e fluidos biológicos [Liu et al., 2002].

A fluoxetina e seus metabólitos são excretados principalmente na urina (cerca de 60 % em indivíduos saudáveis) sendo aproximadamente 73 % sob a forma de metabólitos não identificados, 10 % norfluoxetina, 9,5 % de norfluoxetina conjugada com glicuronídio, 5,2 % como fluoxetina com glucoronídio e 2,5 % de fármaco sem conjugação. Assim, torna-se extremamente importante a identificação destes metabólitos desconhecidos para o completo entendimento do processo de biodegradação, tendo em vista sua grande utilização [Petrovic; Barceló, 2007].

II- OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi investigar a atividade catalítica das metaloporfirinas e de complexos salen, em solução e imobilizados em diferentes materiais, na oxidação de fármacos anticonvulsivantes (carbamazepina e primidona) e antidepressivo (fluoxetina) pelos oxidantes: peróxido de hidrogênio, *terc*-butil hidroperóxido (*t*-BOOH), ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) e iodosilbenzeno (PhIO), com a finalidade de i) comparar com os metabólitos obtidos *in vivo* para melhor entender a participação do citocromo P450 na biotransformação desses fármacos e ii) desenvolver métodos para síntese dos metabólitos para aplicação como padrões, estudos farmacológicos, toxicológicos, etc. Os estudos com catalisadores sintéticos visam compreender os mecanismos degradativos de xenobióticos através de informações como a seletividade e caracterização de metabólitos potencialmente reativos e tóxicos.

Foi também objetivo deste trabalho a avaliação do potencial de catalisadores heterogêneos contendo o complexo salen imobilizado em diferentes materiais (alumina, membranas de quitosana e híbridas PDMS/PVA), na catálise oxidativa de hidrocarbonetos (cicloocteno, estireno e cicloexano) por uma série de oxidantes (H_2O_2, *m*-CPBA, *t*-BOOH, PhIO, $PhI(Ac)_2$) para utilização posterior dos catalisadores sólidos mais promissores também na oxidação dos fármacos estudados.

III - PARTE EXPERIMENTAL

III.1 – Reagentes

- Carbamazepina, 10,11-epóxido-carbamazepina, primidona, fenobarbital e fluoxetina foram adquiridos da Sigma Aldrich Chemical Co.
- Os sais utilizados no preparo das soluções tampão usadas como fase móvel foram grau P.A., sendo o ácido fosfórico, dihidrogenofosfato de potássio, monohidrogenofosfato de potássio de procedência Mallinckrodt, ácido acético (J. T. Baker) e acetato de amônio (Synth).
- Os solventes metanol e acetonitrila utilizados como fase móvel foram de grau HPLC e de procedência J. T. Baker.
- Os solventes diclorometano, dicloroetano, etanol, acetonitrila, metanol e hexano utilizados como solventes de reação foram de grau PA e de procedência Mallinckrodt e Synth.
- O catalisador de Jacobsen foi adquirido da Acros Organics.
- As metaloporfirinas utilizadas foram previamente sintetizadas no nosso laboratório [Mn(TCPP)Cl, Fe(TCPP)Cl, Mn(TFPP)Cl] e pelo grupo do Prof. Dr. Rocha Gonsalves [$FeBrOCH_3$, $FeSO_2Net$, MnC_{12}, Fe(TDCPP)Cl].
- Os complexos salen EDA-Sal, EDA-Van, EDA-Br e AG-20 foram previamente sintetizadas pelo grupo do Prof. Dr. Rocha Gonsalves.
- As ferro “crowned” porfirinas foram sintetizadas pelo Dr. Juvenal C.S. Filho.
- Os suportes aminofuncionalizados contendo metaloporfirinas ancoradas foram sintetizados pelo aluno André L. Faria.
- A membrana de polidimetilssiloxano (PDMS) contendo o catalisador de Jacobsen foi sintetizada durante a iniciação científica.
- Os oxidantes *t*-BOOH, *m*-CPBA, $PhIAc_2$ foram adquiridos da Acros Organics, H_2O_2 da Fluka e o PhIO foi sintetizado através da hidrólise do iodobenzenodiacetato, segundo método descrito por [Sharefkin, 1973] e sua pureza de 95 % foi determinada por titulação iodométrica segundo técnica descrita por [Lucas et al., 1963].

- A água utilizada nos experimentos foi purificada pelo sistema Milli-Q, Millipore.
- Hidróxido de sódio e ácido clorídrico foram adquiridos da Synth.
- Os co-catalisadores imidazol, t-butilpiridina, trimetilamina N-óxido foram adquiridos da Acros Organics, piridina da Fluka e acetato de amônio e bicarbonato de sódio da Synth.
- Gases hélio, nitrogênio, hidrogênio e argônio foram adquiridos da White Martins.
- Quitosana, padrão interno bromobenzeno, água deuterada (D_2O) e hidrocarbonetos (cicloexano, cicloocteno e estireno) de procedência Acros Organics.
- Poli(dimetilssiloxano) (PDMS) e tetraetoxissilano (TEOS) de procedência Dow Corning.
- Cloreto de alumínio, éter diisopropílico, isopropanol e acetato de polivinila (PVA) foram adquiridos da Sigma Aldrich Co.
- Catalisador de Sn de procedência Huls América Inc.

III.2 - Equipamentos e dispositivos utilizados

- Espectrofotômetro HP 8452A Diode Array acoplado ao microcomputador HP Vectra Es/12, impressora Think Jet HP e ploter 7475A HP.
- Cromatógrafo a Gás Varian Star 3400Cx, acoplado ao computador Mythus 486dx/66 e impressora Epson Lx-300; Star Chromatography Workstation para tratamento de dados. Coluna megabor de 30 m de comprimento por 0,53 mm de diâmetros interno e filme de 1μ.
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência SHIMADZU, com detector Diode Array SPD-M 10A VP acoplado ao forno de coluna CTO-10A VP e controlador de sistema SCL-10A VP. Coluna Lichrospher 100RP – 18 5μm (125x4mm).
- Aparelho de água Milli-Q – Barnstead.
- Membrana para filtrar solventes (CLAE) Nylon 66 (0,45μm x 47mm) Supelco.
- PH metro – metrohm 620.
- Balança Analítica Mettler Toledo AG245.
- Agitador por ultrassom Minisom Thornton, Impec Eletrônica.

- Aparelho CG/MS Agilient GC6890/5973 MSD. Detector de quadrupolo com ionização por impacto eletrônico. Coluna utilizada: HP-5MS (29,9 m x 250 μm x 0,25mm). Gás de arraste: He. (Laboratório do Professor António Manuel de Albuquerque da Rocha Gonsalves, Universidade de Coimbra, Portugal).
- Microscópio Eletrônico de Varredura ZEISS (modelo LEO-440). As amostras, armazenadas em dessecador com sílica gel, foram colocadas sobre fita adesiva de carbono no porta amostra de alumínio e recobertas com ouro, com espessura de recobrimento de 20 nm. A corrente do feixe utilizado foi de 500 pA e a potência do feixe de 20 kV.
- TA Instruments-SDT Q600-Simultaneous DTA-TGA utilizando um gradiente de temperatura entre temperatura ambiente (~ 25 ºC) até 1500 ºC, em uma velocidade de 20 ºC por minuto, com fluxo de N_2 em 100 mL /min. (realizada na Universidade de Franca, no Laboratório da Profa. Dra. Kátia Jorge Ciuffi).
- Difractômetro Siemens modelo 5005 usando radiação CuK_{α}.
- Área superficial do catalisador sólido: Equipamento NOVA 1200 da Quantachrome Corporation, utilizando-se nitrogênio de alta pureza como adsorbato e nitrogênio líquido como banho refrigerante.
- Espectrômetro infravermelho Nicolet 5ZDX com transformada de Fourier (FT-IR) gravado de 4000 a 400 cm^{-1}.
- Espectrômetro ^1H RMN Brucker DRX-400 (400 MHz)

III.3- Métodos

III.3.1- Preparação e caracterização do catalisador de jacobsen entrapeado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica (NHG)

O material foi sintetizado no laboratório da Profa. Dra. Kátia J. Ciuffi da Universidade de Franca-SP juntamente com o aluno Bruno L. Caetano, segundo modificações na metodologia descrita por Corriu [Cerveau et al., 1998; Corriu,1998]. Em um balão de duas bocas colocou-se 2.5 x 10^{-2} $mol.L^{-1}$ de cloreto de alumínio e 1,5 x 10^{-1} $mol.L^{-1}$ de éter diisopropílico (iPr_20) e 1,1 x 10^{-5} mol do

catalisador de Jacobsen. A mistura permaneceu em refluxo por 4 h a 110 ºC em 50 mL de diclorometano (DCM, previamente destilado), em meio totalmente anidro e sob atmosfera de argônio.

O condensador foi adaptado em um banho termostático, mantido a temperatura de –8 ºC. O gel foi formado após 90 minutos de reação, sendo que depois de mais 30 minutos um material sólido começou a precipitar. Após o refluxo a mistura foi resfriada e envelhecida por uma noite na água mãe à temperatura ambiente. O solvente foi retirado à vácuo e o material foi lavado com diferentes solventes na seguinte ordem: diclorometano, acetonitrila e metanol. Após lavagem o material recebeu tratamento térmico à temperatura de 110 ^{o}C, após o qual foi obtido o material Mn(salen)-NHG, que contém 2,52 μmol catalisador/g de suporte.

O catalisador de Jacobsen entrapeado, Mn(salen)-NHG foi caracterizado por espectroscopia UV-Vis, análise termogravimétrica (TG), calorimetria explaratória diferencial (DSC), análise térmica diferencial (DTA), difração de raio-X e área superficial.

III.3.2 - Imobilização e caracterização do catalisador de Jacobsen na membrana de quitosana

A imobilização do complexo salen em membrana de quitosana foi realizada segundo modificações na metodologia descrita por Guo et al [Huang et al., 2003]. A 25 mL de uma solução 0,1 mol/L de ácido acético foram adicionados 500 mg de quitosana. A mistura foi agitada até a dissolução da quitosana. A seguir adicionou-se 100 mL de água destilada e, em seguida, o pH do meio foi neutralizado com NaOH 0,1 mol/L (cerca de 20 mL). Adicionou-se então 10,00 mL de uma solução contendo 5 mg do complexo salen em diclorometano. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 4 h e então filtrada. Deixou-se o sólido secar ao ar em vidro de relógio para formar uma membrana. O sólido foi envolto em um papel de filtro e lavado com diclorometano em um sistema Soxhlet por 24 h. O “loading” foi determinado indiretamente por espectroscopia UV-Vis, resultando em 1,74 x 10^{-5} mol de catalisador/ g de suporte.

O catalisador foi caracterizado por UV/Vis, infravermelho (IV), análise termogravimétrica (TG), análise térmica diferencial (DTA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

III.3.3 - Cálculo do grau médio de acetilação (GA) da quitosana

Para determinar o GA da quitosana utilizou-se a Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (^{1}H RMN). Os espectros foram obtidos a partir de um procedimento descrito por Signini e Campana Filho [Signini; Campana Filho,1998]. Aproximadamente 10 mg de amostra de quitosana foi solubilizada em 1 mL de solução de HCl/D_2O 1% (v/v), durante 24 h, formando uma solução viscosa. Uma alíquota dessa solução foi colocada em tubos de 5 mm de diâmetro para a análise de ^{1}H RMN a 70 ºC.

III.3.4 - Preparação e caracterização do catalisador de Jacobsen ocluído nas membranas poliméricas híbridas PDMS/PVA

Essas membranas foram preparadas em colaboração com o Prof. Dr. Marco A. Schiavon, da Universidade Federal de São João Del Rey, sendo a aluna de mestrado Rosalva Marques responsável pela síntese. A caracterização (UV-Vis, MEV, TG, DTA, DSC) e atividade catalítica das membranas contendo o catalisador de Jacobsen foram realizadas na FFCLRP-USP.

Inicialmente preparou-se uma solução aquosa a 5 % em massa de acetato de polivinila (PVA), sob agitação magnética e aquecimento (~ 85 ºC). A seguir preparou-se uma solução alcoólica de isopropanol contendo poli(dimetilssiloxano) (PDMS) e tetraetoxissilano (TEOS), na presença de catalisador de Sn (1 % em relação à massa total). Essa última solução foi vertida no balão contendo a solução aquosa de PVA. Após homogeneização, o sistema foi mantido a temperatura de refluxo (~ 85 ºC) por 7 h. Após o início da gelificação foi adicionado 0,02 % em peso do catalisador de Jacobsen dissolvido em diclorometano. O material obtido foi transferido para uma placa de Petri de Teflon,

para cura, por secagem à temperatura ambiente, protegido de poeira, por 14 dias. A seguir o material foi levado à estufa por 48 h a 70 ºC para secagem final.

Foram preparadas três membranas variando-se apenas a massa de PVA, de modo a obter redes com 10, 15 e 20 % em massa de PVA, contendo aproximadamente 2,5 x 10^{-7} mols de catalisador/g de membrana.

III.3.5 - Intumescimento das membranas poliméricas de PDMS/PVA

A técnica consiste em mergulhar a massa conhecida das membranas em cada uma das substâncias puras a serem analisadas. Após 24 h retira-se a membrana do banho, eliminando o excesso de substância e pesa-se. Determina-se, pela diferença de massas, a quantidade máxima de cada uma das substâncias que poderá solver-se no suporte durante o tempo de reação. Esse valor é denominado "valor de sorção" [Neys et al., 1999].

Os testes de intumescimento das membranas foram realizados com os substratos (cicloocteno e estireno) e com os oxidantes (*t*-BOOH e H_2O_2). Nas medidas de intumescimento foi estimado um erro relativo de 5 %.

III.3.6- Oxidação de hidrocarbonetos

As reações de oxidação, com o catalisador de Jacobsen em meio homogêneo e heterogêneo foram realizadas à temperatura ambiente e sob agitação magnética, em acetonitrila. Os produtos foram analisados por cromatografia a gás, pelo método de adição de padrão interno (bromobenzeno).

Os catalisadores de Jacobsen imobilizados em membranas de quitosana e membranas poliméricas de PDMS/PVA foram avaliados em um sistema trifásico. Nas reações trifásicas, a membrana catalítica foi localizada na interface entre a fase aquosa contendo o oxidante solúvel em água e a fase orgânica contendo o substrato. A membrana foi removida no final da reação e a fase orgânica foi diluída com diclorometano (750 μL), e a fase aquosa com metanol (750 μL). O

padrão interno (bromobenzeno) foi adicionado em cada fase e os produtos foram analisados por cromatografia a gás.

Após ter sido retirada do meio reacional a membrana catalítica era mergulhada em diclorometano, permanecendo sob agitação por 24 h, para extração dos produtos da oxidação que poderiam permanecer retidos em sua estrutura. Esta solução também era analisada por cromatografia a gás.

Os resultados foram expressos em rendimento baseado no oxidante adicionado e freqüência de "turnovers", TOF, sendo calculado da seguinte forma: TOF = (número de mols do produto / número de mols do catalisador) / tempo de reação (h).

III.3.6.1- Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen entrapeado na matriz de alumina – Mn(salen)-NHG

As reações com o catalisador de Jacobsen entrapeado na matriz de alumina, Mn(salen)-NHG, foram realizadas na proporção catalisador: oxidante: substrato: 1:1000:20000. No frasco reacional foram misturados cerca de 10 mg do material Mn(salen)-NHG (2,5 x 10^{-8} mol), oxidante (PhIO, $PhIAc_2$, *t*-BOOH, *m*-CPBA, H_2O_2, NaOCl) (2,5 x 10^{-5} mol) e substrato (cicloexano, ciclocteno ou estireno) (5,0 x 10^{-4} mol) e 6 µL de bromobenzeno (5,7 x 10^{-5} mol). O tempo de reação foi de 8 h. Para reações visando o estudo da estabilidade do catalisador, após este período adicionou-se nova carga de oxidante e deixou-se reagir por mais 24 h. Este procedimento foi repetido para seis adições sucessivas de oxidante.

Foram realizadas reações controle com o catalisador de Jacobsen em meio homogêneo e com a alumina (NHG) na ausência do complexo.

III.3.6.2 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen imobilizado na membrana de quitosana, Mn(salen)-Chit

A membrana de quitosana contendo o catalisador de Jacobsen, Mn(salen)-Chit, foi avaliada em sistema heterogêneo bifásico convencional em acetonitrila e sistema trifásico na proporção catalisador: oxidante: substrato 1:2240:1860. No frasco de reação foram misturados 20 mg da membrana, Mn(salen)-Chit (3,48 x 10^{-7} mol), oxidante (*m*-CPBA, *t*-BOOH ou H_2O_2, 6,5 x 10^{-4} mol) e substrato (estireno ou cicloocteno, 7,8 x 10^{-4} mol). Reações controle foram realizadas sob as mesmas condições utilizando uma membrana de quitosana branco.

III.3.6.3 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen ocluído nas membranas poliméricas híbridas PDMS/PVA

As membranas poliméricas contendo o catalisador de Jacobsen, MnSalen-PDMS-PVA (~ 50 mg, 1,25 x 10^{-8} mol) foram usadas como uma barreira catalítica entre a fase aquosa (solução 70 % de *t*-BOOH ou 30 % de H_2O_2; 2,45 x 10^{-3} mol) e a fase orgânica (cicloocteno ou estireno; 5,8 x 10^{-3} mol) na proporção catalisador: oxidante: substrato 1:19600:46400.

Também foi utilizado um mini-reator com dois compartimentos, um contendo a fase orgânica (cicloocteno; 2,0 x 10^{-2} mol), outro contendo a fase aquosa (solução 70 % de *t*-BOOH ou 30 % de H_2O_2; 9,7 x 10^{-3} mol) com a membrana polimérica (~ 400 mg, 1,0 x 10^{-7} mol) localizada entre os dois compartimentos (Figura 42). Após a reação, uma alíquota de 750 µL foi retirada de cada compartimento, diluída com 750 µL do solvente (diclorometano ou metanol) e analisadas por cromatografia gasosa. O tempo de reação foi de 20 h.

Foram realizadas reações controle com as correspondentes membranas branco (sem catalisador).

III.3.7- Oxidação da carbamazepina

III.3.7.1- Otimização do processo de extração para o catalisador de Jacobsen e metaloporfirinas

O procedimento de pré-tratamento da amostra para análise por CLAE apresenta como objetivo eliminar os interferentes (catalisador) da amostra. O procedimento de extração do catalisador de Jacobsen do meio reacional consiste de uma extração líquido-líquido, que foi adaptado do método proposto por Maurin et al. [Maurin et al., 2003] para análise de fármacos por CLAE em estudos de oxidação com metaloporfirinas. O método modificado consistiu na retirada de uma alíquota de 50 μL da mistura de reação, adição de 500 μL de hexano e posterior adição de 500 μL da fase móvel utilizada (tampão fosfato 60 %:ACN 23 %:MeOH 17 %). Deixou-se agitar por 15 min e retirou-se a fase superior (hexano). Filtrou-se a fase inferior composta pela fase móvel, CBZ e metabólitos e completou-se para volume final de 1 mL. Confirmou-se a ausência de bandas do catalisador de Jacobsen no espectro UV-Vis e fez-se a injeção no cromatógrafo.

Inicialmente a extração das metaloporfirinas foi realizada utilizando múltiplas extrações líquido-líquido, para eliminar estes catalisadores do meio de reação. Posteriormente, este procedimento foi alterado. Retirou-se uma alíquota de 50 μL da mistura de reação, adicionou-se 500 μL de hexano e 500 μL de uma solução tampão fosfato pH 7,0/ metanol (80:20 v/v). Agitou-se mecanicamente por 15 min e retirou-se a fase superior de hexano. Filtrou-se a fase inferior composta pela fase móvel, CBZ e metabólitos em filtro aquoso de 0,45 μm e completou-se o volume para 1 mL. Confirmou-se a ausência da banda Soret das metaloporfirinas no espectro UV-Vis e fez-se a injeção no cromatógrafo.

III.3.7.2 - Otimização e padronização das condições cromatógraficas (CLAE-UV), para análise da carbamazepina e seus produtos de oxidação

A otimização da resolução cromatográfica (CLAE-UV) foi realizada com soluções padrão de carbamazepina e de 10,11-epóxido carbamazepina, em coluna de fase reversa C_{18}. A fase móvel foi variada quanto à composição, proporções e valores de pH, utilizando os seguintes solventes: metanol, acetonitrila, água Milli-Q e solução tampão fosfato de potássio em condições isocráticas. Dentre as condições avaliadas a melhor resolução cromatográfica foi obtida com a seguinte fase móvel: solução tampão fosfato (pH 7,0 - 0,1 $mol.L^{-1}$), acetonitrila e metanol 60:23:17 (v/v/v) em fluxo de 1 mL/min e detecção UV em 210 nm, em temperatura ambiente (T = 25 ºC). Em seguida foi realizada a padronização do método de análise utilizando-se cinco soluções de diferentes concentrações de carbamazepina, submetidas ao procedimento de extração para minimizar os erros de análises e injetadas no CLAE, em duplicata.

III.3.7.3 - Otimização das condições cromatográficas para análise dos produtos de oxidação da CBZ por CLAE acoplado a um espectrômetro de massa (CLAE-ESI)

O procedimento de extração utilizado para análises das reações por CLAE-ESI envolveu secar a mistura reacional e posterior solubilização em uma solução composta de água e acetonitrila, na proporção de 60:40 (v/v). Os catalisadores (Jacobsen e metaloporfirinas) e oxidantes não são solúveis nesta solução. Este processo de extração foi utilizado, para evitar o uso de solução tampão fosfato, incompatível com o sistema CLAE-ESI.

A otimização das condições cromatográficas (CLAE-ESI) foi realizada com soluções padrão da carbamazepina e 10,11-epóxido-carbamazepina, em coluna de fase reversa C_{18} (Merck) em temperatura isotérmica de 30 ºC, com a interface “electrospray” no modo positivo. A fase móvel otimizada foi composta de água Milli-Q e acetonitrila 60:40 (v/v).

As condições que proporcionaram resultados satisfatórios para a separação de carga, boa dessolvatação e transferência dos íons, para as análises de CBZ e CBZ-EP foram voltagem do capilar 4,50 KV, temperatura da fonte de 158 ºC e voltagem do cone em 14 V.

Estas análises foram realizadas no laboratório do Prof. Dr. Fernando Mauro Lanças, no Instituto de Química, da Universidade de São Paulo, na cidade de São Carlos, com a colaboração da aluna de doutorado Claudete Alves.

III.3.7.4 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação da carbamazepina, monitorado por CLAE-UV e por CLAE-ESI

Todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente, sob agitação magnética, em frascos de 3 mL com tampa rosqueada de topo aberto, contendo septo de silicone-teflon. O tempo de reação foi de 3 h, após o qual retirava-se uma alíquota da mistura de reação, realizava-se a extração e analisava-se por cromatografia líquida de alta eficiência.

A avaliação do efeito de diferentes solventes na oxidação da CBZ foi realizada na condição 1:40:35 de catalisador:oxidante:fármaco (em número de mol), utilizando-se 6,0 x 10^{-7} mol do catalisador de Jacobsen e *m*-CPBA, em 2000 µL de solvente. Os solventes testados foram acetonitrila, metanol, etanol, diclorometano e dicloroetano.

As reações em diferentes pHs (pH 2, pH 4, pH 6 e pH 8) foram realizadas na condição 1:40:35 de catalisador:oxidante:fármaco, utilizando-se os oxidantes *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 que podem apresentar a homólise ou heterólise da ligação O-O, em meio de tampão conveniente de acordo com o seu valor de pKa, na concentração 5 mmol L^{-1} e acetonitrila 1:1. Em pH 2 utilizou-se o tampão preparado com ácido fosfórico e dihidrogenofosfato de potássio (pKa = 2,12), para reações em pH 4, o tampão de ácido acético e acetato de amônio (pKa = 4,74) foi utilizado e para as reações em pH 6 e 8, utilizou-se o tampão monohidrogenofosfato de potássio e dihidrogenofosfato de potássio (pka = 7,2)

A avaliação do efeito de co-catalisadores na oxidação da CBZ foi realizada utilizando o catalisador de Jacobsen em meio de ACN e H_2O_2 como doador de oxigênio. Estabeleceu-se como condição a proporção molar 1:10:40:35 de catalisador:co-catalisador:oxidante:fármaco, utilizando-se 6,0 x 10^{-7} mol do catalisador em 2000 µL de solvente. Os co-catalisadores avaliados foram imidazol, piridina, t-butilpiridina, trimetilamina N-óxido, acetato de amônio e bicarbonato de sódio. Foram feitas reações nas mesmas condições, na ausência de co-catalisadores, para comparação.

III.3.7.5- Avaliação da atividade catalítica de ferro "crowned" porfirinas

As reações de oxidação foram realizadas na condição 1:40:35 de catalisador:oxidante:fármaco, utilizando-se 6,0 x 10^{-7} mol de catalisador (ferro mono- e tetra- "crowned" porfirina). Estas reações foram realizadas em meio homogêneo (2000 µL de acetonitrila) utilizando PhIO e *m*-CPBA, e em sistemas bifásicos dicloroetano/água 1:1 (v/v). NaOCl e *m*-CPBA foram usados como oxidantes nesses casos, para avaliar o efeito das ferro "crowned" porfirinas como catalisadores de transferência de fase.

Foram também realizadas reações com as Fe-amino porfirinas, precursoras das "crowned" porfirinas.

III.3.7.6- Catálise heterogênea na oxidação da carbamazepina

III.3.7.6- A) Utilizando catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas

No frasco reacional foram misturados cerca de 50 mg de membranas (PDMS e híbridas PDMS/PVA com diferentes teores de PVA: 10, 15 ou 20 %) (1,25 x 10^{-8} mol), 1500 µL de acetonitrila, 5,0 mg de carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol) e 2,45 x 10^{-3} mol de oxidante (*m*-CPBA, *t*-BOOH ou H_2O_2). As reações foram realizadas na proporção molar 1:196000:1680 de catalisador: oxidante: substrato.

O tempo de reação foi de 24 h. Em seguida a membrana era retirada do meio de reação e uma alíquota de reação de 50 μL era diluída em 950 μL de metanol. Esta alíquota de reação era analisada por cromatografia líquida de alta eficiência.

A membrana que sofreu reação era mergulhada em diclorometano, permanecendo sob agitação por 24 h, para a extração de produtos da oxidação que poderiam permanecer retidos na sua estrutura, e esta solução também era analisada por cromatografia líquida de alta eficiência.

Foram realizadas reações "branco" utilizando uma membrana sem o catalisador de Jacobsen.

Para fins de comparação foram realizados reações com os catalisadores de Jacobsen em meio homogêneo, nas mesmas condições que as reações heterogêneas.

III.3.7.6- B) Utilizando metaloporfirinas ancoradas em suportes aminofuncionalizados

A oxidação do fármaco carbamazepina foi realizada em duas diferentes condições com os suportes aminofuncionalizados.

(a) Oxidante iodosilbenzeno: Em frasco de 3 mL com tampa rosqueada foram misturados ~20 mg do catalisador sólido (0,25 μmol de Me(TFPP)Cl), 1,5 mL de ACN, 2,0 mg de carbamazepina (8,75 μmol) e 2,6 mg de PhIO (10,0 μmol). As reações foram realizadas à temperatura ambiente e sob agitação magnética, na proporção molar de catalisador: oxidante: fármaco de 1:40:35. As reações utilizando **Mn(TFPP)Cl** foram feitas na presença de um co-catalisador (imidazol-7,5 μmol) em uma razão molar de 1:30 de **Me(TFPP)Cl**: co-catalisador. O tempo de reação foi de 24 h.

(b) Peróxido de hidrogênio: As reações foram realizadas de forma similar àquelas descritas acima, exceto pelo fato deste oxidante ter sido adicionado em quatro alíquotas sucessivas, em intervalos de 30 min, visando minimizar a decomposição do peróxido.

Após a 24 h, uma alíquota do meio reacional de 50 μL era diluída em 950 μL de metanol. Esta solução era analisada por cromatografia líquida de alta eficiência.

Reações controle foram feitas com os suportes sem metaloporfirinas e com o catalisador suportado na ausência de oxidante.

III.3.8 – Oxidação da primidona

III.3.8.1- Otimização do processo de extração do catalisador de Jacobsen e metaloporfirinas

O procedimento empregado foi baseado na secagem de uma alíquota da mistura reacional e posterior dissolução em solventes os quais não solubilizam os catalisadores. Foi retirada uma alíquota de 500 μL da mistura reacional e esta alíquota foi exposta a uma corrente contínua de ar para a remoção do solvente da reação. Em seguida a primidona e os possíveis produtos de oxidação foram ressolubilizados em 500 μL de uma solução contendo 90 % de água Milli-Q e 10 % de acetonitrila. Para garantir a completa solubilização da primidona e seus metabólitos, o frasco foi submetido à agitação magnética por 15 min. Posteriormente a solução foi filtrada, utilizando um dispositivo plástico que contém um filtro de 0,45 μm. Este dispositivo é acoplado na microseringa para que não ocorra perda dos analitos durante a filtragem. O catalisador de Jacobsen e metaloporfirinas não são solubilizados neste meio, pelo fato de apresentar caráter mais apolar que a primidona e seus metabólitos, e fica retido no filtro. O filtro foi lavado com o solvente diclorometano, que apresenta alta afinidade por estes catalisadores e foi registrado o espectro UV-Vis desta solução, confirmando que os complexos ficavam retido no filtro. O volume do extrato foi ajustado para 500 μL e este foi analisado por espectroscopia UV-Vis para confirmar a ausência de bandas típicas do catalisador de Jacobsen e da banda Soret de metaloporfirinas. Esta solução foi introduzida no CLAE para a análise dos produtos de oxidação da primidona.

III.3.8.2– Otimização e padronização das condições cromatográficas (CLAE-UV), para análise da primidona e seus produtos de oxidação

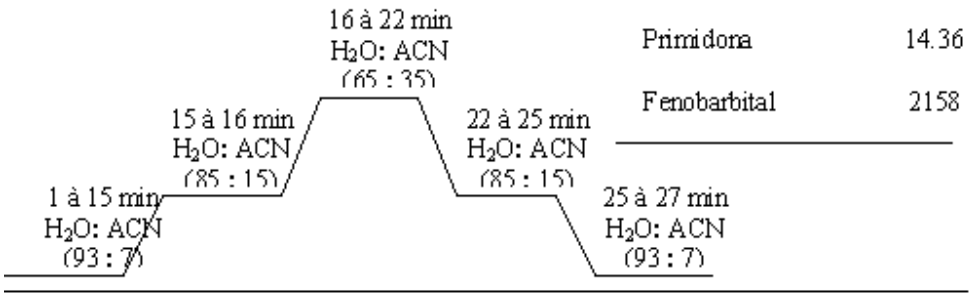
A otimização das condições de análise cromatográfica (CLAE-UV) foi realizada com soluções padrão de primidona (PRM), fenobarbital (FENO) e feniletilmalonamida (PEMA), em coluna de fase reversa C_{18}. A fase móvel foi variada quanto à proporções de acetonitrila e água Milli-Q, em condições isocráticas e por gradiente. Entretanto, verificou-se que a eluição isocrática não era adequada, pois não foi possível separar os picos de todos os analitos. O gradiente de concentração da fase móvel foi otimizado, tornando o método de separação mais eficiente para a identificação dos produtos formados. Dentre os gradientes de solventes testados o que melhor proporcionou a separação desejada foi o descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Esquema de separação dos metabólitos da primidona por CLAE

Método de Análise dos Metabólitos da Primidona

- Temperatura 30 °C
- Tempo de Análise = 27 min

Composto retenção	*tempo de (min)*
Feniletilmalonamida	6.06
Primidona	14.36
Fenobarbital	2158



Dentre as condições avaliadas, a melhor resolução cromatográfica foi obtida utilizando-se uma coluna C_{18} (Merck) de 125x4 mm e fase móvel água Milli-Q e ACN em eluição gradiente, fluxo à 1 mL/min e detecção UV em 210 nm, na temperatura 30 ºC.

Depois de estabelecido o método de análise foi realizado a padronização do mesmo. Foram preparadas soluções de diferentes concentrações da PRM, FENO

e PEMA, as quais foram submetidas ao procedimento de extração e, em seguida, todas estas soluções foram injetadas no CLAE, em duplicata.

III.3.8.3 - Otimização das condições cromatográficas do CG acoplado a um espectrômetro de massas (CG-MS) para análise da primidona e seus produtos de oxidação

O procedimento de extração utilizado para análise da PRM e metabólitos por CG-MS foi baseado na secura do meio reacional e posterior dissolução em metanol, pois a acetonitrila apresenta alto teor de água, não sendo um solvente recomendado para análise no cromatógrafo a gás.

A otimização das condições de separação cromatográficas (CG-MS) foi realizada com soluções-padrão da primidona e dos metabólitos conhecidos PEMA e FENO com concentrações 1,0 x 10^{-4} mol/L, em coluna DB5-MS (30m x 0.25mm x 0.25 µm). As condições que proporcionaram resultados satisfatórios para a separação dos produtos de oxidação catalítica da primidona foram: temperatura do injetor 250 ºC, temperatura da coluna foi programada para iniciar em 100 ºC até 300 ºC com velocidade de 10 ºC/min durante 5 min, em seguida esta temperatura foi mantida em 300 ºC até 25 min, operando no modo impacto de elétrons, com energia de 70 eV. Os espectros de massa obtidos foram comparados com a biblioteca "National Institute of Standards and Technology" (NIST) para a identificação dos produtos.

Estas análises foram realizadas no laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto.

III.3.8.4 - Atividade catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação da primidona, monitorado por CLAE-UV e GC-MS

Todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente, sob agitação magnética, em frascos de 3 mL com tampa rosqueada de topo aberto, contendo septo de silicone-teflon. O tempo de reação foi de 6 h, após o qual retirava-se uma

alíquota da mistura de reação, realizava-se a extração e analisava-se por cromatografia líquida de alta eficiência.

O estudo de oxidação da primidona, catalisado pelo catalisador de Jacobsen ou metaloporfirinas foi realizado utilizando PhIO, *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 como doadores de oxigênio, em meio de acetonitrila. As proporções molares catalisador **:** oxidante **:** primidona utilizadas nas reações foram de 1 :40 :35, sendo 6,0. 10^{-7} mol de catalisador.

Foram realizados estudos variando-se a concentração de oxidante, para a seguinte proporção molar 1:150:30, de catalisador (6,0. 10^{-7} mol), oxidante (9,0 x 10^{-5} mol) e fármaco (1,8 x 10^{-5} mol).

A avaliação do efeito de co-catalisadores (imidazol) na oxidação da PRM foi realizada utilizando o catalisador de Jacobsen em meio de ACN e *t*-BOOH como doador de oxigênio. Estabeleceu-se como condição padrão a proporção molar 1:10:40:35 de catalisador: co-catalisador: oxidante: fármaco, utilizando-se 6,0 x 10^{-7} mol do catalisador em 1500 μL de solvente. Foram feitas reações sem a presença de co-catalisadores para comparação.

Estudou-se ainda a influência do oxigênio no meio reacional. No frasco de reação foram adicionados PRM, oxidante (*t*-BOOH) nas proporções descritas conforme a condição padrão e acetonitrila. O sistema foi desaerado com argônio por cerca de 30 min. Após esse período o frasco foi fechado com tampa rosqueável com septo, que consiste em um capilar de teflon que mantém o sistema com uma corrente contínua de argônio e uma agulha para escape do gás. Após cerca de 15 min, adicionou-se pela agulha a solução de catalisador de Jacobsen, recém desaerada. Retirou-se o argônio e a agulha e o sistema foi mantido fechado por 3 h, sob agitação magnética. Estas reações foram comparadas com as reações realizadas nas mesmas condições porém, na presença de oxigênio (ar).

As reações em diferentes pHs (pH 2, pH 4, pH 6, pH 8 e pH 10) foram realizadas na condição padrão (1:40:35), utilizando-se os oxidantes *t*-BOOH e PhIO, em meio de tampão conveniente de acordo com o seu valor de pKa, na concentração 5 mmol L^{-1} e acetonitrila 1:1. Para pH 2, utilizou-se o tampão

preparado com ácido fosfórico e dihidrogenofosfato de potássio (pKa = 2,12), para reações em pH 4, o tampão de ácido acético e acetato de amônio (pKa = 4,74) e para as reações em pH 6 e 8, utilizou-se o tampão monohidrogenofosfato de potássio e dihidrogenofosfato de potássio (pka = 7,2), para pH 10, utilizou-se o tampão NH_3/NH_4Cl (pKa = 9.2).

III.3.9 – Oxidação da fluoxetina

III.3.9.1- Otimização e padronização das condições cromatográficas (CLAE-UV), para análise da fluoxetina e seus produtos de oxidação

A otimização da resolução cromatográfica (CLAE-UV) foi realizada com soluções padrão de fluoxetina e com alíquotas de reação, em coluna de fase reversa C_{18} (Merck). A fase móvel foi variada quanto à composição, proporções e fluxo, utilizando metanol, acetonitrila na presença e ausência de ácido acético, água Milli-Q sem a adição de sais ou tampão e na presença de acetato de amônio em condições isocráticas.

A condição ótima para análise da fluoxetina e seus metabólitos foi obtida utilizando-se uma coluna C_{18} (Merck) de 125x4 mm e fase móvel constituída de uma solução aquosa de acetato de amônio, na concentração 20 mmol L^{-1}, e acetonitrila contendo 1 % em volume de ácido acético, na proporção 59:41 (v/v), em condição isocrática, fluxo à 0,8 mL/min e detecção UV em 230 nm na temperatura 30 ºC.

Depois de estabelecido o método de análise foram preparadas soluções estoque da fluoxetina e do produto de oxidação p-trifluorometilfenol (TFMF) com concentração de 1000 $g.mL^{-1}$ e, a partir desta solução, foram preparadas por diluição cinco soluções em acetonitrila com concentração variando entre 1,5 x 10^{-4} e 7,5 x 10^{-3} mol L^{-1}. Em seguida, todas estas soluções foram injetadas no CLAE, em duplicata para padronização do método.

III.3.9.2 - Otimização das condições cromatográficas do CG acoplado a um espectrômetro de massas (CG-MS) para análise da fluoxetina e seus produtos de oxidação (realizado na Universidade de Coimbra)

A otimização das condições de separação cromatográficas (CG-MS) foi realizada com soluções-padrão da fluoxetina e com uma alíquota de reação, em coluna capilar HP5-MS (15 m x 0.25mm x 0.25 µm). Com temperatura inicial em 100 ºC até 4 min, com aquecimento linear a velocidade de 30 ºC/min até 280 ºC durante 20 min, e temperatura do injetor e detector de 200 ºC e 250 ºC, respectivamente, no modo de ionização por impacto eletrônico.

III.3.9.3 - Estudo da atividade catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação da fluoxetina, monitorado por CLAE-UV

Todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente, sob agitação magnética, em frascos de 3 mL com tampa rosqueada de topo aberto, contendo septo de silicone-teflon. O tempo de reação foi de 3 h.

O estudo de oxidação da fluoxetina, catalisado pelo catalisador de Jacobsen foi realizado utilizando PhIO, $PhIAc_2$, *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 como doadores de oxigênio, em meio de acetonitrila. As proporções molares catalisador **:** oxidante **:** fluoxetina utilizadas nas reações foram de 1 :40 :35, sendo 6,0. 10^{-7} mol de catalisador. Após reação, retirou-se uma alíquota de reação e injetou-se no cromatógrafo líquido de alta eficiência sem qualquer tratamento prévio, tendo em vista, a menor sensibilidade deste método de análise devido à baixa absorção dos analitos no comprimento de onda 230 nm.

III.3.9.4 - Estudo da atividade catalítica de metaloporfirinas e complexos salen na oxidação da fluoxetina num sistema bifásico por peróxido de hidrogênio (realizado na Universidade de Coimbra)

As reações foram realizadas utilizando as metaloporfirinas (Mn(TDCPP)Cl, $FeBrOCH_3$, MnC_{12} e $FeSO_2Net$) sintetizadas pelo grupo do Prof. Rocha Gonsalves. Nestas reações, foram adicionados em um frasco de 5 mL, o substrato (2,15 x 10^{-5} mol) a metaloporfirina (2,15 x 10^{-6} mol) e co-catalisador (*terc*-butilpiridina, 2,15 x 10^{-6} mol), todos dissolvidos em 1 mL de diclorometano contendo 4,3 x 10^{-5} mol de ácido benzóico, numa relação de catalisador:oxidante:substrato:co-catalisador 1:1500:10:1. Para iniciar as reações adicionava-se cerca de 1 mL de solução aquosa de peróxido de hidrogênio 5 %. As reações foram mantidas sob agitação magnética e a temperatura ambiente. No final da reação (3 h), as fases aquosa e orgânica eram separadas. Retirava-se 100 μL da fase orgânica e diluía em 900 μL de diclorometano. Em seguida os produtos da reação contidos na fase orgânica eram analisados por CG-MS. A fase aquosa não foi analisada devido possíveis danos que poderiam ser causados na coluna cromatográfica.

Para as reações realizadas com os complexos salen: catalisador de Jacobsen, EDA-sal, EDA-Van EDA-Br, AG-20 (sintetizados pelo grupo do Prof. Rocha Gonsalves). Foram adicionados, em um frasco de 5 mL, a base de Shiff (3,0 x 10^{-6} mol) e o substrato (6,0 x 10^{-5} mol) dissolvidos em 750 mL de uma mistura diclorometano e acetonitrila 1:1, e 750 mL de uma solução aquosa do co-catalisador (2,7 x 10^{-2} mol L^{-1}, acetato de amônio), na relação catalisador: oxidante: substrato: co-catalisador 1:200:20:4. A reação foi iniciada pela adição lenta de solução aquosa 30 % de peróxido de hidrogênio. As reações foram mantidas sob agitação magnética e a temperatura ambiente. No final da reação (3 h), as fases aquosa e orgânica eram separadas. Retirava-se 100 μL da fase orgânica e diluía-se com 900 μL de diclorometano. Em seguida os produtos da reação contidos na fase orgânica eram analisados por CG-MS.

Para fins de comparação, as reações foram também realizadas em meio homogêneo de DCM/MeOH 1:1.

III.3.9.5 - Estudo da atividade catalítica de uma porfirina base livre na fotoxidação da fluoxetina (realizado na Universidade de Coimbra)

A reação de fotoxidação de fluoxetina foi realizada num fotoreator construído no laboratório e equipado com uma fonte de luz. Num balão de fundo redondo adicionou-se 2,15 x 10^{-5} mol de fluoxetina (6,6 mg) e a porfirina base livre H_2TDCPP (2,15 x 10^{-6} mol), dissolvida em 10 mL de uma mistura de diclorometano/acetonitrila 1:1, borbulhando oxigênio no meio de reação, contendo três lâmpadas de 50 W. A reação foi monitorada em função do tempo (30 min a 24 h), retirando-se alíquotas da mistura de reação e analisando-se por cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência.

III.3.10- Catalise heterogênea utilizando o catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas (realizada em conjunto com Rosalva Marques e Prof. Dr. Marco A. Schiavon)

No frasco reacional foram misturados cerca de 50 mg de membranas híbridas PDMS/PVA (com diferentes teores de PVA: 10, 15 ou 20 %) (1,25 x 10^{-8} mol), 1500 μL de acetonitrila, 2,1 x 10^{-5} mol de fármaco (carbamazepina, primidona ou fluoxetina) e 2,45 x 10^{-3} mol de oxidante (*t*-BOOH ou H_2O_2). As reações foram realizadas na proporção molar 1:196000:1680 de catalisador: oxidante: substrato.

No final da reação, a membrana era retirada do meio e realizava-se uma diluição de acordo com o fármaco utilizado e analisado por cromatografia líquida de alta eficiência. No caso da carbamazepina: uma alíquota de reação de 50 μL era diluída em 950 μL de metanol, para o fármaco primidona: uma alíquota de 100 μL era diluída em 400 μL de metanol. No fármaco fluoxetina, não era realizado diluição, sendo analisado diretamente por CLAE.

Após ter sido retirada do meio reacional a membrana era mergulhada em diclorometano, permanecendo sob agitação por 24 h, para a extração de produtos da oxidação que poderiam permanecer retidos na sua estrutura, e esta solução também era analisada por cromatografia líquida de alta eficiência.

Foram realizadas reações “branco” utilizando uma membrana sem o catalisador de Jacobsen.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÕES

IV.1- Preparação e caracterização dos catalisadores sólidos

IV.1.1- Preparação do catalisador de Jacobsen entrapeado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica (NHG)

A síntese da alumina via rota sol-gel não hidrolítica (NHG) contendo o catalisador de Jacobsen foi feita em colaboração com o aluno Bruno L. Caetano e Profa. Dra. Kátia J. Ciuffi, da Universidade de Franca.

O processo sol gel é conhecido há mais de 150 anos e em geral envolve a formação de uma suspensão de um sólido em um líquido, seguido da remoção deste líquido e finalmente a densificação do sólido. Esta metodologia pode ser desenvolvida por duas rotas: a hidrolítica (convencional) e a não hidrolítica. A rota hidrolítica envolve a hidrólise de um precursor alcoóxido metálico tetrafuncionalizado, $M(OR)_z$, onde R é um grupo alquila ou precursores inorgânicos (sais metálicos como cloretos, nitratos, etc.), usando um catalisador ácido ou básico [Gelman et al., 1999; Piccaluga et al., 2000; Papacídero et al., 2006]. No processo hidrolítico ocorrem duas reações principais durante a transição sol-gel: hidrólise e condensação. Há ainda a possibilidade de formação de inúmeras espécies intermediárias, o que dificulta a obtenção de materiais homogêneos em nível molecular [Schottner, 2001].

No final da década de 90, Curriu e colaboradores [Cerveau et al., 1998; Corriu, 1998] relataram a síntese de óxidos inorgânicos via uma rota não-hidrolítica. O método é baseado na condensação de um haleto de metal com um doador de oxigênio como um álcool ou um éter, como por exemplo, o éter isopropílico, em condições anidras, através da clivagem da ligação O-R e formação de um haleto de alquila.

$$\text{M-Cl} + \text{M-OR} \rightarrow \text{M-O-M} + \text{R-Cl}$$

O alcoóxido é produzido *in situ* pela reação do haleto com o éter, através da formação de um aduto de Lewis, seguido da substituição nucleofílica do carbono.

O processo não hidrolítico, assim como o hidrolítico (convencional), utiliza temperaturas baixas da ordem de 100 ºC, porém apresenta a vantagem de levar à formação de materiais híbridos mais homogêneos além de ser possível, por esta metodologia, maior reprodutibilidade na obtenção dos materiais em sínteses diversas [Corriu, 1998; Hay; Raval, 1998]. Outras vantagens que podem ser citadas para este método são: i) não há necessidade do uso de solventes; ii) pode-se reduzir ou eliminar totalmente a formação de grupos metal-OH residuais; iii) possibilidade de sintetizar materiais com propriedades químicas e térmicas não obtidas pela rota hidrolítica.

Uma crescente atenção tem sido voltada nos últimos anos para a utilização do processo sol gel na preparação de catalisadores suportados. Este interesse é devido à flexibilidade deste processo, que permite o entrapeamento de catalisadores inorgânicos dentro da matriz porosa, com produção de microestruturas à baixas temperaturas, resultando em materiais híbridos com propriedades intrínsecas [Caiut et al., 2003; Gill; Ballesteros, 1998]. Este processo permite a construção de materiais que mimetizam o sítio ativo das enzimas biológicas, possibilitando a construção de catalisadores régio ou “shape”-seletivos.

O catalisador de Jacobsen foi inserido na matriz de alumina pelo processo sol-gel via rota não-hidrolítica, segundo adaptações à metodologia de Curriu Cerveau et al., 1998; Corriu, 1998], gerando um gel não hidrolítico.

A preparação deste material e o tratamento térmico (caracterização por TG, DSC e DTA) foram realizados pelo grupo da Profa. Dra. Kátia J. Ciuffi, da Universidade de Franca. As demais caracterizações foram realizadas em nosso laboratório.

Utilizou-se o haleto de alumínio e o éter diisopropílico, conforme equação 2. O gel contendo o catalisador de Jacobsen foi preparado pela reação de 1:1,5 mol de cloreto de alumínio/ éter diisopropílico, na presença do complexo salen.

$$AlCl_3 + ROR \rightarrow ROAlCl_2 + RCl \qquad \text{equação 2}$$

O cloreto de alumínio, na presença de alcoóxidos ou cloroalcoóxidos de alumínio, apresenta estiramentos das estruturas tipo μ-Cl e μ-OR, possibilitando dois tipos de reações: (a) ataque nucleofílico do cloro e eletrofílico do alumínio, e

(b) formação da ligação Al-O-Al, pelo ataque nucleofílico do cloro e eletrofílico do carbono.

O aquecimento da solução na presença do catalisador de Jacobsen leva à formação da alumina gel contendo o complexo Mn(salen) confinado em seu esqueleto (Figura 20).

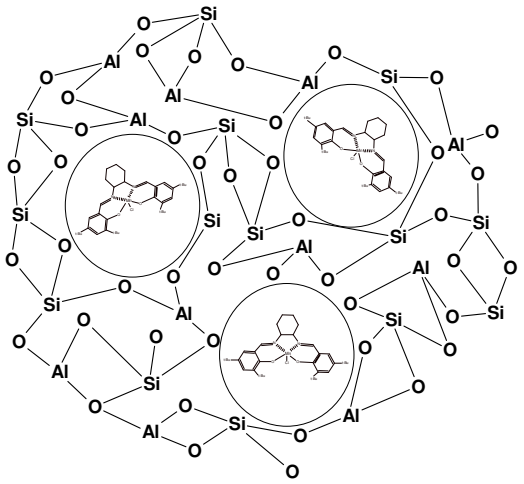


Figura 20. Esquema do catalisador de Jacobsen entrapeado na matriz de alumina pelo processo sol-gel via rota não-hidrolítica, Mn(salen)-NHG.

O refluxo é mantido após a gelação, levando à precipitação do Mn(salen)-NHG na forma de um sólido. É importante o contato do sólido com a água-mãe durante o envelhecimento do gel, pois foi observado nos experimentos anteriormente realizados pelo grupo da Profa. Dra. Kátia J. Ciuffi que tempos mais longos de envelhecimento levaram a maiores rendimentos e maior ancoragem do catalisador na matriz. Até este estágio a rede é flexível, e reações adicionais de condensação e formação de novas ligações ocorrem durante o envelhecimento no líquido mãe e durante a remoção lenta do solvente. Este estágio é de grande importância para consolidar a rede de alumina e as novas ligações formadas ajudam a conter o Mn(salen) entrapeado no interior da mesma.

O espectro de UV-Vis da água mãe após o envelhecimento revelou que não havia bandas características do catalisador de Jacobsen, indicando que 100 % de complexo ficou entrapeado no material Mn(salen)-NHG.

Após a precipitação do material sólido e remoção de solventes foi realizado um tratamento térmico do material a 110 ^{0}C. O pó amarelo resultante foi lavado com vários solventes para remover todo o catalisador de Jacobsen não entrapeado na rede formada.

IV.1.2- Caracterização do catalisador de Jacobsen entrapeado, Mn(salen)-NHG

O Mn(salen) foi entrapeado com sucesso na matriz de alumina pelo processo sol gel não hidrolítico, como pode ser observado pelo espectro UV-Vis deste material (Figura 21 a), que exibe as bandas características do complexo em 244, 328 e 442 nm (Figura 21 b). A banda em 244 nm é atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel benzênico do salicilaldeído, enquanto a banda em 328 nm é atribuída à transição $n \rightarrow \pi^*$ do cromóforo azometino e em 442 nm à transição $d \rightarrow d$ [Ortiz; Park, 2000]. A similaridade dos espectros UV-Vis em solução e entrapeado na matriz de alumina indica que a estrutura do complexo foi preservada na matriz .

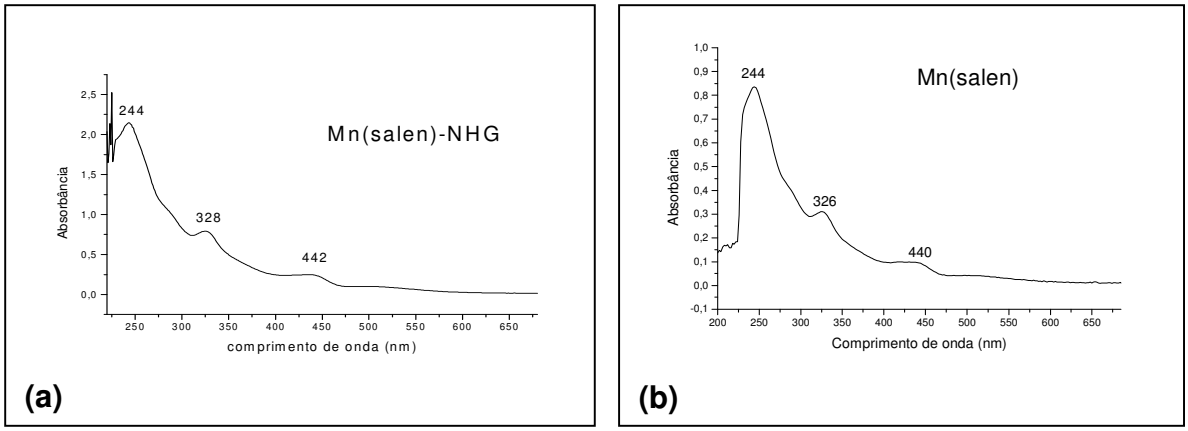


Figura 21. Espectros UV-Vis do complexo Mn(salen) (a) entrapeado na matriz de alumina sob suspensão de diclorometano; (b) em solução de diclorometano.

A análise termogravimétrica do Mn(salen)-NHG em atmosfera de nitrogênio (Figura 22 b) revelou que, entre 20 e 230 ºC ocorre a perda de moléculas de água fracamente ligadas ou adsorvidas no material, o pico endotérmico a 180 ºC na

curva de DTA corresponde a este evento. Apesar da síntese ter sido realizada em meio anidro, moléculas de água foram adsorvidas ao material após a sua síntese. Observou-se também outra perda de massa entre 230 e 600 ºC, com pico exotérmico em 400 ºC na curva de DTA, correspondente à pirólise e oxidação de grupos residuais de haletos de alquilas [Lima et al., 2001; Silva et al., 2003; Papacídero et al., 2006]. A decomposição do complexo Mn(salen) livre ou entrapeado ocorre entre 300 e 600 ºC (Figura 22 a e 22 b, respectivamente), mostrando que a estabilidade térmica do Mn(salen) não foi modificada após a incorporação na matriz de alumina.

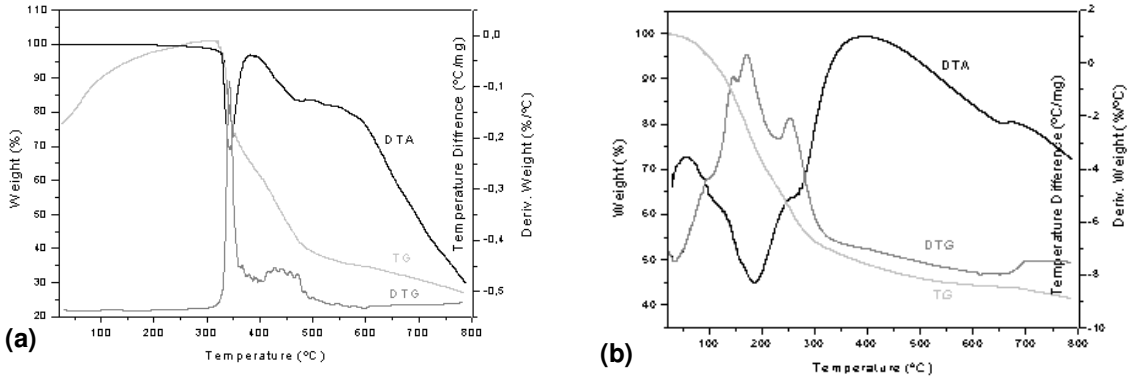


Figura 22. (a) TG-DTA-DSC do catalisador de Jacobsen sólido, Mn(salen). (b) TG-DTA-DSC do catalisador de Jacobsen entrapeado na alumina, Mn(salen)-NHG. Utilizando um gradiente de temperatura entre a temperatura ambiente (~25 ºC) até 850 ºC, com velocidade de aquecimento de 20 ºC/min, sob atmosfera de nitrogênio com o fluxo de em 100ml/min.

O padrão dos difratogramas de raios-X da alumina branca (sem catalisador) e Mn(salen)-NHG foram similares com perfis amorfos (Figura 23), indicando que o processo de imobilização não altera a estrutura do complexo no suporte. Conforme relatos da literatura, materiais de alumina não-hidrolítica são considerados amorfos quando tratados em temperaturas inferiores a 750 ºC, e a cristalização se inicia em torno de 850 ºC, devido à transição de fase para γ-alumina [Papacídero et al., 2006]. Lembrando que o tratamento térmico realizado foi à temperatura de 110 ºC, era esperado que o material Mn(salen)-NHG

apresentasse características amorfas, estando em concordância com o difratograma obtido.

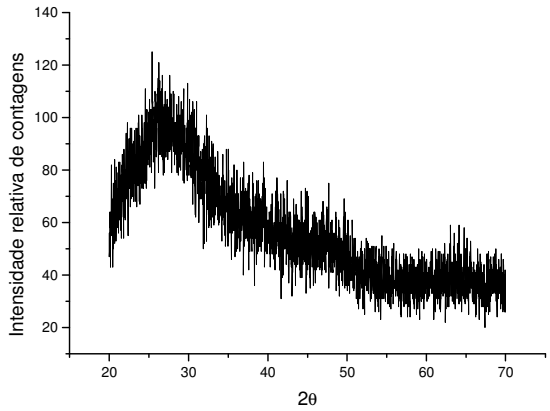


Figura 23. Difratograma de raios-X do pó do material Mn(salen)-NHG com velocidade angular de 0,02º/s e o intervalo devarredura foi de 2θ = 2 º a 70 º.

A área superficial é um importante critério para caracterização de catalisadores sólidos, pois normalmente acredita-se que a melhor eficiência catalítica esteja associada à áreas superficiais maiores, pois quanto maior a área, mais fácil o acesso do substrato ao sítio ativo.

A determinação da área superficial é usualmente feita por isotermas de adsorção e dessorção de N_2 no material, que consiste na relação entre a quantidade de gás adsorvida por unidade de massa do sólido, à temperatura constante e diferentes pressões de gás. O número de moléculas necessárias para cobrir toda a superfície do sólido determina a área superficial; considerando-se o número de moléculas e o número de camadas, pode-se obter o volume dos poros.

As isotermas de adsorção/dessorção do Mn(salen)-NHG são mostradas na Figura 24. As curvas são obtidas a partir dos valores de volume de nitrogênio adsorvido no material (em condições normais de temperatura e pressão) em função da pressão relativa P/P_0. Através dos perfis das isotermas de adsorção/dessorção podem-se obter informações sobre as propriedades dos materiais analisados.

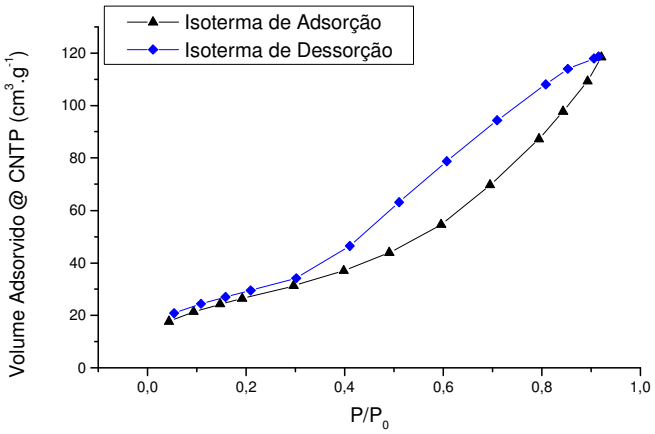


Figura 24. Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio da amostra Mn(salen)-NHG, utilizando-se nitrogênio de alta pureza como adsorbato e nitrogênio líquido como banho refrigerante (temperatura: 77 K).

O primeiro passo na análise destes resultados é a comparação das isotermas obtidas com os cinco tipos de isotermas de adsorção classificados por *S. Brunauer*, *L.S. Deming*, *W.S. Deming* e *E. Teller* [Brunauer et al, 1940]. Esta classificação recebe o nome de BDDT, e as isotermas são denominadas por tipos I, II, III, IV e V; além de um tipo VI introduzido posteriormente. Uma ilustração destes diferentes tipos de isotermas é mostrada na Figura 25 (a).

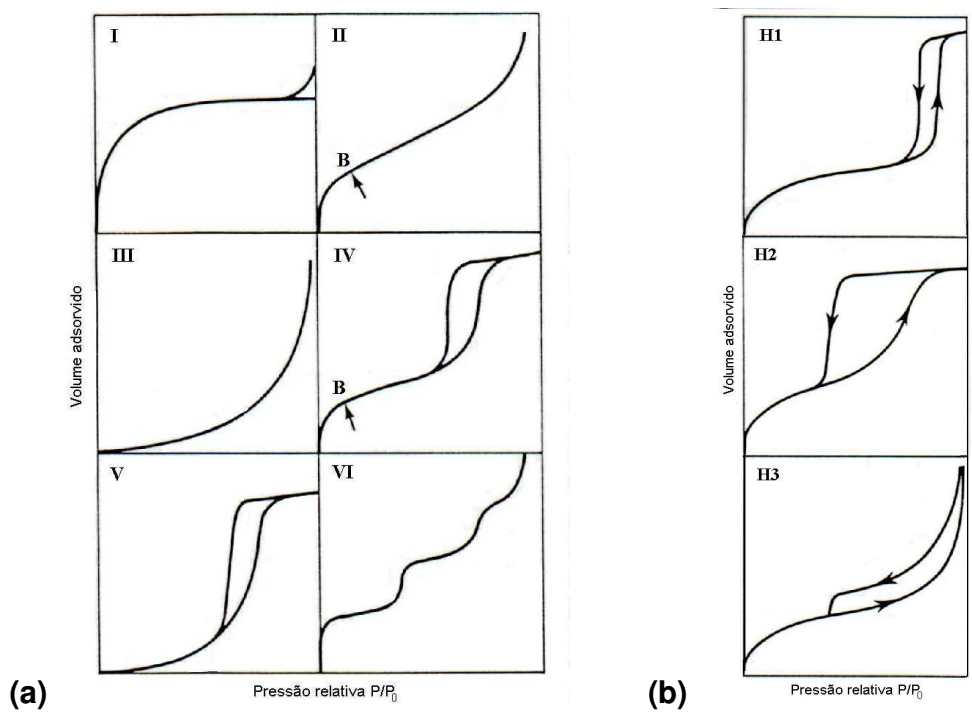


Figura 25. Tipos de isotermas de fisisorção (a) e tipos de histereses (b), segundo a classificação BDDT (*Brunauer, Deming, Deming e Teller*).

Por comparação, a isoterma observada na amostra estudada se enquadra nas isotermas do tipo II. Este tipo de isoterma é característica de materiais não-porosos, mas sob certas condições pode indicar a presença de uma relativa porosidade. Analisando-se as curvas da Figura 24, observa-se que as isotermas apresentam uma histerese no processo de adsorção/desorção. Esta histerese é indicada pela não-sobreposição das duas curvas, adsorção e desorção, e pode ser classificada como tipo H3, a qual indica a existência de mesoporos na estrutura morfológica dos materiais. No entanto, estes mesoporos estão presentes em pequena quantidade, devido ao material apresentar uma isoterma tipo II (materiais altamente mesoporosos apresentam isotermas tipo IV). Estes mesoporos levam a um processo de adsorção chamado de condensação capilar, ocorre dentro de mesoporos formados pela agregação das partículas que provoca a pequena histerese observada. Uma ilustração deste processo de agregação com a eventual formação dos poros é mostrada na Figura 26.

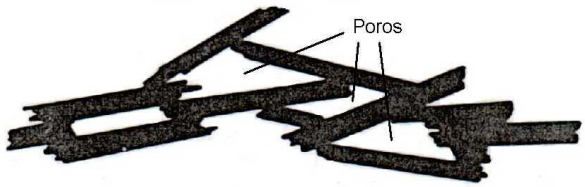


Figura 26. Ilustração do processo sugerido para a formação de mesoporos em agregados de partículas.

É bem conhecido que a introdução de catalisadores homogêneos em suportes porosos conduz à diminuição na área superficial e no volume de poro do material. Na Tabela 4 são mostrados os dados de porosidade e propriedades da superfície.

Tabela 4. Área surperficial e volume de poro da alumina (NHG) e Mn(salen)-NHG

Material	***S_{BET} (m^2 g^{-1})***	***Volume de poro (ml g^{-1})***
Alumina (NHG)	99,8	0,183
Mn(salen)	31,2	0,088

O suporte de alumina tem área superficial de 99,8 m^2 g^{-1} e volume de poro 0,183 ml g^{-1}, após a imobilização do complexo, a área surpeficial diminui para 31,2 $m^2.g^{-1}$, que está em concordância com as áreas superficiais relatadas na literatura para sistemas Co/alumina, a qual apresenta valores entre 1 a 45 $m^2.g^{-1}$ [Papacídero et al., 2006]. A diminuição do volume do mesoporo (~ 52 %) e da área superficial (~ 68 %) é mais uma indicação de que o catalisador de Jacobsen foi realmente entrapeado na matriz de alumina, resultando em poros com diâmetros menores.

IV.1.3- Imobilização do catalisador de Jacobsen por coordenação em membrana de quitosana

A quitosana é um polímero N-deacetilado derivado da quitina, conforme mostra a estrutura na Figura 27. Esta apresenta grupos amino responsáveis pelas suas principais características tais como: (a) seu comportamento catiônico em solução ácida e (b) sua afinidade por íons metálicos. A sorção de íons metálicos pode ocorrer através de mecanismos de formação de quelatos para cátions metálicos em soluções neutras, ou através de atrações eletrostáticas e troca iônica por metais aniônicos em soluções ácidas [Guibal, 2005].

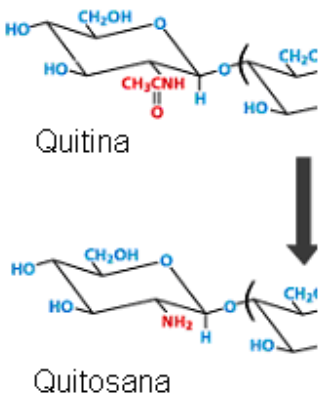


Figura 27. Reação de N-desacetilação da quitina produzindo a quitosana.

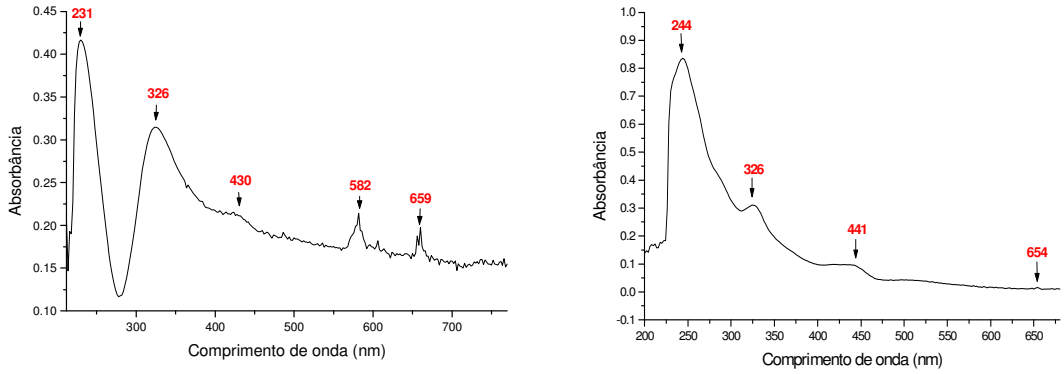
Com base no princípio de que os grupos amino podem coordenar-se a íons metálicos, o catalisador de Jacobsen foi imobilizado em membrana de quitosana por oclusão e coordenação, por mistura de uma solução do complexo na quitosana dissolvida em ácido acético. Após um período de 4 h foi realizada a filtração e o sólido foi deixado em um vidro de relógio para formar uma membrana. A determinação da quantidade de complexo no suporte, ou "loading", foi realizada indiretamente por espectroscopia UV/Vis, medindo-se a absorbância da solução de lavagem do sólido com diclorometano, em 246 nm e utilizando o valor de absortividade molar do complexo neste λ (ε = 3,88 x 10^5 L/mol.cm). O “loading” foi calculado pela diferença entre o número de mols de catalisador utilizado na

incorporação e o número de mols de catalisador presente no líquido de lavagem, correspondendo a 1,74 x 10^{-5} mol de catalisador/ g de suporte,

Após a secagem a membrana de quitosana contendo o catalisador de Jacobsen, Mn(salen)-Chit, foi caracterizada por UV/Vis, IV, TG, DTA, DSC e MEV e também o grau de desacetilação foi determinado por ^{1}H RMN.

IV.1.4 - Caracterização do catalisador de Jacobsen imobilizado em membrana de quitosana, Mn(salen)-Chit

O catalisador de Jacobsen imobilizado em membrana de quitosana foi caracterizado por espectroscopia UV-Vis colocando-se a membrana contendo o catalisador diretamente no caminho óptico, utilizando-se como branco a membrana de quitosana sem o catalisador (Figura 28 a). Obteve-se também um espectro do catalisador de Jacobsen em solução de diclorometano (Figura 28 b), para fins de comparação.



(a) (b)

Figura 28. Espectro UV-Vis (a) da membrana de quitosana contendo o catalisador de Jacobsen; (b) do catalisador de Jacobsen em DCM.

Verificou-se que o complexo ocluído na membrana apresenta absorção em 231, 326 e 430 nm (comprimentos de onda característicos do catalisador de Jacobsen), enquanto o catalisador em meio homogêneo apresenta absorções em 244, 326 e 441nm. Os deslocamentos de 13 nm (de 244 para 231 nm) e de 11 nm

(de 441 para 430 nm) das bandas do catalisador ancorado podem ser atribuídos à interação do grupo amino (NH_2) da quitosana coordenados ao sítio metálico do catalisador [Neys et al, 1999].

Os espectros de infravermelho para o catalisador ocluído na membrana de quitosana apresentam absorções na região de 4000 a 400 cm^{-1}. As principais bandas observadas e suas respectivas atribuições encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Atribuições das bandas do espectro de infravermelho da membrana contendo o catalisador de Jacobsen, em KBr

Comprimento de onda (cm^{-1})	**Atribuição**
3448-3462	estiramento axial do grupo OH sobreposta ao estiramento axial de N-H
1654-1652	deformação axial de C=O de amida
1638	vibrações C=N do catalisador de Jacobsen
1560	deformação angular de N-H
1380	deformação angular simétrica de CH_3
1424	deformação axial de C-N de amida
1320	Deformação axial de C-N de grupos amino
890-1156	bandas de estruturas sacarídicas

As bandas observadas são muito semelhantes àquelas descritas por Brugnerotto et al., [Brugnerotto et al., 2001] para polímeros de quitosana. A existência das bandas de absorção referentes à ligação C=N do catalisador de Jacobsen confirma que ocorreu a imobilização do mesmo na matriz polimérica da quitosana.

As técnicas de análise térmica fornecem informações sobre o mecanismo de decomposição e estabilidade térmica, sendo a DSC mais apropriada para investigação da transição vítrea. Entretanto, ela é fortemente dependente do teor de H_2O, enquanto a TG fornece informações a temperaturas mais elevadas. A estabilidade térmica do material preparado foi investigada através dos métodos TG (Análise Termogravimétrica), DTA (Análise Térmica Diferencial), DSC

(Calorimetria Exploratória Diferencial) no Laboratório de Análises Químicas da Professora Kátia Jorge Ciuffi, da UNIFRAN (Figuras 29 e 30).

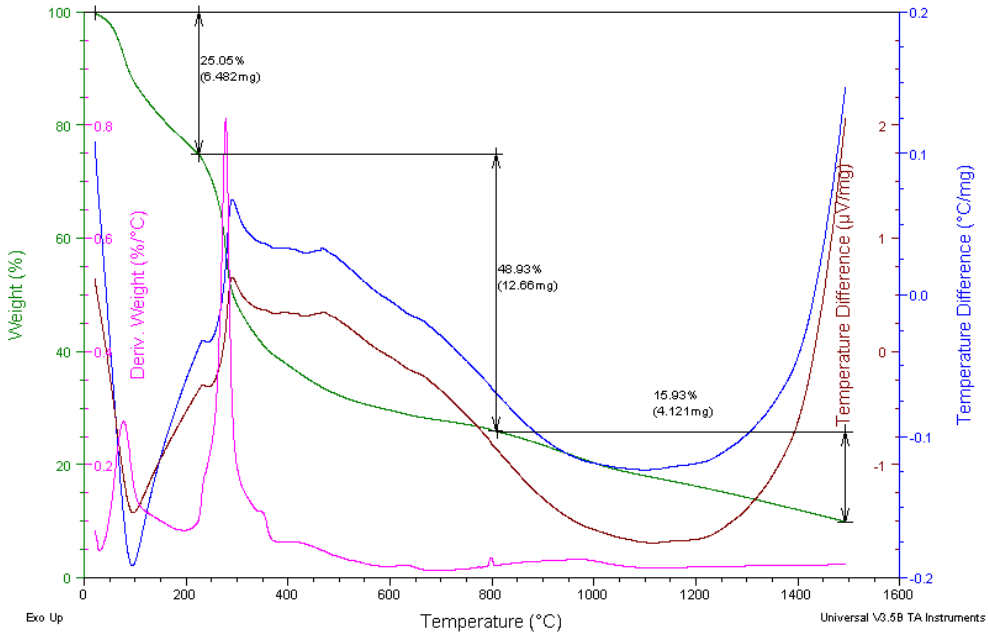


Figura 29. Análise de TG-DTA-DSC da membrana de quitosana sem o catalisador de Jacobsen (branco), utilizando um gradiente de temperatura entre a temperatura ambiente (~25 ºC) até 1500 ºC, com velocidade de aquecimento de 20 ºC/min, sob atmosfera de nitrogênio com o fluxo de em 100ml/min.

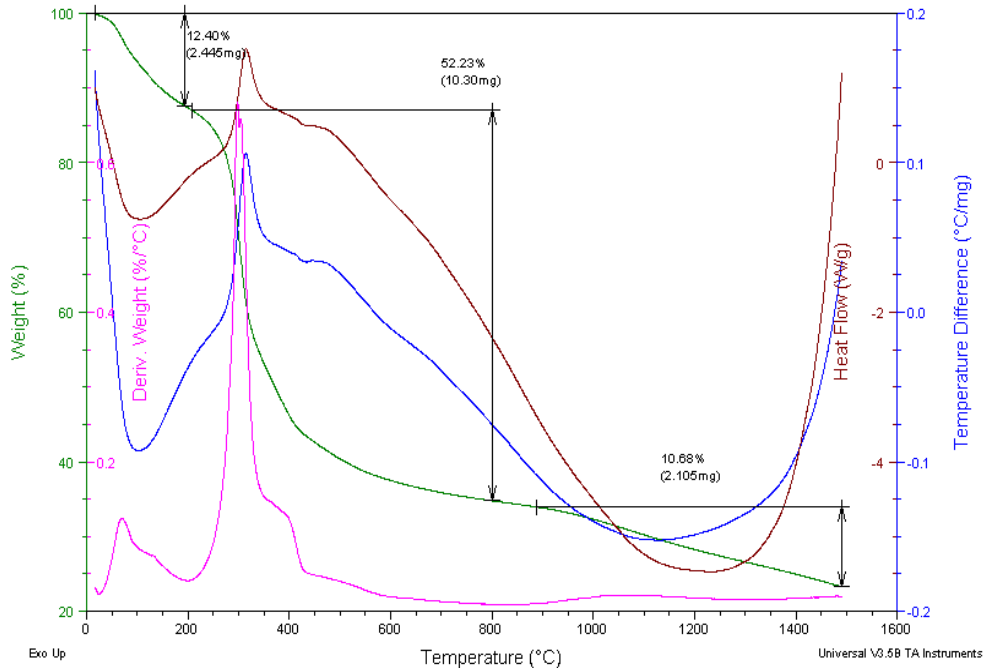
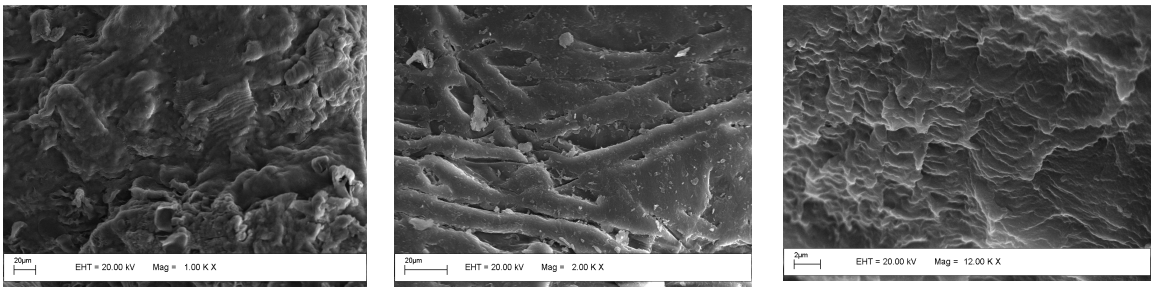


Figura 30. Análise de TG-DTA-DSC da membrana de quitosana com o catalisador de Jacobsen, utilizando um gradiente de temperatura entre a temperatura ambiente (~25 ºC) até 1500 ºC, com velocidade de aquecimento de 20 ºC/min, sob atmosfera de nitrogênio com o fluxo de em 100ml/min.

A análise termogravimétrica derivada das quitosanas em nitrogênio, tanto para a quitosana branco como na presença do catalisador, indicam três perdas de massa da ordem de 59 % ocorridas entre 25 e 370 ºC, sendo que somente a 1500 ºC completou-se a perda total de massa (99 %). A primeira perda de massa, de 20 a 190 ºC, corresponde a perda de moléculas de água fracamente ligadas no material. A análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC), revelam a presença de um pico endotérmico nesta região, confirmando esta atribuição. Na região entre 200 e 370 ºC são observadas duas perdas de massa (200 a 330 e de 340 a 370 ºC), ambas associadas a picos exotérmicos no DSC e DTA. O pico exotérmico a 320 ºC é atribuído à decomposição da quitosana, semelhante ao que foi observado por Campana Filho [Raymond et al., 1993]. É interessante notar, que na presença do catalisador, a quitosana se decompôs em temperatura maior (333 ºC) mostrando que houve um aumento na estabilidade térmica deste material por inserção do complexo. O pico

exotérmico a 493 ºC (para ambas as quitosanas, com e sem o catalisador) pode ser atribuído à decomposição de grupos orgânicos.

A Figura 31 corresponde à fotomicrografias da membrana de quitosana obtidas por MEV e mostram o caráter fibroso e não poroso do material.



(a) (b) (c)

Figura 31. Microscopia Eletrônica de Varredura da membrana de quitosana com catalisador de Jacobsen (a) com aumento de 1.000 vezes; (b) com aumento de 2.000 vezes; (c) com aumento de 12.000 vezes.

As micrografias da quitosana mostraram uma superfície regular, com estrutura organizada por agregação de cadeias individuais, através de interações por ligações de hidrogênio inter- e intramolecular na rede polimérica da quitosana [Kittur et al., 2002]. As micrografias do catalisador de Jacobsen imobilizado apresentam morfologias semelhantes à membrana de quitosana branco, indicando que o complexo foi distribuído de forma homogênea no suporte e não alterou as propriedades estruturais do mesmo.

IV.1.5 - Cálculo do grau médio de desacetilação (GD) da quitosana

O grau médio de desacetilação (GD) é uma das principais propriedades que diferencia a quitosana da quitina. O reconhecimento do GD é essencial quando se estuda a relação entre estrutura-propriedade [Brugnerotto et al., 2001].

O GD é definido como o número de grupos amino em relação aos grupos amida da cadeia polimérica, podendo ser determinado por meio de várias

técnicas, tais como, titulação condutimétrica, titulação potenciométrica, infravermelho, TG e ^{1}H RMN [Raymond et al., 1993; Brugnerotto et al., 2001; Santos et al., 2003; Niola et al., 1992]. O ideal é que esses métodos sejam simples, eficientes e rápidos. No presente caso, o grau médio de desacetilação foi obtido por ^{1}H RMN.

Segundo Silverstein [Silverstein et al., 1994], quando núcleos magnéticos, como ^{1}H e ^{13}C, são imersos em um campo magnético intenso, seus *spins* se orientam no mesmo sentido ou em um sentido contrário ao campo. Sob irradiação com ondas de radiofreqüência, o sistema absorve energia e os núcleos mudam de spin, passando do estado de energia mais baixa para o mais alto. A absorção de energia é detectada, amplificada e exibida sob forma de um espectro de ressonância magnética nuclear.

O espectro de ^{1}H RMN da quitosana é quantitativo nas análises em relação aos valores de grau médio de acetilação (GA) e grau médio de desacetilação (GD).

Como a dissolução da quitosana em meio ácido resulta em uma solução viscosa, faz-se necessário que a medida seja realizada a 70 ^{0}C. No entanto, a aquisição de dados deve ser rápida nesta temperatura, de modo a minimizar problemas causados pela hidrólise ácida [Varum et al., 2001].

Várias relações baseadas nas áreas dos picos de hidrogênio podem ser usadas para calcular o grau médio de acetilação, usando espectroscopia ^{1}H RMN. Por exemplo, podem ser usadas as seguintes relações:

i) utilizando a área do pico na região de 2 ppm, atribuído aos núcleos de hidrogênio da metila do grupo acetamido ($A_{H\text{-}Ac}$) e a área do pico 3,2 ppm, atribuído ao núcleo de hidrogênio na posição 2 do anel glicosamino, ligado ao amino ($A_{H\text{-}2}$).

Equação 3a: $$GA = \frac{A_{H-Ac}}{3A_{H-2}}$$

ii) utilizando a área do pico na região de 2 ppm, atribuído aos núcleos de hidrogênio da metila do grupo acetamido ($A_{H\text{-}Ac}$) e a soma das áreas dos

picos atribuídos ao núcleo na posição 1 do anel glicosamino, ligado ao grupo amino (A_{H-1D}) e a área do pico relativo ao núcleo na posição 1 do anel glicosamino ligado ao grupo acetoamido (A_{H-1A}).

Equação 3b: $$GA = \frac{A_{H-Ac}}{3(A_{A-1D} + A_{H-A})}$$

A primeira relação de áreas é preferida pelo fato de que as áreas relativas a núcleos dos grupos metila, presentes no grupo acetoamido, e ao núcleo na posição 2 do anel glicosamino, são relativamente livres das influências do pico DOH (δ= 3,8 ppm). A formação de DOH é decorrente do equilíbrio:

$$HCl + D_2O \rightleftharpoons DCl + DOH$$

A determinação do grau médio de acetilação da quitosana por foi feita utilizando a área do pico na região de 2 ppm do espectro de ^1H RMN, atribuído aos núcleos de hidrogênio da metila do grupo acetamido (A_{H-Ac}) e a área do pico em 3,2 ppm, atribuído ao núcleo de hidrogênio na posição 2 do anel glicosamino (A_{H-2}) (Figura 32), através da equação 3a [Signini; Campana, 1998].

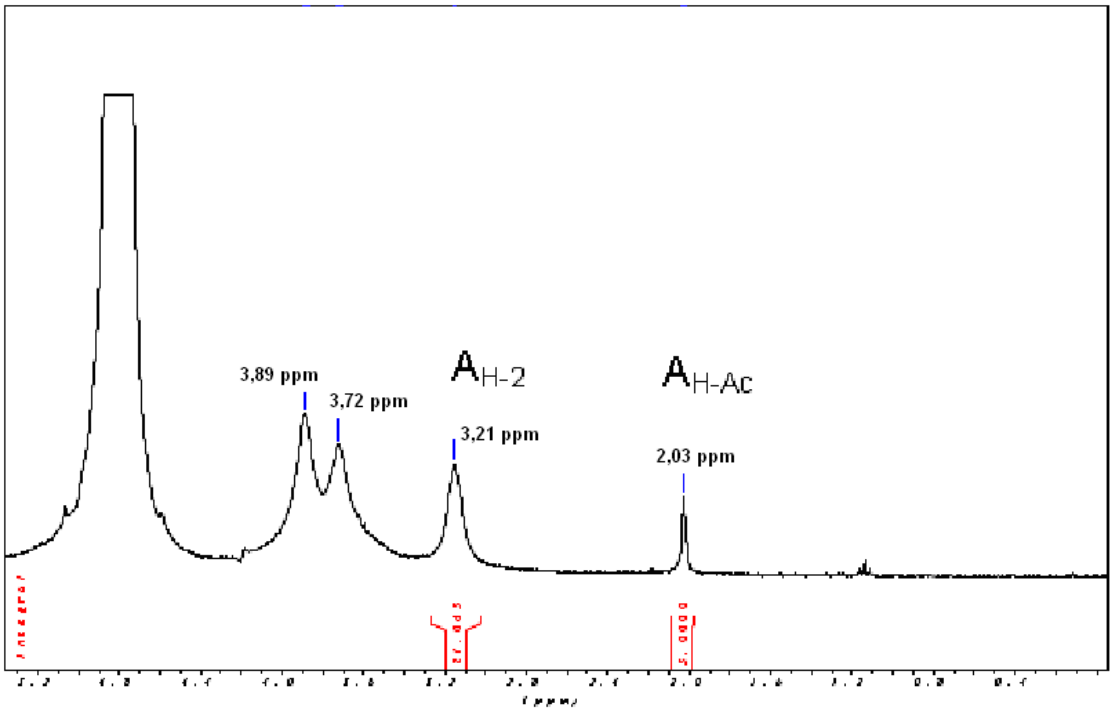


Figura 32. Espectro de ^{1}H RMN da amostra de quitosana em HCl/D_2O (1% v/v), 300 MHz.

Equação 3a :

$$GA = \frac{A_{H-Ac}}{3A_{H-2}}$$

$$GA = \frac{12,5}{262,5}$$

% GA = 4,8 %

% GD = 95,2 %

A determinação do grau médio de desacetilação GD por ^{1}H RMN é um método simples e não-destrutivo e apresenta alta especificidade devido ao pico do grupo acetamido, e apresentou concordância com valores obtidos de caracterização de quitosanas comerciais (cerca de 90 %) [Santos et al., 2003]. Os fabricantes não fornecem informações a respeito de valores de GD, logo, é importante determinar este parâmetro para prever propriedades físico-químicas da quitosana.

IV.1.6 - Preparação e caracterização do catalisador de Jacobsen ocluído em membranas poliméricas

Dentre as estratégias adotadas para a incorporação do catalisador em suportes heterogêneos, a imobilização dos complexos em membranas poliméricas pode ser considerada um grande avanço para a obtenção de catalisadores seletivos. O motivo está relacionado à possibilidade deste suporte reproduzir as propriedades hidrofóbicas da matriz protéica presentes nos sistemas enzimáticos [Parton et al.,1996].

A principal propriedade das membranas é controlar o acesso do substrato à espécie ativa, fazendo com que estes sistemas heterogenizados atuem como catalisadores altamente seletivos. Assim, a capacidade do substrato sorver na membrana e difundir entre as cadeias poliméricas para atingir o sítio catalítico depende basicamente da polaridade, forma e tamanho da molécula. [Vankelecom; Jacobs, 2000].

Em um trabalho anterior [Guedes et al., 2005B] foi investigada a atividade do catalisador de Jacobsen ocluído em uma membrana constituída por filmes de polidimetilssiloxano (PDMS), na oxidação de hidrocarbonetos por *t*-BOOH e H_2O_2, utilizando um sistema trifásico. Este sistema apresentou excelentes resultados catalíticos com o *t*-BOOH, levando a 102 h^{-1} “turnovers”/hora (TOF) na epoxidação seletiva do estireno, por exemplo. No entanto, não foi observado formação de produtos quando se utilizou H_2O_2 como oxidante, devido ao excessivo caráter hidrofóbico da membrana dificultar a sorção do oxidante polar e, conseqüentemente, impedir a interação do oxidante hidrofílico com o sítio catalítico no interior da membrana.

A busca por sistemas catalíticos mais viáveis do ponto de vista ambiental levou ao desenvolvimento de membranas poliméricas que fossem mais polares e que pudessem, assim, favorecer a sorção do peróxido de hidrogênio, um oxidante mais limpo [Marques et al., 2007]. A estratégia para obtenção destas membranas mais polares foi introduzir um outro polímero mais polar, o acetato de polivinila (PVA). Este trabalho foi desenvolvido em colaboração com o Prof. Dr. Marco A.

Schiavon e aluna Rosalva Marques, da Universidade Federal de São João Del Rei, responsáveis pela síntese e parte da caracterização das membranas PDMS/PVA.

A obtenção das membranas foi baseada na reação de condensação entre o PDMS e o tetraetoxissilano (TEOS), na presença do catalisador de Sn, gerando o PDMS reticulado, o acetato de polivinila (PVA) fica apenas entrelaçado à rede inorgânica, gerando assim a rede polimérica. O catalisador foi adicionado na etapa B (Figura 33), ficando ocluído dentro da membrana polimérica de PDMS-PVA. Foram preparadas três membranas contendo diferentes teores de PVA (10 %, 15 % e 20 %).

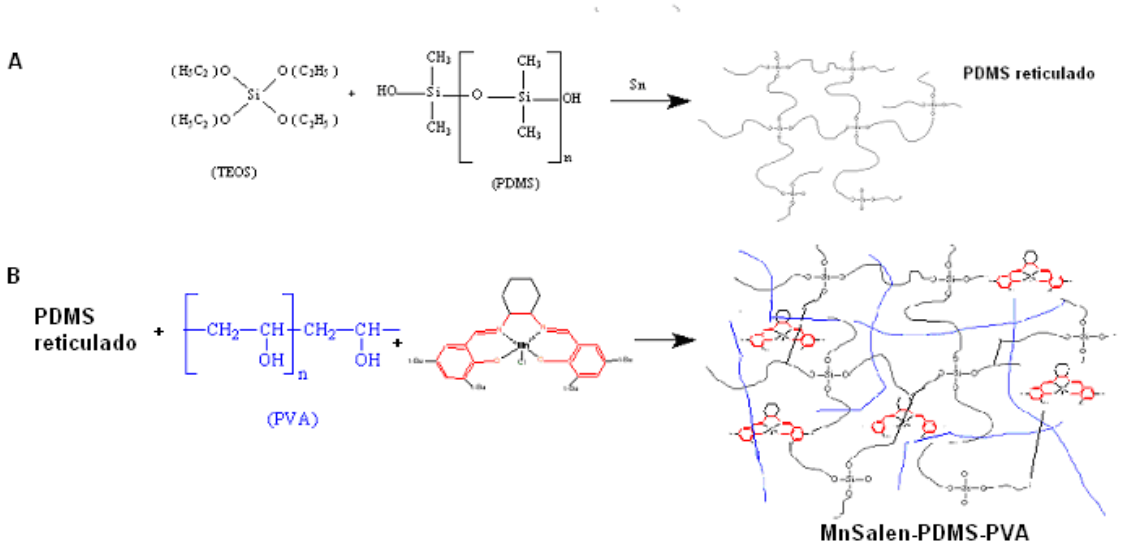
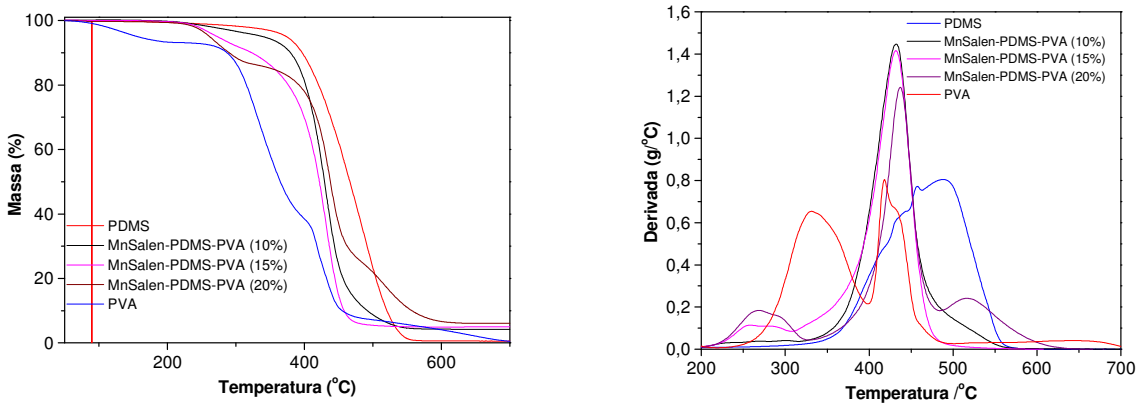


Figura 33. A) Esquema da reação de condensação entre TEOS e PDMS gerando PDMS reticulado; B) formação das membranas poliméricas de MnSalen-PDMS/PVA (linhas contínuas pretas representam as cadeias de PDMS reticuladas e linhas contínuas azuis representam as cadeias de PVA).

As curvas termogravimétricas (TG e DTG) das membranas contendo o catalisador de Jacobsen (MnSalen), em diferentes proporções de PVA, e seus precursores PDMS e PVA, são apresentadas nas Figuras 34a e 34b, respectivamente. As membranas apresentaram estabilidade térmica intermediária à dos seus constituintes puros, sendo que o perfil da curva do material contendo 10 % em massa de PVA é semelhante àquele observado para o PDMS, enquanto

que para a membrana contendo 20 % de PVA, o perfil da curva é mais próximo daquele do PVA. Além disso, os processos de perda de massa das membranas poliméricas não são coincidentes com nenhum processo de perda de massa dos componentes puros, indicando que estes se modificam, provavelmente devido à homogeneização e certo grau de compatibilização dos materiais durante a síntese. Os processos de degradação térmica do PVA e do PDMS reticulado já foram bem descritos na literatura e no caso do PVA corresponde à eliminação do ácido acético na faixa de 300-400 ºC, seguida da degradação do polieno na faixa de 400-500 ºC [Holland e Hay, 2001; Rimez et al., 2008] e o PDMS se decompõe para produzir oligômeros cíclicos através da cisão da ligação Si-O na faixa de 400-650 ºC [Camino et al., 2001]. Verificou-se que o aumento da proporção do PVA promove uma diminuição na estabilidade das membranas. O catalisador de Jacobsen se decompõe em cerca de 330 ºC, no entanto, não foi possível a visualização da decomposição do complexo, devido à quantidade de catalisador imobilizado na matriz polimérica ser muito pequena em relação a quantidade de polímero presente.



(a) **(b)**

Figura 34a. (a) Curvas das análises termogravimétricas (TG) do PDMS, PVA e das membranas poliméricas contendo o MnSalen, em diferentes concentrações de PVA; (b) curvas derivadas das análises termogravimétricas (DTG) do PDMS, PVA e das membranas poliméricas contendo o MnSalen, em diferentes concentrações de PVA (sob atmosfera de nitrogênio, 10 ºC/min).

A Figura 35 mostra o MEV da membrana polimérica MnSalen-PDMS-PVA (10 %) com os correspondentes espectros de fluorescência, obtidos por espectroscopia de raios-X de energia dispersiva, das áreas selecionadas.

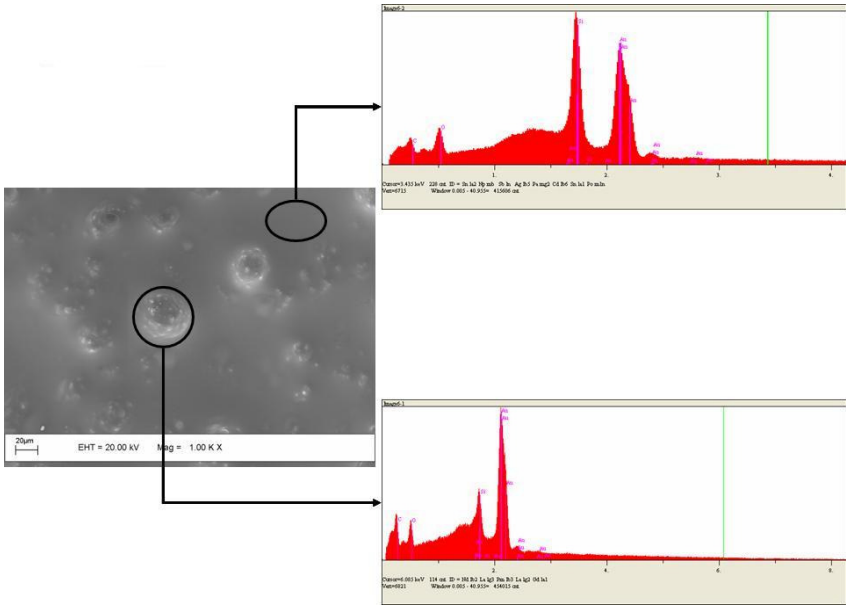


Figura 35. Micrografia da membrana polimérica MnSalen-PDMS-PVA com os correspondentes espectros de fluorescência (espectroscopia de raios-X de energia dispersiva) das áreas selecionadas com aumento de 1.000 vezes.

É possível observar que o PVA, o qual é imiscível em PDMS devido à diferença de polaridade dos dois polímeros, está uniformemente distribuído na matriz de PDMS, na forma de esferas. É possível ainda observar alguma miscibilidade entre as duas fases, próximas às regiões mais ricas de PVA, o que pode ter sido favorecido pelo método de síntese empregado. De fato, os espectros de fluorescência confirmam que a parte mais clara é mais rica nos elementos C e O, principais componentes do PVA, e a parte mais escura é mais rica no elemento Si, contendo ainda C e O, presentes na estrutura do PDMS.

IV.1.7 - Intumescimento das membranas poliméricas

A medida da capacidade de sorção dos reagentes das reações quando se utilizam catalisadores ocluídos em membranas poliméricas é fundamental, uma vez que determina a quantidade exata de substrato e oxidante que podem atingir o sítio catalítico.

A técnica utilizada neste trabalho para determinação da sorção consiste no teste de intumescimento da membrana com os compostos estudados separadamente [Vankelecom et al., 1996]. Este teste corresponde à quantidade máxima de substância que a membrana é capaz de sorver num determinado tempo, e o objetivo foi determinar e comparar a afinidade do polímero para cada um dos reagentes. Os testes foram realizados com cicloocteno, estireno, *t*-BOOH e H_2O_2, que foram utilizados como substratos ou oxidantes, avaliando-se o ganho de massa da membrana após ficar 24 h mergulhada na substância pura. Os resultados destes experimentos estão mostrados na Tabela 6.

Tabela 6. Valores de sorção obtidos no teste de intumescimento das membranas com as substâncias estudadas, após 24 h

Substância	***Membrana PDMS* (mmol/g de membrana)***	***Membrana 1 (10 % PVA) (mmol/g de membrana)***	***Membrana 2 (15 % PVA (mmol/g de membrana)***	***Membrana 3 (20 % PVA) (mmol/g de membrana)***
Estireno	6,10	8,96	6,20	5,27
Cicloocteno	4,42	13,20	10,30	8,41
t-BOOH	2,60	4,00	4,30	4,62
H_2O_2 30%	0,89	2,30	9,70	14,9

* membrana baseada em PDMS sem adição de PVA, referência [Guedes et al., 2005B]. Utilizou-se ~ 50 mg de cada membrana.

Esses dados indicam que a membrana constituída apenas de PDMS é tipicamente hidrofóbica, tendo maior afinidade para substratos apolares

(cicloocteno e estireno). Com a adição do PVA na rede de PDMS houve um aumento considerável nos valores de sorção para o H_2O_2 e, em menor proporção, para o *t*-BOOH. Contrariamente, ocorre uma diminuição do intumescimento para os substratos, portanto, quanto maior a concentração de PVA na membrana polimérica, menor o valor de sorção dos hidrocarbonetos. Estes resultados refletem-se no perfil catalítico destes sistemas (item IV.2.3).

IV.2. Estudo da atividade catalítica do Mn(salen) imobilizado na oxidação de hidrocarbonetos

IV.2.1- Mn(salen) imobilizado em matriz de alumina pela rota sol-gel não hidrolítica, Mn(salen)-NHG

A atividade catalítica do Mn(salen)-NHG foi investigada utilizando os seguintes hidrocarbonetos: cicloocteno, estireno e cicloexano e oxidantes *m*-CPBA, *t*-BOOH, H_2O_2, PhIO e $PhIAc_2$ em reações a temperatura ambiente e pressão atmosférica (Figura 36). Os resultados catalíticos são mostrados em termos de frequência de "turnovers" e rendimento em função da quantidade de oxidante.

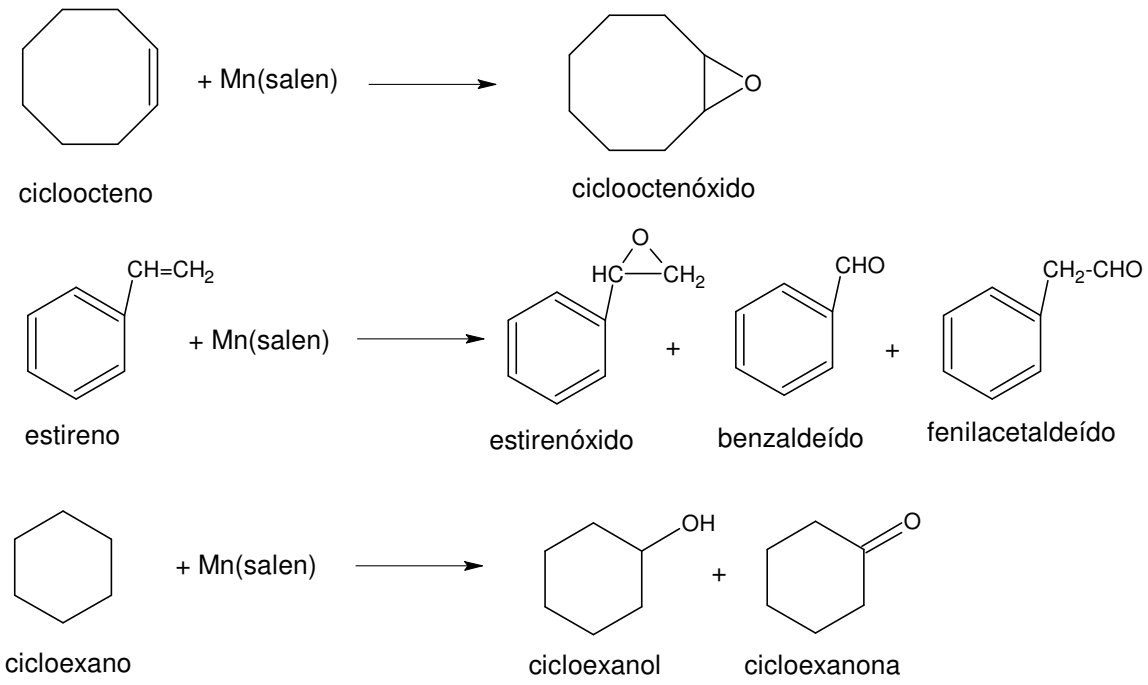


Figura 36. Reações de oxidação dos hidrocarbonetos catalisados por Mn(salen).

Os resultados das Tabelas 7 e 8 mostram que o sistema Mn(salen)-NHG é muito mais eficiente para catalisar as reações de epoxidação do cicloocteno e do estireno do que o complexo em meio homogêneo, para os oxidantes *m*-CPBA e

H_2O_2 (70 %) (reação 1, 2, 9 e 10, Tabela 7; 1, 2, 9 e 10, Tabela 8). A maior eficiência do catalisador suportado é devido ao papel do suporte em orientar o substrato para o ciclo catalítico, além de evitar a destruição do catalisador ou sua dimerização, que gera espécies inativas e ainda, prevenir a cisão homolítica da ligação O-O do peróxido, devido ao seu caráter ácido [Nam et al, 2000A].

Tabela 7. Resultados das reações de oxidação do cicloocteno por diferentes oxidantes, com o catalisador de Jacobsen entrapeado em matriz de alumina e em meio homogêneo, em meio de acetonitrila

REAÇÃO	OXIDANTE	CATALISADOR	PRODUTO	
			CICLOOCTENÓXIDO	
			TOF	Rendimento (%)
1	*m*-CPBA	Mn(salen)	35	25
2		Mn(salen)-NHG	103	79
3	*t*-BOOH	Mn(salen)	nd	Nd
4		Mn(salen)-NHG	3	2
5	PhIO	Mn(salen)	16	13
6		Mn(salen)-NHG	19	16
7	$PhIAc_2$	Mn(salen)	nd	nd
8		Mn(salen)-NHG	9	8
9	H_2O_2 70 %	Mn(salen)	29	23
10		Mn(salen)-NHG	86	70

Condições: cicloocteno (5,0 x 10^{-4} mol); oxidante (2,5 x 10^{-5} mol); catalisador de Jacobsen (2,5 x 10^{-8} mol); nd: não detectado; TOF (frequência de "turnover"): relação molar produto/[catalisador x tempo (h)]; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no oxidante; H_2O_2 30 %: não gerou produtos.

Verifica-se que o melhor oxidante para catalisar a epoxidação do cicloocteno e estireno é o *m*-CPBA tanto em solução como no sistema heterogeneizado (Tabelas 7 e 8, reações 1 e 2). Nas reações com *t*-BOOH a produção do epóxido não foi favorecida e o benzaldeído foi o principal produto na oxidação do estireno. A formação deste produto é atribuída a reações radicalares

[Silva et al., 2006]. Quando a reação é conduzida sob atmosfera de argônio o rendimento do benzaldeído é significativamente reduzido e a seletividade para estirenóxido aumenta (Tabela 8, reações 3,4 *versus* 5,6). Estes resultados evidenciam a presença de mecanismo radicalar na formação do benzaldeído.

Tabela 8. Resultados das reações de oxidação do estireno por diferentes oxidantes com o catalisador de Jacobsen entrapeado em matriz de alumina, em meio de acetonitrila

REAÇÃO	OXIDANTE	CATALISADOR	PRODUTOS					
			Benzaldeído		Estirenóxido		fenilacetaldeído	
			TOF	R (%)	TOF	R (%)	TOF	R(%)
1	*m*-CPBA	Mn(salen)	nd	nd	26	12	nd	nd
2		Mn(salen)-NHG	11	8	87	68	nd	nd
3	*t*-BOOH	Mn(salen)	21	10	nd	nd	nd	nd
4		Mn(salen)-NHG	23	11	nd	nd	nd	nd
5[a]		Mn(salen)	9	6	7	3	nd	nd
6[a]		Mn(salen)-NHG	6	4	13	6	nd	nd
7[b]	PhIO	Mn(salen)-NHG	nd	nd	22	17	23	16
8[b]	$PhIAc_2$	Mn(salen)-NHG	nd	nd	23	16	40	28
9	H_2O_2 70 %	Mn(salen)	nd	nd	9	4	nd	nd
10		Mn(salen)-NHG	nd	nd	71	55	nd	nd

Condições: estireno ($5,0 \times 10^{-4}$ mol); oxidante ($2,5 \times 10^{-5}$ mol); catalisador de Jacobsen ($2,5 \times 10^{-8}$ mol); nd: não detectado; TOF (frequência de "turnover"): relação molar produto/[catalisador x tempo (h)]; reação branco (ausência de catalisador): nd; H_2O_2 30%: não gerou produtos; [a] reação em atmosfera de argônio; [b] reações em meio homogêneo: nd.

PhIO tem sido um dos oxidantes mais utilizados nas reações de oxidação catalisados por metaloporfirinas e sistemas similares [Guedes et al., 2005A], entretanto, no sistema em estudo forneceu baixos rendimentos (da ordem de 16 %) quando comparado com o *m*-CPBA, provavelmente devido a baixa solubilidade do PhIO em acetonitrila. $PhIAc_2$ tem sido usado recentemente em substituição do PhIO [In et al., 2003; Silva et al., 2007]. Este oxidante tem a vantagem de ser solúvel em muitos solventes orgânicos, não é potencialmente explosivo, é um

reagente comercial, usado como matéria prima para produção do PhIO e é um oxidante seletivo para as reações orgânicas. Em presença de H_2O produz o PhIO *in situ* [In et al., 2003], que em seguida reage com o catalisador levando a epoxidação de alcenos. Entretanto, a geração do PhIO *in situ* é lenta e depende da presença de H_2O no meio [Li e Xia, 2004]. Observa-se na Tabela 8 a formação de maior quantidade de fenilacetaldeído na reação utilizando PhIO e $PhIAc_2$ (Tabela 8, reação 7 e 8). Reações controle usando estirenóxido como substrato, nas mesmas condições, mostraram que o fenilacetaldeído não é gerado a partir de rearranjos deste substrato, indicando que a formação de óxido de estireno compete com a formação de fenilacetaldeído. Uma interpretação proposta por Groves et al [Groves e Myers, 1983] para ferroporfirinas é uma transição assimétrica, como mostrada na Figura 37, que gera o epóxido (caminho a) ou, por rearranjo, o fenilacetaldeído (caminho b). A formação do fenilacetaldeído está relacionada com a reatividade do intermediário de modo que, quanto menor a reatividade maior é o tempo de vida e, conseqüentemente, maiores são as chances de que ocorra o rearranjo do hidrogênio, levando à formação do fenilacetaldeído (Figura 37, caminho b). Assim, devido à baixa solubilidade do PhIO no meio de reação e a lenta geração do PhIO *in situ* no caso do $PhIAc_2$, a reação é lenta o suficiente para que ocorra o rearranjo do intermediário, gerando rendimentos da ordem de 16 e 28 % para o fenilacetaldeído, respectivamente para PhIO e $PhIAc_2$ (Tabela 8, reação 7 e 8).

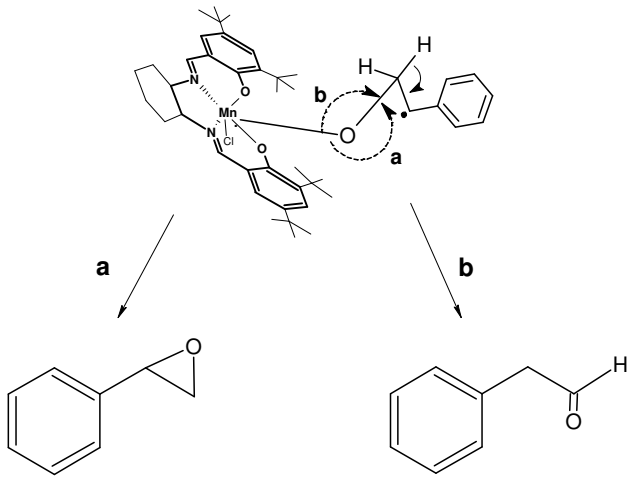


Figura 37. Intermediário manganês salen transferindo o oxigênio para o estireno [adaptado de Groves e Myers, 1983].

Solução aquosa 30 % de H_2O_2 não é capaz de epoxidar alcenos nestas condições. Entretanto, quando se utiliza H_2O_2 70 %, o material Mn(salen)-NHG é eficiente na reação de oxidação do cicloocteno e estireno (rendimentos de 70 % e 55 %, respectivamente, Tabelas 7 e 8, reação 10). Provavelmente a maior quantidade de água no peróxido 30 % bloqueia os poros da matriz, dificultando o acesso da olefina ao sítio ativo do catalisador e subseqüente difusão dos produtos formados [Rinaldi e Schuchardt, 2004; Caiut et al., 2003].

A oxidação do cicloexano é um importante processo para a produção de fibras poliamidas e plásticos, sendo necessária uma produção anual de quantidades superiores a 10^6 toneladas de cicloexanona e cicloexanol [Dapurkar et al., 2004; Berezin et al., 1968].

Os resultados catalíticos utilizando o catalisador de Jacobsen entrapeado em alumina, Mn(salen)-NHG, e em meio homogêneo na oxidação do cicloexano por *m*-CPBA, PhIO, $PhIAc_2$, *t*-BOOH e H_2O_2 70 % estão mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados das reações de oxidação do cicloexano por diferentes oxidantes, com o Mn(salen)-NHG em meio de acetonitrila

REAÇÃO	OXIDANTE	CATALISADOR	PRODUTOS			
			Cicloexanona		Cicloexanol	
			TOF	R (%)	TOF	R (%)
1	*m*-CPBA	Mn(salen)	5	4	11	9
2		Mn(salen)-NHG	210	70	5	4
3	*t*-BOOH	Mn(salen)	6	2	6	5
4		Mn(salen)-NHG	59	46	3	2
5[a]	PhIO	Mn(salen)-NHG	56	44	11	9
6[a]	$PhIAc_2$	Mn(salen)-NHG	52	41	6	5
7	H_2O_2 70%	Mn(salen)	5	4	7	6
8		Mn(salen)-NHG	19	15	7	6

Condições: cicloexano (5,0 x 10^{-4} mol); oxidante (2,5 x 10^{-5} mol); catalisador de Jacobsen (2,5 x 10^{-8} mol); nd: não detectado; TOF (frequência de "turnover"): relação molar produto/[catalisador x tempo (h)]; reação branco (ausência de catalisador): nd; H_2O_2 30%: não gerou produtos; [a] reações com Mn(salen) em solução usando PhIO e $PhIAc_2$ não geraram produtos.

Mn(salen)-NHG é muito eficiente para catalisar a oxidação do cicloexano do que o complexo em meio homogêneo (Tabela 9) para todos os oxidantes estudados. Além disso, Mn(salen)-NHG é altamente seletivo para cicloexanona (cerca de 95 %, reação 2 e 4, Tabela 9), o que é desejável tendo em vista que a cicloexanona é um intermediário para a produção de ácido adípico [Zhou et al., 2005; Costas et al., 2000]. A seletividade para a cetona pode ser explicada pela oxidação adicional do cicloexanol nas condições de reação. Esta hipótese foi confirmada monitorando a reação em pequenos intervalos de tempo. Durante os primeiros 90 min de reação o cicloexanol era o principal produto formado. Após 2 h a razão álcool/cetona diminuiu, indicando a conversão de cicloexanol para cicloexanona (Figura 38). Além disso, foi realizada uma reação controle utilizando o cicloexanol como substrato, para avaliar se a cetona pode ser gerada nestas condições. Observou-se a produção de 85 % de cetona, confirmando que a cicloexanona é formada a partir do álcool.

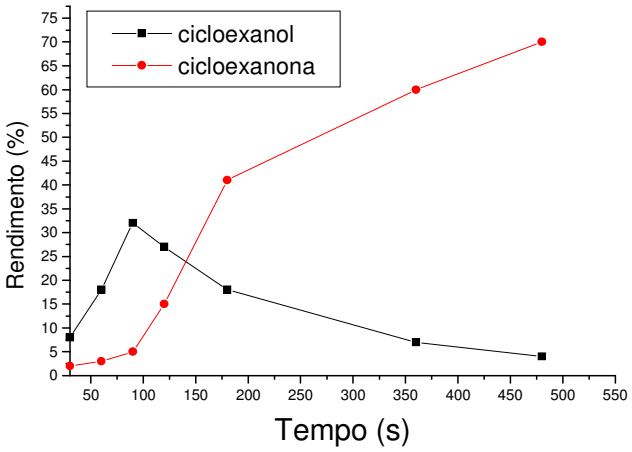


Figura 38. Rendimentos (expressos em porcentagem) de cicloexanol e cicloexanona em função do tempo da reação de oxidação do cicloexano catalisada por Mn(salen)-NHG, em meio de acetonitrila, 25 ºC.

Quando em solução o complexo Mn(salen) produz a mistura de cicloexanol e cicloexanona, na razão de aproximadamente 2,5, usando peróxidos (*t*-BOOH, H_2O_2 70 % e *m*-CPBA) como oxidantes. Quando os mesmos experimentos foram realizados sob atmosfera de argônio o rendimento de cicloexanona foi significativamente reduzido e a razão álcool/cetona foi aumentada para 4,3.

Tem sido relatado na literatura que a espécie oxo-manganês (V) é o intermediário reativo para a oxidação de alcanos catalisado por complexos salen e periodato de sódio como oxidante [Bahramian et al, 2005]. O mecanismo de hidroxilação catalisado por complexos salen pode ser comparado ao mecanismo "rebound" para metaloporfirinas. Neste mecanismo, o intermediário de alta valência $Mn^{V}(O)$ abstrai um átomo de hidrogênio do alcano, gerando um radical de vida curta e o complexo $Mn^{IV}(OH)$ na gaiola ("cage") do solvente. O intermediário $Mn^{IV}(OH)$ rapidamente transfere o grupo hidróxi para o radical e, conseqüentemente, ocorre a formação do álcool [Vinhado et al, 2005; Nunes et al., 2005; Groves e Adhyam, 1984]. A produção de cetona pode ser explicada pelo escape do radical alquila do "cage", o qual reage com o O_2 para produzir radical peroxil, levando a reações radicalares em cadeia.

Para investigar a possibilidade de reciclagem, o catalisador imobilizado na alumina foi separado da mistura de reação por filtração, lavado com diclorometano, seco a temperatura ambiente e utilizado em uma nova reação nas mesmas condições. Os resultados obtidos demonstraram a alta capacidade de reutilização do sistema Mn(salen)-NHG, sendo o mesmo suporte utilizado cinco vezes para a oxidação do cicloexano, cicloocteno e estireno usando *m*-CPBA como oxidante (Figura 39), sem perda de atividade catalítica em relação à primeira reação do material.

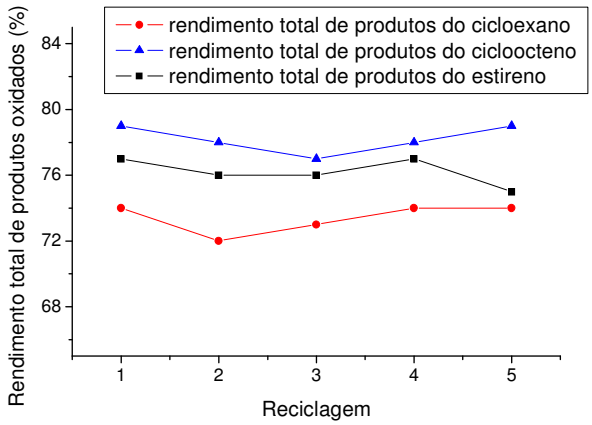
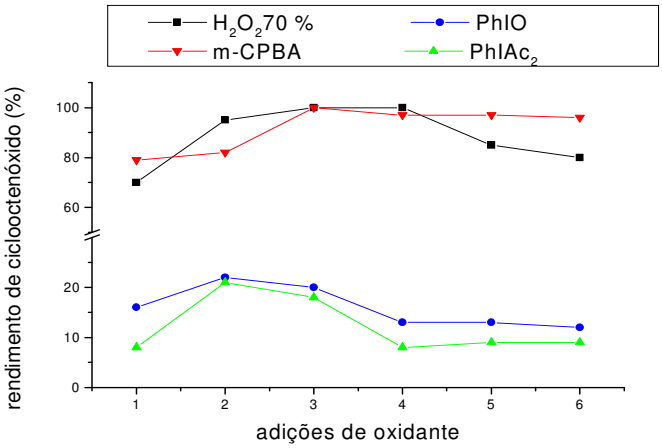
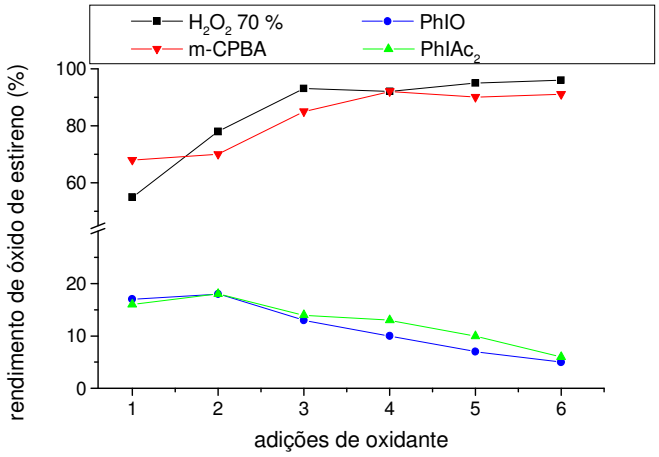


Figura 39. Reciclagem do suporte Mn(salen)-NHG na oxidação de cicloexano, cicloocteno e estireno, por *m*-CPBA, em meio de acetonitrila.

Para se investigar a estabilidade do catalisador Mn(salen)-NHG foram feitas reações de oxidação do cicloocteno e estireno com seis adições sucessivas de oxidante (PhIO, $PhIAc_2$, *m*-CPBA, H_2O_2 70 %), nas quais, após 24 h de reação, adicionava-se a mesma quantidade de oxidante da reação inicial (relação catalisador:oxidante 1:1000). A Figura 40 mostra os gráficos de desempenho destas reações para todos os oxidantes estudados.



(a)



(b)

Figura 40. Rendimentos das reações de epoxidação do cicloocteno (a) e estireno (b), com adições sucessivas de oxidante a cada 24 h, em meio de acetonitrila.

Peróxido de hidrogênio 70 % e *m*-CPBA foram os melhores oxidantes para as reações sucessivas. Verificou-se que após 144 h, ou seja, seis adições sucessivas de oxidante, o catalisador permanece estável, com rendimentos reprodutíveis de 96 % para ciclooctenóxido (TOF total 733) e 91 % de estirenóxido (TOF total 714) nas reações com *m*-CPBA por exemplo.

Foi observado que os rendimentos de epóxido diminuem após a terceira adição de PhIO e $PhIAc_2$. Estes resultados podem ser explicados pela desativação

dos sítios catalíticos do Mn(salen)-NHG devido à precipitação de iodoxibenzeno formado pela reação de desproporcionamento de iodosilbenzeno na superfície do catalisador [Assis e Smith, 1998].

$$PhIO + Mn^{III}(salen) \rightarrow PhI + O{=}Mn^{V}(salen) \xrightarrow{PhIO} PhIO_2 + Mn^{III}(salen)$$

Após a sexta adição de oxidante (PhIO e $PhIAc_2$) o Mn(salen)-NHG foi recuperado por filtração, lavado com diclorometano, seco e reutilizado com nova carga de substrato e oxidante. Este tratamento restaurou a atividade do catalisador, conduzindo a resultados similares aos obtidos na primeira reação do catalisador suportado, comprovando a hipótese acima.

IV.2.2 – Mn(salen) imobilizado na membrana de quitosana, Mn(salen)-Chit

A eficiência do catalisador imobilizado em membrana de quitosana foi avaliada pela oxidação dos substratos estireno e cicloocteno, em dois tipos de sistemas: sistema heterogêneo bifásico convencional e um sistema trifásico, onde a membrana catalítica de quitosana age como uma barreira entre duas fases imiscíveis, como oxidante na fase aquosa de um lado e o substrato (fase orgânica) do outro lado da membrana (Figura 41). Neste estudo, utilizou-se *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 como oxidantes. Os resultados são mostrados nas Tabelas 10 e 11.

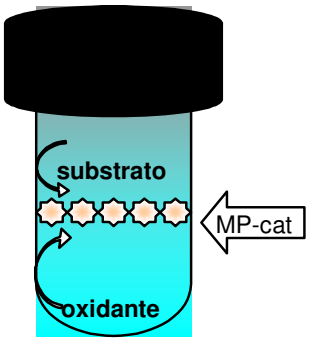


Figura 41. Sistema catalítico trifásico.

Tabela 10. Freqüência de "turnovers", TOF, das reações de oxidação do cicloocteno catalisados por Mn(salen)-Chit após 6 h.

REAÇÃO	OXIDANTE	MEIO DE REAÇÃO	PRODUTO	
			CICLOOCTENÓXIDO	
			TOF	Rendimento* (%)
1	*m*-CPBA	trifásico	160	39
2		acetonitrila	114	28
3	*t*-BOOH	trifásico	13	3
4		acetonitrila	13	3

Condições: Cicloocteno (7,8 x 10^{-4} mol); oxidante (6,5 x 10^{-4} mol); catalisador de Jacobsen (3,48 x 10^{-7} mol); TOF: relação molar produto/[catalisador x tempo (h)]; tempo de reação: 6 h; oxidante H_2O_2 não gerou produtos, * rendimento baseado no oxidante.

Tabela 11. Freqüência de "turnovers", TOF, das reações de oxidação do estireno por Mn(salen)-Chit após 6 h.

REAÇÃO	OXIDANTE	MEIO DE REAÇÃO	PRODUTO					
			Benzaldeído		Estirenóxido		fenilacetaldeído	
			TOF	R (%)	TOF	R (%)	TOF	R(%)
1	*m*-CPBA	trifásico	nd	nd	65	16	37	9
2		acetonitrila	nd	nd	49	12	nd	nd
3	*t*-BOOH	trifásico	12	3	35	9	nd	nd
4		acetonitrila	10	2	51	12	nd	nd

Condições: Estireno (7,8 x 10^{-4} mol); oxidante (6,5 x 10^{-4} mol); catalisador de Jacobsen (3,48 x10^{-7} mol); TOF: relação molar produto/[catalisador x tempo (h)]; tempo de reação: 6 h; oxidante H_2O_2 não gerou produtos.

Como pode ser observado nas Tabelas 10 e 11, o sistema trifásico mostrou-se eficiente e seletivo para catalisar a epoxidação dos hidrocarbonetos com ambos oxidantes *m*-CPBA e *t*-BOOH. Os relativamente baixos valores de rendimentos para o catalisador Mn(salen)-Chit são devido às limitações naturais de sistemas heterogêneos, tais como a lenta difusão dos reagentes para o sítio catalítico. Apesar destas limitações, a membrana de quitosana atuou como um

catalisador de reação na interface entre as duas fases imiscíveis, eliminando a necessidade de agentes transferidores de fase.

Pode ser verificado que o melhor oxidante para epoxidação catalisada do cicloocteno e do estireno é o *m*-CPBA, tanto para a reação em meio de acetonitrila quanto para os sistemas trifásicos (Tabelas 10 e 11). Observou-se a formação seletiva de ciclooctenóxido, indicando que a reação ocorre via formação da espécie Mn^{V}(O)salen, originada da clivagem heterolítica do peróxido.

Para o estireno observou-se, além do epóxido (produto principal), a formação do fenilacetaldeído, proveniente do rearranjo do intermediário discutido anteriormente. Nas reações utilizando o *t*-BOOH foram produzidos epóxido e benzaldeído, sendo este o produto secundário da reação (Tabela 11). A formação de benzaldeído é atribuída à reações radicalares, uma vez que alquil-hidroperóxidos tendem a sofrer clivagem homolítica da ligação O-O, com a formação de um intermediário de baixa reatividade, Mn^{IV}(OH)salen, e radicais $RO^{\bullet}$, os quais iniciam reações radicalares que têm continuidade pela presença de oxigênio na solução, resultando no benzaldeído [Silva et al., 2006]. Reações realizadas em atmosfera de argônio levaram à diminuição dos rendimentos de benzaldeído, de TOF 10 para TOF 2, confirmando a participação de mecanismo radicalar na presença de O_2.

O Mn(salen)-Chit não é capaz de catalisar a oxidação do cicloocteno e do estireno com H_2O_2. Provavelmente a água da solução do oxidante forma uma camada na superfície do suporte que impede a aproximação da olefina, apolar, ao sítio ativo do catalisador [Rinaldi et al, 2004].

IV.2.3- Mn(salen) imobilizado em membranas poliméricas PDMS/PVA

Também nos estudos com o catalisador de Jacobsen ocluído nas membranas de PDMS/PVA empregou-se a estratégia do sistema trifásico, eliminando a necessidade de solventes ou agentes de transferência de fases (Figura 41). Esta estratégia, associada às propriedades de sorção do polímero, podem influenciar drasticamente os resultados catalíticos [Vankelecom et al., 1996].

Um mini-reator também foi utilizado como sistema trifásico, com separação do substrato (cicloocteno) e do oxidante (*t*-BOOH ou H_2O_2 30 %) pela membrana na junção dos dois compartimentos do mini-reator (Figura 42).

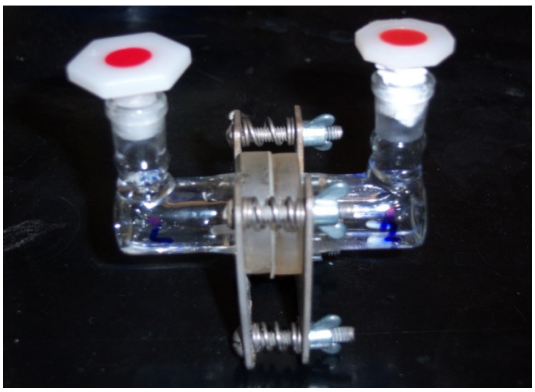


Figura 42. Mini-reator

Nas Tabelas 12 e 13 estão apresentados os resultados catalíticos utilizando o sistema trifásico e o mini-reator. Os produtos de oxidação foram encontrados em ambas as fases no sistema trifásico, porém, estavam presentes em maior concentração na fase orgânica. Já no mini-reator os produtos estavam presentes apenas no compartimento da fase orgânica.

Tabela 12. Resultados catalíticos (em freqüência de "turnovers", TOF) das reações de oxidação de estireno por H_2O_2 30 % e *t*-BOOH, utilizando as membranas poliméricas contendo o catalisador de Jacobsen

Reação	Catalisador	Oxidante	Estirenóxido	Benzaldeído	Fenilacetaldeído	TOF total
1	Membrana 1	H_2O_2	21	79	nd	100
2	Membrana 1	*t*-BOOH	115	27	5	147
3	Membrana 2	H_2O_2	29	76	7	112
4	Membrana 2	*t*-BOOH	87	38	4	129
5	Membrana 3	H_2O_2	43	68	27	138
6	Membrana 3	*t*-BOOH	79	35	2	116
7	Membrana*	H_2O_2	nd	nd	nd	nd
8	Membrana*	*t*-BOOH	102	7	nd	109

Condições: estireno (5,8 x 10^{-3} mol); oxidante (2,45 x 10^{-3} mol); catalisador de Jacobsen (1,25 x 10^{-8} mol); nd: não detectado; reação branco (membrana sem o catalisador): nd; membrana **1**: 10 % PVA; membrana **2**: 15 % PVA; membrana **3**: 20 % PVA; * membrana baseada em PDMS sem adição de PVA [Guedes et al., 2005B].

Tabela 13. Resultados catalíticos (em freqüência de "turnovers", TOF) das reações de oxidação de cicloocteno por H_2O_2 30 % e *t*-BOOH, utilizando as membranas poliméricas contendo o catalisador de Jacobsen

Reação	Catalisador	Oxidante	TOF Ciclooctenóxido no sistema trifásico convencional	TOF Ciclooctenóxido no mini-reator
1	Membrana 1	H_2O_2	46	8
2	Membrana 1	*t*-BOOH	72	45
3	Membrana 2	H_2O_2	59	9
4	Membrana 2	*t*-BOOH	71	41
5	Membrana 3	H_2O_2	80	12
6	Membrana 3	*t*-BOOH	69	39
7	Membrana *	H_2O_2	nd	NR
8	Membrana *	*t*-BOOH	12	NR

Condições: sistema trifásico: cicloocteno (5,8 x 10^{-3} mol); oxidante (2,45 x 10^{-3} mol); catalisador de Jacobsen (1,25 x 10^{-8} mol); mini-reator: cicloocteno (2,0 x 10^{-2} mol); oxidante (9,7 x 10^{-3} mol); catalisador de Jacobsen (1 x 10^{-7} mol); nd: não detectado; NR: não realizado, a membrana não é resistente no mini-reator, ocorre ruptura da mesma; reação branco (membrana sem o catalisador): nd; membrana **1**: 10 % PVA; membrana **2**: 15 % PVA; membrana **3**: 20 % PVA; * membrana baseada em PDMS sem adição de PVA [Guedes et al., 2005B].

Os resultados das Tabelas 12 e 13 mostram a vantagem de se inserir o polímero polar PVA na membrana de PDMS, pois sistemas anteriores utilizando apenas membrana de PDMS não foram capazes de promover a oxidação destes substratos por peróxido de hidrogênio, devido à incapacidade da membrana em sorver este oxidante polar. Além disso, os resultados com *t*-BOOH utilizando a membrana PDMS foram inferiores quando comparados com as membranas mais polares (inserção de PVA).

Os resultados também demonstram que a eficiência catalítica destes sistemas depende da polaridade da membrana na qual o catalisador se encontra ocluído. Assim, a freqüência de "turnovers" é essencialmente controlada pelas propriedades de sorção da matriz polimérica. O *t*-BOOH tem caráter hidrofóbico, e sua sorção é favorecida na membrana 1, a qual contém menor quantidade do polímero mais polar (PVA). Como resultado, a eficiência catalítica deste sistema é maior para este oxidante quando comparado com o H_2O_2, mais polar. Por outro lado, usando-se a membrana 3, que contém maior proporção de PVA (polímero polar) verificou-se a maior eficiência catalítica para o oxidante H_2O_2.

O peróxido de hidrogênio apresenta diversas vantagens como oxidante, como baixo custo e gerar água como único subproduto da reação, além da maior disponibilidade comparado ao *t*-BOOH. Por estes motivos, o peróxido de hidrogênio é considerado um oxidante limpo e de grande potencial de aplicação em reações de oxidação catalisadas por metaloporfirinas e complexos salen. Assim, os altos valores de freqüência de "turnovers" atingidos utilizando a membrana 3, TOF 138 h^{-1} e TOF 80 h^{-1}, para os substratos estireno e cicloocteno, respectivamente, são considerados excelentes resultados catalíticos.

As reações de oxidação do cicloocteno forneceram o ciclooctenóxido como único produto. A oxidação do estireno conduziu à formação do estirenóxido como maior produto nas reações com o *t*-BOOH. Contrariamente, o H_2O_2 levou à maior seletividade para o benzaldeído, sugerindo a contribuição de mecanismos radicalares.

Observou-se na Tabela 12 a formação de pequena quantidade de fenilacetaldeído na oxidação do estireno. Sua formação está relacionada à

reatividade das espécies intermediárias, como discutido anteriormente, com maior probabilidade de ocorrer rearranjo no sistema ocluído, conduzindo à formação do fenilacetaldeído, que compete com a formação do estirenóxido [Guedes et al., 2006].

O mini-reator apresentou menores freqüências de “turnovers” quando comparado ao sistema trifásico da Figura 41 (Tabela 13). No entanto, apesar dos menores valores de TOF, este sistema isola totalmente a fase orgânica da fase aquosa, indicando que a reação ocorre realmente no sítio catalítico no interior da matriz polimérica, a qual é capaz de sorver o substrato e o oxidante e difundi-los em direção ao sítio catalítico. Além disso, os produtos são encontrados apenas na fase orgânica, o que favorece o processo de separação, sendo esta uma etapa de grande importância na produção industrial.

IV.3- Atividade Catalítica do catalisador de Jacobsen na oxidação de fármacos

IV.3.A- Carbamazepina

IV.3.A.1- Otimização do processo de extração para o catalisador de Jacobsen e para as metaloporfirinas

Para que fosse possível a análise dos produtos da oxidação da carbamazepina, nas reações com metaloporfirinas e catalisador de Jacobsen, foi necessário encontrar um método de extração desses compostos do meio reacional. A extração dos produtos é uma etapa de grande importância, pois evita que a metaloporfirina ou complexo salen seja injetado na coluna de separação, juntamente com os produtos da oxidação, pois estes compostos podem adsorver irreversivelmente na fase estacionária, podendo levar à sua degradação (C-18), visto que estes complexos podem agir como catalisadores para a oxidação de alcanos.

O método de extração utilizado foi uma modificação do método descrito por Maurin et al. [Maurin et al., 2003], considerando as diferentes solubilidades da carbamazepina, metabólitos e metaloporfirinas ou complexo salen em solventes orgânicos apolares. A carbamazepina e seus metabólitos são solúveis em água e solventes orgânicos altamente polares, como MeOH e ACN, e insolúveis em solventes como DCM, DCE e hexano. Já o catalisador de Jacobsen e as metaloporfirinas são solúveis solventes apolares, sendo que o catalisador de Jacobsen é mais solúvel em hexano do que as metaloporfirinas. No caso das metaloporfirinas é necessário utilizar a mistura com maior teor de água, assim a metaloporfirina é facilmente removida da solução contendo os analitos por extração líquido-líquido.

Considerando essas diferenças de solubilidade, o catalisador de Jacobsen e as metaloporfirinas foram extraídas da mistura de reação por adição de hexano, seguida da adição de uma solução de tampão fosfato, MeOH e ACN nas

proporções 60/17/23 (v/v/v) para o complexo salen e 80/20/0 (v/v/v) para as metaloporfirinas. Formam-se duas fases, a fase orgânica apolar (hexano) e a fase cujo constituinte principal é a água. Os complexos metaloporfirina e salen permanecem na fase orgânica apolar e os analitos na fase polar.

Para verificar a eficiência do método de extração e, conseqüentemente, do método de análise, foi preparada uma solução de concentração conhecida de carbamazepina e injetou-se no CLAE após o processo de extração. A carbamazepina apresentou recuperações próximas a 100 % atestando a eficiência deste método de extração.

IV.3.A.2- Padronização das condições cromatógraficas (CLAE-UV), para análise da carbamazepina e seus produtos de oxidação

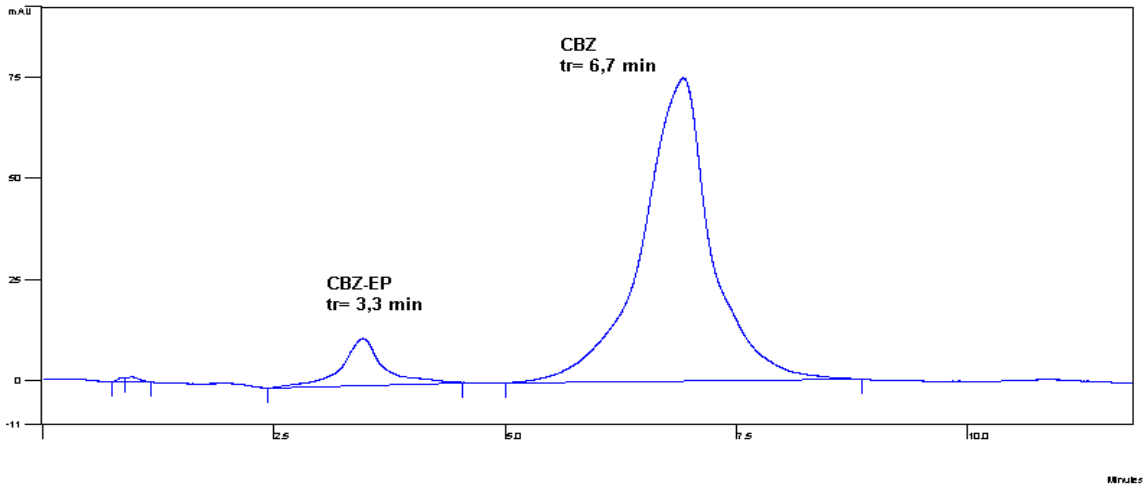
A cromatografia líquida em fase reversa utiliza fase estacionária não polar, sílica quimicamente ligada a grupos apolares, e fase móvel polar. Sua utilização tem se intensificado desde 1974, quando surgiram materiais comercialmente confiáveis para fase reversa, e hoje é a técnica mais utilizada em CLAE. Uma das vantagens é a utilização de água (ou solução tampão) como um dos eluentes, diminuindo a exposição dos analistas a compostos tóxicos [Cass e Degani, 2001].

A escolha da fase móvel é de extrema importância na separação dos analitos, devido a interação que ocorre entre ambos, resultando em um efeito significativo no tempo de retenção dos analitos. A fase móvel precisa ser selecionada de modo a não interferir na detecção dos analitos de interesse, não absorver radiação UV no comprimento de onda selecionado, manter a capacidade tamponante no decorrer das análises e estabilizar as espécies iônicas de interesse.

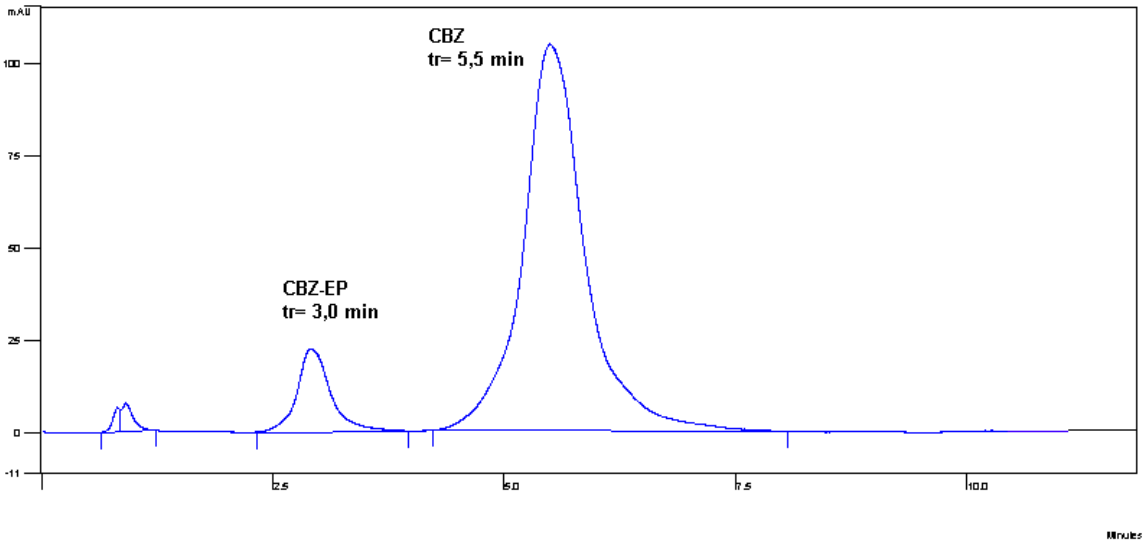
A otimização das condições de separação cromatográficas (CLAE-UV) foi realizada com soluções padrão da carbamazepina e 10,11-epóxido-carbamazepina. A fase móvel foi variada quanto à composição, proporções e pH, utilizando metanol, acetonitrila, água Milli-Q e tampão fosfato de potássio em condições isocráticas.

A fase móvel tampão fosfato/ACN/MeOH 65:18:17 (v/v/v) inicialmente testada não foi eficiente, visto que o fármaco CBZ apresentou um tempo de retenção de 9,9 min e um pico largo com cauda. Com a alteração das proporções de fase móvel para tampão fosfato/ACN/MeOH 60:19:21 (v/v/v) (Figura 43 a), obteve-se um cromatograma com tempos de retenção da CBZ-EP e CBZ de 3,3 min e 6,7 min, respectivamente. Nestas condições, o tempo de análise foi menor e os picos foram melhor resolvidos. A maior proporção de solvente orgânico aumenta a solubilidade dos analitos na fase móvel, resultando em tempo de retenção menor.

Foi realizada também uma avaliação da força do solvente nesta análise. Sabendo-se que a força do solvente em fase reversa aumenta com o decréscimo da polaridade do mesmo, ou seja, água (solvente mais fraco) < metanol < acetonitrila [Cass; Degani, 2001], testou-se a fase móvel tampão fosfato/ ACN/ MeOH 60:23:17 (v/v/v) (Figura 43 b). Nestas condições a CBZ-EP e CBZ eluíram em 3,0 min e 5,5 min, respectivamente. Comparando-se com a fase móvel anterior, com menor proporção de ACN (solvente mais forte), observou-se que os analitos apresentaram um tempo de retenção menor e uma melhor resolução cromatográfica, sendo esta condição utilizada nas análises dos produtos de oxidação da CBZ.



(a)



(b)

Figura 43. Cromatograma da CBZ e CBZ-EP em duas proporções de fase móvel: (a) tampão fosfato/ACN/MeOH 60:19:21 (v/v/v)**;** (b) tampão fosfato/ACN/MeOH 60:23:17 (v/v/v).

Assim, a condição ótima para análise da carbamazepina e seus metabólitos foi obtida utilizando-se uma coluna C_{18} (Merck) de 125x4 mm e fase móvel tampão fosfato (pH 7,0 - 0,1 mol.L^{-1}), ACN e MeOH 60:23:17 (v/v/v) em condição isocrática, fluxo à 1 mL/min e detecção UV em 210 nm na temperatura ambiente (T=25 ºC). O cromatograma obtido, Figura 43 b, ilustra a boa separação dos compostos em curto tempo de análise (12 min). A eluição da CBZ-EP (t_r =3,0 min) e CBZ (t_r=5,5 min) está em ordem decrescente de polaridade e concorda com a apresentada na literatura [Bugamelli et al., 2002].

Em geral, técnicas cromatográficas requerem a etapa inicial de extração, para eliminar interferentes e concentrar os analitos, aumentando a seletividade e sensibilidade analítica. Para minimizar os erros decorrentes de perdas dos analitos durante o processo de extração, tem sido adicionado às amostras um padrão interno na etapa anterior à extração. Este deverá ter estrutura semelhante às dos analitos e ser extraído nas mesmas condições. Por outro lado, um bom padrão

interno para reações catalíticas tem como principal característica inércia química nas condições da reação do substrato, o que evita erros durante as análises, ou seja, é necessário que não ocorra reação entre o padrão interno, a carbamazepina e o oxidante, evitando a formação de outros produtos de oxidação. Assim, devido à dificuldade de se encontrar um padrão interno inerte e com estrutura semelhante ao fármaco, optou-se pela não utilização de padrão interno na análise dos produtos de oxidação da carbamazepina.

Foi realizada a padronização do método com curvas de calibração apenas para a carbamazepina. Não foram traçadas curvas para os metabólitos por não possuirmos as quantidades necessárias dos padrões destes metabólitos. Foram preparadas cinco soluções, em MeOH, com concentração de carbamazepina variando entre 6,780 x 10^{-5} e 4,237 x 10^{-4} mol.L^{-1}. Foi feita uma curva de calibração (Figura 44) lançando na abscissa a concentração do fármaco e na ordenada a área do pico obtida nos respectivos cromatogramas.

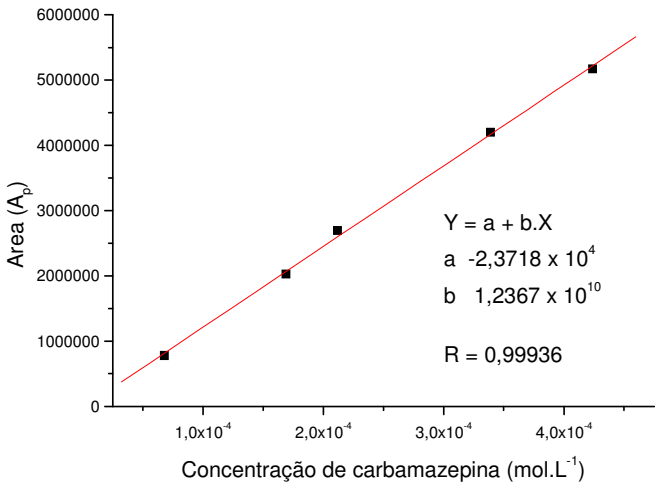


Figura 44. Curva de calibração do fármaco carbamazepina.

A equação da reta obtida desta padronização é:

$$A_p = -2{,}37.10^4 + 1{,}24.10^{10} . [CBZ]$$

$$[CBZ] = (A_p + 2{,}37.10^4)/ 1{,}24.10^{10}$$

A quantificação dos produtos foi feita com base na proporção molar 1:40:35 de catalisador:oxidante:substrato utilizada nas reações, levando em consideração que o limitante da reação é a quantidade de carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol; 0,01059 mol.L^{-1}). Desta forma, a diferença da concentração inicial da carbamazepina e concentração final do fármaco que não foi consumido, fornece a concentração de carbamazepina que foi convertida em produtos.

[CBZ] inicial – [CBZ] não consumida = [CBZ] reagiu

IV.3.A.3 - Otimização das condições cromatográficas para análise da carbamazepina e seus produtos de oxidação por CLAE acoplado a um espectrômetro de massas (CLAE-ESI)

O espectrômetro de massas é constituído de 3 componentes básicos: fonte de íons, analisador e detector. Após os analitos serem eluídos da coluna são ionizados e volatilizados pela fonte de ionização. Os íons formados são separados de acordo com sua razão massa/carga (m/z) por um campo elétrico no analisador. Os íons de uma dada razão m/z atingem o detector e a corrente iônica é amplificada e registrada. Estes equipamentos necessitam de alto vácuo para permitir que os íons atinjam o detector sem colidir com outras moléculas gasosas, pois as colisões reduzem a resolução e a sensibilidade do instrumento, induzindo fragmentação ou impedindo que os íons atinjam o detector [Siuzdak, 1996].

A fonte de ionização utilizada nestes estudos foi a "*electrospray*" (ESI), a qual é uma técnica de ionização branda, que produz moléculas gasosas ionizadas a partir de uma solução. Isto é feito criando um fino "*spray*" de gotículas altamente carregadas na presença de um forte campo elétrico [Thomson, 1998].

O campo elétrico foi gerado aplicando-se uma voltagem de 4,50 kV diretamente ao capilar de entrada da solução, com um contra eletrodo localizado a alguns milímetros da ponta do capilar. Nestas condições, o líquido emergente assume um formato cônico da ponta do qual uma névoa de gotículas carregadas é ejetada. Estas gotículas são atraídas eletrostaticamente ao orifício de entrada do espectrômetro. Gás de secagem e aquecimento foram aplicados às gotículas

antes destas entrarem na região de vácuo do espectrômetro, para causar a evaporação do solvente da superfície destas gotículas.

A temperatura atua auxiliando na dessolvatação dos íons e na eliminação da interferência do solvente, constituinte da fase móvel. Observou-se que em temperaturas altas, a utilização de cone alto reduz a resposta, e a temperatura muito baixa e utilização de cone muito baixo, também gera diminuição na resposta. Uma tentativa de interpretação do fenômeno considera a energia fornecida aos íons. Uma energia muito elevada do cone associada à energia elevada resultante da alta temperatura podem ocasionar fragmentações, por outro lado, a baixa energia do cone associada à baixa temperatura não consegue arrastar os íons ainda parcialmente solvatados. O cone, por sua vez, é o responsável pela transferência dos íons da fonte de ionização para o interior do espectrômetro [Thomson, 1998].

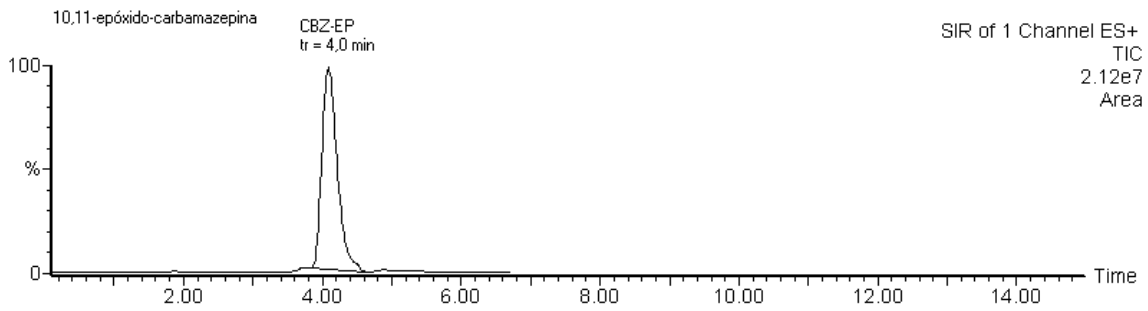
Levando-se em consideração o que foi descrito acima, a otimização da voltagem do cone e temperatura da fonte foram analisados em conjunto. As condições que foram mais satisfatórias para a separação de carga, boa dessolvatação e transferência dos íons da CBZ e CBZ-EP foram voltagem capilar 4,50 kV, temperatura da fonte 158 ºC e voltagem do cone em 14 V.

O *eletrospray* (ESI) pode operar no modo positivo ou negativo. O que determina qual é o melhor modo de operação é a estrutura do analito que deve possuir sítios ácidos ou básicos. As substâncias com sítios básicos, ou seja, capazes de receber um próton, são analisados no modo positivo aplicando-se um potencial positivo. A carbamazepina e seus metabólitos apresentam o grupo NH_2 capaz de receber o próton, portanto a análise foi realizada no modo positivo.

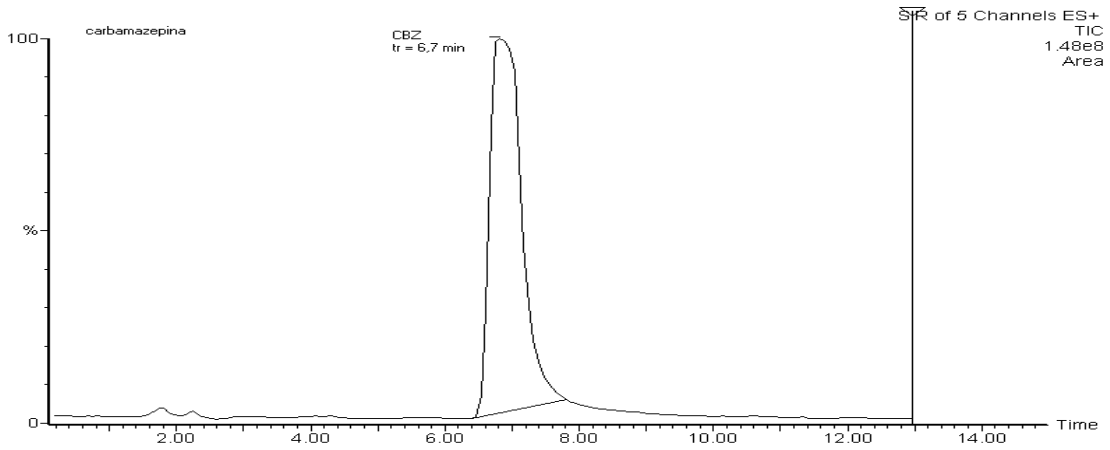
Outro fator importante no acoplamento CLAE/MS com ionização ESI é o solvente utilizado como fase móvel. Esta técnica de ionização requer solventes polares próticos e voláteis, como água, metanol e acetonitrila. O tampão fosfato que foi utilizado como fase móvel no CLAE-UV é incompátivel com esta fonte de ionização, pois este tampão não é volátil, causando entupimento da fonte, diminuindo a intensidade relativa do sinal, o que impossibilita a análise.

A otimização das condições de separação cromatográficas (CLAE-ESI) foi feita com soluções padrão da carbamazepina e 10,11-epóxido-carbamazepina, em coluna de fase reversa C_{18}, mantida a temperatura de 30 ºC. A fase móvel foi composta de água Milli-Q e acetonitrila 70:30 (v/v), em condições isocráticas.

Os cromatogramas obtidos com as soluções padrão de CBZ-EP e CBZ indicaram uma boa separação dos compostos, além de um curto tempo de análise e boa reprodutibilidade. A CBZ-EP eluiu em 4,0 min e a CBZ em 6,7 min, Figuras 45 a e b.



(a)



(b)

Figura 45. Cromatogramas obtidos com soluções padrão de (a) CBZ-EP e (b) CBZ em água Milli-Q e acetonitrila 60:40 (v/v).

Os espectros obtidos da CBZ e CBZ-EP no modo de varredura SCAN estão apresentados nas Figuras 46 e 47, respectivamente.

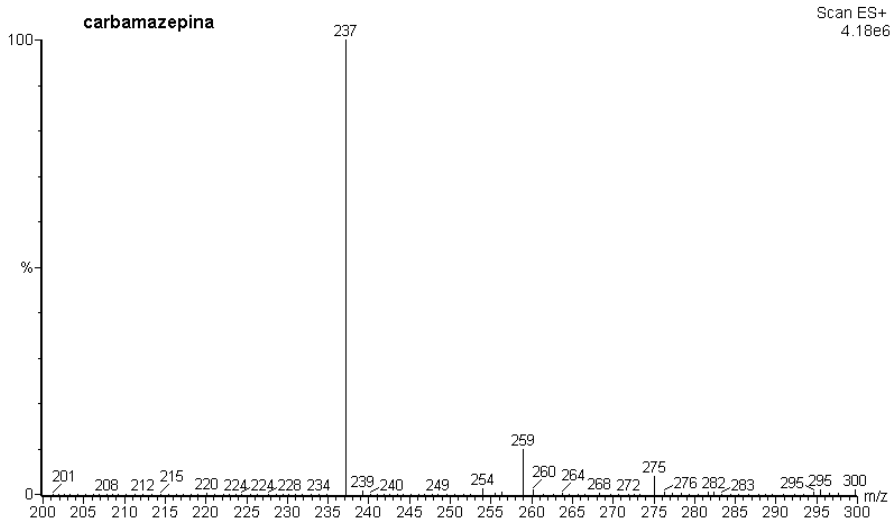


Figura 46. Espectro de massas CLAE-ESI (SCAN) obtido no modo positivo para a carbamazepina com voltagem do capilar 4,50 KV, temperatura da fonte de 158 ºC e voltagem do cone em 14 V.

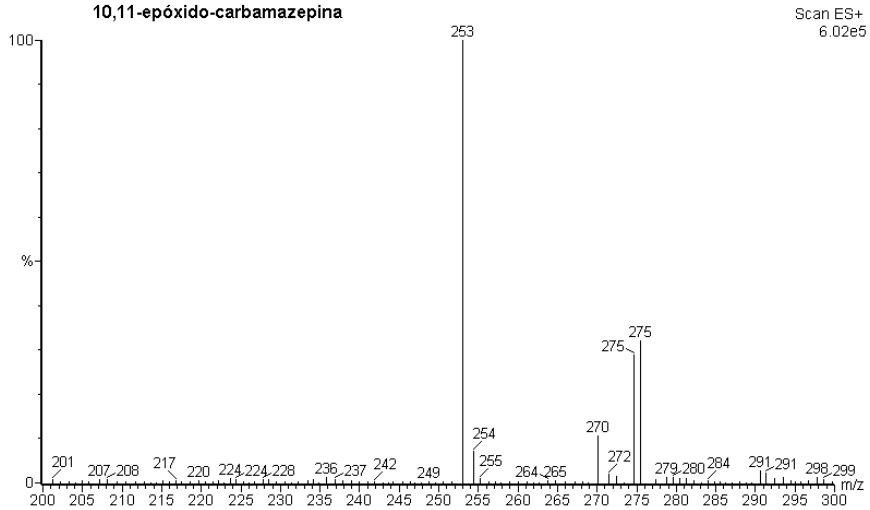


Figura 47. Espectro de massa CLAE-ESI (SCAN) obtido no modo positivo para o 10,11-epóxido-carbamazepina com voltagem do capilar 4,50 KV, temperatura da fonte de 158 ºC e voltagem do cone em 14 V.

O espectro da CBZ e CBZ-EP apresentaram o íon molecular e seus adutos (Tabela 14) como principais fragmentos no espectro. A informação principal obtida destes espectros é a massa molar da substância, com pouca informação estrutural devido à ausência de fragmentação.

Tabela 14. Principais picos apresentados no espectro de massas da solução padrão de carbamazepina e 10,11-epóxido-carbamazepina

	CBZ	**CBZ-EP**
massa molar	236	252
$[M+H]^+$	237	253
$[M+Na]^+$	259	275
$[M+K]^+$	275	-
$[M+NH_4]^+$	-	270

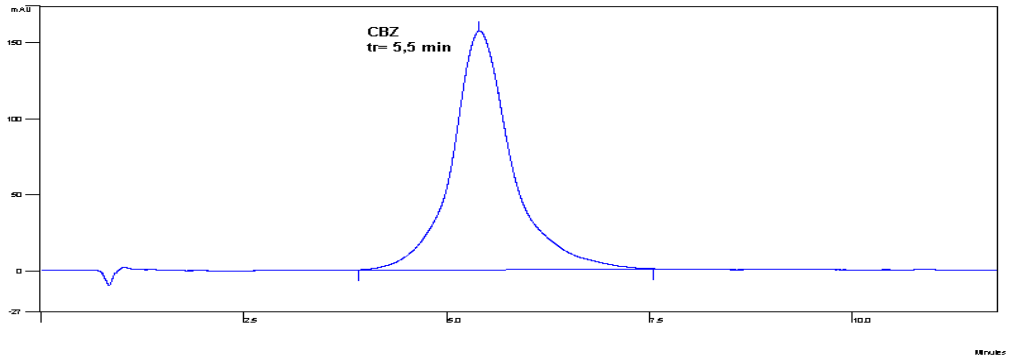
Estas análises foram realizadas no laboratório do Prof. Dr. Fernando Mauro Lanças, no Instituto de Química, da Universidade de São Paulo, São Carlos.

IV.3.A.4 - Estudos de oxidação da carbamazepina

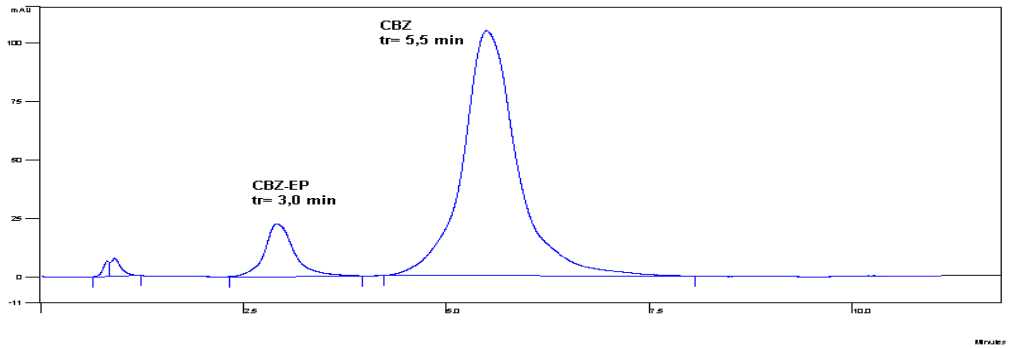
Estabeleceu-se como condição padrão para o estudo do metabolismo da carbamazepina a proporção molar 1:40:35 de catalisador:oxidante:substrato, utilizando-se 6,0 x 10^{-7} mol do catalisador, 2,4 x 10^{-5} mol do oxidante e 2,1 x 10^{-5} mol de CBZ, em 2000 µL de acetonitrila, solvente escolhido tendo em vista a solubilidade da CBZ, metabólitos e oxidantes neste meio.

Os produtos foram analisados por CLAE e CLAE-ESI.

A formação de CBZ-EP ou qualquer outro produto não foi detectado na ausência de catalisador, como mostra o cromatograma da reação branco (Figura 48 a), confirmando que o catalisador de Jacobsen é responsável pela produção do metabólito CBZ-EP (Figura 48 b).



(a)



(b)

Figura 48. (a) Cromatograma da reação branco; (b) Cromatograma da reação na presença do Mn(salen), nas condições padrão 1:40:35, mostrando a produção do metabólito CBZ-EP.

A análise da solução da reação de oxidação da carbamazepina catalisada por Mn(salen) por CLAE-ESI mostrou os fragmentos com m/z listados na Tabela 15. A Figura 49 mostra um cromatograma da solução da reação, comprovando que nenhum outro produto além do CBZ-EP foi formado nestas reações.

Tabela 15. Picos observados na análise da solução da reação de oxidação da carbamazepina por diferentes oxidantes (*m*-CPBA, *t*-BOOH, H_2O_2), catalisada por Mn(salen) em ACN.

Tempo de retenção (min)	***m/z***	***Produto Identificado***
4,0	253	CBZ-EP
6,7	237	CBZ

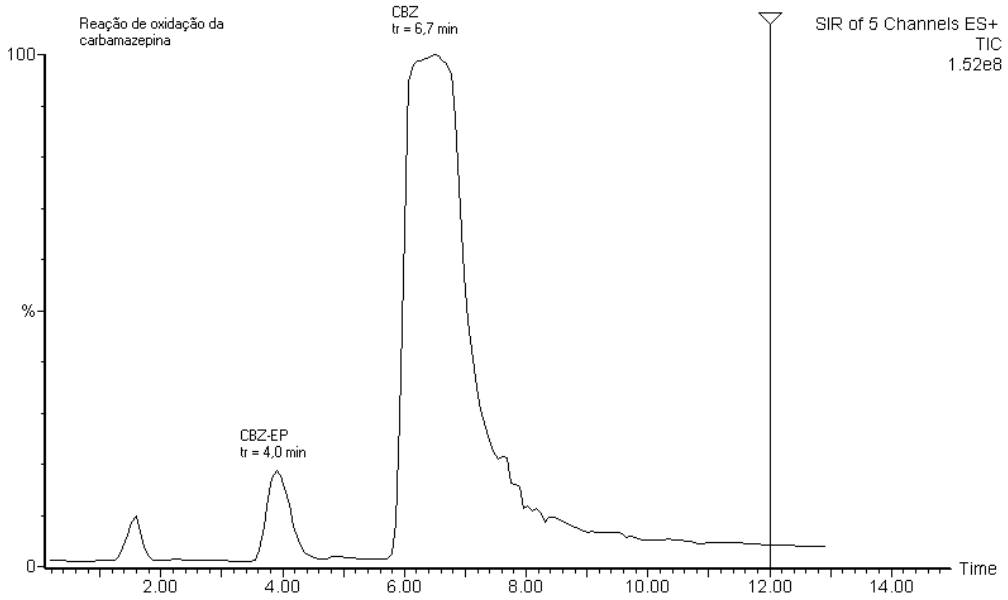


Figura 49. Cromatograma da reação de oxidação da carbamazepina por H_2O_2 na presença de Mn(salen), em meio de acetonitrila.

Na tentativa de otimizar as condições de produção do CBZ-EP e estudar o mecanismo de formação deste produto, catalisada pelo complexo salen, foram avaliadas algumas variáveis de reação como solvente, oxidante, pH e presença de co-catalisadores.

Um bom solvente deve apresentar estabilidade frente ao ambiente oxidante, pois pode agir como substrato competindo com a oxidação do fármaco, o que acarreta baixos rendimentos. Os resultados catalíticos da Tabela 16 permitem

avaliar o efeito do solvente na oxidação da CBZ, utilizando o *m*-CPBA como oxidante.

Tabela 16. Efeito de diferentes solventes na oxidação da CBZ pelo *m*-CPBA, catalisada pelo Mn(salen) (rendimento em porcentagem igual à conversão)

REAÇÃO	SOLVENTE	RENDIMENTO (%) CBZ-EP
1	Acetonitrila (ACN)	69
2	Metanol (MeOH)	44
3	Etanol (EtOH)	41
4	Diclorometano (DCM)	5
5	Dicloroetano (DCE)	7

Condições: carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol); oxidante (2,4 x 10^{-5} mol); catalisador de Jacobsen (6,0 x 10^{-7} mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

Observa-se na Tabela 16 um pronunciado efeito do solvente de acordo com a polaridade do mesmo. A solubilidade da carbamazepina foi determinante nos rendimentos de CBZ-EP. Em solventes apolares nos quais a CBZ apresenta limitada solubilidade, como DCM e DCE, os rendimentos de CBZ-EP foram baixos. Contrariamente, solventes mais polares levaram a melhores resultados. Entre os solventes polares, os álcoois levaram a menores rendimentos de epóxido que a ACN, devido ao fato dos álcoois poderem atuar como substratos, competindo com a carbamazepina pela espécie responsável pela transferência do oxigênio [Gilmartin e Smith, 1995; Cooke e Smith,1992]. Em ACN, solvente que não compete com o substrato pela espécie oxidante, o catalisador de Jacobsen foi capaz de converter cerca de 70 % de carbamazepina em epóxido, o que pode ser explicado pela maior habilidade da ACN em estabilizar o estado de oxidação do intermediário Mn(V), provavelmente por ter alto valor de capacidade doadora (DN = 14.1) [Goldsby et al., 1989; Lee et al., 1998]. Este solvente também foi considerado o mais eficiente em diversos sistemas catalíticos da literatura com outros complexos salen [Bahramian et al., 2005; Bahramian et al., 2006; Mirkhani et al., 2006].

Vários doadores de oxigênio, tais como $KHSO_5$, *m*-CPBA, *t*-BOOH e Na_2SO_3, têm sido utilizados na oxidação da carbamazepina em sistemas envolvendo metaloporfirinas solúveis em água, sendo que estes sistemas levam à altos rendimentos em soluções ácidas, com diminuição da eficiência catalítica em soluções com pH acima de 6 [Yang e Nam, 1998]. Contrariamente, complexos de ferro e manganês com tetrazamacrociclos mostraram que a oxidação em pH 10 produz quatro vezes mais CBZ-EP quando comparado com a reação em pH 7, usando H_2O_2 como oxidante [Hubin et al., 2005]. Em estudos com polioxo de tungstênio contendo cobalto $[Co(PW_{11}O_{39})]^{5-}$, observou-se um pH ótimo para a epoxidação da CBZ pelo $KHSO_5$ próximo de 5. Entretanto, em pHs inferiores a 3.5 e superiores a 7 foram gerados apenas traços do epóxido correspondente [Choi et al., 2002]. Além disso, os oxidantes *t*-BOOH e H_2O_2 não produziram a CBZ-EP neste estudo com $[Co(PW_{11}O_{39})]^{5-}$. Estes dados da literatura revelam a dependência dos resultados de acordo com o catalisador, o oxidante e pH empregado, evidenciando a importância do estudo do efeito do pH.

Foram realizadas reações de oxidação da CBZ pelos peróxidos (*m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2) em diferentes pHs (2-8) para avaliar a sua influência no mecanismo de clivagem da ligação O-O do peróxido. As reações foram feitas em meio tamponado usando o tampão adequado na concentração 5 mmol L^{-1} e acetonitrila, na proporção 1:1.

Os resultados catalíticos obtidos na oxidação da carbamazepina com os diferentes oxidantes e pHs são mostrados na Figura 50.

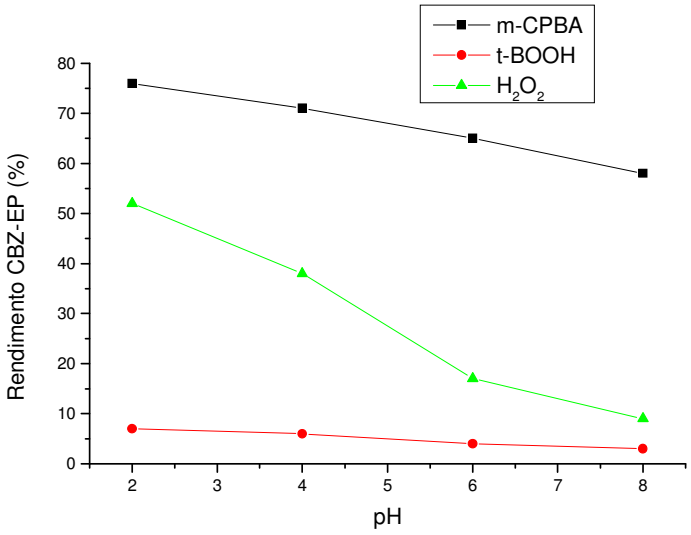


Figura 50. Dependência do pH para a oxidação da carbamazepina por oxidante peróxidos, rendimento de CBZ-EP igual à conversão.

Observou-se que a formação da CBZ-EP é dependente do oxidante e do pH da reação. Os oxidantes *m*-CPBA e H_2O_2 são mais eficientes em pHs mais baixos. A influência do pH é pequena para o *m*-CPBA e *t*-BOOH, mostrando que a natureza do oxidante, ou seja, a presença dos substituintes ligados ao grupo –OOH exerce maior efeito na catálise.

Quando se utiliza hidroperóxidos e perácidos é possível a ocorrência de dois mecanismos para a ativação do oxigênio: um mecanismo envolve a clivagem homolítica da ligação O-O, com formação de $RO^{\cdot}$ e de intermediários pouco reativos, Mn^{IV}(O)salen, como espécie ativa, resultando em baixos rendimentos; o outro envolve a clivagem heterolítica da ligação O-O, com formação da espécie ativa Mn^{V}(O)salen que é responsável pela ativação do oxigênio. A clivagem heterolítica da ligação O-O é favorecida pela protonação do O terminal, e, portanto, pelo abaixamento do pH do meio [Nam et al., 2000A; Nam et al., 1999], explicando a variação dos rendimentos de conversão da CBZ na Figura 50. Na reação com *m*-CPBA observou-se a formação seletiva de CBZ-EP e altas conversões, indicando que a reação ocorre via clivagem heterolítica do peróxido, a qual é facilitada pela presença de grupos que retiram elétrons, como o grupo acil

do *m*-CPBA. Contrariamente, o alquil-hidroperóxido, *t*-BOOH, não foi eficiente na epoxidação da carbamazepina. Este oxidante, ao coordenar ao metal central do salen, sofre a cisão homolítica da ligação O-O que é facilitada pela presença dos grupos t-butil doadores de elétrons pelo efeito indutivo, conduzindo a baixas conversões.

Quando peróxido de hidrogênio foi utilizado como oxidante, observou-se uma forte dependência do pH (Figura 50). Em pH 2 o rendimento é semelhante ao obtido para *m*-CPBA, e em pH 8 o resultado se aproxima àquele obtido para *t*-BOOH, indicando a participação de intermediários diferentes em função do pH do meio de reação, resultantes da clivagem homolítica ou heterolítica. Em altos valores de pH existe o predomínio da homólise, que resulta em espécies radicalares e intermediários Mn^{IV}(O)salen, os quais apresentam baixa reatividade. Em baixos pH, a cisão heterolítica é a forma principal de ativação da ligação O-O, pois o próton ajuda a estabilizar a separação de cargas no estado de transição, com formação da espécie Mn^{V}(O)salen, mais reativa [Yang e Nam, 1998].

É bem conhecido na literatura que os complexos salen na forma monomérica, como o catalisador de Jacobsen, possuem a atividade catalítica bastante melhorada na presença de derivados N-óxido [Sun e Tang, 2006]. Este fato está relacionado com a habilidade destes co-catalisadores ativarem e estabilizarem o sistema catalítico. O derivado N-óxido coordena às espécies de Mn(III)salen a partir do primeiro ciclo catalítico, prevenindo que esta espécie reaja com intermediários ativos Mn^{V}(O)salen para produzir o dímero cataliticamente inativo, μ-oxo-Mn(IV) [Canali et al., 2000].

Com o objetivo de aumentar a eficiência catalítica do catalisador de Jacobsen na epoxidação da carbamazepina pelo peróxido de hidrogênio, foi realizado também um estudo da influência de co-catalisadores.

Embora com menores rendimentos que aqueles observados com o *m*-CPBA, o peróxido de hidrogênio foi escolhido neste estudo devido às diversas vantagens, como baixo custo e gerar água como único subproduto da reação.

Os resultados catalíticos utilizando os co-catalisadores imidazol, piridina, t-butilpiridina, trimetilamina N-óxido, acetato de amônio e bicarbonato de sódio, na oxidação da carbamazepina pelo H_2O_2 estão mostrados na Tabela 17.

Tabela 17. Efeito de diferentes co-catalisadores nas reações de oxidação da CBZ pelo H_2O_2, na presença do catalisador de Jacobsen, expressos em rendimento de CBZ-EP (igual à conversão)

REAÇÃO	CO-CATALISADOR	RENDIMENTO (%) CBZ-EP
1	Ausência de co-catalisador	38
2	Imidazol	59
3	Piridina	39
4	*t*-butilpiridina	47
5	Trimetilamina N-óxido	53
6	Acetato de amônio	66
7	Bicarbonato de sódio	61

Condições: carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol); oxidante (2,4 x 10^{-5} mol); catalisador de Jacobsen (6,0 x 10^{-7} mol); co-catalisador (6,0 x 10^{-6} mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

A oxidação na presença do complexo Mn(III)salen e ausência de co-catalisadores levou à conversão de 38 % da CBZ em epóxido. Todos os co-catalisadores, exceto a piridina, favoreceram a formação de epóxido (Tabela 17, reação 3). O resultado com a piridina era esperado devido à menor afinidade deste ligante pelo íon Mn(III) [Balasubramanian et al., 1987; Kelly e Kadish, 1982; Battioni et al., 1988]. Bahramian et al. [Bahramian et al., 2005] observaram a seguinte ordem decrescente da atividade dos co-catalisadores na oxidação de cicloocteno 4-t-butilpiridina > 4-metilpiridina > piridina, em concordância com a capacidade σ-doadora e π-doadora das piridinas metil-substituídas [Bahramian et al., 2005]. Os resultados da Tabela 17 (reações 3 e 4) estão em concordância com esta ordem de atividade observada por Bahramian et al. [Bahramian et al., 2005].

Co-catalisadores nitrogenados, tais como imidazol, piridina, t-butilpiridina e trimetilamina N-óxido atuam como ligantes axiais do Mn(salen) via intermediários (**1**), (**2**) e (**4**) (Figura 51), devido à habilidade que esses ligantes nitrogenados

possuem em coordenarem ao Mn na posição trans- à ligação metal-oxo, estabilizando a espécie intermediária catalítica, Mn^{V}(O)salen (**4**). Esse intermediário é o responsável pelas oxidações estéreo-seletivas eficientes. A presença do ligante também previne a redução do intermediário Mn^{V}(O)salen ao intermediário Mn^{IV}(O)salen, espécie responsável por reações do tipo radicalares, não seletivas e pouco eficientes [Battioni et al., 1988; Doro et al., 2000]. Estes co-catalisadores nitrogenados também atuam como catalisador ácido-base, favorecendo a cisão heterolítica da ligação peróxido, com a formação do intermediário metal-oxo de alta valência [Battioni et al., 1988].

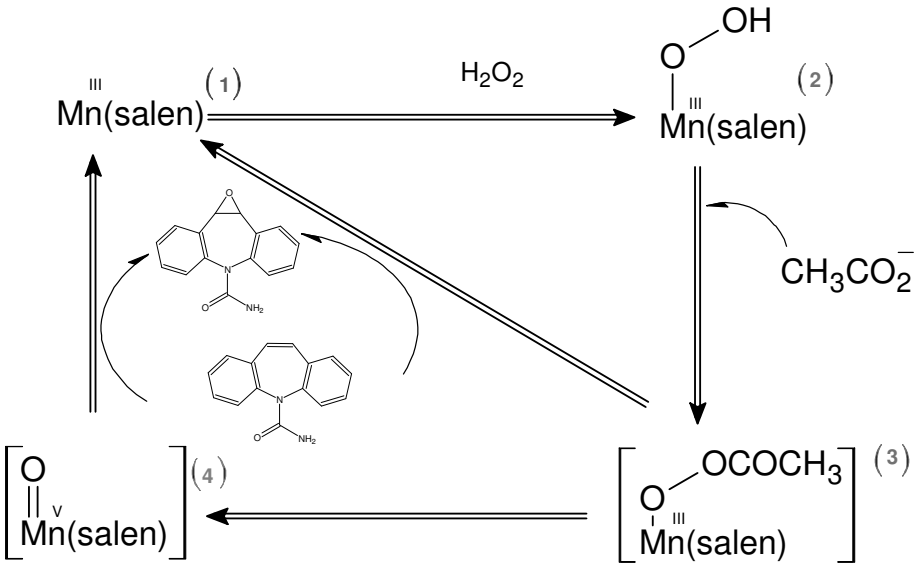


Figura 51. Mecanismo de epoxidação com H_2O_2 catalisada por Mn(salen) na presença de co-catalisadores, sendo R = CH_3 para o acetato de amônio.

Utilizando-se acetato de amônio ou bicarbonato de sódio foi possível aumentar significativamente os rendimentos (Tabela 17, reação 6 e 7). Estes resultados catalíticos mostraram que sais (NH_4OAc e $NaHCO_3$) são geralmente co-catalisadores mais eficientes quando comparados com as bases nitrogenadas usuais. Resultados similares foram relatados por Thellend et al. [Thellend et al., 1994] quando acetato de amônio foi empregado como aditivo, mostrando que estes sais atuam como bons co-catalisadores para epoxidação de alcenos utilizando metaloporfirinas e peróxido de hidrogênio como oxidante.

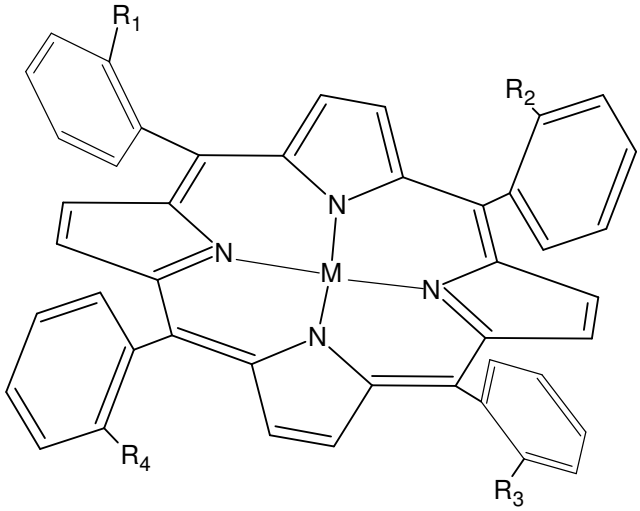
A função dos sais (NH_4OAc e $NaHCO_3$) como co-catalisadores nas reações de oxidação catalisadas por complexos metálicos ainda não está completamente definida. Os sais carboxilados podem promover a formação de HO_2^- a partir do H_2O_2, favorecendo a formação do complexo hidroperóxido (**2**) para gerar a espécie ativa Mn^V(O)salen (**4**), via intermediário peroxiacil-manganês (**3**), o qual também pode oxidar a carbamazepina como mostrado na Figura 51 [Pietikäinen, 1998; Pietikäinen, 2001]. Estas espécies peroxiacil-manganês também foram propostas por Yamada e outros pesquisadores como espécie ativa. A rota similar de oxidação de hidrocarbonetos foi proposta em outros sistemas catalíticos na presença de derivados de ácido benzóico [Yamada et al., 1994; Gonsalves e Serra, 2001; Lee e Nam, 1997; Kamaraj e Bandyopadhyay, 1997 Anelli et al., 1989].

Os melhores resultados obtidos com os sais podem ser devido também a maior estabilidade destes ligantes quando comparado com bases nitrogenadas, como imidazol, que podem ser oxidados a N-óxidos [Gonsalves et al.,1991; Battioni et al., 1988]. Além disso, há a possibilidade do solvente acetonitrila participar na epoxidação ou destruição do imidazol através da formação do ácido acetilperoximídico (oxidação tipo-Payne) [Payne et al.,1961].

IV.3.A.5 - Avaliação da atividade de ferro "crowned" porfirinas na oxidação da carbamazepina (realizada em conjunto com o Dr. Juvenal C.S. Filho)

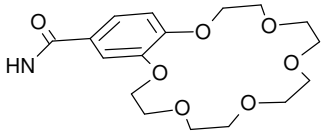
As metaloporfirinas Fe(TCP)Cl e Fe(MCP)Cl (Figura 52) foram previamante sintetizadas e caracterizadas pelo Dr. Juvenal C.S. Filho, utilizando como materiais de partida as porfirinas *orto*-aminosubstituídas, capazes de formar ligação peptídica com o éter coroa 4-carboxibenzo-18-"crown"-6. As reações de oxidação foram realizadas com as porfirinas Fe(TCP)Cl e Fe(MCP)Cl em meio homogêneo (metanol), utilizando PhIO e *m*-CPBA como oxidantes, e em sistemas bifásicos dicloroetano/água, com NaOCl e *m*-CPBA como oxidantes, para avaliar o efeito das ferro "crowned" porfirinas como catalisadores de transferência de fase na oxidação da carbamazepina. As reações com as ferroporfirinas precursoras

contendo grupos amino, Fe(M_{NH2}TPP)Cl e Fe(T_{NH2}PP)Cl (Figura 52), foram também realizadas com o intuito de avaliar o efeito do éter coroa ligado a porfirina na atividade catalítica destes complexos. Os resultados estão mostrados nas Tabelas 18 e 19.



Fe(MCP)Cl: R_1=R_2=R_3=H, R_4=

Fe(TCP)Cl: R_1=R_2=R_3=R_4=



Fe(M_{NH2}PP)Cl: R_1=R_2=R_3=H, R_4= NH_2

Fe(T_{NH2}PP)Cl: R_1=R_2=R_3=R_4= NH_2

M = Fe (III)

Figura 52. Estrutura das metaloporfirinas utilizadas na oxidação da carbamazepina.

Tabela 18. Resultados catalíticos (%) obtidos na reação de oxidação da CBZ catalisadas pelas ferroporfirinas em meio homogêneo (MeOH)

REAÇÃO	CATALISADOR	OXIDANTE	RENDIMENTO (%) CBZ-EP
1	Fe(MCP)Cl	PhIO	32
2	Fe(M_{NH2}TPP)Cl	PhIO	15
3	Fe(MCP)Cl	*m*-CPBA	36
4	Fe(M_{NH2}TPP)Cl	*m*-CPBA	17
5	Fe(TCP)Cl	PhIO	38
6	Fe(T_{NH2}PP)Cl	PhIO	7
7	Fe(TCP)Cl	*m*-CPBA	67
8	Fe(T_{NH2}PP)Cl	*m*-CPBA	8

Condições: carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol); oxidante (2,4 x 10^{-5} mol); metaloporfirinas (6,0 x 10^{-7} mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

Tabela 19. Resultados catalíticos (%) obtidos na reação de oxidação da CBZ catalisadas pelas ferroporfirinas em sistema bifásico (DCE/H_2O)

REAÇÃO	CATALISADOR	OXIDANTE	RENDIMENTO (%) CBZ-EP
1	Fe(MCP)Cl	NaOCl	13
2	Fe(M_{NH2}TPP)Cl	NaOCl	5
3	Fe(MCP)Cl	*m*-CPBA	54
4	Fe(M_{NH2}TPP)Cl	*m*-CPBA	20
5	Fe(TCP)Cl	NaOCl	33
6	Fe(T_{NH2}PP)Cl	NaOCl	5
7	Fe(TCP)Cl	*m*-CPBA	81
8	Fe(T_{NH2}PP)Cl	*m*-CPBA	8

Condições: carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol); oxidante (2,4 x 10^{-5} mol); metaloporfirinas (6,0 x 10^{-7} mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

Pode-se observar pelos resultados das Tabelas 18 e 19 a maior eficiência catalítica das ferro “crowned” porfirinas comparadas às ferro aminoporfirinas precursoras, como resultado da presença do substituinte éter coroa. Este substituinte age de duas maneiras:

i - em efeito associativo com o sítio catalítico, promovendo a aproximação e interação do oxidante e substrato, com o centro catalítico, provavelmente através de pontes de hidrogênio [Banfi et al., 1996]. Este efeito é intensificado pela proximidade do éter coroa na posição *orto* do anel *meso*-arila ao centro metálico.
ii - evitando a destruição bimolecular da ferroporfirina, por ser mais volumoso que os substituintes NH_2 da ferroporfirina precursora. Isto foi comprovado comparando-se o branqueamento da solução com ambas ferroporfirinas ("crowned" e amina-substituídas) após reação, e pelo espectro UV-Vis destas soluções. Nas reações com as $Fe(M_{NH2}TPP)Cl$ e $Fe(T_{NH2}PP)Cl$, observou-se um rápido branqueamento da solução e o espectro mostrou o desaparecimento da banda Soret das ferro-aminoporfirinas, indicando a destruição destes complexos metálicos. Já nas reações com Fe(MCP)Cl e Fe(TCP)Cl, a banda Soret não sofreu alteração, indicando que a unidade éter coroa protegeu a porfirina da destruição oxidativa.

Verifica-se que o melhor oxidante para catalisar a epoxidação da carbamazepina é o *m*-CPBA. Como discutido anteriormente para o Mn(salen), quando se utiliza este oxidante é possível a ocorrência de dois mecanismos para a ativação do oxigênio: um mecanismo envolve a clivagem homolítica da ligação O-O do peróxido, com o $RO^{\cdot}$ como a espécie ativa, resultando numa baixa seletividade; o outro envolve a espécie metal-oxo produzida após a clivagem heterolítica da ligação O-O, com formação da espécie $Fe^{IV}O(P\bullet+)$, responsável pela epoxidação. Na reação com este oxidante na presença das FeP, observou-se a formação seletiva de CBZ-EP, indicando que a reação ocorre via formação da espécie ativa $Fe^{IV}O(P\bullet+)$, originada da clivagem heterolítica do peróxido, que é favorecida pelos substituintes retiradores de elétrons do grupo fenila deste oxidante [Nam et al., 2000A].

Um outro efeito que pode estar atuando nas reações com a Fe(TCP)Cl é resultado das quatro unidades do éter coroa podem agir como "pinças" que orientam e dirigem o substrato para a cavidade do sítio ativo [Banfi et al., 1996; Gunter et al., 1998] (Tabela 18, comparar reações 1 e 3 com 5 e 7). O aumento nos rendimentos com a Fe(TCP)Cl são muito mais significativos com o oxidante

m-CPBA, o que indica uma maior interação com as unidades éteres coroa (Tabela 18, reação 3 e 7), resultante da possibilidade de interações π-π entre o anel aromático do *m*-CPBA e o substituinte *benzo* do éter coroa.

Os sistemas bifásicos DCE/H_2O apresentaram rendimentos de epóxido melhores quando comparados com os sistemas homogêneos para as ferro "crowned" porfirinas, utilizando *m*-CPBA e NaOCl como doadores de oxigênio (Tabela 18 e 19). Estes resultados mostram que as Fe(MCP)Cl e Fe(TCP)Cl estão atuando também como agentes de transferência de fases, que pode ser explicada pela propriedade dos éteres coroa de serem solúveis tanto em meio aquoso quanto orgânico. Assim, estes substituintes promovem a interação da CBZ, que é solúvel em meio aquoso, com o catalisador que está na fase orgânica, dispensando o uso de agente transferidores de fases adicionais, o que é comum e bem relatado na literatura para sistemas bifásicos com metaloporfirinas e estes oxidantes [Gonsalves et al., 2002], e resultando em rendimentos de até 33 % nas reações utilizando o NaOCl. Os resultados com este oxidante podem ser considerados bons, tendo em vista que o NaOCl é um reagente barato e solúvel em água. A unidade éter coroa complexa o íon Na^+, desta maneira "arrastando" o oxidante para próximo do sítio catalítico, aumentando a concentração do íon OCl^- que pode substituir o ligante aniônico axial cloreto, conduzindo a formação da espécie Fe^{III}(O-Cl)porp, Figura 53.

Existem duas propostas para o mecanismo de ativação do oxigênio:

i - a coordenação do ânion hipoclorito ao ferro pode ser suficiente para aumentar as propriedades eletrofílicas do átomo de oxigênio e tornar possível a transferência direta de oxigênio para a carbamazepina (rota A, Figura 53);

ii - a dissociação heterolítica da ligação O-Cl é necessária para gerar o complexo ferril porfirina π-cátion, Fe^{IV}(O)porp$^{\cdot+}$, que é mais eletrofílico, reagindo então com a CBZ (rota B, Figura 53)[Meunier et al., 1984].

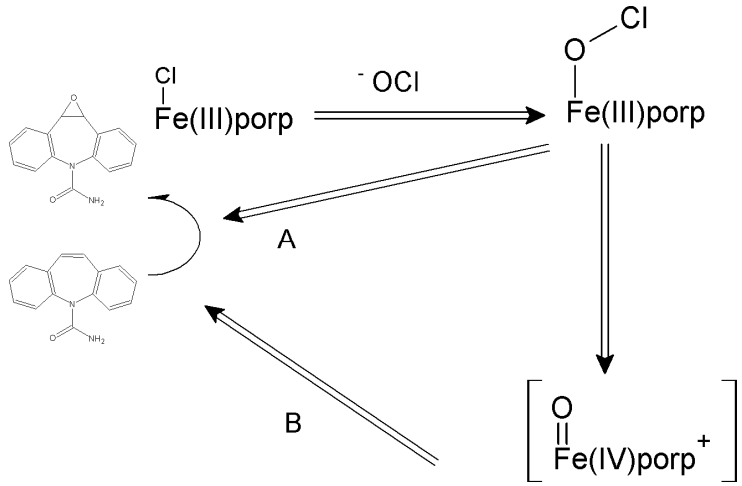


Figura 53. Mecanismo de formação de intermediários a partir da coordenação do ânion hipoclorito em pH > 8 [adaptado de Meunier et al., 1984].

O ácido hipocloroso é gerado espontaneamente do NaOCl em fase aquosa (pH 10) e é distribuído entre as fases aquosa e orgânica, que contém o substrato e a ferroporfirina, respectivamente. A formação do complexo intermediário similar HOCl/Mn-porfirina é favorecida pelo efeito "pull" no sistema catalítico descrito por Banfi et al [Banfi et al., 1996]. Os átomos de oxigênio básicos podem facilitar a quebra da ligação O-H formando assim a espécie ferro-oxo de alta valência, que é responsável pela transferência de oxigênio ao substrato. De forma análoga, o ion H^+ do *m*-CPBA aproxima e promove interação com a unidade do éter coroa, que facilita a clivagem heterolítica da ligação O-O, resultando na formação da espécie ativa $Fe^{IV}O(P\bullet+)$, capaz de oxidar a carbamazepina (Figura 54). Assim, o fator que pode explicar a grande eficiência das ferro "crowned" porfirinas na oxidação da carbamazepina, em sistema bifásicos utilizando os oxidante NaOCl e *m*-CPBA, é o efeito "pull" dos éteres coroa sobre o complexo intermediário HOCl/Fe-porfirina ou *m*-CPBA/Fe-porfirina.

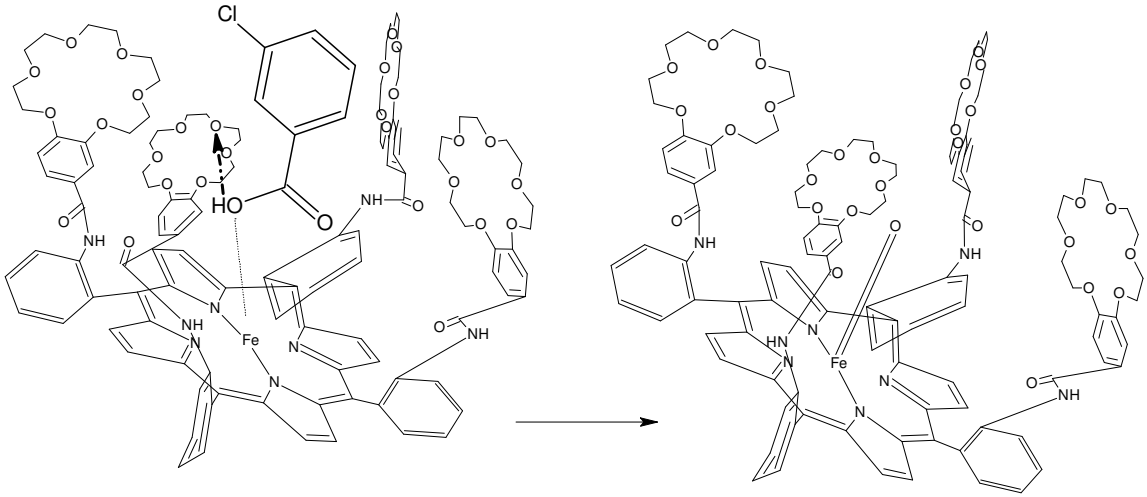


Figura 54. Provável mecanismo para formação da espécie ferro-oxo, como resultado do efeito "pull" exercido pela unidade éter coroa da Fe(TCP)Cl. Similarmente ao proposto por Banfi et al para manganês "crowned" porfirinas com NaOCl/HOCl como oxidante [adaptado de Banfi et al., 1996].

IV.3.A.6 – Oxidação da CBZ na presença do catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas (realizada em conjunto com Rosalva Marques e Prof. Dr. Marco A. Schiavon)

Para utilização de membranas poliméricas como suportes de catalisadores dois fatores são determinantes: (i) a afinidade do polímero pelos reagentes, ou seja, a capacidade das substâncias sorverem-se na membrana, a qual depende de vários fatores, sendo os principais a polaridade e a estrutura das moléculas; (ii) a difusão dos reagentes através das cadeias do polímero para atingirem o sítio catalítico. A difusão depende da taxa de sorção do reagente e também do grau de cruzamento das cadeias do polímero, o qual é determinado pela sua composição [Parton et al., 1996].

Os valores obtidos dos experimentos de sorção e os resultados catalíticos para as membranas de PDMS (membrana hidrofóbica) e híbridas PDMS/PVA contendo o catalisador de Jacobsen estão mostrados na Tabela 20.

Tabela 20. Valores de sorção e resultados catalíticos para a oxidação da carbamazepina utilizando catalisador de Jacobsen em solução e imobilizado nas membranas poliméricas

Reação	Catalisador	Oxidante	Valor de sorção (mmol do oxidante/g de membrana)	Rendimento CBZ-EP (%)
1	Mn(salen)	*m*-CPBA	-	87
2	Membrana PDMS	*m*-CPBA	3,29	57
3	Membrana 1 (10 % PVA)	*m*-CPBA	2,95	51
4	Membrana 2 (15 % PVA)	*m*-CPBA	2,48	40
5	Membrana 3 (20% PVA)	*m*-CPBA	2,16	37
6	Mn(salen)	H_2O_2	-	54
7	Membrana PDMS	H_2O_2	0,89	nd
8	Membrana 1 (10 % PVA)	H_2O_2	2,30	nd
9	Membrana 2 (15 % PVA)	H_2O_2	9,70	23
10	Membrana 3 (20% PVA)	H_2O_2	14,9	31
11	Mn(salen)	*t*-BOOH	-	5
12	Membrana PDMS	*t*-BOOH	2,60	44
13	Membrana 1 (10 % PVA)	*t*-BOOH	4,00	85
14	Membrana 2 (15 % PVA)	*t*-BOOH	4,30	85
15	Membrana 3 (20 % PVA)	*t*-BOOH	4,62	71

Condições: carbamazepina (2,1 x 10^{-5} mol); oxidante (2,45 x 10^{-3} mol); catalisador de Jacobsen ou membrana polimérica (1,25 x 10^{-8} mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

O catalisador de Jacobsen ocluído nas membranas poliméricas é capaz de catalisar eficientemente a reação de epoxidação da carbamazepina, dependendo da natureza do oxidante. O oxidante *m*-CPBA apresentou melhores resultados com a membrana hidrofóbica contendo apenas PDMS quando comparado com as membranas híbridas de PDMS/PVA (Tabela 20, reação 2 a 5), o que está relacionado à maior facilidade em solver-se na membrana apolar. Embora a conversão para o catalisador ocluído tenha sido menor ao observado em meio homogêneo para o *m*-CPBA (Tabela 20, reação 1), deve-se lembrar que, com o

catalisador ocluído a reação depende da difusão dos reagentes para o interior da matriz polimérica onde os sítios catalíticos estão localizados.

As reações utilizando *t*-BOOH e H_2O_2 apresentaram diferenças na reatividade quando realizadas em meio homogêneo e heterogêneo, devido às propriedades de sorção do suporte. A reação com *t*-BOOH em solução foi ineficiente (Tabela 20, reação 11), devido à clivagem homolítica da ligação O-O do peróxido, como explicado anteriormente. Entretanto, quando este mesmo oxidante foi utilizado com Mn(salen) ocluído nas membranas poliméricas, ocorreu a produção de CBZ-EP com conversões de 44 % a 85 % (Tabela 20, reação de 12 a 15) resultado do moderado caráter hidrofóbico deste oxidante que facilita a sorção até o sítio catalítico na membrana polimérica. A adição de PVA aumentou a afinidade do polímero pelo *t*-BOOH (sorção aumentou de 2,60 para 4,62 mmol do *t*-BOOH/g de membrana) favorecendo a oxidação seletiva do substrato.

O peróxido de hidrogênio é eficiente na epoxidação da CBZ com o catalisador de Jacobsen em solução, como discutido anteriormente, devido à preferencial cisão heterolítica da ligação O-O nestas condições (Tabela 20, reação 6). Contrariamente, não se observou CBZ-EP quando se utilizou H_2O_2 e Mn(salen) ocluído na membrana de PDMS ou membrana híbrida de PDMS/PVA 10 % (Tabela 20, reação 7 e 8). A ausência da atividade catalítica nestas reações pode ser justificada pela maior afinidade da membrana pelos outros reagentes (por exemplo: solvente) com maior caráter hidrofóbico, não possibilitando o arraste do oxidante hidrofílico para o interior do polímero [Guedes et al., 2005B]. Membranas híbridas PDMS/PVA (15 % e 20 % de PVA) apresentam uma maior polaridade e, conseqüentemente, foram capazes de sorver uma maior quantidade do oxidante H_2O_2, resultando em conversões da ordem de 30 % de CBZ, e demonstrando a vantagem de inserir o polímero PVA na membrana de PDMS para catálise com este oxidante (Tabela 20, reação 9 e 10). Assim, é possível modular a polaridade da membrana polimérica para sorver mais prontamente os reagentes desejados, tornando a catálise mais seletiva.

IV.3.A.7 – Oxidação da CBZ na presença de m*etaloporfirinas ancoradas em suportes aminofuncionalizados* (realizada em colaboração com o aluno de doutorado André L. Faria)

A Fe(TFPP)Cl e Mn(TFPP)Cl foram previamente ancoradas por ligação covalente em montmorilonita K-10 ou sílica aminofuncionalizadas, MeMontX e MeSilX, onde X = 1 ou 2, representando o comprimento da cadeia ("braço") que liga a metaloporfirina ao suporte, pelo aluno André Luis de Faria, durante a realização do seu mestrado neste laboratório [Faria et al., 2008].

A montmorillonita K-10 corresponde a um silicato cristalino com estrutura lamelar, também conhecido como filossilicato. Esta argila possui um cátion em sua camada lamelar que, trocado por um composto orgânico como o grupamento amino, torna-se um suporte adequado para ancoragem de qualquer porfirina que contenha um bom grupo fugitivo.

Tanto a sílica (Sil) quanto a montorillonita K-10 (Mont) foram previamente modificadas pela reação dos grupos OH destes materiais com 3-aminopropiltrietoxissilano (X = 1) e *N*-(6-aminoexil)-3-aminopropiltrietoxissilano (X = 2), conforme mostrado na Figura 55 [Faria et al., 2008].

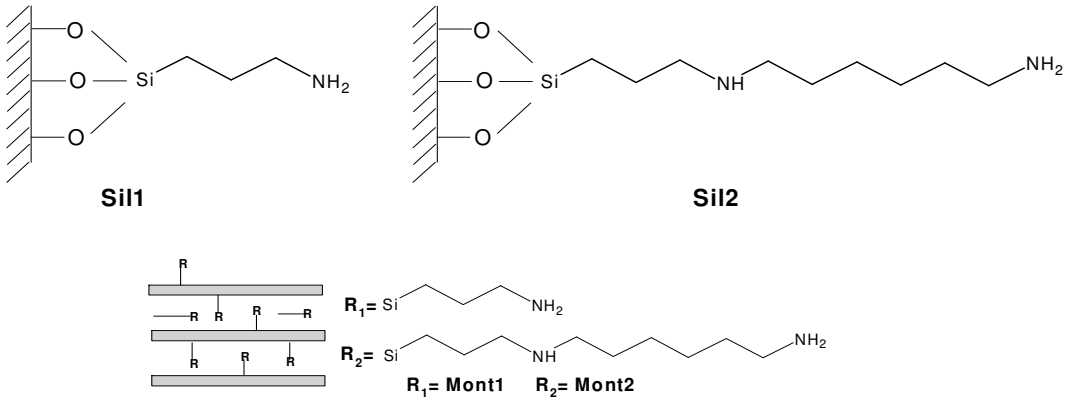


Figura 55. Representação dos suportes mostrando o tamanho das cadeias, "braços", que ligam a metaloporfirina ao suporte.

A imobilização da Me(TFPP)Cl nos suportes aminofuncionalizados foi realizada pela reação de substituição nucleofílica do átomo de flúor em *para* no anel fenila da porfirina com o grupo amino do suporte.

Utilizando as porfirinas Mn(TFPP)Cl e Fe(TFPP)Cl e os diferentes materiais como suporte foi possível avaliar alguns parâmetros que influenciam na eficiência da catálise tais como: natureza do suporte, distância da metaloporfirina à superfície do suporte e o metal presente no macrociclo porfirínico.

Os resultados catalíticos com estes materiais, bem como com as metaloporfirinas em solução para comparação, na oxidação da CBZ são mostrados na Tabela 21.

Tabela 21. Resultados catalíticos das reações de oxidação da carbamazepina por PhIO e H_2O_2 catalisados por Mn(TFPP)Cl e Fe(TFPP)Cl em meio homogêneo e suportadas em matrizes aminofuncionalizadas.

REAÇÃO	CATALISADOR	RENDIMENTO (%) CBZ-EP	
		PhIO	H_2O_2
1	Fe(TFPP)Cl	100	Nd
2	FeSil1	Nd	Nd
3	FeSil2	2	Nd
4	FeMont1	Nd	3
5	FeMont2	Nd	3
6	Mn(TFPP)Cl	86	13
7	MnSil1	41	6
8	MnSil2	36	7
9	MnMont1	93	9
10	MnMont2	20	3

Condições: carbamazepina ($8,75 \times 10^{-6}$ mol); oxidante ($1,0 \times 10^{-5}$ mol); metaloporfirinas ($2,5 \times 10^{-7}$ mol); co-catalisador (imidazol- $7,5 \times 10^{-6}$ mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

Pode-se observar na Tabela 21 que todos os catalisadores ativos em meio homogêneo ou suportados foram seletivos para a formação do epóxido (CBZ-EP), com rendimentos de até 93 % e 100 %, respectivamente para MnMont1 e

FeTFPP. Resultados semelhantes já foram reportados utilizando metaloporfirinas carregadas em solução aquosa, com rendimentos de 75 a 80 % de epóxido com o uso de $KHSO_5$ como oxidante [Bernadou et al., 1994].

Como pode ser observado na Tabela 21, os catalisadores Mn(TFPP)Cl suportados são bastante eficientes para catalisar a epoxidação da carbamazepina pelo PhIO. Os rendimentos são geralmente menores e a reação é mais lenta com com o catalisador sólido quando comparado à reação em solução. Estas são limitações naturais dos sistemas catalíticos heterogêneos, devido à lenta difusão dos reagentes para o sítio catalítico e a baixa solubilidade do oxidante no meio. Apesar destas limitações, a MnMont1 apresenta excelente eficiência catalítica superando a MnTFPP em solução.

Os resultados da Tabela 21 mostram que a atividade catalítica destes materiais exibe uma grande dependência em função do comprimento da cadeia carbônica ("braço") que liga a metaloporfirina ao suporte, como observado anteriormente na oxidação de hidrocarbonetos [Faria et al., 2004]. De maneira geral, "braços" longos são desfavoráveis por serem mais flexíveis e favorecem a bis-coordenação dos grupos amino livres do suporte ao metal central, bloqueando o sítio catalítico [Faria et al., 2008]. "Braços" de tamanho intermediário são melhores por manterem o catalisador fixo, mas não tão próximo da superfície sólida, favorecendo a aproximação do fármaco ao sítio ativo, sem a desvantagem do efeito estéreo do suporte que poderia dificultar a aproximação do substrato. Assim, a argila Montmorillonita de "braço" menor (MnMont1) levou a um melhor rendimento (93 %, Tabela 21) que a MnMont2, com "braço" mais longo (20 %, Tabela 21). Da mesma forma, o rendimento da MnSil1 foi maior que a MnSil2. Também a natureza do suporte tem grande influência na catálise, como pode ser observado comparando-se os resultados do catalisador na MontX e SilX. A montmorillonita, mais hidrofóbica, favorece a aproximação do substrato, menos polar, ao sítio catalítico. No caso do "braço" maior este efeito não é significativo, uma vez que a manganês porfirina se encontra mais distante do suporte.

O H_2O_2 não foi eficiente para a epoxidação da carbamazepina nestes sistemas. A atividade deste oxidante é limitada pela decomposição em água e

oxigênio molecular, catalisada pela metaloporfirina. O uso de metaloporfirinas suportadas têm levado a um favorecimento desta decomposição pelo suporte inorgânico. Esse comportamento poderia explicar o pequeno número de sistemas catalíticos reportados envolvendo metaloporfirinas suportadas e peróxido de hidrogênio [Schiavon et al., 2001; Benedito et al., 2003; Nakagaki et al., 2002; Ferreira et al., 2006; Costa et al., 2008]. Este oxidante também pode coordenar ao metal central da porfirina e sofrer uma cisão homolítica da ligação O-O do peróxido, que leva à formação de radicais $RO^{\cdot}$ e de intermediários pouco reativos, Mn^{IV}(OH)porp ou Fe^{IV}(OH)porp, os quais resultam em baixo rendimento de epoxidação [Nam et al., 2004].

Observa-se na Tabela 21 que a Fe(TFPP)Cl em meio homogêneo foi o catalisador mais eficiente, com 100 % de rendimento de CBZ-EP. Contrariamente, as ferroporfirinas suportadas são ineficientes para catalisar a reação de epoxidação da carbamazepina. Estes mesmos catalisadores sólidos levam a rendimentos da ordem de 90 % na reação de oxidação do cicloocteno e estireno, mostrando que são bons catalisadores para outros substratos [Faria et al., 2008]. Uma reação controle foi realizada com a Fe(TFPP)Cl ancorada em um filossilicato híbrido de magnésio aminofuncionalizado, já reportado na literatura, sendo bastante eficiente na oxidação de alcanos e alcenos [Faria et al., 2004]. Também com estes sistemas os resultados para oxidação da carbamazepina continuaram sendo inferiores a 5 %.

Quando as ferroporfirinas suportadas foram utilizadas como catalisadores, observou-se a modificação instantânea da coloração da solução após a adição de iodosilbenzeno ao frasco de reação, que passou de amarelada para lilás e em seguida, adquiriu um tom esverdeado. Após 24 h a coloração voltou à tonalidade inicial. Estudos espectroscópicos foram realizados utilizando a Mont1 branco misturada à uma solução de ferroporfirina e CBZ em acetonitrila. Observou-se o deslocamento da banda Soret da ferroporfirina de 407 nm para 420 nm (Figura 56). Este deslocamento é característico da redução de Fe(III)porf a Fe(II)porf que geralmente ocorre na presença de excesso de base nitrogenada. É bem documentado na literatura que a adição de bases nitrogenadas, tais como

imidazol, à solução de Fe(III)porf alto spin pode levar à formação de complexos hexa-coordenados de ferro(II) baixo spin, principalmente na ausência de ar. Esta redução também tem sido observada no nosso grupo para outros sistemas suportados [Cooke et al., 1995]. Pode-se concluir então que, embora a ferroporfirina não esteja suportada através da coordenação pelo ferro, esta coordenação provavelmente está ocorrendo com grupos NH_2 livres da sílica e da CBZ, o que provocaria a redução do íon Fe(III) mesmo na presença de ar. Esta redução explica a ausência de atividade catalítica desta ferroporfirina quando suportada na oxidação da CBZ.

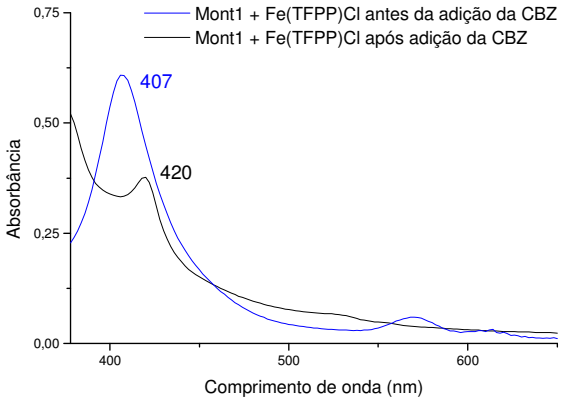


Figura 56. Espectro da mistura do suporte Mont1 e Fe(TFPP)Cl antes e depois da adição de carbamazepina.

Com a ferroporfirina na forma Fe(II)porf, a oxidação por PhIO leva à Fe^{IV}(OH)porf ou Fe^{IV}(O)porf, espécies pouco eficientes para epoxidação do substrato [Nam et al., 2004].

Observou-se que a atividade catalítica das metaloporfirinas aminofuncionalizadas na oxidação da CBZ é dependente do metal, natureza do suporte e comprimento da cadeia que liga o catalisador ao suporte. Portanto, esses são parâmetros que podem ser otimizados para potencializar a ação catalítica destes sistemas.

IV.3.B- Primidona

IV.3.B.1 - Desenvolvimento de método de análise da primidona e seus produtos de oxidação

Para a análise dos produtos de oxidação da primidona é necessário extrair estes compostos do meio de reação, pois não se pode injetar na coluna cromatográfica complexos metálicos, uma vez que esses compostos podem interagir com o material da coluna, danificando-a. A extração foi realizada levando-se a solução à secura, e solubilizando o resíduo em uma solução composta de água e acetonitrila, na proporção de 90:10 (v/v), seguida de filtração do extrato. O catalisador de Jacobsen não é solubilizado neste meio e fica retido no filtro.

Para verificar a eficiência do método de extração e, conseqüentemente, do método de análise, foram preparadas soluções de concentração conhecida de primidona (PRM) e dos padrões dos possíveis produtos de oxidação, fenobarbital (FENO) e feniletilmalonamida (PEMA), e injetou-se no CLAE após o processo de extração. A PRM, FENO e PEMA apresentaram recuperações de 93 %, 89 % e 95 %, respectivamente, estando de acordo com os valores aceitos para validação analítica.

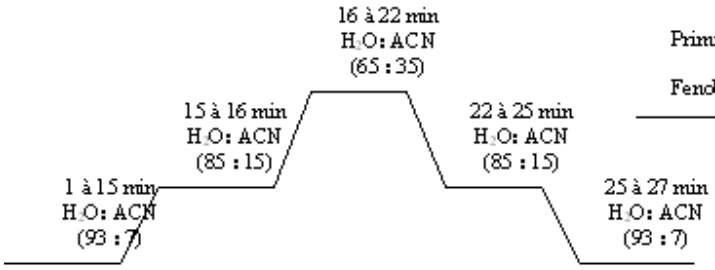
A otimização das condições de separação cromatográficas (CLAE-UV) foi realizada com soluções padrão da PRM, FENO e PEMA. A fase móvel foi variada quanto à proporções de acetonitrila e água Milli-Q em condições isocráticas, ou seja, a composição da fase móvel permanece constante durante a análise. A eluição isocrática é normalmente preferida à gradiente (composição da fase móvel varia durante a análise) devido a uma série de desvantagens atribuídas ao uso de gradiente, tais como: o tempo de análise é prejudicado pelo tempo que deve ser concedido para reequilíbrio da coluna, resultando em problemas com a estabilidade da linha de base; o desenvolvimento e a otimização são mais complexos, pois têm um número maior de variáveis a serem examinadas; a transferência de método é complicada, pois as diferenças entre equipamentos podem afetar a separação conseguida. Entretanto, verificou-se que a eluição

isocrática não era adequada, pois não foi possível separar os picos de todos os analitos. A mistura de reação apresentou muitos picos, possivelmente de metabólitos desconhecidos, que se sobrepuseram em todas as diferentes proporções de fase móvel utilizadas. Assim, apesar dos problemas inerentes foi necessária a utilização da eluição gradiente, aumentando-se a força da fase móvel durante a separação cromatográfica. A escolha do gradiente foi realizada por tentativas, variando-se as proporções de água Milli-Q e acetonitrila durante a análise, visando à resolução cromatográfica de todos os picos. Verificou-se que o metabólito PEMA e produtos desconhecidos mais polares que a primidona interagiam pouco com a coluna, sendo eluindo rapidamente, ocorrendo sobreposição dos picos. Para aumentar a interação destes compostos mais polares com a fase estacionária diminuiu-se o caráter apolar da fase móvel. A porcentagem ótima de ACN na mistura foi de 7 % nos primeiros 15 minutos. No entanto, o metabólito FENO apresentou maior interação com a coluna nestas condições, sendo eluído tardiamente, e aumentando o tempo de análise. Assim, optou-se por aumentar o caráter apolar da fase móvel de forma lenta e gradual, para que a variação da linha de base não prejudicasse a análise. Ao final o equilíbrio da coluna era reestabelecido com o retorno da proporção de ACN para a condição inicial de 7 %. Nestas condições, o tempo de análise foi de 27 min. A Tabela 22 mostra a variação da fase móvel no decorrer da análise e o tempo de retenção dos padrões dos produtos e da primidona.

Tabela 22. Esquema de separação dos produtos de oxidação da primidona por CLAE-UV.

Método de Análise dos produtos de oxidação da Primidona

- Temperatura 30 °C
- Tempo de Análise = 27 min



Composto	*tempo de retenção (min)*
Feniletilmalonamida	6.1
Primidona	14.4
Fenobarbital	21.6

A condição ótima para análise da primidona e seus metabólitos foi obtida utilizando-se uma coluna C_{18} (Merck) de 125x4 mm e fase móvel água Milli-Q e ACN em eluição gradiente, fluxo à 1 mL/min e detecção em 210 nm, na temperatura de 30 ºC.

O cromatograma obtido de uma alíquota da solução equimolar da primidona e dos padrões, Figura 57, ilustra a boa separação dos compostos em tempo de análise relativamente curto (27 min). A eluição do PEMA (t_r = 6,1 min), PRM (t_r= 14,4 min) e FENO (t_r= 21,6 min) está em ordem decrescente de polaridade e concorda com a apresentada na literatura [Ferranti et al., 1998].

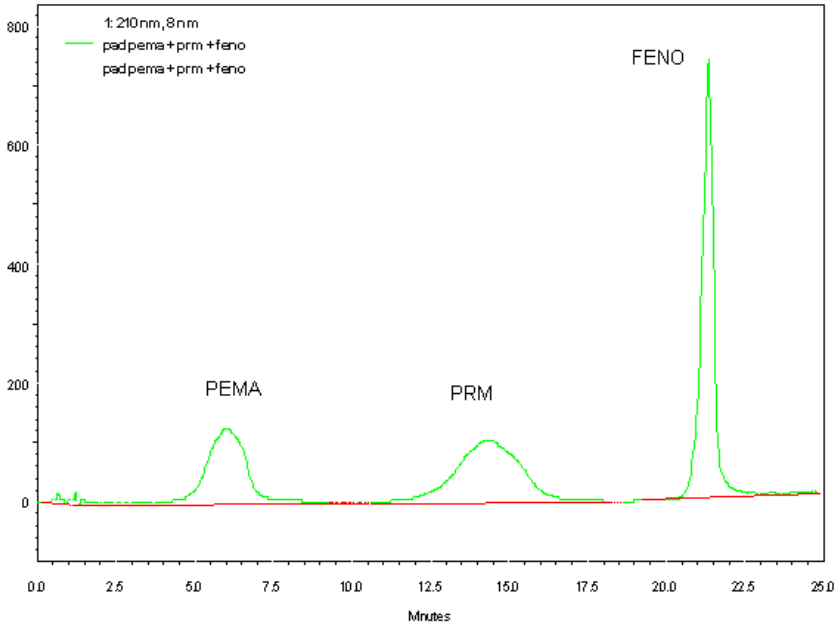


Figura 57. Cromatograma da mistura equimolar da PRM e padrões – condições de análise conforme Tabela 22.

Para a padronização do método de análise por CLAE-UV foram preparadas 5 soluções de concentrações diferentes e conhecidas de cada padrão. Essas soluções foram submetidas ao processo de extração. Após este processo, cada solução foi injetada no CLAE e os valores das áreas de cada padrão foram utilizados para se construir os gráficos de área *versus* concentração (mol L^{-1}), para cada um dos produtos de oxidação conhecidos (Figura 58 e 59).

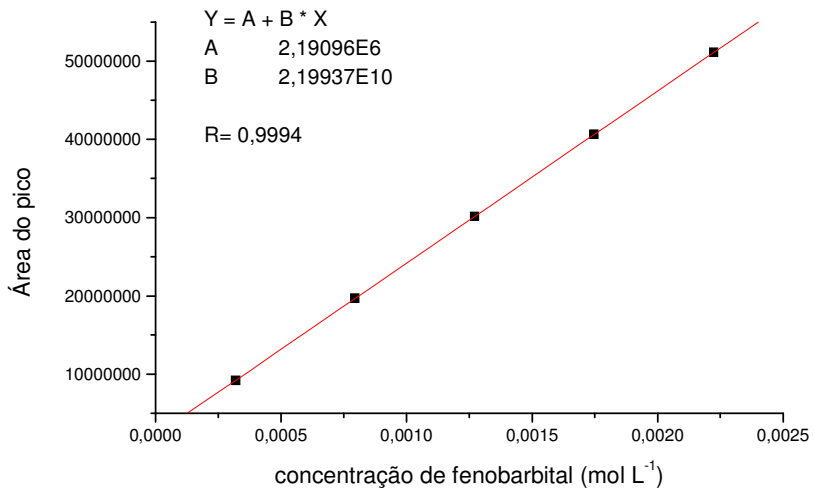


Figura 58. Curva de calibração para o fenobarbital (FENO).

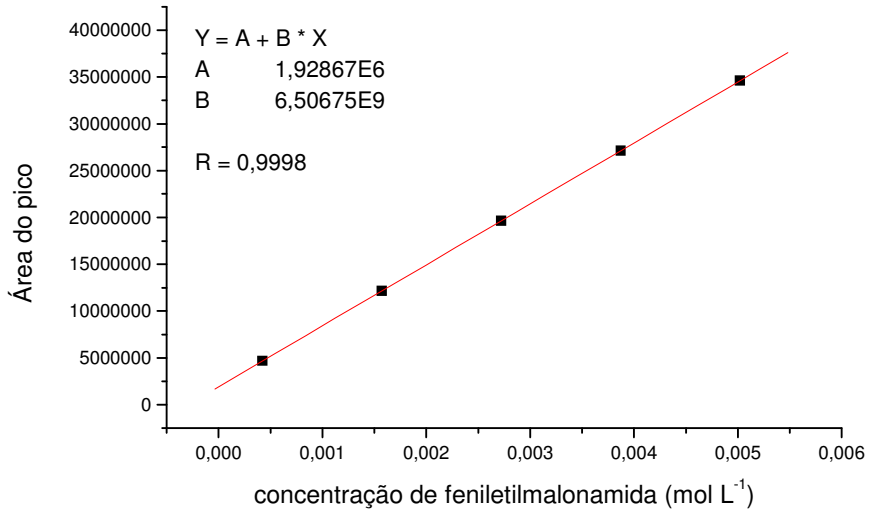


Figura 59. Curva de calibração para a feniletilmalonamida (PEMA).

Através da equação da reta, $y = a + bx$, onde y representa a área x a concentração em mol L^{-1}, a coeficiente linear e b coeficiente angular, foi possível definir a expressão matemática para se determinar a concentração de cada produto de uma solução desconhecida, conforme abaixo:

A equação da reta obtida na padronização de fenobarbital é:

$$A_p = 2{,}19.10^6 + 2{,}20.10^{10} . [FENO]$$

$$[FENO] = (A_p - 2{,}19.10^6)/ 2{,}20.10^{10}$$

A equação da reta obtida na padronização de feniletilmalonamida é:

$$A_p = 1{,}93.10^6 + 6{,}06.10^9 . [PEMA]$$

$$[PEMA] = (A_p - 1{,}93.10^6)/ 6{,}06.10^9$$

IV.3.B.2 - Estudo da oxidação da primidona catalisada pelo Mn(salen) e metaloporfirinas

Na oxidação da primidona *in vivo* são gerados os metabólitos fenobarbital (FENO) e feniletilmalonamida (PEMA), como mostrados na Figura 60 [Lafont et al., 1990; Ferranti et al., 1998].

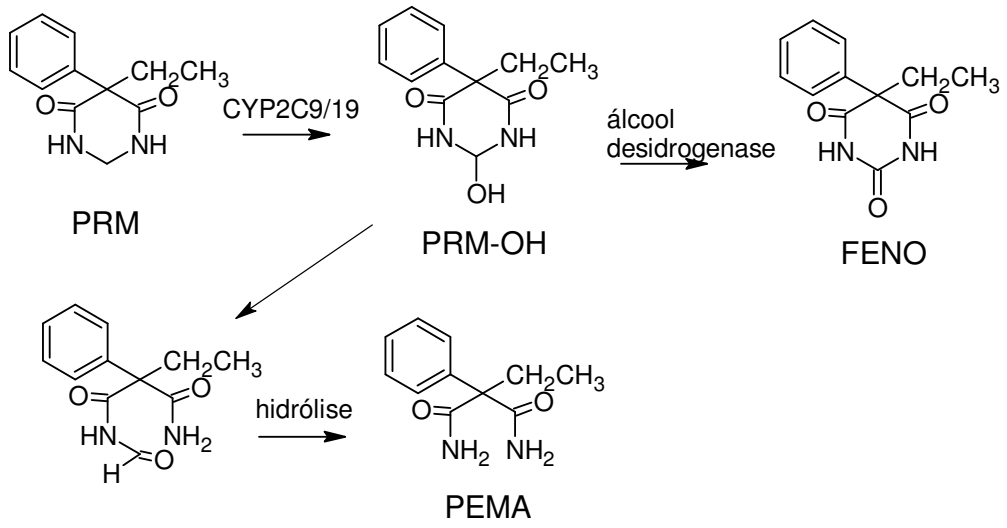


Figura 60. Metabolismo *In vivo* da primidona, PRM: primidona, PRM-OH: 2-hidroxiprimidona, FENO: fenobarbital e PEMA: fenilethilmalondiamida.

O estudo de oxidação da primidona, catalisado pelo catalisador de Jacobsen e metaloporfirinas (Figura 61) foi realizado utilizando PhIO, *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 como oxidantes, em meio de acetonitrila. A proporção molar

catalisador **:** oxidante **:** substrato utilizada nas reações foi de 1 : 40 : 35, com 6,0. 10^{-7} mol do catalisador.

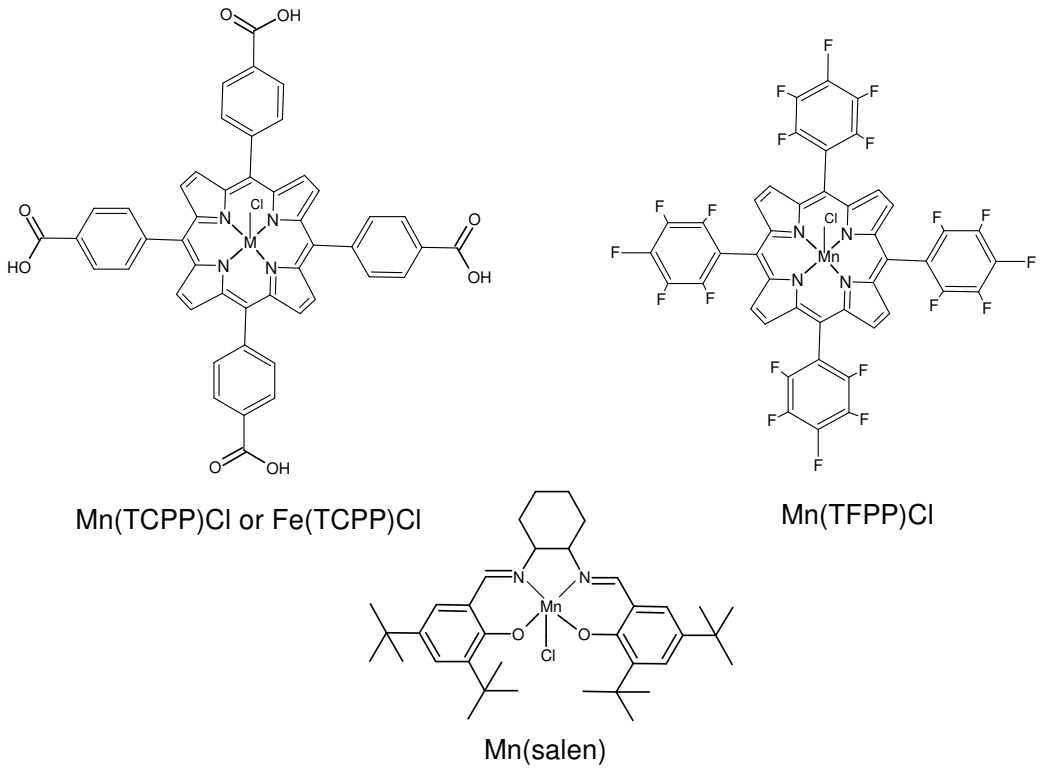


Figura 61. Metaloporfirinas e complexo salen utilizados neste estudo.

A Tabela 23 mostra os resultados catalíticos após 6 h de reação na presença do catalisador de Jacobsen. Os rendimentos dos produtos desconhecidos foram estimados assumindo-se a média do fator de resposta da primidona, fenobarbital e PEMA.

Tabela 23. Resultados catalíticos obtidos na oxidação da primidona por diferentes oxidantes (PhIO, *m*-CPBA, *t*-BOOH, H_2O_2), na presença do Mn(salen), em meio de acetonitrila

Reação	Produto	PhIO R(%)	*m*-CPBA R (%)	*t*-BOOH R (%)	H_2O_2 R (%)
1	PEMA	traços	31	23	27
2	FENO	19	2	9	5
3	PD 1	nd	12	14	14
4	PD 2	6	nd	nd	nd
5	PD 3	traços	traços	traços	traços

Condições: catalisador:substrato:oxidante= 1:40:35; Reações controle (ausência de catalisador): nd; tempo de reação: 6 h; nd: não detectado; PD: produto desconhecido. R (%) baseado no substrato.

Observa-se na Tabela 23 a dependência do oxidante nos rendimentos e na distribuição de produtos. O PhIO conduz à formação preferencial do fenobarbital (19 %) e traços de PEMA (Tabela 23, Figura 62). Os oxidantes *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 geraram o metabólito PEMA com até 31 % de rendimento e pequenas quantidades de fenobarbital (Tabela 23, Figura 63). A formação de fenobarbital pode ser explicada pela oxidação do grupo metileno situado entre os dois átomos de nitrogênio. Esta oxidação ocorre via um intermediário de álcool secundário no metabolismo *in vivo*. Este mesmo intermediário pode favorecer a clivagem do anel pirimidínico, com descaboxilação oxidativa do carbono localizado entre os nitrogênios, formando o metabólito PEMA, como observado nas reações *in vivo* (Figure 60) [Lafont et al., 1990].

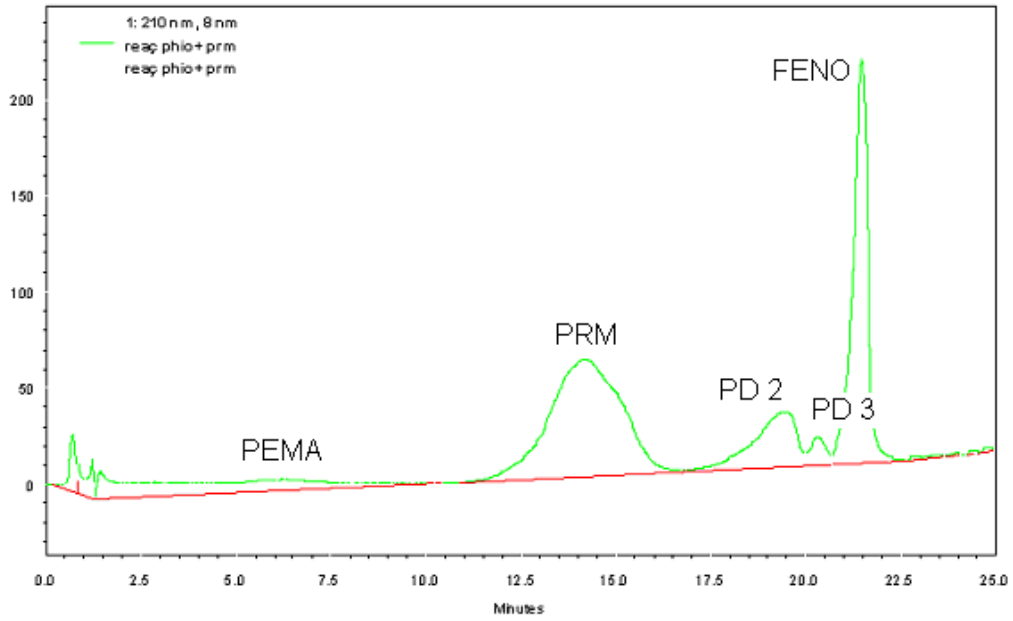


Figura 62. Cromatograma da reação de oxidação da primidona por iodosilbenzeno na presença do Mn(salen), acetonitrila e água como fase móvel e eluição por gradiente, detecção em 210 nm.

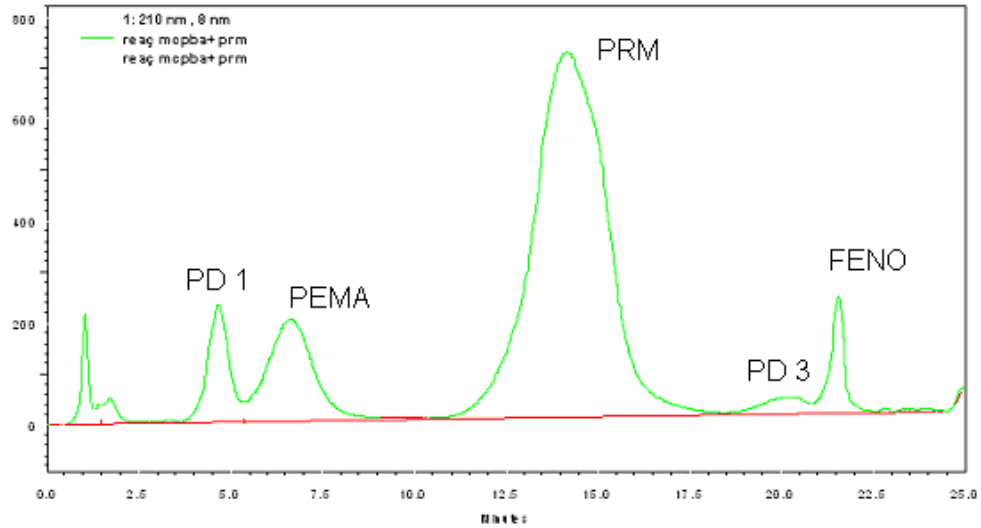


Figura 63. Cromatograma da reação de oxidação da primidona por H_2O_2 na presença do Mn(salen), acetonitrila e água como fase móvel e eluição por gradiente, detecção em 210 nm.

Além dos metabólitos FENO e PEMA, verificou-se também a formação de três produtos desconhecidos na oxidação da PRM, os quais foram inicialmente denominados PD 1, PD 2 e PD 3, de acordo com a ordem de eluição. Os produtos de oxidação foram isolados e analisados por espectrometria de massas (GC-MS). O PD 1 correspondeu ao segundo produto em maior abundância nos sistemas catalíticos utilizando os peróxidos como oxidantes (Tabela 23). O espectro de massas deste composto apresenta sinal m/z 163 e padrão de fragmentação correspondente ao composto 2-fenilbutiramida, PBA (Tabela 24, Figura 64). Esse produto já havia sido identificado anteriormente por Foltz et al. como um menor metabólito da primidona em sistemas biológicos [Foltz et al., 1972]. O produto desconhecido 2 (PD 2) mostrou no espectro de massas um pico com razão m/z 162 e padrão de fragmentação coincidente com a γ-fenil-γ-butirolactona, BL (Tabela 24, Figura 65), também já detectado anteriormente em pacientes que apresentaram toxicidade com a primidona [Andresen et al., 1976; Andresen et al., 1977; Cavé et al., 1986; Lafont et al., 1990]. Não foi possível a identificação do produto desconhecido 3, pois ele é formado em níveis de traços, dificultando a detecção do espectrômetro de massas.

Tabela 24. Principais fragmentos detectados por CG/MS dos produtos PD 1 (PBA) e PD 2 (BL) gerados durante a oxidação da primidona

Composto	***Ion molecular***	***Fragmentos (m/z)***
PD 1 (PBA) (2-fenilbutiramida)	163	163(17%),148(7%),135(24%),119(20%), 91(100%), 78(12%),65(10%)
PD 2 (BL) (γ-fenil-γ-butirolactona)	162	162(100%),133(10%),117(69%),107(98%), 91(33%),77(72%),56(100%), 51(52%)

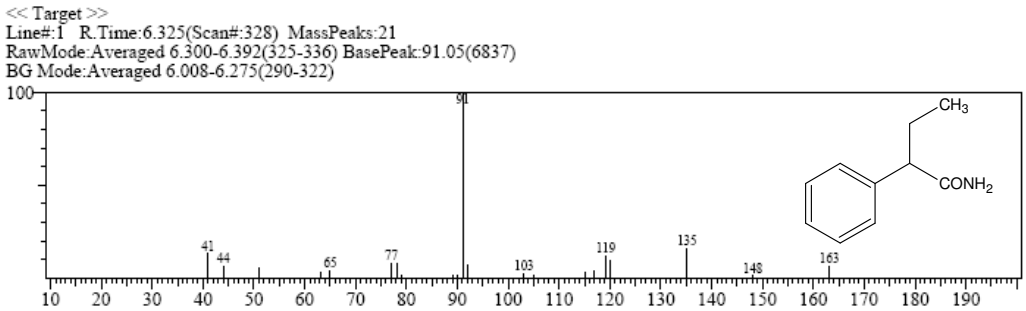


Figura 64. Espectro de massas do produto PD 1, identificado como 2-fenilbutiramida.

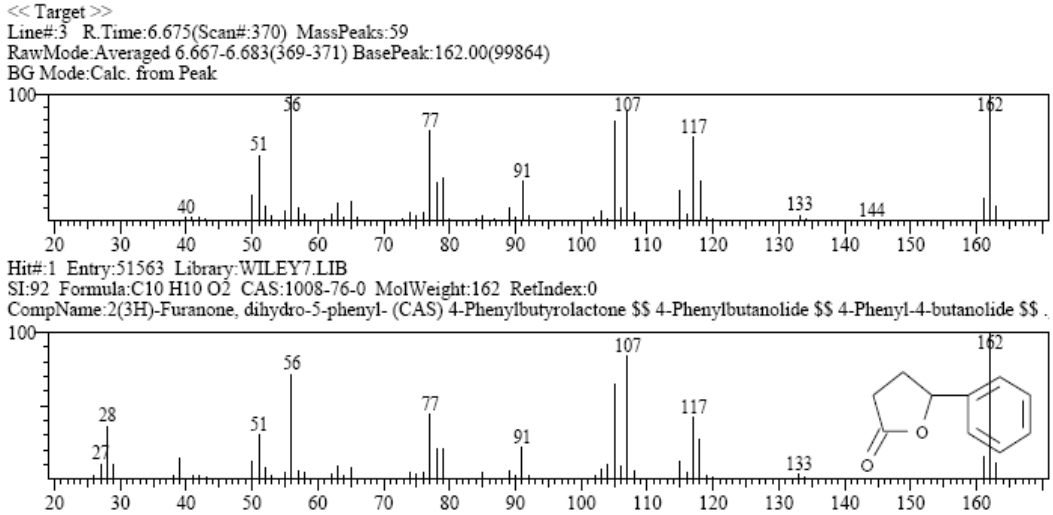


Figura 65. Espectro de massas do produto PD 2, identificado como γ-fenil-γ-butirolactona.

Na tentativa de compreender o mecanismo de formação dos vários produtos de oxidação da primidona, catalisada pelo complexo salen, foram avaliadas algumas variáveis de reação como quantidade de oxidante, O_2, presença do ligante imidazol e pH.

A Tabela 25 mostra o rendimento total (R %) das reações de oxidação da primidona por PhIO e *t*-BOOH, na presença de excesso de oxidante em relação ao substrato (relação molar 1:150:30 de catalisador:oxidante:substrato). A Figura 66 mostra a distribuição relativa dos produtos, em porcentagem.

Tabela 25. Rendimento total das reações de oxidação da PRM catalisada pela complexo salen na condição de excesso de oxidante, em meio de acetonitrila

Reação	***Oxidante***	***R (%)***
1	PhIO[1]	26
2	PhIO[2]	22
3	*t*-BOOH[1]	45
4	*t*-BOOH[2]	58

Condições: Rendimento (%) baseado na quantidade de substrato, após 6 h de reação; [1] Relação molar 1: 40:35 de catalisador:oxidante:substrato. [2] Relação molar 1: 150:30 de catalisador:oxidante:substrato.

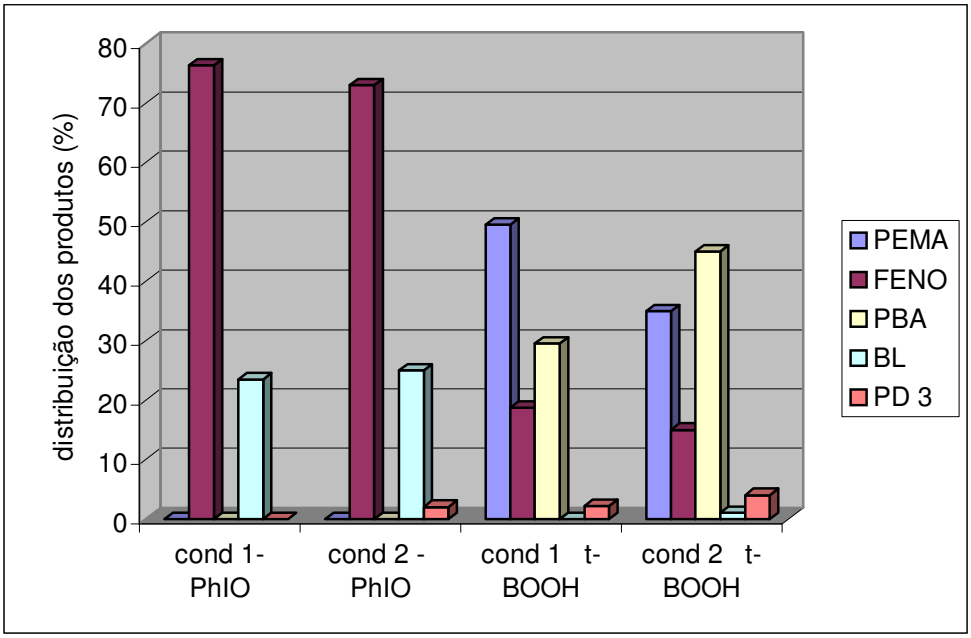


Figura 66. Distribuição (em porcentagem) dos produtos de oxidação da PRM, catalisadas pelo complexo salen, utilizando PhIO e *t*-BOOH como oxidantes nas condições padrão (1) e na condição de excesso de oxidante (2).

Verifica-se que o excesso de PhIO leva a um decréscimo no rendimento total das reações, provavelmente devido à reação competitiva de desproporcionamento catalisado do PhIO. Ao contrário, o excesso de *t*-BOOH resultou em um aumento do rendimento total da reação, como esperado.

Alterações na distribuição relativa dos produtos em função da quantidade de oxidante foi observada somente para o sistema Mn(salen)/*t*-BOOH. Excesso de *t*-BOOH, resultou em aumento na porcentagem do PBA e diminuição do PEMA (Figura 66), indicando a provável oxidação adicional do PEMA a PBA, favorecida pelo excesso de oxidante.

Para os sistemas envolvendo metaloporfirinas e complexos salen, ligantes nitrogenados como imidazol (Im) agem como co-catalisadores, como já discutido anteriormente (item IV.3.A.4).

A Figura 67 mostra o gráfico da distribuição relativa dos produtos, em porcentagem, na presença e ausência do imidazol, utilizando *t*-BOOH como doador de oxigênio.

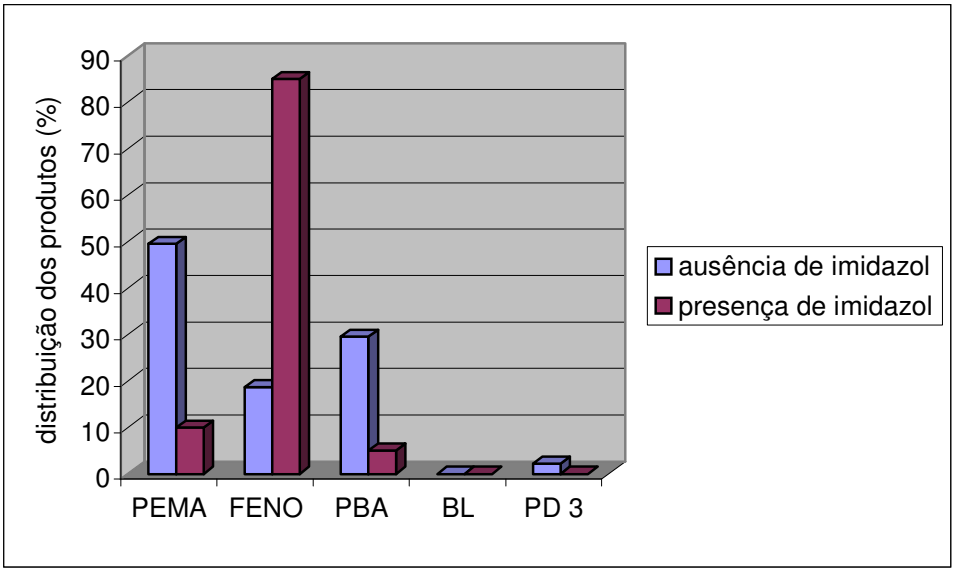


Figura 67. Distribuição em porcentagem dos produtos formados na oxidação da PRM no sistema Mn(salen)/*t*-BOOH, nas condições padrão, e na presença de imidazol.

A presença do ligante nitrogenado praticamente não alterou o rendimento total das reações para o sistema estudado (45 % e 48 % na ausência e presença do imidazol, respectivamente). Em termos da distribuição de produtos (Figura 67),

os resultados catalíticos na presença do imidazol trouxeram informações importantes quanto ao mecanismo da reação.

Verificou-se que o imidazol favoreceu a formação do metabólito FENO, com concomitante diminuição na quantidade dos compostos PEMA e PBA. Esses resultados mostram que os dois produtos PEMA e FENO são formados por mecanismos distintos e competitivos, envolvendo diferentes espécies catalíticas. Provavelmente o FENO é formado via espécie Mn^{V}(O)salen, a qual é estabilizada na presença do ligante nitrogenado, e o PEMA é formado via intermediário Mn^{IV}(O)salen, o qual é formado pela redução do intermediário Mn^{V}(O)salen na ausência do ligante nitrogenado, conforme discutido anteriormente.

Com o objetivo de investigar a ocorrência de mecanismos radicalares foi estudada a atividade catalítica do sistema Mn(salen)/*t*-BOOH na ausência de O_2, (utilizando atmosfera de argônio). Em sistemas com baixa concentração de oxigênio espera-se uma diminuição de reações radicalares paralelas e maior formação de produtos gerados via intermediários metal-oxo. O *t*-BOOH foi escolhido como padrão para os estudos em atmosfera de argônio pois este oxidante, ao coordenar ao metal central do salen, tende a sofrer a cisão homolítica da ligação O-O do peróxido, que é facilitada pela presença dos grupos *t*-butil doadores de elétrons pelo efeito indutivo, gerando produtos radicalares [Mac Leod et al., 2006].

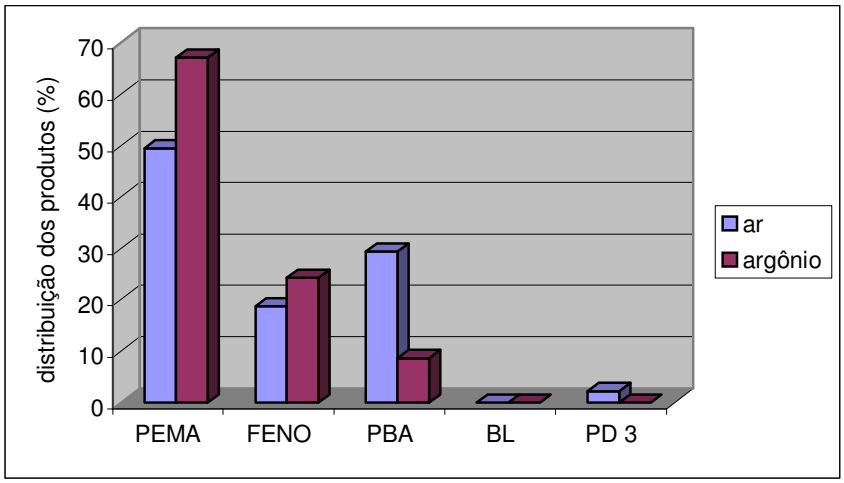


Figura 68. Distribuição dos produtos (em porcentagem) formados na oxidação da PRM por *t*-BOOH na presença do catalisador de Jacobsen, em ACN, em atmosfera de oxigênio (ar) e sob atmosfera de argônio.

Nenhuma alteração foi observada nos rendimentos totais das reações na presença e ausência de O_2. Entretanto, em termos de distribuição dos produtos da reação verifica-se, no gráfico da Figura 68, que houve um aumento no rendimento do PEMA e diminuição do PBA na ausência de O_2. Esses resultados indicam que o PBA é formado via mecanismo radicalar, iniciado pela cisão homolítica da ligação O-O do peróxido e propagado pelo O_2 do meio.

Devido ao PEMA e FENO serem gerados a partir de um mesmo intermediário no metabolismo *in vivo* (Figura 60), e relatos da literatura de que a preparação destes compostos envolve diferentes condições de pH [Lafont et al., 1990], a influencia do pH foi avaliada na formação dos produtos no sistema estudado.

Observa-se na Figura 69 a forte dependência do pH na distribuição de produtos. Em pHs ácidos (pH 2 e pH 4), o PBA foi formado preferencialmente na reação, indicando que este produto poderia ser gerado a partir da hidrólise ou decomposição do intermediário PRM-OH em meio ácido. Observa-se também que o metabólito fenobarbital foi obtido em maior quantidade quando comparado com o PEMA, uma vez que o meio ácido favorece a oxidação adicional do intermediário PRM-OH. À medida que o pH aumenta, o PEMA se torna o principal produto de

reação e o a quantidade de fenobarbital diminui consideravelmente, comprovando que a hidrólise alcalina do intermediário PRM-OH é um mecanismo importante para a formação do PEMA.

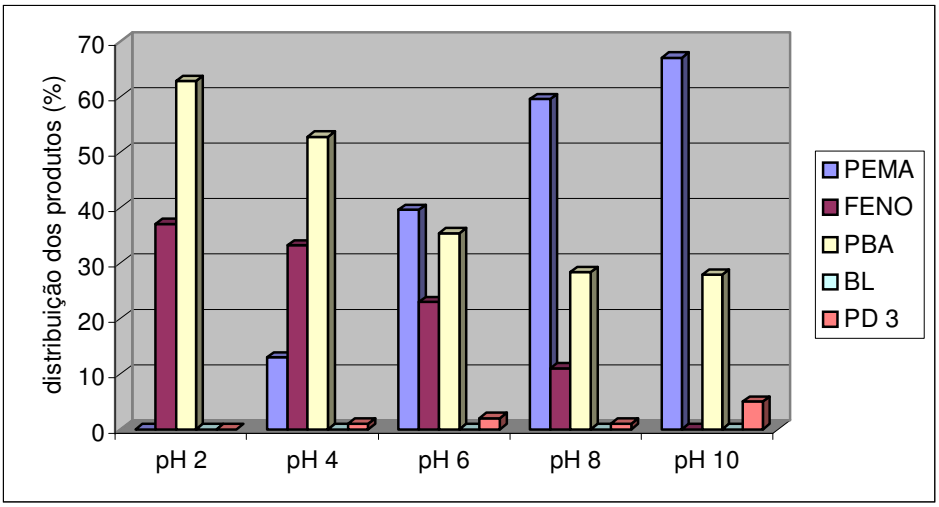


Figura 69. Distribuição dos produtos (em porcentagem) formados na oxidação da PRM por *t*-BOOH, na presença do catalisador de Jacobsen, em meio de ACN, em diferentes pHs.

Em termos de rendimento total de produtos da oxidação da primidona, observou-se que o meio básico favorece maior conversão da primidona (65 % em pH 10 contra 47 % em pH 2). Experimentos controle na ausência de catalisador (branco de reação) em diferentes pHs mostraram que em meio ácido não ocorreu a formação de produtos, e em meio básico observaram-se conversões de 5 % da primidona em PEMA.

Foram realizadas reações em pH 2 e pH 10 utilizando iodosilbenzeno como oxidante, para verificar se estas distribuições de produtos estavam relacionadas com o oxidante. No entanto, também com PhIO observou-se o mesmo perfil de distribuição, ou seja, o PEMA é o principal produto em meio básico e o FENO prevalece em meio ácido.

Reações controle de oxidação do PEMA nas mesmas condições, levaram à formação de PBA (2-fenilbutiramida) como produto. Reações controle de oxidação

do FENO, nas mesmas condições levaram à produção de BL. Estes resultados levaram à conclusão de que o PEMA não é gerado a partir de degradação do FENO, e sua formação compete com a formação do FENO, como sugerido anteriormente.

Os resultados destes estudos levaram à proposta de um esquema de reação (Figura 70) para a oxidação da primidona catalisada pelo Mn(salen), a partir das seguintes observações:

i. Os produtos PEMA e PBA não são formados quando se utiliza o PhIO como oxidante, sendo obtidos apenas o FENO e BL (Figura 66).

ii. Excesso de oxidante leva a um aumento na produção de PBA, com uma concomitante diminuição na quantidade do PEMA para o sistema Mn(salen)/*t*-BOOH (Figura 66).

iii. A presença de imidazol para o sistema Mn(salen)/*t*-BOOH aumenta a seletividade para o FENO, e diminuição na quantidade de PEMA e PBA (Figura 67).

iv. Reações na ausência de O_2 levam à maior produção de PEMA e FENO e redução na formação do PBA (Figura 68).

v. Reações controle utilizando PEMA como substrato conduziram à formação do PBA.

vi. Reações controle utilizando FENO como substrato produziram BL e não produziram o PEMA.

Levando-se em consideração a observação *i* e *vi* conclui-se que os produtos PEMA e FENO são formados por mecanismos distintos e competitivos. O oxidante PhIO forma predominantemente o intermediário Mn^{V}(O)salen e os oxidantes peróxidos e perácidos podem formar dois intermediários, dependendo do tipo de clivagem (homolítica ou heterolítica). Os estudos das variáveis foram realizados com o oxidante *t*-BOOH, que sofre preferencialmente a clivagem homolítica devido aos grupos doadores *terc*-butil. Baseando-se nas observações *ii* e *v* conclui-se que o PBA é formado pela oxidação adicional do PEMA, uma vez que o excesso de oxidante favorece esta oxidação, com aumento de seletividade para o PBA. É possível propor também, baseando-se nas observações *iii* e *iv,* que

o FENO é formado a partir da espécie Mn^{V}(O)salen, pois esta espécie ativa é favorecida na presença de imidazol e atmosfera inerte; contrariamente o PBA é formado por via radicalar, como resultado da quebra homolítica da ligação O-O, formando radicais RO•, que é propagada pelo oxigênio presente no meio.

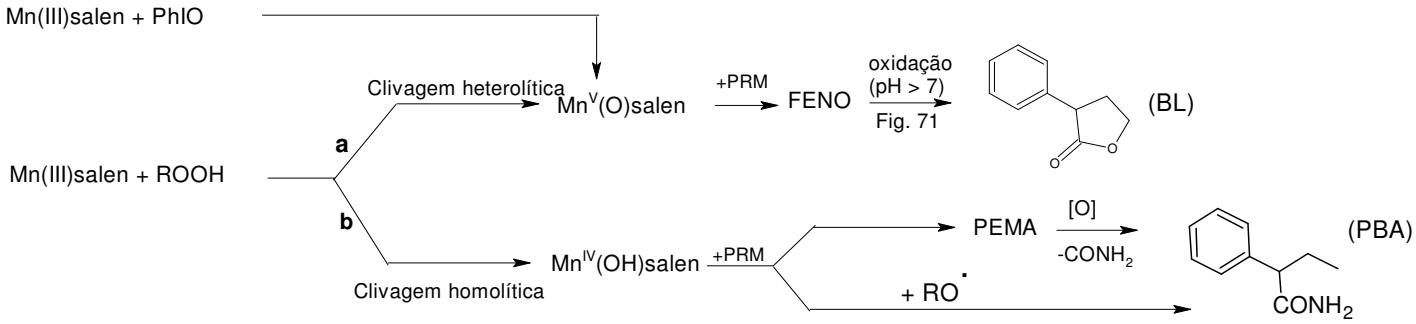


Figura 70. Esquema proposto para a oxidação da primidona catalisada pelo Mn(salen).

A formação da espécie Mn^{V}(O)salen depende da clivagem heterolítica da ligação metal-oxo. Este intermediário reage com a primidona com a transferência do oxigênio para formação do FENO (Figura 70, a). Este produto pode sofrer β-hidroxilação na cadeia etila, seguida da alcoólise do anel pirimidinatriona, formando o γ-fenil-γ-butirolactona (Figura 71) de maneira análoga ao observado por Al-Tarakji-Khalfhl et al. Em sistemas biológicos [Al-Tarakji-Khalfhl et al., 1993].

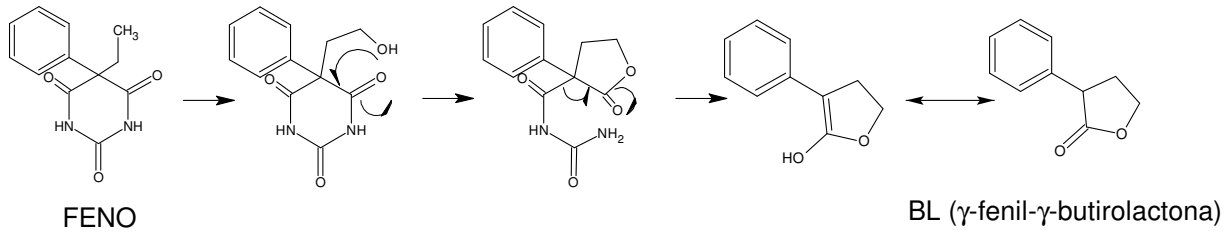


Figura 71. Mecanismo de formação do produto BL (γ-fenil-γ-butirolactona), adaptado de Al-Tarakji-Khalfhl et al. [Al-Tarakji-Khalfh et al., 1993].

A clivagem homolítica da ligação O-O do peroxo levaria à formação da espécie Mn^{IV}(OH)salen responsável pela produção do PEMA, que por sua vez pode sofrer oxidação adicional gerando o PBA (Figura 70, b). Este composto (PBA) também pode ser formado por mecanismos radicalares provenientes da presença de radicais RO• e/ou outros radicais que, associados ao oxigênio molecular, propagam a reação.

Metaloporfirinas também foram utilizadas na oxidação da primidona com a finalidade de comparar sua eficiência com aquela do complexo salen. Os resultados são mostrados nas Figuras 72 e 73, em termos de rendimento total da reação e distribuição de produtos, respectivamente.

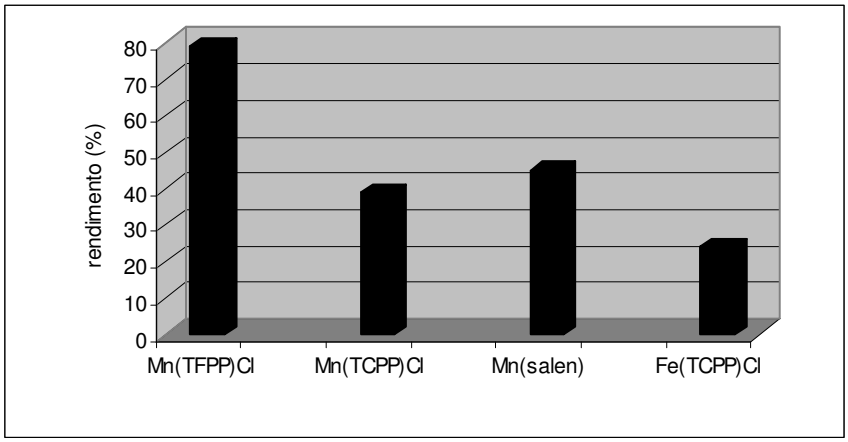


Figura 72. Rendimento total das reações de oxidação da PRM por *t*-BOOH catalisadas por sistemas porfirínicos e complexo salen, em meio de acetonitrila.

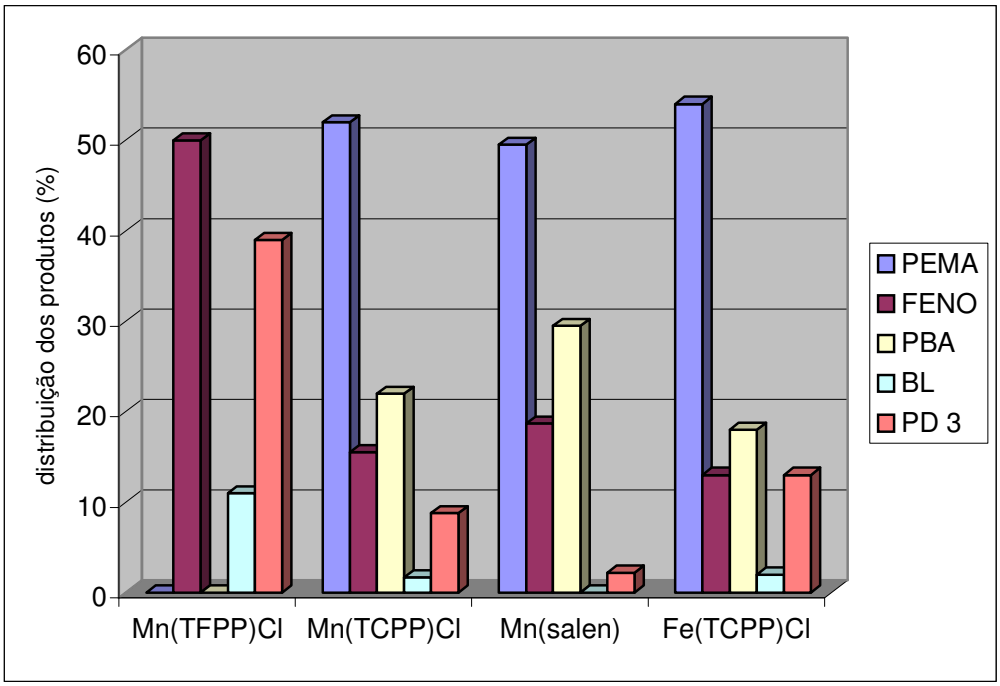


Figura 73. Distribuição dos produtos (em porcentagem) formados na oxidação da PRM por *t*-BOOH, utilizando diferentes catalisadores, em meio de acetonitrila.

Em relação aos rendimentos de reação, observa-se que a Mn(TFPP)Cl é o catalisador mais eficiente, gerando 79 % de produtos, sendo que 40 % corresponde ao fenobarbital. As metaloporfirinas carregadas negativamente, Mn(TCPP)Cl e Fe(TCPP)Cl, apresentaram rendimentos relativamente baixos, 39 % e 24 %, respectivamente, provavelmente devido à menor solubilidade da primidona em meio aquoso, no qual estes complexos são solúveis.

Todos os complexos metálicos estudados, exceto o Mn(TFPP)Cl, apresentaram um perfil de seletividade semelhante, com a formação preferencial de PEMA e menor quantidade de FENO, 2-fenilbutiramida e PD 3. A metaloporfirina Mn(TFPP)Cl destacou-se entre os demais, também na seletividade, gerando o FENO como maior produto, e não foi produzido o PEMA e o PBA.

Em relação ao íon metálico, observou-se que as manganês porfirinas foram mais eficientes que a ferroporfirina, como observado para outros sistemas estudados [Gunter e Turner, 1991]. O catalisador de Jacobsen foi menos eficiente

quando comparado com a metaloporfirina Mn(TFPP)Cl, entretanto o complexo salen é barato e de fácil síntese, além de ser mais seletivo para o PEMA, que é o principal metabólito da primidona nos sistemas naturais.

IV.3.B.3 - Oxidação da primidona utilizando o catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas (realizada em conjunto com Rosalva Marques e Prof. Dr. Marco A. Schiavon)

As membranas híbridas de PDMS/PVA foram avaliadas na oxidação da primidona utilizando o H_2O_2 e o *t*-BOOH como oxidantes. Os resultados são mostrados na Tabela 26.

Tabela 26. Resultados catalíticos para a oxidação da primidona utilizando catalisador de Jacobsen imobilizado nas membranas híbridas de PDMS/PVA

Reação	*Catalisador*	*Oxidante*	*Rendimento PEMA (%)*
1	Membrana 1 (10 % PVA)	H_2O_2	nd
2	Membrana 2 (15 % PVA)	H_2O_2	nd
3	Membrana 3 (20 % PVA)	H_2O_2	nd
4	Membrana 1 (10 % PVA)	*t*-BOOH	40
5	Membrana 2 (15 % PVA)	*t*-BOOH	42
6	Membrana 3 (20 % PVA)	*t*-BOOH	46
7	Membrana 1 (10 % PVA)*	H_2O_2	nd
8	Membrana 2 (15 % PVA)*	H_2O_2	nd
9	Membrana 3 (20 % PVA)*	H_2O_2	nd
10	Membrana 1 (10 % PVA)*	*t*-BOOH	66
11	Membrana 2 (15 % PVA)*	*t*-BOOH	69
12	Membrana 3 (20 % PVA)*	*t*-BOOH	82

Condições: primidona ($2,1 \times 10^{-5}$ mol); oxidante ($2,45 \times 10^{-3}$ mol); catalisador de Jacobsen ($1,25 \times 10^{-8}$ mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado; * indica que foi utilizado o dobro de massa da membrana polimérica, ou seja, $2,5 \times 10^{-8}$ mol de catalisador.

Observou-se que as membranas híbridas PDMS/PVA contendo o catalisador de Jacobsen foram eficientes quando o *t*-BOOH foi utilizado como oxidante, promovendo a oxidação seletiva da primidona em PEMA, que é o principal metabólito *in vivo*. Estes resultados indicam que as membranas de PDMS/PVA são excelentes modelos biomiméticos da enzima P450, devido à elevada seletividade para o PEMA.

O aumento da porcentagem de PVA promoveu melhores resultados com o *t*-BOOH (Tabela 26, reações 4-6), indicando que este oxidante apresentou maior afinidade pelas membranas mais polares. Entretanto, não foram observados produtos utilizando H_2O_2 como oxidante (Tabela 26, reação 1-3), devido a menor reatividade deste fármaco, que necessitaria de grande quantidade de peróxido de hidrogênio sorvido na membrana para favorecer a reação de oxidação frente à decomposição do peróxido.

Também foi avaliada a influência da quantidade de catalisador nos rendimentos de oxidação, tendo em vista que a reação ocorre no sítio catalítico localizado no interior da membrana polimérica. Reações utilizando uma quantidade maior de membrana (dobro de massa) levaram a um aumento de 65 a 78 % nos rendimentos de oxidação da primidona por *t*-BOOH (Tabela 26, reação 10-12), comprovando que a principal limitação do sistema é a quantidade de reagente que entra na membrana e chega até o sítio catalítico.

IV.3.C- Fluoxetina

IV.3.C.1 – Desenvolvimento de método de análise da fluoxetina e produtos de oxidação

Os produtos de oxidação da fluoxetina foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV) e identificados por cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (CG-MS), no laboratório da Universidade de Coimbra.

O método de separação cromatográfica (CLAE-UV) foi desenvolvido com solução padrão da fluoxetina e com a mistura de reação de oxidação deste fármaco, pois não havia soluções padrão de qualquer dos possíveis produtos de oxidação da fluoxetina. A fase móvel foi variada quanto à composição, proporções e fluxo, utilizando metanol, acetonitrila na presença e ausência de ácido acético, água Milli-Q sem a adição de sais ou tampão e na presença de acetato de amônio, em condições isocráticas. Verificou-se a necessidade da utilização do ácido acético e do acetato de amônio para estabilizar as espécies iônicas de interesse, tendo em vista que a fluoxetina é uma base (amina secundária), para que apresentasse um bom sinal cromatográfico.

O procedimento de pré-tratamento da amostra, ou seja, a extração dos catalisadores, não foi realizada devido à menor sensibilidade deste método de análise, como resultado da baixa absorção dos analitos no comprimento de onda utilizado, de 230 nm. Assim, a alíquota de reação foi injetada diretamente no CLAE-UV.

A condição ótima para análise da fluoxetina e seus produtos de oxidação foi obtida utilizando-se uma coluna C_{18} (Merck) de 125x4 mm e fase móvel constituída de uma solução aquosa de acetato de amônio, na concentração 20 mmol L^{-1}, e acetonitrila contendo 1 % em volume de ácido acético, na proporção 59:41 (v/v), em condição isocrática, fluxo à 0,8 mL/min e detecção UV em 230 nm na temperatura 30 ºC. A Figura 74 corresponde a um cromatograma de uma mistura de reação, mostrando que o método desenvolvido resultou em uma boa

separação dos produtos de oxidação, que foram posteriormente identificados por CG-MS.

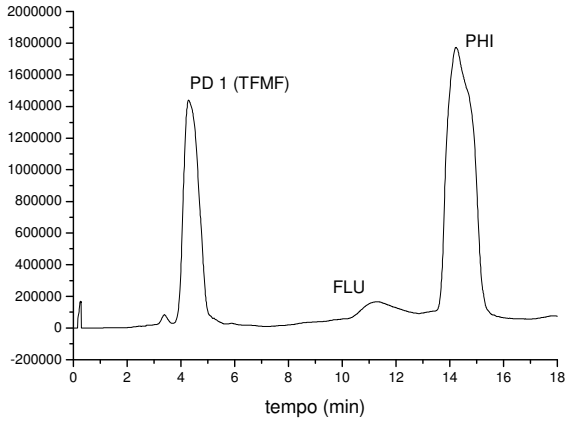


Figura 74. Cromatograma da mistura da reação de oxidação da fluoxetina por PhIO.

A otimização das condições de separação cromatográficas para análise por CG-MS foi realizada com solução-padrão da fluoxetina e com uma alíquota da mistura de reação. Dentre as condições avaliadas, a que proporcionou uma boa separação de todos os produtos foi: programa de aquecimento da coluna (HP5-MS: 15 m x 0.25mm x 0.25 µm) temperatura inicial em 100 ºC até 4 min, com aquecimento linear à velocidade de 30 ºC/min até 280 ºC durante 20 min, e temperatura do injetor e detector de 200 ºC e 250 ºC respectivamente, no modo de ionização por impacto eletrônico (Figura 75).

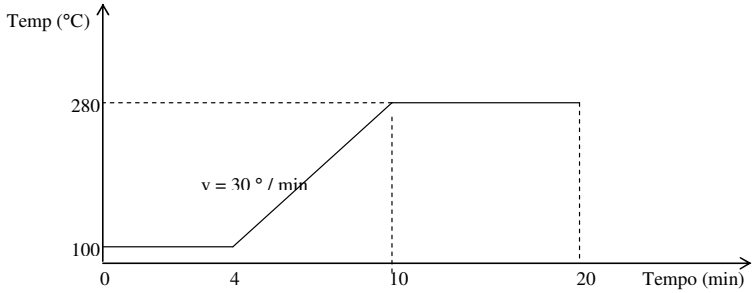


Figura 75. Esquema da variação da temperatura em função do tempo de análise da fluoxetina e seus produtos por CG-MS.

IV.3.C.2 - Estudo da oxidação da fluoxetina catalisada pelo Mn(salen), monitorado por CLAE-UV

Na oxidação da fluoxetina *in vivo* são gerados os metabólitos norfluoxetina e p-trifluometilfenol (TFMF), como mostrados na Figura 76.

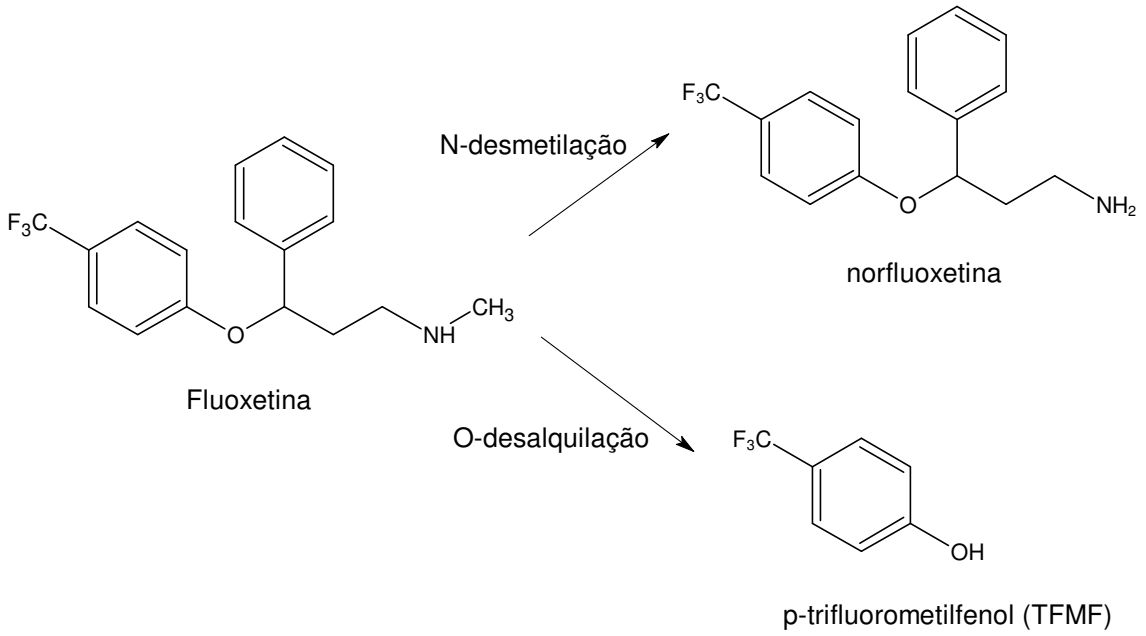


Figura 76. Metabolismo *In vivo* da fluoxetina.

O estudo de oxidação da fluoxetina, na presença do catalisador de Jacobsen, foi realizado utilizando PhIO, $PhIAc_2$, *m*-CPBA, *t*-BOOH e H_2O_2 como doadores de oxigênio, em meio de acetonitrila. As proporções molares catalisador **:** oxidante **:** substrato utilizadas nas reações foram de 1 : 40 : 35.

Reações controle na ausência do catalisador não levaram à produtos para os vários oxidantes estudados.

Nas reações controle na ausência do fármaco não foram observados picos com o mesmo tempo de retenção da fluoxetina e seus metabólitos, constatando a ausência de interferentes que coeluem com os analitos. Para os oxidantes PhIO e

$PhIAc_2$ observou-se um sinal cromatográfico com tempo de retenção em 14,2 min, correspondente ao iodobenzeno (PhI) originado da redução destes oxidantes.

Os cromatogramas de reação apresentaram o mesmo perfil para todos os oxidantes utilizados (Figura 74), indicando a formação preferencial de um produto desconhecido (PD 1, com tr = 4,2 min). Este produto foi identificado posteriormente como p-trifluorometilfenol (TFMF) através de análises por CG-MS (realizadas na Universidade de Coimbra) que será discutido no item IV.3.C.3. Posteriormente, o padrão deste composto foi adquirido, o que possibilitou a confirmação da estrutura do PD 1 por comparação do tempo de retenção na análise CLAE com aquele da amostra autêntica. Assim foi possível construir a curva de padronização para o TFMF, mostrada na Figura 77.

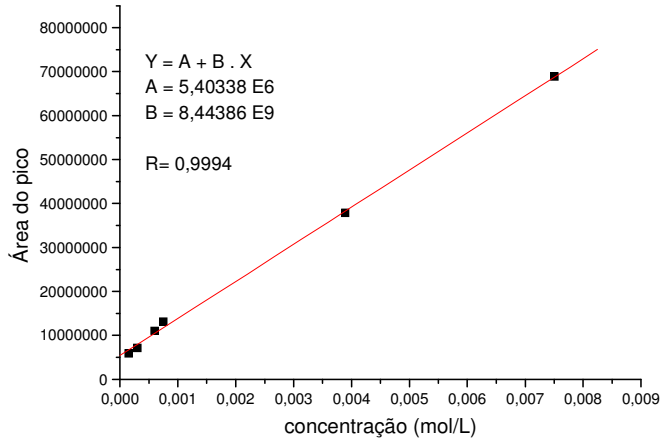


Figura 77. Curva de calibração do fármaco p-trifluorometilfenol (TFMF), em ACN.

A equação da reta obtida desta padronização é:

$$A_p = 5{,}40.10^6 + 8{,}44.10^9 \,.\, [TFMF]$$

A Tabela 27 mostra os resultados catalíticos obtidos na oxidação da fluoxetina por PhIO, $PhIAc_2$, *m*-CPBA e *t*-BOOH, após 3 h de reação. Os resultados são expressos em termos de rendimentos baseados no fármaco adicionado.

Tabela 27. Oxidação da fluoxetina por diferentes oxidantes na presença do catalisador de Jacobsen, em meio de acetonitrila (3 h de reação)

Reação	*Oxidante*	*Rendimento de TFMF (%)*
1	PhIO	78
2	$PhIAc_2$	85
3	*m*-CPBA	100
4	*t*-BOOH	26
5	H_2O_2	17

Condições: fluoxetina ($2,1 \times 10^{-5}$ mol); oxidante ($2,4 \times 10^{-5}$ mol); catalisador de Jacobsen ($6,0 \times 10^{-7}$ mol); reação branco (ausência de catalisador): nd.

Observa-se na Tabela 27 que todos os oxidantes foram eficientes para oxidar a fluoxetina na presença do catalisador de Jacobsen. O uso do PhIO nestes estudos se justifica para uma avaliação inicial do potencial catalítico no complexo e auxiliar no esclarecimento do mecanismo de reação, uma vez que é doador de apenas um oxigênio. $PhIAc_2$ tem sido usado em substituição ao PhIO e, em presença de H_2O, produz o PhIO *in situ* [In et al., 2003; Li e Xia, 2004; Silva et al., 2007], o qual reage com o catalisador levando à oxidação da fluoxetina, com maior rendimento que o PhIO (Tabela 27, reação 1 e 2). Uma vez que a reação depende da produção do PhIO *in situ,* há uma diminuição da degradação auto-oxidativa do catalisador pelo excesso de oxidante [Li e Xia, 2004].

m-CPBA levou a 100 % de conversão da fluoxetina, com formação seletiva para o TFMF (Tabela 27, reação 3). A alta eficiência deste oxidante está relacionada à clivagem heterolítica da ligação O-O, que é facilitada pela presença de grupos retiradores de elétrons, com formação da espécie Mn^{V}(O)salen, responsável por reações estéreo-seletivas [Nam, Han et al., 2000; Mac Leod et al., 2006].

O H_2O_2 e o *t*-BOOH foram menos eficientes para a oxidação da fluoxetina, com rendimentos de 17 e 26 %, respectivamente. A atividade desses oxidantes é limitada pela decomposição em oxigênio molecular e água ou álcool *terc*-butílico, a qual é provavelmente catalisada pelo complexo salen.

IV.3.C.3 - Estudo da atividade catalítica de metaloporfirinas e complexos salen na oxidação da fluoxetina por peróxido de hidrogênio num sistema bifásico (realizado na Universidade de Coimbra)

Durante o estágio realizado na Universidade de Coimbra, foram realizados estudos de oxidação da fluoxetina utilizando catalisadores metaloporfírinicos: (Mn(TDCPP)Cl, $FeBrOCH_3$, MnC_{12} e $FeSO_2Net$) e complexos salen (EDA-sal, EDA-Van EDA-Br, AG-20), além do catalisador de Jacobsen.

Utilizou-se H_2O_2 nestes estudos devido às vantagens sobre os demais, como já discutido anteriormente [Gonsalves; Serra, 2001;Serra et al., 2004].

Para todas as condições foram realizadas reações branco, na ausência de catalisador, não se observando formação de produtos.

Inicialmente foi realizado um estudo de otimização das condições de reação, uma vez que o peróxido de hidrogênio levou a baixos rendimentos de TFMF (17 %) na condição padrão dos estudos realizados anteriormente. Utilizou-se um maior excesso de oxidante e maior concentração de catalisadores. Entretanto, os resultados catalíticos permaneceram baixos, pois o excesso de oxidante causou auto-degradação oxidativa das metaloporfirinas, observada pelo descoramento da solução da reação e desaparecimento da banda Soret, e a alta concentração de catalisadores provavelmente favoreceu a formação de dímeros inativos dos mesmos, embora, nenhuma evidência espectroscópica de formação de dímeros tenha sido observada. Estudos na presença e na ausência de co-catalisador foram realizados, e melhores resultados foram alcançados na presença de co-catalisadores, evidenciando a importância da utilização de um ligante axial para favorecer a formação da espécie ativa de alta valência.

Após o estudo de oxidação preliminar constatou-se que as proporções catalisador : oxidante : substrato : co-catalisador que forneceram melhores resultados para os complexos estudados foram: para as metaloporfirinas (2,15 x 10^{-6} mol) 1:1500:100:1, utilizando *terc*-butilpiridina como co-catalisador e ácido benzóico como catalisador ácido / base. Para os complexos salen a proporção foi 1:200:20:4 (3,0 x 10^{-6} mol de catalisador) utilizando NH_4OAc como co-catalisador.

Todas as reações foram realizadas com os catalisadores em solução. Utilizando o sistema bifásico diclorometano/solução aquosa de H_2O_2 5 %, foi alcançado conversões próximas a 100 % com as metaloporfirinas e até 47 % com os complexos salen, enquanto que as reações tradicionais em fase única levaram ao máximo de 20 % de conversão com metaloporfirinas e 34 % com salen (Tabela 31 e 32).

A reação na presença da metaloporfirina $FeBrOCH_3$ foi monitorada em função do tempo, pois os resultados preliminares com este catalisador mostraram conversão total da fluoxetina em 3 horas de reação, como pode ser confirmado pela ausência do sinal cromatográfico da fluoxetina, o qual aparece em tr =11,12 min (Figuras 78 e 79).

O gráfico da Figura 80 mostra a porcentagem dos produtos em função do tempo da reação. Observa-se que inicialmente são formados compostos desconhecidos PD 1, PD 2 (baixa concentração), PD 3 e PD 4 (Figuras 78 e 80). Os produtos PD 3 e PD 4 são formados em maior proporção no início da reação, indicando serem formados por mecanismos distintos e competitivos.

Observou-se, após 24 h de reação, um aumento significativo na concentração de PD 2, um pequeno aumento de PD 1, e uma diminuição concomitante do PD 3 e PD 4 (Figura 79 e 80), indicando que o PD 2 poderia ser gerado a partir da oxidação adicional do PD 3 ou PD 4. A análise do padrão de fragmentação do produto PD 2 no espectro de massas (Tabela 28) mostrou muitos picos com as mesmas razões massa/carga do PD 3, o que indica semelhança estrutural entre os compostos PD 2 e PD 3, sendo mais uma indicação de que a formação do produto PD 2 ocorre via PD 3. Os compostos PD 1 e PD 4 apresentaram também fragmentos comuns, indicando apresentar estruturas semelhantes.

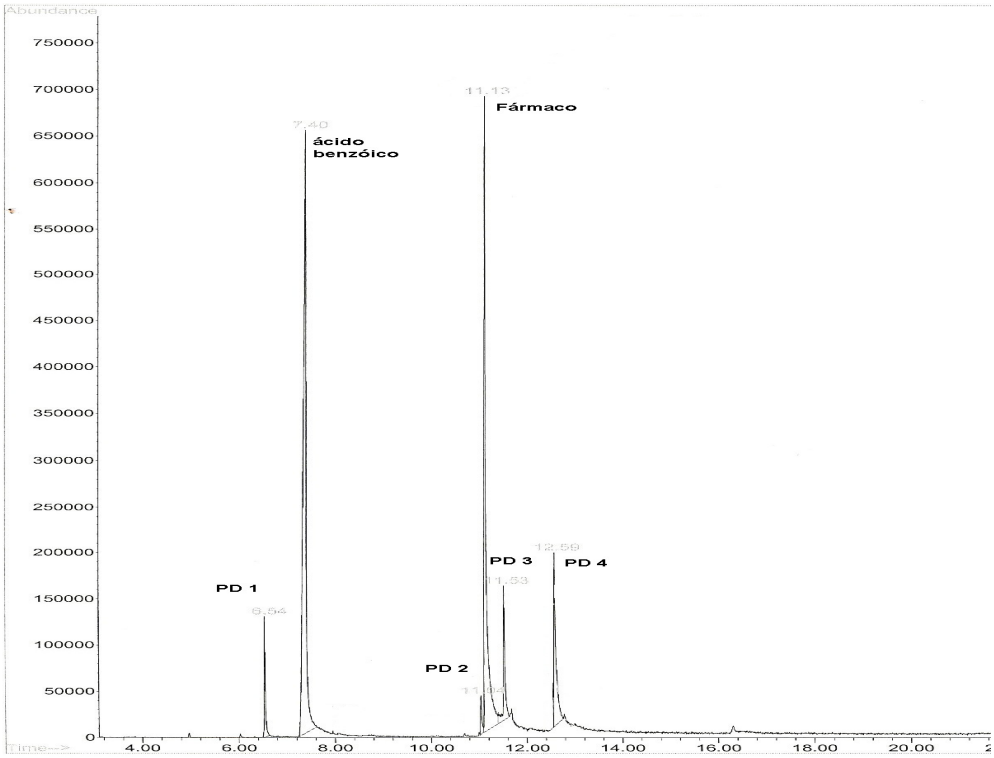


Figura 78. Cromatograma de 30 min de reação de oxidação da fluoxetina por H_2O_2 em meio bifásico, catalisada pela metaloporfirina $FeBrOCH_3$, PD são compostos desconhecidos.

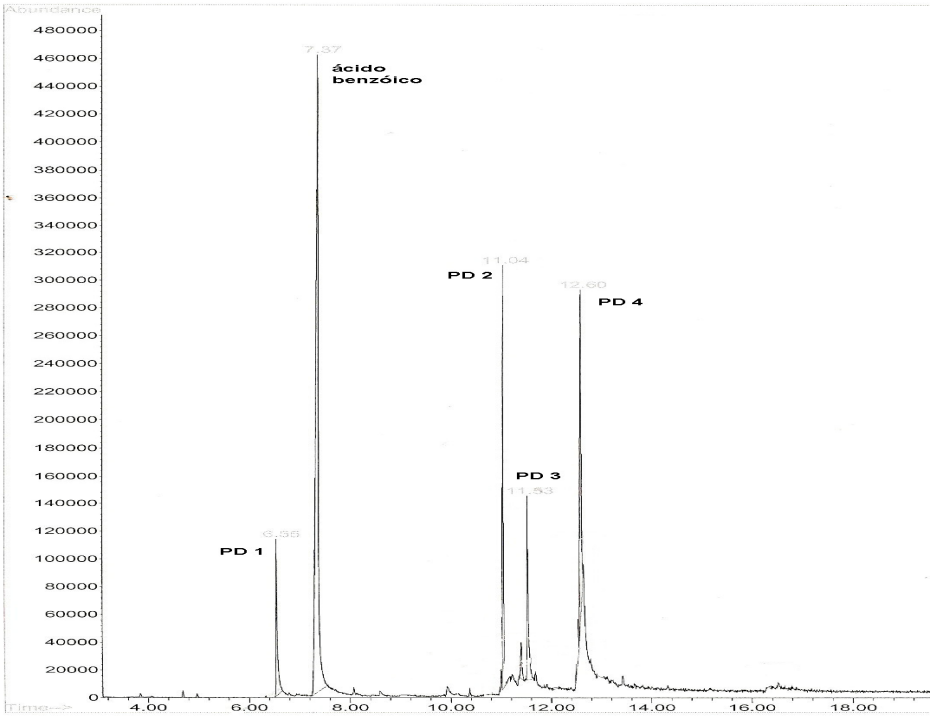


Figura 79. Cromatograma de 24 h de reação de oxidação da fluoxetina por H_2O_2 em meio bifásico, catalisada pela metaloporfirina $FeBrOCH_3$, PD são compostos desconhecidos.

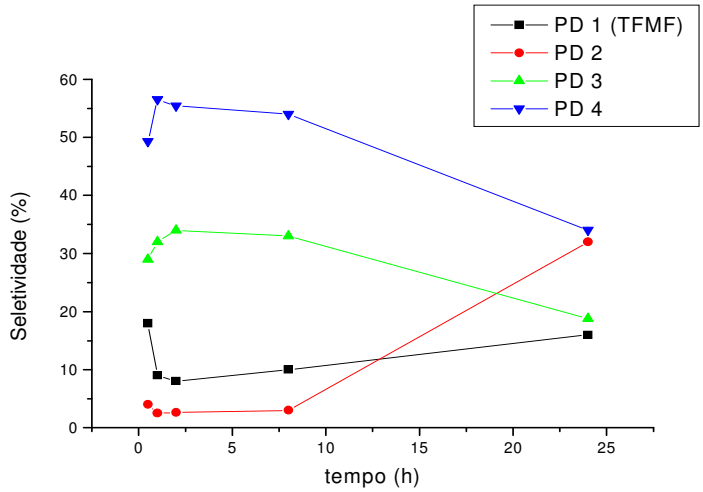


Figura 80. Monitoramento (%) dos produtos da oxidação da fluoxetina por H_2O_2, em sistema bifásico, catalisado pela metaloporfirina $FeBrOCH_3$, em função do tempo de reação.

Tabela 28. Dados do espectro de massas dos produtos desconhecidos obtidos na oxidação da fluoxetina, com os respectivos íons moleculares e fragmentos

Produto (tempo de retenção no cromatograma CG)	***Íon molecular***	***Fragmentos***
PD 1 (TFMF) (6,55 min)	162	143,133,112,95,84,69, 55
PD 2 (11,04 min)	ausente	251,183,162,143,130,113,103,89, 77,63,51
PD 3 (TFP) (11,53 min)	307	203, 183, 162,143,130,112, 104,91,78,63,51
PD 4 (BTMF) (12,59 min)	266	161, 143, 133, 114, 105, 77, 63, 51

O padrão de fragmentação indica que o íon molecular do produto desconhecido PD 2 não está presente (Tabela 28), pois o maior valor de razão massa/carga, 251, não é coerente com nenhuma estrutura possível, indicando que este sinal é de um íon proveniente de apenas uma parte da molécula, resultando em dificuldades para a identificação deste composto.

Verificou-se também um aumento do pico referente ao produto PD 1 após 24 h (Figura 80). De acordo com o padrão de fragmentação do composto no espectro de massas (Figura 81), determinou-se os íons principais (Tabela 29), o que possibilitou que este produto fosse identificado como p-trifluorometilfenol (TFMF). Este composto pode ser formado a partir do ataque de espécies intermediárias da metaloporfirina à átomos de carbono terciários, mais reativos, tanto da fluoxetina quanto dos produtos oxidados, seguindo mecanismos de O-desalquilação (Figura 76).

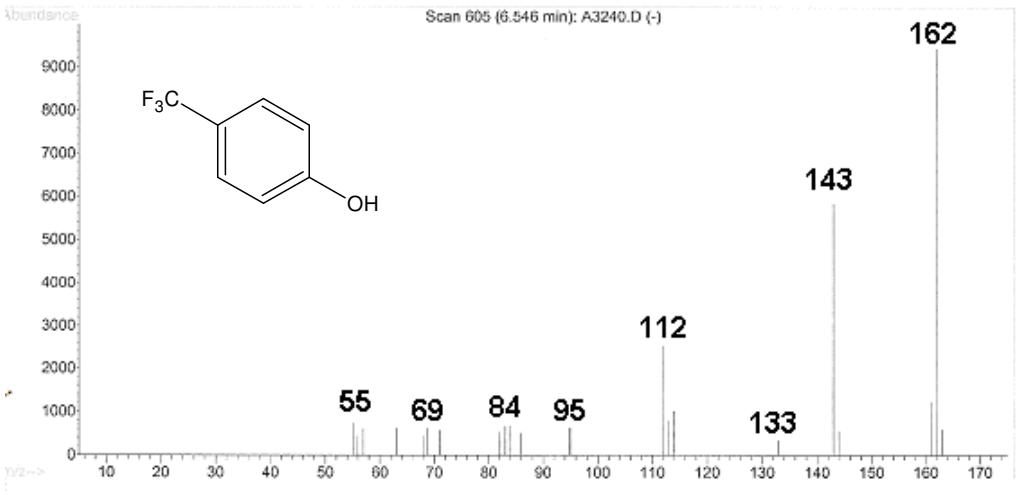


Figura 81. Espectro de massas do produto PD 1, com tempo de retenção em 6,55 min, identificado como p-trifluorometilfenol (TFMF).

Tabela 29. Principais íons gerados no espectro de massas do produto PD 1, identificado como p-trifluorometilfenol (TFMF).

Principais íons do produto PD 1 (TFMF)	m/z 162	m/z 143	m/z 69

Os produtos PD 3 e PD 4 apresentaram os padrões de fragmentação nos espectros de massas mostrados nas Figuras 82 e 83, respectivamente. Com base nestas fragmentações e no íon molecular dos produtos, determinou-se os íons principais (Tabela 30), e foram propostas as estruturas apresentadas nas Figuras 84 e 85 para os produtos PD 3 (N-(3-(4-(trifluorometil)fenoxi)-3-fenilpropilideno)metanamina, TFP) e PD 4 (benzoato de 4-trifluorometilfenil, BTMF) respectivamente. O composto TFP poderia ser formado através da desidratação do álcool, formando uma imina. O produto BTMF pode ser formado pela reação do ácido benzóico (presente como co-catalisador da reação) e a fluoxetina ou TFMF. Reações em condições semelhantes, porém na ausência de

ácido benzóico, não geraram o BTMF, sendo obtido apenas o TFMF, confirmando que o BTMF é formado a partir do ácido benzóico.

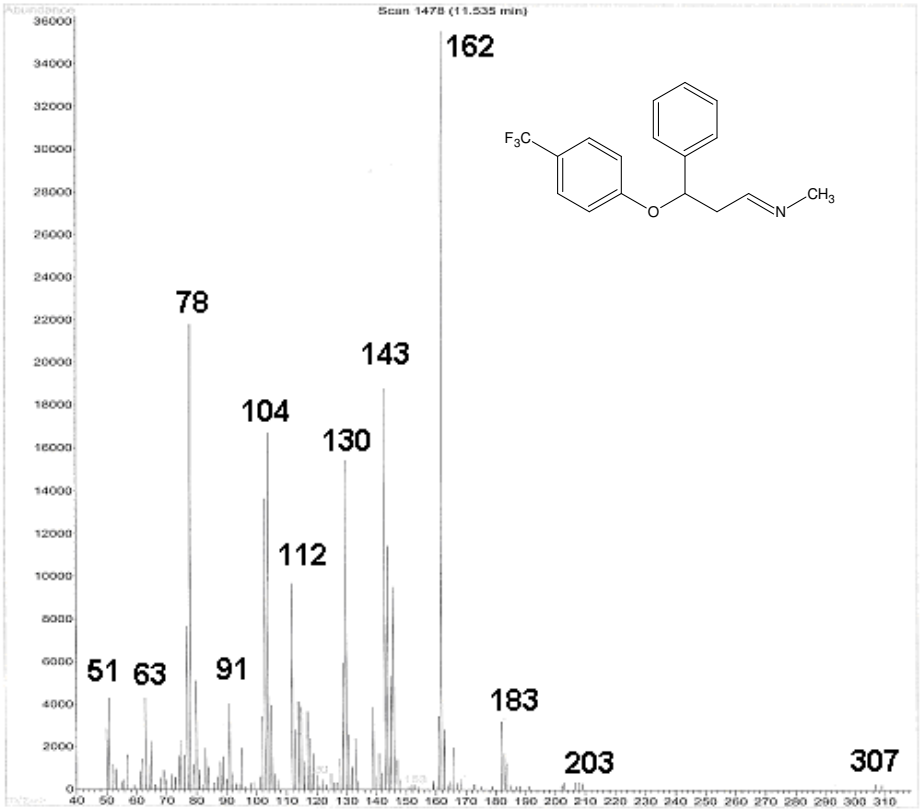


Figura 82. Espectro de massas do produto PD 3, com tempo de retenção em 11,53 min no cromatograma CG-MS, identificado como N-(3-(4-(trifluorometil)fenoxi)-3-fenilpropilideno)metanamina (TFP).

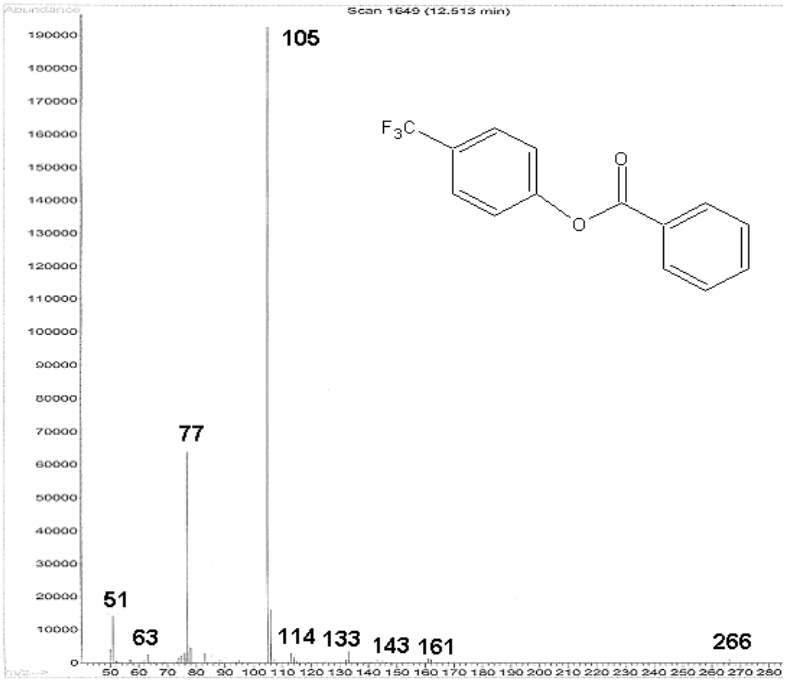


Figura 83. Espectro de massas do produto PD 4, com tempo de retenção em 12,59 min no cromatograma CG-MS, identificado como benzoato de 4-trifluorometilfenil (BTMF).

Tabela 30. Principais íons gerados nos espectros de massas dos produtos PD 3 (TFP) e PD 4 (BTMF), obtidos na oxidação da fluoxetina

Principais íons do PD 3 (TFP)	m/z 183	m/z 162	m/z 143	m/z 130
Principais íons do PD 4 (BTMF)	m/z 266	m/z 161	m/z 105	m/z 77

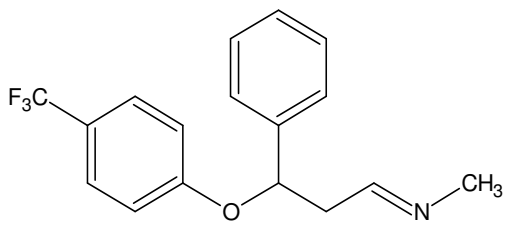


Figura 84. Estrutura proposta para o produto PD 3 (TFP), com sinal em razão m/z 307 no espectro de massas e tr = 11,53 min.

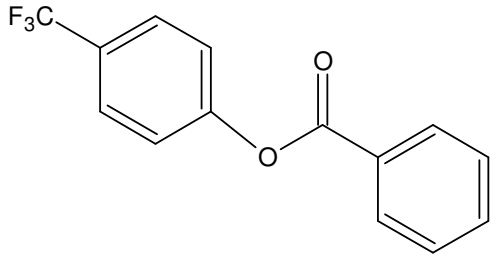


Figura 85. Estrutura proposta para o produto PD 4 (BTMF), com sinal em razão m/z 266 no espectro de massas e tr = 12,60 min.

A oxidação da fluoxetina pode ocorrer por dois mecanismos distintos e competitivos: a N-desmetilação para formar a norfluoxetina (principal metabólito *in vivo*) ou O-desalquilação para formar o p-trifluorometilfenol (TFMF), observado em sistemas de citocromo P450 de humanos [Margolis et al., 2000] (Figura 86).

Portanto, os estudos de oxidação da fluoxetina catalisado por metaloporfirinas contribuíram para a identificação de outros produtos de oxidação (BTMF e TFP, Figura 86) e constatar o favorecimento da O-desaquilação sobre a N-desmetilação, a qual não foi observada nos sistemas metaloporfírinicos.

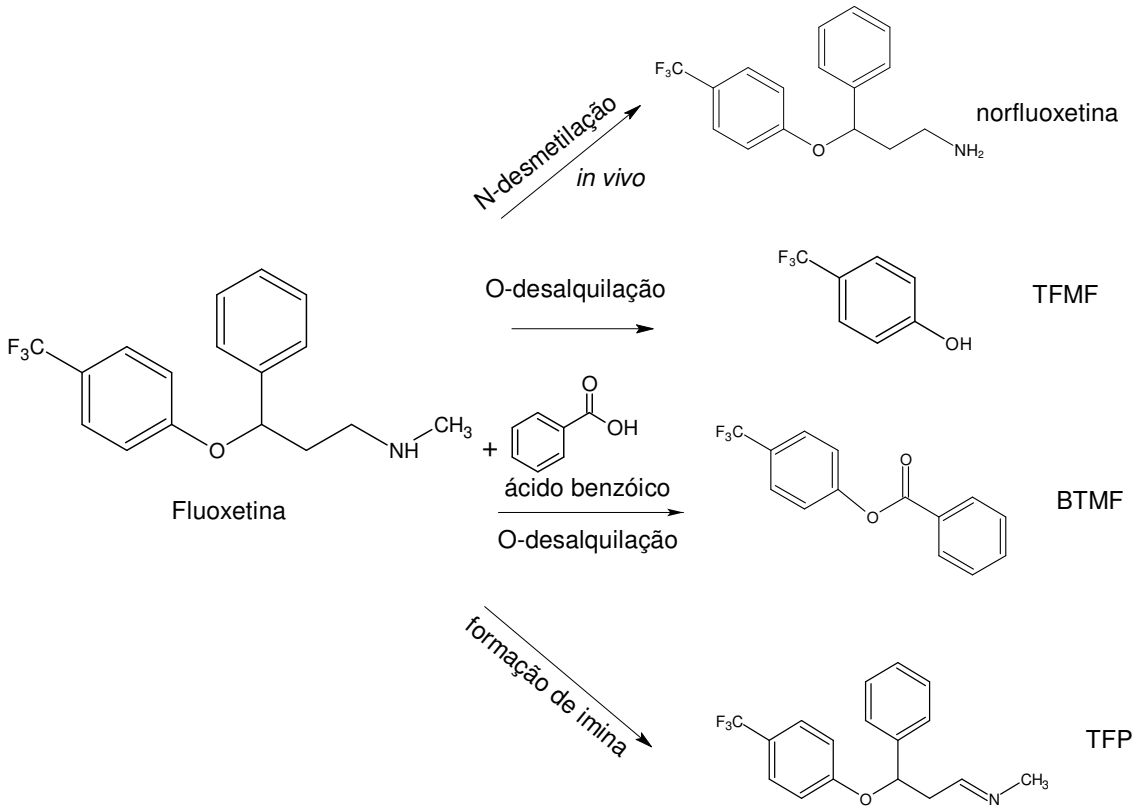


Figura 86. Produtos de oxidação da fluoxetina.

O mecanismo geral pelo qual ocorre a N-desalquilação catalisada pelo P450 inicia-se com a oxidação da ferro (III) porfirina, formando a espécie catalítica de alta valência, ferril radical π-cátion, $Fe(IV)OP^{\bullet+}$. A partir daí existem dois mecanismos propostos para a reação, mostrados na Figura 87. Em geral, a ocorrência de um mecanismo ou outro depende do tipo de substituintes no átomo de nitrogênio do substrato [Karki et al., 1995; Bhakta e Wimalasena, 2002].

O primeiro mecanismo (Figura 87, A), conhecido como mecanismo de transferência eletrônica, propõe a transferência de um elétron do substrato para a espécie catalítica $Fe(IV)OP^{\bullet+}$, formando a espécie Fe(IV)OP. Após essa etapa ocorre abstração de um átomo de H do substrato e posterior transferência do grupo –OH para o mesmo. Após a ocorrência da hidroxilação no carbono adjacente ao nitrogênio, forma-se uma carbinolamina instável, que se decompõe em uma amina e um derivado do carbonil (Figura 87). No segundo mecanismo (Figura 87, B), conhecido como mecanismo de abstração do hidrogênio, não

ocorre a transferência de elétrons, mas a abstração do hidrogênio do substrato diretamente pela espécie catalítica. As etapas seguintes são semelhantes à rota A [Chiavarino et al., 2008].

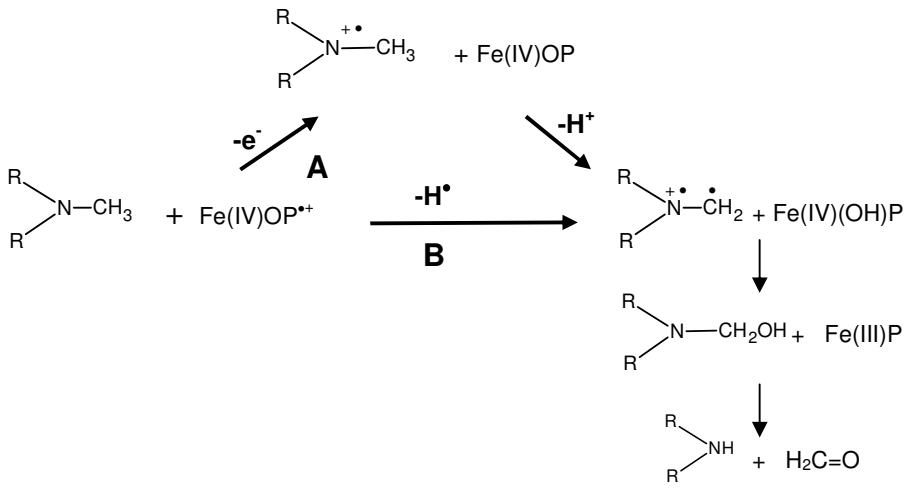


Figura 87. Mecanismo de N-desalquilação catalisada pelo P450 [adaptado de Karki et al., 1995; Chiavarino et al., 2008].

O mecanismo da reação de O-desalquilação catalisada pelo citocromo P450 tem sido menos estudado do que o mecanismo de N-desalquilação [Weissman e Zewge, 2005; Meunier et al., 2004; Chiavetto et al., 1996; Al-Gailany et al., 1975; Garland et al., 1976]. Acredita-se que a oxidação ocorre sobre o carbono alfa, por abstração de hidrogênio (reação a, Figura 88), seguido por hidroxilação (reação b, Figura 88), que é o mecanismo bem conhecido de recombinação de oxigênio, “oxygen rebound” [Groves et al., 1980; Groves; Adhyam, 1984; Groves, 2006].

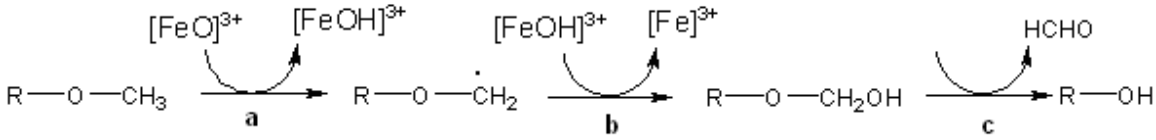


Figura 88. Esquema mecanístico para a O-desmetilação catalisada pelo citocromo P450 (adaptado de Testa, 1995).

O intermediário hidroxilado resultante é um hemiacetal de baixa estabilidade, que rapidamente hidrolisa resultando, no caso da fluoxetina, o TFMF e um composto carbonilado, como o formaldeído.

Os produtos TFMF e BTMF obtidos da oxidação da fluoxetina por H_2O_2, catalisada por metaloporfirinas, indicam que a rota de N-desmetilação é desfavorecida nestes sistemas, uma vez que o produto norfluoxetina não foi obtido nessas condições, ou seja, a oxidação não segue a rota biomimética do P450 para este fármaco. Este fato deve-se à alta reatividade do carbono terciário na molécula de fluoxetina, que favorece a clivagem nessa posição. Assim, o TFMF e o BTMF são formados a partir do ataque a esta posição mais suscetível à oxidação. Contrariamente, na enzima a cadeia protéica confere alta seletividade e especificidade, fazendo com que esta posição mais reativa não interaja com a espécie ativa, e então favorece a reação na região da amina secundária, seguindo o mecanismo de N-desmetilação.

Uma vez identificados os principais produtos de oxidação da fluoxetina para o sistema $FeBrOCH_3/H_2O_2$ foi realizado os estudos com os demais catalisadores disponíveis.

A Tabela 31 mostra os resultados catalíticos, expressos em termos de conversão de fluoxetina, na reação em meio bifásico e em DCM/MeOH. A Figura 89 mostra a porcentagem dos produtos para as diferentes metaloporfirinas para reações em meio bifásico, considerando o mesmo fator de resposta da fluoxetina para todos os produtos.

Tabela 31. Conversão da fluoxetina nas reações de oxidação por H_2O_2 catalisadas por metaloporfirinas, em sistema bifásico e em fase única (DCM/MeOH 1:1)

Reação	*Catalisador*	*Meio de reação*	*Conversão da fluoxetina (%)*	*Produtos formados*
1	$FeBrOCH_3$	DCM/MeOH 1:1	19	TFMF
2	$FeBrOCH_3$	bifásico	100	TFMF, PD 2, TFP e BTMF
3	MnC_{12}	DCM/MeOH 1:1	13	TFMF
4	MnC_{12}	bifásico	100	TFMF, PD 2, TFP e BTMF
5	$FeSO_2NEt$	DCM/MeOH 1:1	7	TFMF
6	$FeSO_2NEt$	bifásico	100	TFMF, PD 2, TFP e BTMF
7	Mn(TDCPP)Cl	DCM/MeOH 1:1	20	TFMF
8	Mn(TDCPP)Cl	bifásico	100	TFMF, PD 2, TFP e BTMF

Observa-se na Tabela 31 que todas as metaloporfirinas apresentaram alta eficiência catalítica em sistema bifásico, com conversões de toda a fluoxetina em produtos oxidados. No entanto, as reações em sistema bifásico não foram seletivas, gerando quatro produtos de oxidação identificados por espectrometria de massas (exceto o PD 2), conforme discutido anteriormente. Contrariamente, reações em meio homogêneo apresentaram baixas conversões e alta seletividade, formando apenas o TFMF, proveniente do mecanismo de O-desalquilação.

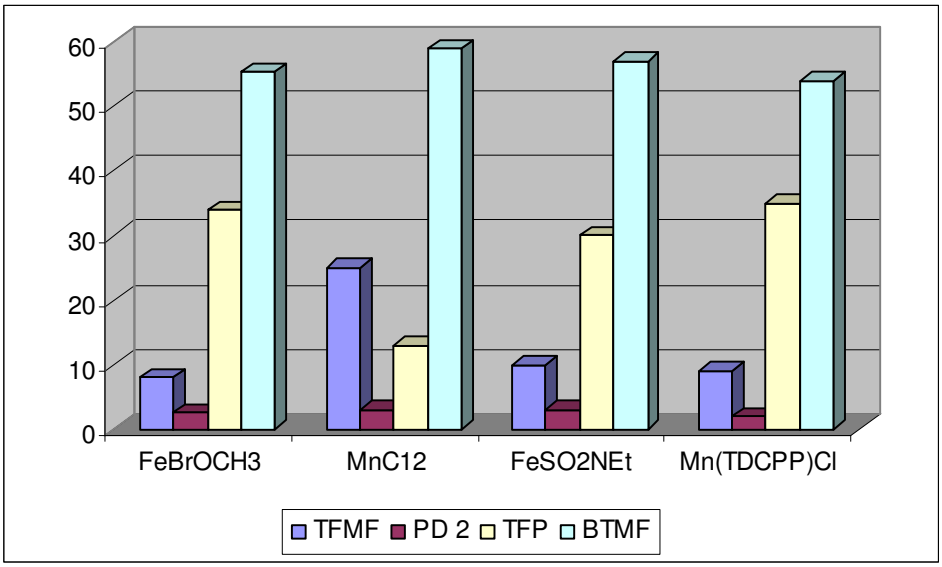


Figura 89. Distribuição, em porcentagem, dos produtos formados na oxidação da fluoxetina por H_2O_2 catalisada pelas metaloporfirinas, no sistema bifásico, após 3 h de reação.

A distribuição dos produtos em porcentagem mostra um perfil semelhante de seletividade para todas as metaloporfirinas, com formação preferencial do produto BTMF, benzoato de 4-trifluorometilfenil. No entanto, a metaloporfirina MnC_{12} apresentou uma seletividade significativa para o TFMF, cerca de três vezes maior quando comparado com as outras metaloporfirinas. Este fato pode estar relacionado à cadeia alquílica hidrofóbica presente nessa porfirina, que pode atuar como pinças, direcionando o substrato para o sítio ativo de maneira a favorecer a oxidação no carbono terciário da fluoxetina, resultando em alta seletividade para o produto TFMF. Assim, a cadeia alquílica tem um papel semelhante à cadeia protéica da enzima P450.

Observou-se que as ferroporfirinas apresentaram seletividade e eficiência catalíticas semelhantes às manganês porfirinas.

Estudos prévios com metaloporfirinas no grupo do Prof. Dr. Rocha Gonsalves indicaram que espécies metalo-hidroperoxo, provenientes da ligação do peróxido de hidrogênio ao metal central, podem reagir através de dois mecanismos competitivos dependendo da quantidade de ácido benzóico utilizado

(Figura 90) [Gonsalves e Serra, 2001; Serra et al., 2004]. Se a quantidade de ácido benzóico for equimolar à quantidade de catalisador, ocorre a formação da espécie metal oxo de alta valência (Figura 90, a), e a rota A torna-se dominante. Na presença de excesso de ácido como co-catalisador, a rota B predomina, com formação do intermediário (Figura 90, b) pelo ataque nucleofílico da molécula do ácido a um átomo de oxigênio próximo ao metal, e saída de uma molécula de água, facilitada por uma segunda molécula de ácido benzóico.

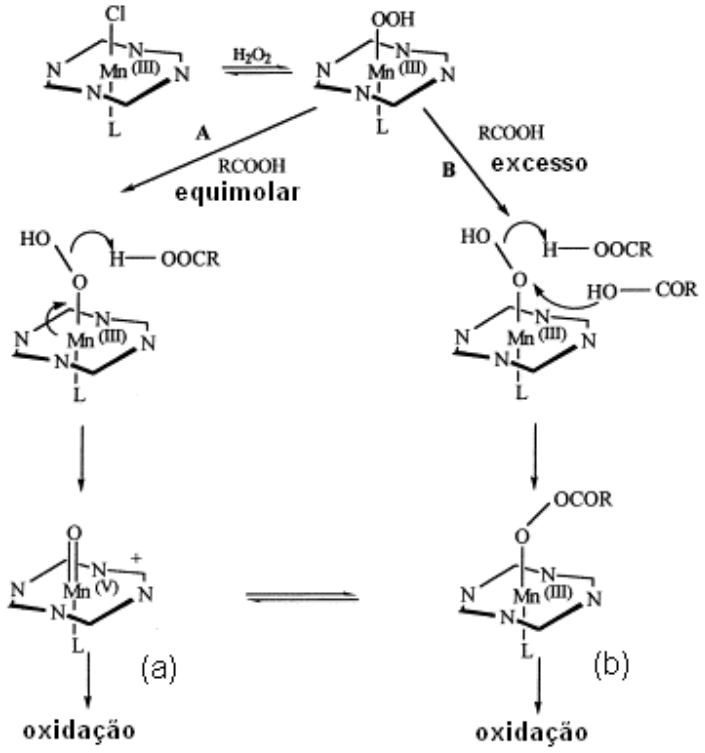


Figura 90. Mecanismo de formação das espécies intermediárias em reações de oxidação de hidrocarbonetos catalisada por metaloporfirinas na presença de ácido benzóico [Serra et al., 2004].

A formação da espécie metalo-acilperoxo (b), através da rota B, pode ser favorecida pelo arranjo específico do catalisador e do ácido orgânico na região de interface, como mostrado na Figura 91, e leva à maior eficiência catalítica quando comparada com as reações em quantidades equimolares, devido ao aumento de estabilidade do catalisador [Gonsalves e Serra, 2001; Serra et al., 2004]. Assim,

no estudo catalítico de oxidação da fluoxetina utilizando-se excesso de ácido benzóico verificou-se que a espécie metalo-acilperoxo (b) é reativa o suficiente para oxidar diretamente o fármaco, sem a necessidade de formação da espécie metal oxo de alta valência (a), que é considerada altamente reativa e pode causar destruição oxidativa do macrociclo ou do ligante axial. Na presença de peróxido de hidrogênio a espécie (a) pode favorecer a formação de radicais, que também podem levar à degradação do catalisador. Assim, a rota B, envolvendo a espécie (b), contribui para aumentar a estabilidade do catalisador [Gonsalves; Serra, 2001; Serra et al., 2004].

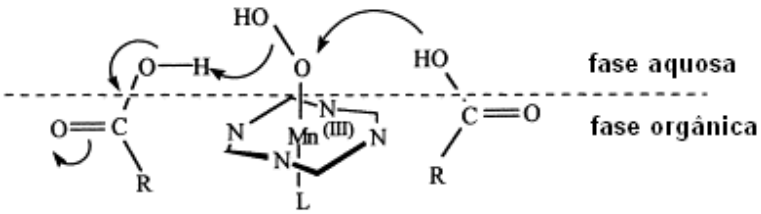


Figura 91. Esquema de formação do intermediário metalo-acilperoxo [Serra et al., 2004].

O cromatograma da reação de oxidação utilizando catalisador de Jacobsen, em sistema bifásico, é apresentado na Figura 92. Observa-se que a reação é seletiva para formação do TFMF. Entretanto, o fármaco não foi totalmente convertido em produtos, o que pode estar relacionado a menor quantidade de peróxido de hidrogênio no meio de reação, uma vez que o aumento da concentração de oxidante promoveu a destruição dos complexos salen. Este fato ocorreu para todos os complexos salen utilizados.

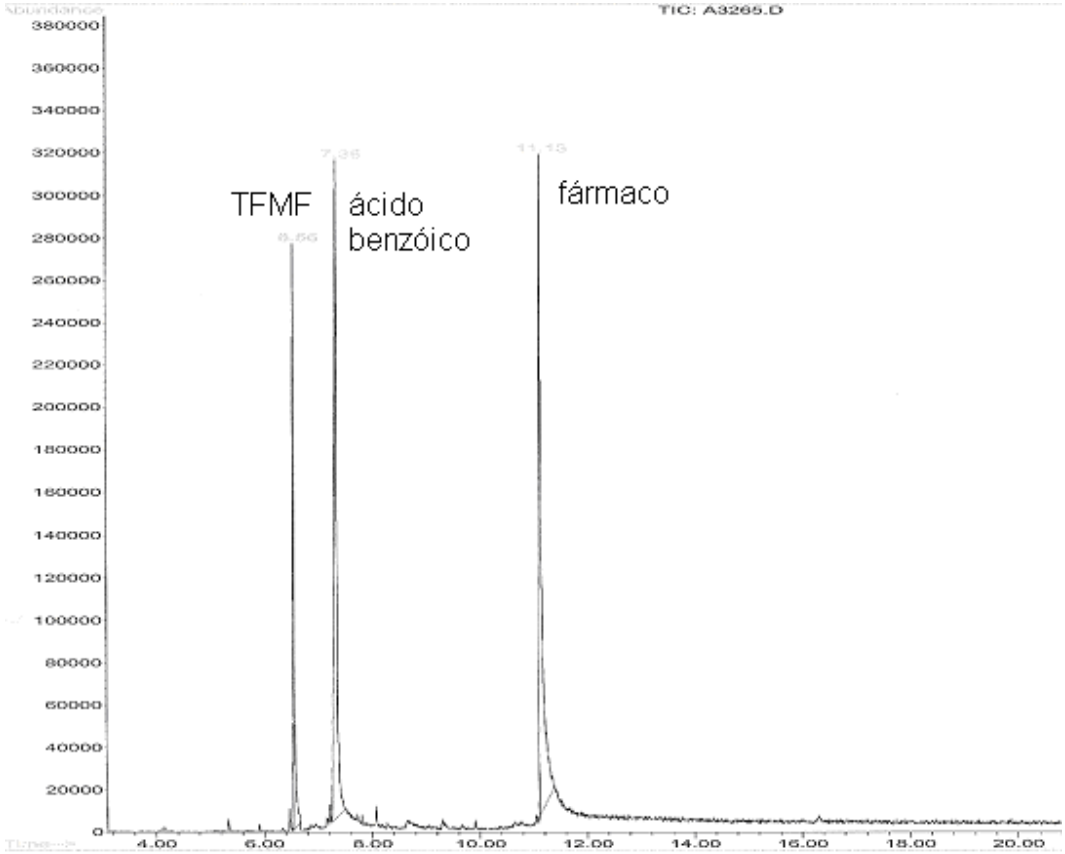


Figura 92. Cromatograma da reação de oxidação da fluoxetina por H_2O_2 utilizando o catalisador de Jacobsen, em sistema bifásico.

A Tabela 32 mostra os resultados catalíticos, expressos em termos de conversão de fluoxetina, para reações em sistema bifásico e em meio homogêneo de DCM/MeOH 1:1.

Tabela 32. Conversão da fluoxetina nas reações de oxidação catalisada por complexos salen, em sistema bifásico e em meio de DCM/MEOH 1:1

Reação	*Catalisador*	*Meio de reação*	*Conversão da fluoxetina (%)*	*Produto formado*
1	Mn(salen)	homogêneo	16	TFMF
2	Mn(salen)	bifásico	31	TFMF
3	EDA- sal	homogênea	5	TFMF
4	EDA- sal	bifásico	18	TFMF
5	EDA- van	homogêneo	11	TFMF
6	EDA- van	bifásico	27	TFMF
7	EDA- Br	homogênea	19	TFMF
8	EDA - Br	bifásico	28	TFMF
9	AG-20	homogênea	34	TFMF
10	AG-20	bifásico	47	TFMF

Os complexos salen foram menos eficientes quando comparados com as metaloporfirinas, tendo em vista que as metaloporfirinas levaram à conversão de 100 % de fluoxetina em produtos oxidados, enquanto os complexos salen promoveram a oxidação de, no máximo, 47 % da fluoxetina. A grande vantagem dos complexos salen está relacionada ao menor custo destes complexos e à sua alta seletividade para formação do produto TFMF, enquanto as metaloporfirinas geraram quatro produtos de oxidação em sistemas bifásicos. De forma semelhante ao que se observou para as metaloporfirinas, os sistemas bifásicos foram mais eficientes que a reação em meio homogêneo para os complexos salen (Tabela 32, 1,3,5,7,9 versus 2,4,6,8,10).

Dentre os complexos salen utilizados, o catalisador AG-20 foi o mais eficiente, levando à conversão de 34 % da fluoxetina em meio homogêneo e 47 % em sistema bifásico (Tabela 32, reações 9 e 10). A eficiência deste complexo se deve, provavelmente, ao substituinte volumoso, que pode atuar no direcionamento e orientação do substrato para o sítio metálico, onde se localiza a espécie responsável pela transferência de oxigênio. Observa-se também que o complexo contendo um substituinte eletronegativo, como o bromo, também favorece a

atividade catalítica quando comparado com o complexo sem substituintes nos anéis fenila do salen (Tabela 32, reação 3 *versus* 7).

IV.3.C.4 - Oxidação da fluoxetina utilizando o catalisador de Jacobsen imobilizado em membranas poliméricas (realizada em conjunto com Rosalva Marques e Prof. Dr. Marco A. Schiavon)

As membranas híbridas de PDMS/PVA foram também avaliadas na oxidação da fluoxetina utilizando o H_2O_2 e o *t*-BOOH como oxidantes. Os resultados são mostrados na Tabela 33.

Tabela 33. Resultados catalíticos para a oxidação da fluoxetina utilizando catalisador de Jacobsen imobilizado nas membranas híbridas de PDMS/PVA e em meio homogêneo

Reação	***Catalisador***	***Oxidante***	***Rendimento TFMF (%)***
1	Membrana 1 (10 % PVA)	H_2O_2	60
2	Membrana 2 (15 % PVA)	H_2O_2	66
3	Membrana 3 (20 % PVA)	H_2O_2	73
4	Membrana 1 (10 % PVA)	*t*-BOOH	100
5	Membrana 2 (15 % PVA)	*t*-BOOH	100
6	Membrana 3 (20 % PVA)	*t*-BOOH	98
7	Mn(salen)	H_2O_2	47
8	Mn(salen)	*t*-BOOH	62

Condições: fluoxetina (2,1 x 10^{-5} mol); oxidante (2,45 x 10^{-3} mol); catalisador de Jacobsen (1,25 x 10^{-8} mol); nd: não detectado; reação branco (ausência de catalisador): nd; rendimento baseado no fármaco adicionado.

Observou-se que as membranas híbridas PDMS/PVA contendo o catalisador de Jacobsen foram mais eficientes quando comparadas ao mesmo sistema em meio homogêneo (Tabela 33, reação de 1-6 versus 7-8), indicando que a matriz polimérica protege o catalisador de auto-oxidação e dimerização,

além de controlar o acesso do substrato e oxidante ao sítio catalítico através da sorção dos reagentes, a qual depende da afinidade do polímero.

O *t*-BOOH foi o melhor oxidante, com conversão seletiva da fluoxetina em TFMF para todas as membranas utilizadas (Tabela 33, reação 4-6). Este reagente com caráter hidrofóbico (grupo t-butil) e hidrofílico (-OOH) apresenta excelente sorção nas membranas para as várias porcentagens de PVA, resultando em um oxidante apropriado para a oxidação da fluoxetina tanto para membranas mais apolares (membrana 1) como para membranas mais polares (membrana 3). Contrariamente, o H_2O_2 apresenta melhores resultados conforme aumenta a porcentagem de PVA na membrana (Tabela 33, reações 1-3), confirmando os resultados obtidos com os demais substratos de que este oxidante apresenta maior afinidade pela membrana mais polar (membrana 3).

IV.3.C.5 - Estudo da Atividade catalítica de uma porfirina base livre na fotoxidação da fluoxetina (realizado na Universidade de Coimbra)

Reações de fotoxidação foram realizadas com o fármaco fluoxetina, pois este tipo de estudo é freqüentemente realizado no laboratório do Prof. Dr. Rocha Gonsalves, visando o desenvolvimento de sistemas de oxidação mais limpos. Nestes sistemas o oxigênio é utilizado, evitando o uso de oxidantes tóxicos, não seletivos e formação de subprodutos indesejáveis. Este estudo foi realizado com o objetivo de comparar com os demais sistemas estudados.

A fotoxidação foi realizada a temperatura ambiente, usando um fotoreator construído no laboratório, conforme mostrado na Figura 93, contendo três lâmpadas de 50 W. A solução foi irradiada na presença de um fluxo de ar contínuo e monitorada em função do tempo de reação. O fotossensibilizador utilizado foi uma porfirina base livre, a H_2(TDCPP)Cl, pois estudos anteriores no grupo de pesquisa do prof. Dr. Rocha Gonsalves mostraram que esta porfirina é um catalisador eficiente para reações de fotoxidação, capaz de gerar o oxigênio singlete para oxidar diferentes substratos. Esta porfirina base livre apresenta um

melhor rendimento de oxigênio singlete quando comparado com as metaloporfirinas [Azenha et al., 2002;Ribeiro et al., 2007].

Figura 93. Fotoreator utilizado nas reações de oxidação da fluoxetina.

Existem dois mecanismos de ação dos fotossensibilizadores sobre os substratos, mecanismo tipo I e mecanismo tipo II (Figura 94) [Plaetzer et al., 2008; Bonnett, 1995; Tanielian et al., 2000].

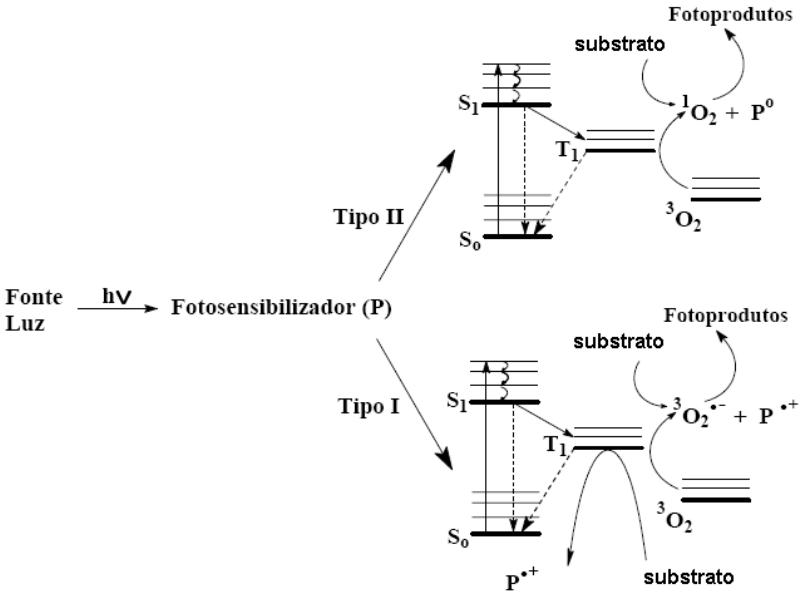


Figura 94. Mecanismos de fotoxidação do tipo I e II, [Bonnett, 1995; Tanielian et al., 2000].

Na Figura 94 observam-se os níveis de energia eletrônico/vibracional da porfirina (fotossensibilizador). A porfirina é excitada para um determinado nível de energia após ser irradiado através de uma fonte de excitação. Como os processos de decaimento não radioativos, sobretudo as relaxações vibracionais, são mais rápidos que os processos de decaimento radioativos, como fluorescência e fosforescência, as moléculas excitadas da porfirina decaem por relaxações vibracionais, em geral, ao primeiro estado singlete excitado S_1. Deste nível as moléculas da porfirina podem decair ao estado fundamental S_0 por fluorescência (transição $S_1 \rightarrow S_0$ do diagrama), e por processos não radioativos, como relaxações vibracionais e conversões internas, ou podem sofrer transições a um estado triplete excitado via cruzamento intersistemas (transição $S_1 \rightarrow T_1$ do diagrama). Neste nível de energia as moléculas da porfirina podem sofrer decaimentos radioativos como fosforescência (transição $T_1 \rightarrow S_0$ do diagrama), retornando ao estado fundamental.

No mecanismo do tipo I, as porfirinas no estado triplete interagem diretamente com o substrato e/ou solvente, através de reações de transferência de elétrons ou de hidrogênio, gerando íons radicais ou radicais, os quais reagem instantaneamente com o oxigênio, produzindo uma mistura de intermediários de oxigênio altamente reativos, como radical superóxido ($^{\bullet}O_2^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2),e radical hidroxila ($^{\bullet}OH$), capazes de oxidar uma grande variedade de substratos. No mecanismo do tipo II, os estados excitados tripletes das porfirinas podem interagir com o estado fundamental do oxigênio ($^3O_2$) para produzir o oxigênio singlete ($^1O_2$), através de um processo de transferência de energia não radioativo. O mecanismo de transferência de elétrons é mais eficiente que o mecanismo de transferência de carga, portanto o mecanismo do tipo II é comumente dominante [Plaetzer et al., 2008; Bonnett, 1995; Tanielian et al., 2000].

A reação de fotooxidação favoreceu a formação do composto TFMF como único produto (Figura 95), indicando que a porfirina base livre atuou como um bom fotosensibilizador, capaz de gerar o oxigênio singlete, o qual levou à O-desalquilação da fluoxetina. Este resultado evidencia a grande importância desse

sistema, que utiliza o oxigênio, um oxidante limpo, ambientalmente e economicamente viável. Embora a conversão da fluoxetina em TFMF tenha sido relativamente baixa, 3 % após 8 h e 7 % após 24 h de reação, estes resultados mostram o potencial deste sistema, uma vez que as condições de reação podem ser otimizadas para produção de metabólitos deste e de outros fármacos.

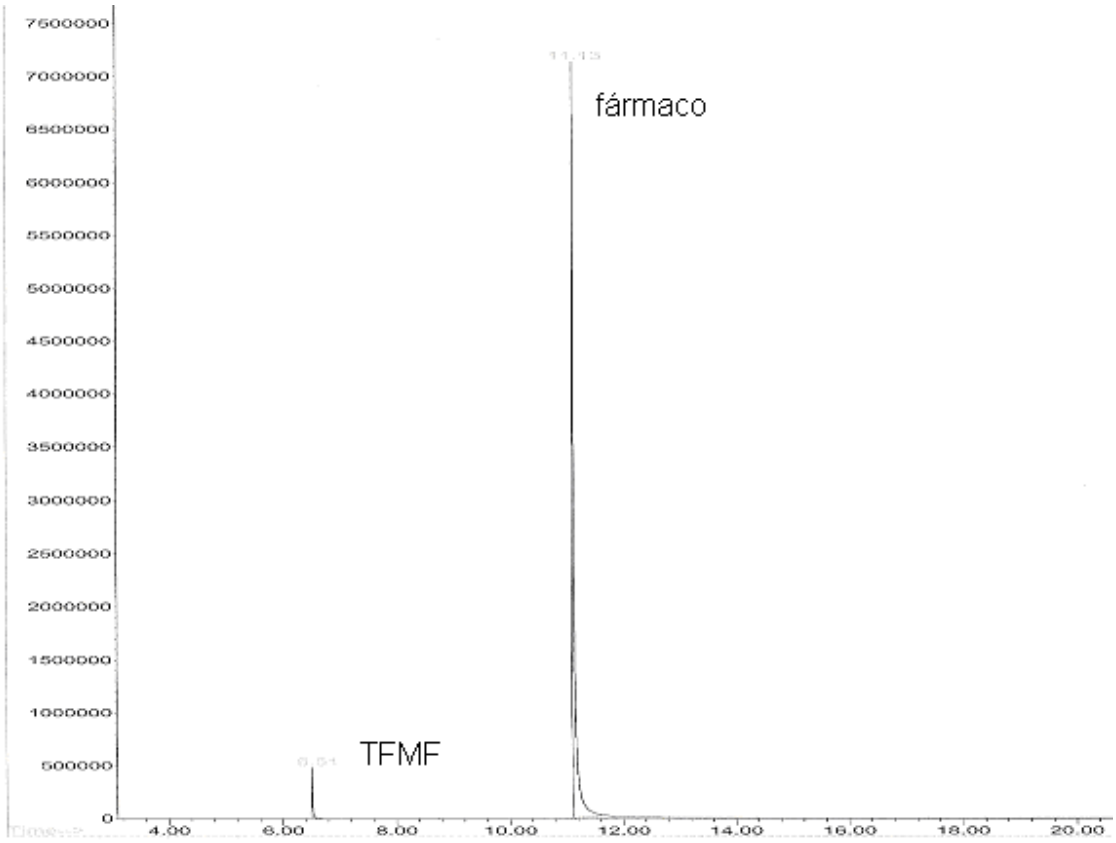


Figura 95. Cromatograma da reação de fotoxidação da fluoxetina catalisada pela metaloporfirna H_2(TDCPP)Cl.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários estudos têm sido desenvolvidos buscando elucidar o papel da superfamília do citocromo P450, a principal enzima envolvida no metabolismo de fármacos. Metaloporfirinas têm sido empregadas como excelentes modelos do P450 nestes estudos. Entretanto, pouca atenção têm sido dada à utilização de complexos salen, análogos às metaloporfirinas. Assim, dada essa lacuna e algumas vantagens dos complexos salen sobre as metaloporfirinas (custo, facilidade de síntese), o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de catalisadores salen em mimetizar a ação do P450 na oxidação de fármacos anticonvulsivante e antidepressivo, e comparar os resultados com aqueles obtidos com metaloporfirinas.

Os resultados mostraram que o catalisador Mn(salen) foi capaz de oxidar os anticonvulsivantes carbamazepina e primidona, mimetizando a ação da enzima citocromo P450, resultando na oxidação seletiva da CBZ a CBZ-EP, que corresponde ao principal metabólito no sistema *in vivo,* e na oxidação da primidona a FENO e PEMA, que também são metabólitos encontrados em sistemas biológicos.

Na oxidação da carbamazepina a formação do CBZ-EP é dependente do oxidante e do pH do meio de reação. Os oxidantes *m*-CPBA e t-BOOH mostraram que a natureza dos substituintes ligado ao grupo –OOH do peróxido exerce influência nos rendimentos de CBZ-EP, sendo que grupos retiradores de elétrons presentes no *m*-CPBA favorecem a produção do epóxido, enquanto grupos t-butil do *t*-BOOH levam a baixas conversões de CBZ. O uso do H_2O_2 na oxidação da CBZ resulta em mecanismos de clivagem homolítica e heterolítica conforme o pH da reação, sendo que em baixos valores de pH existe o predomínio da heterólise, que corresponde à condição ótima para obtenção do epóxido.

A formação de FENO ou PEMA pode ser modulada na oxidação da PRM em função do oxidante empregado. Assim, a obtenção do PEMA (principal metabólito *in vivo*) é alcançada utilizando-se peróxidos em meio básico. Contrariamente, a formação preferencial do fenobarbital pode ser obtida

utilizando-se PhIO, em meio ácido. Co-catalisadores e ausência de oxigênio também contribuem para a produção do FENO. Assim, conclui-se que através do controle das condições de reação é possível favorecer a síntese do produto de oxidação desejado.

A oxidação da fluoxetina catalisada por complexos salen e metaloporfirinas produz o p-trifluorometilfenol (TFMF), proveniente de mecanismo de O-desalquilação, além de outros três produtos quando o sistema bifásico (metaloporfirina/H_2O_2) foi utilizado, o qual foi capaz de converter 100 % do fármaco em produtos. Por utilizar H_2O_2, este é um sistema considerado limpo, uma vez que o subproduto gerado pelo oxidante é água, sendo o sistema mais promissor para síntese dos produtos de oxidação da fluoxetina *in vitro*. Dessa forma, os estudos de oxidação da fluoxetina catalisado por metaloporfirinas contribuíram para a identificação de outros produtos de oxidação (BTMF e TFP) e constatar o favorecimento da O-desaquilação sobre a N-desmetilação, a qual não foi observada nos sistemas metaloporfírinicos e, portanto, os catalisadores não seguem a rota biomimética (mecanismo N-desalquilação) para este fármaco.

O complexo salen apresentou eficiência semelhante na oxidação dos fármacos quando comparado com metaloporfirinas consagradas na literatura como excelentes catalisadores biomiméticos do P450, sendo que a principal vantagem do Mn(salen) está relacionado a seu baixo custo, síntese e purificação simples em relação aos complexos porfirínicos.

Vários sistemas catalíticos heterogêneos baseados em alumina, sólidos aminofuncionalizados, membranas de quitosana e membranas híbridas PDMS/PVA foram avaliados com diferentes substratos. Apesar das limitações inerentes a sistemas heterogêneos, a atividade catalítica pode ser potencializada pelo suporte. Nos suportes aminofuncionalizados verificou-se a dependência do metal e do comprimento da cadeia que liga o catalisador ao suporte; nas membranas poliméricas é essencial a sorção dos reagentes para que ocorra a oxidação. Os resultados mostraram que é possível modular a polaridade da membrana polimérica para sorver mais prontamente os reagentes desejados, tornando a catálise mais seletiva para o substrato de interesse.

As membranas de quitosana e membranas híbridas PDMS/PVA foram avaliadas em sistema trifásico, nos quais a membrana se localiza na interface entre a fase apolar (substrato orgânico) e a fase aquosa (contendo o oxidante). Os resultados catalíticos foram excelentes, obtendo-se freqüências de "turnovers" da ordem de 138 h^{-1}, e mostrando-se promissor no desenvolvimento de reatores com separação do substrato e do oxidante pela membrana polimérica.

Os resultados destes estudos revelaram que os complexos salen e as metaloporfirinas são bons modelos biomiméticos na oxidação de fármacos, podendo ser empregados para sintetizar os metabólitos e fornecer amostras para testes farmacológicos e toxicológicos, visando elucidação de metabolismo de fármacos, e como uma alternativa aos estudos enzimáticos. Também poderá auxiliar na proposição de novas rotas para obtenção de novos fármacos, pois muitas vezes os metabólitos gerados podem ser mais ativos que os seus respectivos precursores.

VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARYA, M.M.; HATTIANGADY, B.; SHETTY, A.K. Progress in neuroprotective strategies for preventing epilepsy. **Prog. Neurobiol.**, vol. 84, p. 363-404, 2008.

ADAM, W.; KROBLAUCH, C.M.; MOELLER, C.R.S.; HERDERICH, M. Are Mn^{IV} species involved in Mn(Salen)-catalyzed Jacobsen-Katsuki epoxidations? A mechanistic elucidation of their formation and reaction modes by EPR spectroscopy, mass-spectral analysis, and product studies: chlorination versus oxygen transfer. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122 p. 9685-9691, 2000.

ADAM, W.; ROSCHMANN, K. J.; SAHA-MOLLER, C. R.; SEEBACH, D. Cis-stilbene and (1α,2β,3α)-(2-ethenyl-3-methoxycyclopropyl)benzene as mechanistic probes in the mn^{iii}(salen)-catalyzed epoxidation: influence of the oxygen source and the counterion on the diastereoselectivity of the competitive concerted and radical-type oxygen transfer. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 5068-5073, 2002.

AL-GAILANY, K.A.S.; BRIDGES, J.W.; NETTER, K.J. The dealkylation of some p-nitrophenylalkylethers and their α-deuterated analogues by rat liver microsomes. **Biochem. Pharmacol.** vol. 24, p. 867-870, 1975.

AL-TARAKJI-KHALFH, Y.; CAVÉ, C.; MÉNAGER, S.; LEGRAS, Y.; FARNOUX, C.C.; LAFONT, O. Mechanism of the formation in vivo of α-phenyl-γ-lactones in the glutethimide series. **Eur. J. Med. Chem.** vol. 28, p. 593-600,1993.

ANDRESEN, B.D.; DAVIS, F.T.; TEMPLETON, J.L.; HAMMER, R.H.; PANZIK, H.L. Synthesis and characterization of alpha-phenyl-gamma-butyrolactone, a metabolite of glutethimide, phenobarbital and primidone, in human urine. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.** vol. 15, p. 21-29, 1976.

ANDRESEN, B.D.; DAVIS, F.T.; TEMPLETON, J.L.; HAMMER, R.H.; PANZIK, H.L. Toxicity of alpha-phenyl-gamma-butyrolactone, a metabolite of glutethimide in human urine. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.** vol. 18, p. 439-51,1977.

ANELLI, P.L.; BANFI, S.; MONTANARI, F.; QUICI, S. Synergistic effect of lipophilic carboxylic acids and heterocyclic axial ligands in alkene epoxidation by hydrogen peroxide catalysed by manganese(III) tetra-aryl porphyrins**. J. Chem. Soc. Chem. Commun.** p. 779-780, 1989.

ASSIS, M.D.; SMITH, J.R.L. Hydrocarbon oxidation with iodosylbenzene catalysed by the sterically hindered iron(III) 5-(pentafluorophenyl)-10,15,20-tris(2,6-dichlorophenyl)porphyrin in homogeneous solution and covalently bound to silica. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2**, vol. 10, p. 2221-2226, 1998.

ATHAYDE, P. Sofrer faz bem. http://www.cartanaescola.com.br/edicoes/19/sofrer-faz-bem/. Acesso em 05 de março, 2008.

AZENHA, E.G.; SERRA, A.C.; PINEIRO, M.; PEREIRA, M.M.; MELO, J.S.; ARNAUT, L.G.; FORMOSINHO, S.J.; GONSALVES, A.M.A.R. Heavy-atom effects on metalloporphyrins and polyhalogenated porphyrins. **Chem. Phys.** vol. 280, p. 177-190, 2002.

BAHRAMIAN, B.; MIRKHANI, V.; TANGESTANINEJAD, S.; MOGHADAM, M. Catalytic epoxidation of olefins and hydroxylation of alkanes with sodium periodate by water-soluble manganese(III)salen. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 244, p. 139-145, 2005.

BAHRAMIAN, B.; MIRKHANI, V.; MOGHADAM, M. S.; TANGESTANINEJAD, S. Manganese (III) salen immobilized on montmorillonite as biomimetic alkene epoxidation and alkane hydroxylation catalyst with sodium periodate. **Catal. Comm.** vol. 7, p. 289-296, 2006.

BALASUBRAMANIAN; P.N.; SCHMIDT, E.S.; BRUICE, T.C. Catalase modeling. 2. Dynamics of reaction of a water-soluble and non .mu.-oxo dimer forming manganese(III) porphyrin with hydrogen peroxide. **J. Am. Chem. Soc.** vol.109, p. 7865-7873, 1987.

BANFI, S.; MANFREDI, A.; MONTANARI, F.; POZZI, G.; QUICI S.; URSINO, F. Mn(III)-tetraarylporphyrins bearing covalently bonded crown-ethers: synthesis and catalytic activity in 1-dodecene epoxidation promoted by aqueous HOCl/OCl. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 113, p. 369-377,1996.

BARROS, V.P.; ZANONI, M. V. B. ASSIS, M.D. Characterization of electrodes chemically modified with Mn(III) porphyrin/polypyrrole films as catalytic surfaces for an azo dye. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, vol. 10, p. 962-970, 2006.

BARROS, V.P.; FARIA, A.L.; MAC LEOD, T.C.O.; MORAES L.A.B., ASSIS, M.D. Ironporphyrin immobilized onto montmorillonite as a biomimetical model for azo dye oxidation. **Int. Biodeter. Biodegr.**, vol. 61, p. 337-344, 2008.

BATTIONI, P.; RENAUD, J.P.; BARTOLI, J.F.; ARTILES, M.R.; FORT, M.; MANSUY, D. Heme model studies related to cytochrome P-450 reactions: preparation of iron porphyrin complexes with carbenes bearing a .beta.-oxygen atom and their transformation into iron-N-alkylporphyrins and iron-metallacyclic complexes. **J. Am Chem. Soc.** vol.110, p. 8462-8470, 1988.

BEDIOUI, F. Zeolite-encapsulated and clay-intercalated metal porphyrin, phthalocyanine and Schiff-base complexes as models for biomimetic oxidation catalysts: an overview. **Coord. Chem. Rev.** vol. 144, p. 39-68, 1995.

BELL, D.; DAVIES, M.R.; FINNEY, F.J.L.; GEEN, G.R.; KINCEY, P.M.; MANN, I.S. The effect of catalyst loading and donor ligands in the Mn(III) salen catalysed chiral epoxidation of chromenes: Synthesis of BRL 55834. **Tetrahedron Lett.** vol. 37, p. 3895-3898, 1996.

BENEDITO, F.L.; NAKAGAKI, S.; SACK, A.A.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; COSTA, C.M.M. Study of metalloporphyrin covalently bound to silica as catalyst in the ortho-dianisidine oxidation. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 250, p. 1-11, 2003.

BEREZIN, I.V.; DENISOV, E.T.; EMANUEL, N.M. **Oxidation of Cyclohexane**, Pergamon Press, New York, 1968.

BERGSTROM, R.F.; LEMBERGER, L.; FARID, N.A.; WOLEN, R.L. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: A review. **Brit. J. Psychiatry** vol. 153, p. 47-50, 1988.

BERNADOU, J.; BONNAFOUS, M.; LABAT, G.; LOISEAU, P.; MEUNIER, B.; Model systems for metabolism studies: biomimetic oxidation of acetaminophen and ellipticine derivatives with water-soluble metalloporphyrins associated to potassium monopersulfate. **Drug Metab. Dispos.** vol. 19, p. 360-365, 1991.

BERNADOU, J.; FABIANO, A.; ROBERT, A.; MEUNIER, B. "Redox Tautomerism" in high-valent metal-oxo-aquo complexes. Origin of the oxygen atom in epoxidation reactions catalyzed by water-soluble metalloporphyrins. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 116, p. 9375-9376, 1994.

BERNADOU, J.; MEUNIER, B. Biomimetic chemical catalysts in the oxidative activation of drugs. **Adv. Synt. & Catal.** vol. 346, p. 171-184, 2004.

BERTELSEN, K.M.; Venkatakrishnan, K.; Moltke, L.L.;. Obach, R.S; Greenblatt, D.J. Apparent mechanism-based inhibition of human CYP2D6 in vitro by paroxetine: comparison with fluoxetine and quinidine. **Drug Metab. Dispos.** vol. 31, p. 289-293, 2003.

BHAKTA, M.N.; WIMALASENA, K. Microsomal P_{450}-Catalyzed N-Dealkylation of *N,N*-Dialkylanilines: Evidence for a C_{α}-H Abstraction Mechanism. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 1844-1845, 2002.

BONNETT, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. **Chem. Soc. Rev.**, vol. 24, p. 19-34, 1995.

BOTTCHER, A.; GRINSTAFF, M.W.; LABINGER, J.; GRAY, H.B. Aerobic oxidation of hydrocarbons catalyzed by electronegative iron salen complexes. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 113, p. 191-200, 1996.

BRETON, H.; COCIGLIO, M.; BRESSOLLE, F.; PEYRIERE, H.; BLAYAC, J.P.; BUYS, D.H. Liquid chromatography–electrospray mass spectrometry determination of carbamazepine, oxcarbazepine and eight of their metabolites in human plasma. **J. Chromatogr. B** vol. 828 p. 80–90, 2005.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARD, J.; GOYCOOLEA, F.M.; ARGÜELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer** vol. 42, p. 3569 -3580, 2001.

BRUNAUER, S.; DEMING, L.S.; DEMING, W.S; TELLER, E. On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 62, p. 1723-1732, 1940.

BU, H.; KANG, P.; DEESE, A.J.; ZHAO, P.; POOL, W.F. Human in vitro glutathionyl and protein adducts of carbamazepine-10,11-epoxide, a stable and pharmacologically active metabolite of carbamazepine. **Drug Metab. Dispos.** vol. 33, p. 1920-1924, 2005.

BUGAMELLI, F.; SABBIONI, C.; MANDRIOLI, R.; KENNDLER, E.; ALBANI, F.; RAGGI, M.A. Simultaneous analysis of six antiepileptic drugs and two selected metabolites in human plasma by liquid chromatography after solid-phase extraction. **Anal. Chim. Acta** vol. 472, p. 1-10, 2002.

CAIUT, J.M.A.; NAKAGAKI, S.; LIMA, O.J.; MELLO, C.; LEITE, C.A.P.; NASSAR, E.J.; CIUFFI, K.J. Encapsulation of tetraazaannulenato compounds in matrix by sol-gel process. **J. Sol-Gel Sci. Tech.** vol. 28, p. 57-64, 2003.

CAMINO, G.; LOMARKIN, S. M.; LAZZARI, M. Polydimethylsiloxane thermal degradation Part 1. Kinetic aspects. **Polymer** vol. 42, p. 2395-2402, 2001.

CAMPBELL, K.A.; LASHLEY, M.R.; WYATT, J.K.; NANTZ, M.H.; BRITT, R.D. Dual-Mode EPR Study of Mn(III) Salen and the Mn(III) Salen-Catalyzed Epoxidation of cis-Methylstyrene. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 123 p. 5710-5919, 2001.

CANALI, L.; SHERRINGTON, D.C.; DELEUZE H. Synthesis of resins with pendently-bound chiral manganese–salen complexes and use as heterogeneous asymmetric alkene epoxidation catalysts. **React. Funct. Polym.** vol. 40, p. 155-168,1999.

CANALI, L.; COWAN, E.; DELEUZE H.; GIBSON, H.; SHERRINGTON, D.C. Polystyrene and polymethacrylate resin-supported Jacobsen's alkene epoxidation catalyst**. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1** p. 2055-2066, 2000.

CARON, S.; DUGGER, R.W.; S.G. RUGGERI, RAGAN, J.A.; RIPIN, D.H.B. Large-scale oxidations in the pharmaceutical industry. **Chem. Rev.** vol. 106, p. 2943-2989, 2006.

CAVALLO, L.; JACOBSEN, H. Electronic Effects in (salen)Mn-Based Epoxidation Catalysts. **J. Org. Chem.** vol. 68, p. 6202-6207, 2003.

CASS, Q.B.; DEGANI, A.N.G. Desenvolvimento de Métodos por HPLC: Fundamentos, Estratégias e Validação. São Carlos, Ed. UFSCAR, 2001.

CAVÉ, C.; LAFONT O.; MÉNAGER, S.; LAMBREY, B.; MIOCQUE, M. Interpretation of 2-phenyl-γ-butyrolactone formation from phenobarbital oxidized in vivo. **Eur. J. Med. Chem.** vol. 21, p. 487-492, 1986.

CERVEAU, G.; CORRIU, R.J.P.; LEPEYTRE, C.; MUTIN, P.H. Influence of the nature of the organic precursor on the textural and chemical properties of silsesquioxane materials **J. Mater. Chem.** vol. 8, p. 2707-2713. 1998.

CHANDRASENA, R.E.P.; VATSIS, K.P.; COON, M.J.; HOLLENBERG, P.F.; NEWCOMB, M. Hydroxylation by the Hydroperoxy-Iron Species in Cytochrome P450 Enzymes. **J. Am. Chem. Soc.**, vol.126, p.115-126, 2004.

CHANG, C.J.; CONNICK, W.B.; LOW, D.W.; DAY, M.W.; GRAY, H.B. Electronic Structures of Nitridomanganese(V) Complexes. **Inorg. Chem.** vol. 37, p. 3107-3110, 1998.

CHATTOPADHYAY, T.; ISLAM, S.; NETHAJI, M.; MAJEE, A.; DAS, D. Mono- and bi-metallic Mn(III) complexes of macroacyclic salen type ligands: Syntheses, characterization and studies of their catalytic activity. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 267, p. 255-264, 2007.

CHIAVARINO, B.; CIPOLLINI, R.; CRESTONI, M.E.; FORNARINI, S.; LANUCARA, F.; LAPI, A. Probing the compound I-like reactivity of a bare high-valent oxo iron porphyrin complex: the oxidation of tertiary amines. **J. Am. Chem. Soc.**, vol. 130, p. 3208-3217, 2008.

CHIAVETTO, L.B.; GUGLIELMETTI, G.; QUERCI, C.; RICCI, M. Oxidation of isosafrole by sodium hypochlorite catalysed by manganese porphyrins: unusual competition between epoxidation and O-dealkylation. **Tetrahedron Lett.**, vol. 37, p. 1091-1094, 1996.

CHOI, S.K.; LEE, H.J.; KIM, H.; NAM, W. Epoxidation of olefins by cobalt-containing polyoxotungstate and potassium monopersulfate in aqueous solution. **Bull. Korean Chem. Soc.** vol. 23, p. 1039-1041, 2002.

CHORGHADE, M.S.; HILL, D.R.; LEE, E.C.; PARIZA, R.J. Metalloporphyrins as chemical mimics of cytochrome P-450 systems. **Pure Appl. Chem.** vol. 68, p. 753-756. 1996.

CIUFFI, K.J.; NASSAR, E.J.; ROCHA, L.A.; ROCHA, Z.N.; NAKAGAKI, S.; MATA, G.; TRUJILLANO, R.; VICENTE, M.A.; KORILI, S.A.; GIL, A. Preparation and characterization of new Ni-aluminosilicate catalysts and their performance in the epoxidation of (Z)-cyclooctene. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 319, p. 153-162, 2007.

COLLMAN, J.P.; CHIEN, A.S.; EBERSPACHER, T.A.; BRAUMAN, J.I. Multiple active oxidants in cytochrome p-450 model oxidations. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 11098-11100, 2000.

COLLMAN, J.P.; ZENG, L.; BRAUMAN, J.I. Donor ligand effect on the nature of the oxygenating species in mn^{iii}(salen)-catalyzed epoxidation of olefins: experimental evidence for multiple active oxidants. **Inorg. Chem.** vol. 43, p. 2672-2679, 2004.

COOKE, P.R.; SMITH, J.R.L. Alkene epoxidation catalysed by ligand-bound supported metalloporphyrins. **Tetrahedron Lett.** vol. 33, p. 2737-2740, 1992.

COOKE, P.R.; GILMARTIN, C.; GRAY, G.W.; SMITH, J.R.L. Characterisation of iron tetraarylporphyrins co-ordinatively bound to solid supports. **J. Chem. Soc. Perkin Trans 2,** p.1573-1578, 1995.

COON, M.J. Cytochrome P450: nature's most versatile biological catalyst. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** vol. 45, p. 1-25, 2005.

CORRIU, R.J.P. A new trend in metal-alkoxide chemistry: the elaboration of monophasic organic-inorganic hybrid materials. **Polyhedron** vol.17, p. 925-934, 1998.

COSTA, A.A.; GHESTI, G.F.; MACEDO, J.L.; BRAGA, V.S.; SANTOS, M.M.; DIAS, J.A.; DIAS, S.C.L. Immobilization of Fe, Mn and Co tetraphenylporphyrin complexes in MCM-41 and their catalytic activity in cyclohexene oxidation reaction by hydrogen peroxide. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 282, p. 149-157, 2008.

COSTAS, M.; CHEN, K. QUE JR, L. Biomimetic nonheme iron catalysts for alkane hydroxylation. **Coord. Chem. Rev.** vol. 200, p. 517-544, 2000.

DAPURKAR, S.E.; SAKTHIVEL, A.; SELVAM, P. Mesoporous VMCM-41: highly efficient and remarkable catalyst for selective oxidation of cyclohexane to cyclohexanol. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 223, p. 241-250, 2004.

DENISOV, I.G.; MAKRIS, T.M.; SLIGAR, S.G.; SCHLICHTING, I. Structure and Chemistry of Cytochrome P450. **Chem. Rev.**, vol.105, p. 2253-2278, 2005.

DOLPHIN, D.; TRAYLOR, T. G.; XIE, L. Y. Polyhaloporphyrins: Unusual Ligands for Metals and Metal-Catalyzed Oxidations. **Acc. Chem. Res.** vol. 30, p. 251-259, 1997.

DORO, F.G.; SMITH, J.R.L.; FERREIRA, A.G.; ASSIS, M.D. Oxidation of alkanes and alkenes by iodosylbenzene and hydrogen peroxide catalysed by halogenated manganese porphyrins in homogeneous solution and covalently bound to silica. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol.164, p. 97-108, 2000.

DOWERS, T. S.; ROCK, D. A.; ROCK, D. A.; JONES, J. P. Kinetic Isotope Effects Implicate the Iron-Oxene as the Sole Oxidant in P450-Catalyzed N-Dealkylation **J. Am. Chem. Soc.** vol. 126, p. 8868-8869, 2004.

ELGER, C.E.; SCHMIDT, D. Modern management of epilepsy: A practical approach. **Epilepsy Behav.** vol. 12, p. 501-539, 2008.

FARIA, A.L.; AIROLDI, C.; DORO, F.G.; FONSECA, M.G. ASSIS, M.D. Anchored ironporphyrins-the role of talc-aminofunctionalyzed phyllosilicates in the catalysis of oxidation of alkanes and alkenes. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 268 p. 217-226, 2004.

FARIA, A.L.; MAC LEOD, T.C.O.; ASSIS, M.D. Carbamazepine oxidation catalyzed by iron and manganese porphyrins supported on aminofunctionalized matrices. **Catal. Today** vol. 133-135, p. 863-869, 2008.

FEICHTINGER, D.; PLATTNER, D.A. Probing the Reactivity of Oxomanganese-Salen Complexes: An Electrospray Tandem Mass Spectrometric Study of Highly Reactive Intermediates. **Chem. Eur. J.** vol. 7, p. 591-599, 2001.

FEITERS, M.C.; ROWAN, A.E.; NOLTE, R.J.M.; From simple to supramolecular cytochrome P450 mimics. **Chem. Soc. Rev.**, vol. 29, p. 375-384, 2000.

FERNANDES, C.; HOECK, E.V.; SANDRA, P.; LANÇAS, F.M. Determination of fluoxetine in plasma by gas chromatography–mass spectrometry using stir bar sorptive extraction. **Anal. Chim. Acta** vol. 614, p. 201–207, 2008.

FERRANTI, V.; CHABENAT, C.; MÉNAGER, S.; LAFONT, O. Simultaneous determination of primidone and its three major metabolites in rat urine by high-performance liquid chromatography using solid-phase extraction. **J. Chromatogr. B** vol. 718, p. 199-204, 1998.

FERREIRA, A.D.Q.; VINHADO, F.S.; IAMAMOTO, Y. Characterization of Mn(III)porphyrin immobilized on modified silica surfaces by EXAFS spectroscopy: A promising tool for analysis of supported metalloporphyrin catalysts. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 243, p. 111-119, 2006.

FOLTZ, R.L.; COUCH, M.W.; GREER, M.; SCOTT, K.N.; WILLIAMS, C.M. Chemical ionization mass spectrometry in the identification of drug metabolites **Biochem. Med.** vol. 6, p. 294-298,1972.

FURST, S.M.; UETRECHT J.P. Carbamazepine metabolism to a reactive intermediate by the myeloperoxidase system of activated neutrophils. **Biochem. Pharmacol.** vol. 45, p. 1267-1275, 1993.

FURST, S.M.; SUKHAI, P.; MCCLELLAND, R.A.; UETRECHT J.P. Covalent binding of carbamazepine oxidative metabolites to neutrophils. **Drug Metab. Dispos.** vol. 23, p. 590-594, 1995.

GARERI, P.; GRAVINA, T.; FERRERI, G.; SARRO, G. Treatment of epilepsy in the elderly. **Prog. Neurobiol.** vol. 58, p. 389-407, 1999.

GARLAND, W.A.; NELSON, S.D.; SASAME, H.A. Primary and β-secondary deuterium isotope effects in the O-deethylation of phenacetin. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** vol. 72, p. 539-545, 1976.

GELMAN, F.; AVNIR, D.; SCHUMANN, H.; BLUM, J. Sol–gel entrapped chiral rhodium and ruthenium complexes as recyclable catalysts for the hydrogenation of itaconic acid. **J. Mol. Catal.** vol. 46, p.123-128, 1999.

GILL, I.; BALLESTEROS, A. Encapsulation of Biologicals within Silicate, Siloxane, and Hybrid Sol-Gel Polymers: An Efficient and Generic Approach. **J. Am. Chem. Soc.** vol.120, p. 8587-8598, 1998.

GILMARTIN, C.; SMITH, J.R.L. Alkene epoxidation by iodosylbenzene catalysed by iron(III) 5, 10, 15, 20-tetra(2,6-dichlorophenyl)porphyrin coordinated to pyridine-modified silica. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2** p. 243-251,1995.

GOLDSBY, K.A.; BLAHO, J.K.; HOFERKAMP, L.A. Oxidation of nickel(II) bis(salicylaldimine) complexes: Solvent control of the ultimate redox site. **Polyhedron** vol. 8, p. 113-115, 1989.

GONSALVES, A.M.A.R.; JOHNSTONE, R.A.W.; PEREIRA, M.M.; SHAW, J. Metal-assisted reactions. Part 21. Epoxidation of alkenes catalysed by manganese-porphyrins: the effects of various oxidatively-stable ligands and bases. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1** p. 645-649, 1991.

GONSALVES, A.M.A.R.; SERRA, A.C. On the mechanism of carboxylic acid co-catalyst assisted metalloporphyrin oxidations. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 168, p. 25-32, 2001.

GOTARDO, M.C.A.F.; GUEDES, A.A.; SCHIAVON, M.A.; JOSÉ, N.M.; YOSHIDA, I.V.P.; ASSIS, M.D. Polymeric membranes: the role this support plays in the reactivity of the different generations of metalloporphyrins. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 229, p. 137-143, 2005.

GOTARDO, M.C.A.F.; MORAES, L.A.B.; ASSIS, M.D. Metalloporphyrins as Biomimetic Models for Cytochrome P-450 in the Oxidation of Atrazine. **J. Agric. Food Chem. vol.** 54, p. 10011-10018, 2006.

GRAY, H.B.; BOTTCHER, A.; GRINSTAFF, M.W.; LABINGER, J.A. Aerobic oxidation of hydrocarbons catalyzed by electronegative iron salen complexes. **J. Mol. Catal. A: Chem** vol. 113, p.191-200, 1996.

GROVES, J.T.; KRUPER, W.J.; NEMO, T.E.; MYERS, R.S. Hydroxylation and expoxidation reactions catalyzed by synthetic metalloporphyrinates. Models related to the active oxygen species of cytochrome P-450. **J. Mol. Catal.** vol. 7, p. 169-177, 1980.

GROVES, J.T.; Myers, R.S. Catalytic asymmetric epoxidations with chiral iron porphyrins **J. Am. Chem. Soc.** vol. 105, p. 5791-5796, 1983.

GROVES, J.T.; ADHYAM, D.V. Hydroxylation by cytochrome P-450 and metalloporphyrin models. Evidence for allylic rearrangement. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 106, p. 2177-2181, 1984.

GROVES, J.T. LEE, J.; MARLA, S.S. Detection and characterization of an oxomanganese(V) porphyrin complex by rapid-mixing stopped-flow spectrophotometry. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 119, p. 6269-6273, 1997.

GROVES, J.T. High-valent iron in chemical and biological oxidations **J. Inorg. Biochem.**, vol. 100, p. 434-447, 2006.

GUEDES, A.A.; SMITH, J.R.L.; NASCIMENTO, O.R.; GUEDES, D.F.C.; ASSIS, M.D. Catalytic Activity of a Poly-halogenated Iron Porphyrin in Alkene and Alkane Oxidations by Iodosylbenzene and Hydrogen Peroxide. **J. Braz. Chem. Soc.** vol. 16, p. 835-843, 2005A.

GUEDES, D.F.C.; MAC LEOD, T.C.O.; GOTARDO, M.C.A.F.; SCHIAVON, M.A.; YOSHIDA, I.V.P.; CIUFFI, K.J.; ASSIS, M.D. Investigation of a new oxidative catalytic system involving Jacobsen's catalyst in the absence of organic solvents **Appl. Catal. A: Gen.**, vol. 296, p. 120-127, 2005B.

GUEDES, A.A.; SANTOS, A.C.M.A.; ASSIS, M.D. Evaluation of some parameters in the mechanism for the oxidation of styrene catalyzed by three generations of ironporphyrins. **Kin. Catal.** vol. 47, p. 555-563, 2006.

GUEDES, A.A. ”Atividade catalítica de metaloporfirinas na oxidação de hidrocarbonetos e do fármaco antituberculose isoniazida”, Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP-USP), Ribeirão Preto-SP (2006).

GUENGERICH, F.P. Cytochrome P450: what have we learned and what are the future issues? **Drug Metab. Rev.,** vol. 36, p. 159–197, 2004.

GUNTER, M.J.; TURNER, P. The role of the axial ligand in meso-tetraarylmetalloporphyrin models of the P-450 cytochromes. **J. Mol. Catal.** vol. 66, p. 121-141,1991.

GUNTER, M.J.; JEYNES, T.P.; JOHNSTON, M.R.; TURNER, P.; CHEN, Z. Structural control of co-receptor binding in porphyrin–bipyridinium supramolecular assemblies. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1** p. 1945-1958, 1998.

GUPTA, K.C.; SUTAR, A.K. Catalytic activities of Schiff base transition metal complexes. **Coord. Chem. Rev.**, vol. 252, p. 1420-1450, 2008.

GUIBAL, E. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials: a review. **Prog. Polym. Sci.** vol. 30, p. 71-109, 2005.

HATA, M.; TANAKA, Y.; KYODA, N.; OSAKABE, T.; YUKI, H.; ISHII, I.; KITADA, M.; NEYA, S.; HOSHINO, T.; An epoxidation mechanism of carbamazepine by CYP3A4. **Bioorg. Med. Chem.**, vol. 16, p. 5134-5148, 2008.

HAY, J.N.; RAVAL. H.M. Solvent-free synthesis of binary inorganic oxides. **J. Mater. Chem.** vol. 8, p. 1233-1239, 1998.

HILBORN, J.W.; LU, Z.; JURGENS, A.R.; FANG, Q.K.; BYERS, P.; WALD, S.A.; SENANAYAKE, C.H. A practical asymmetric synthesis of (R)-fluoxetine and its major metabolite (R)-norfluoxetine. **Tetrahedron Lett.** vol. 42, p. 8919-8921, 2001.

HILL, C.L. Homogeneous catalysis: Controlled green oxidation. **Nature.** vol. 401, p.436-437, 1999.

HIRAO, H.; KUMAR, D.; SHAIK, S. On the identity and reactivity patterns of the "second oxidant" of the T252A mutant of cytochrome $P450_{cam}$ in the oxidation of 5-methylenenylcamphor. **J. Inorg. Biochem.,** vol. 100, p. 2054-2068, 2006.

HOLL, R.H.; SOLOMON, E.I. Preface: biomimetic inorganic chemistry. **Chem. Rev.** vol. 104, p. 347-348, 2004.

HOLLAND, J. B.; HAY, J. N. The thermal degradation of poly(vinyl alcohol). **Polymer** vol. 42, p. 6775-6783, 2001.

HOUK, K.N.; DEMELLO, N.C.; CONDROSKI, K.; FENNEN, J.; KASUGA, T. Origins of stereoselectivity in Jacobsen epoxidations. http://www.ch.ic.ac.uk/ectoc/echet96/hyperwave/00000031.htm. Acesso em 05 de março, 2008.

HSIEH, W.Y.; PECORARO, V.L. Oxidation of m-chlorobenzoic acid by Mn(V)=O complexes. **Inorg. Chim. Acta**, vol. 341, p. 113-117, 2002.

HUANG, C.G.; ZHANG, X.; GUO, D.C. Catalysis of chitosan-supported iron tetraphenylporphyrin for aerobic oxidation of cyclohexane in absence of reductants and solvents. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 247, p.261-267, 2003.

HUBIN, T.J.; MCCORNICK, J.M.; COLLINSON, S.R.; BUCHALOVA, M.; PERKINS, C.M.; ALCOCK, N.W.; KAHOL, P.K.; RAGHUNATHAN, A.; BUSCH, D.H. New Iron(II) and Manganese(II) Complexes of Two Ultra-Rigid, Cross-Bridged Tetraazamacrocycles for Catalysis and Biomimicry. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 2512-2522, 2005.

IN, J.H.; PARK, S.E.; SONG, R.; NAM, W. Iodobenzene diacetate as an efficient terminal oxidant in iron(III) porphyrin complex-catalyzed oxygenation reactions. **Inorg. Chim. Acta** vol. 343, p. 373-376, 2003.

ISHIZUKA, T.; IKEDA, S.; TOGANOH, M.; YOSHIDA, I.; ISHIKAWA, Y.; OSUKA, A.; FURUTA, H. Substitution, dimerization, metalation, and ring-opening reactions of N-fused porphyrins. **Tetrahedron**, vol. 64, p. 4037-4050, 2008.

ISIN, E.M.; GUENGERICH, F.P. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. **Biochim. Biophys. Acta,** vol. 1770, p. 314–329, 2007.

IVANIC, J.; COLLINS, J.R.; BURT, S.K. Theoretical study of the low lying electronic states of oxoX(salen) (X = Mn, Mn^-, Fe, and Cr^-) complexes. **J. Phys. Chem. A**, vol. 108, p. 2314 -2323, 2004.

JACOBSEN, E.N. Asymmetric Catalysis of Epoxide Ring-Opening Reactions. **Acc. Chem. Res.** vol.33, p. 421-431, 2000.

JAWECKI, G.N. Evaluation of the *in vitro* biotransformation of fluoxetine with HPLC, mass spectrometry and ecotoxicological tests. **Chemosphere** vol 70, p. 29-35, 2007.

JIN, N.; IBRAHIM, M.; SPIRO, T.G.; GROVES, J.T.Trans-dioxo Manganese(V) Porphyrins. **J. Am. Chem. Soc.** vol.129, p. 12416-12417, 2007.

JOHNSON, E.F.; STOUT, C.D. Structural diversity of human xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 monooxygenases. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** vol. 338, p. 331-336, 2005.

JÓNSSON, S.; ODILLE, F.G.J.; NORRBY, P.; WÄRNMARK, K. Modulation of the reactivity, stability and substrate- and enantioselectivity of an epoxidation catalyst by noncovalent dynamic attachment of a receptor functionality—aspects on the mechanism of the Jacobsen–Katsuki epoxidation applied to a supramolecular system. **Org. Biomol. Chem.,** vol. 4, p. 1927 - 1948, 2006.

JU, C.; UETRECHT, J.P. Detection of 2-hydroxyiminostilbene in the urine of patients taking carbamazepine and its oxidation to a reactive iminoquinone intermediate. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** vol. 288, p. 51–56, 1999.

KAMARAJ, K.; BANDYOPADHYAY, D. Oxene versus Non-oxene Reactive Intermediates in Iron(III) Porphyrin Catalyzed Oxidation Reactions: Organometallic Compounds as Diagnostic Probes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 119, p. 8099-8100, 1997.

KANG M.J.; SONG W.J.; HAN A.R.; CHOI Y.S.; JANG H.G.; NAM W. Mechanistic insight into the aromatic hydroxylation by high-valent Iron(IV)-oxo porphyrin pi-cation radical complexes. **J. Org. Chem.** vol. 72, p. 6301-6304, 2007.

KARKI, S.B.; DINNOCENZO, J.P.; JONES, J.P.; KORZEKWA, K.R. Mechanism of oxidative amine dealkylation of substituted N,N-dimethylanilines by cytochrome p-450: application of isotope effect profiles. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 117, p. 3657-3664, 1995.

KATSUKI, T. Catalytic Asymmetric Oxidations using optically active (salen) manganese (III) complexes as catalysts. Coord Chem Rev. vol. 140, p. 189-214, 1995.

KELLY, S.L.; KADISH, K.M. Counterion and solvent effects on the electrode reactions of manganese porphyrins . **Inorg. Chem.** vol. 21, p. 3631-3639, 1982.

KENNEDY, S.H.; A review of antidepressant treatments today. **Eur. Neuropsychopharmacol.** vol. 16, p. S619-S623, 2006.

KHAVASI, H.R.; DAVARANI, S.S.H.; SAFARI, N. Remarkable solvent effect on the yield and specificity of oxidation of naphthalene catalyzed by iron(III)porphyrins **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 188, p. 115-122, 2002.

KHAVRUTSKII, I.V.; MUSAEV, D.G.; MOROKUMA, K. Insights into the Structure and Reactivity of Acylperoxo Complexes in the Kochi-Jacobsen-Katsuki Catalytic System. A Density Functional Study. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 125 p. 13879-13889, 2003.

KISS, J.P. Theory of active antidepressants: A nonsynaptic approach to the treatment of depression. **Neurochem. Int.** vol. 52, p. 34-39, 2008.

KITTUR, F.S.; PRASHANTH, K.V.H.; SANKAR, K.U.; THARANATHAN, R.N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydr. Polymer** vol. 49, p. 185-193, 2002.

KLINGENBERG M. Pigments of rat liver microsomes. **Arch. Biochem. Biophys.**, vol. 75, p. 376-386,1958.

KOMURO, M.; HIGUCHI, T.; HIROBE, M. Application of chemical P- 450 model systems to studies on drug metabolism. Novel hydroxylactonization of gamma,delta- and beta,gamma-unsaturated carboxylic acids with an iron porphyrin-iodosylbenzene system. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1** vol. 18, p. 2309–2313, 1996.

KURESHY, R.I.; KHAN, N.H.; ABDI, S.H.R.; SINGH, S.; AHMAD, I.; JASRA, R.V.; VYAS, A.P. Enantioselective epoxidation of nonfunctionalized alkenes catalyzed by recyclable new homochiral dimeric Mn(III) salen complexes **J. Catal.** vol. 224, p. 229-235, 2004.

LAFONT, O.; CAVÉ, C.; MÉNAGER, S.; MIOCQUE, M. New chemical aspects of primidone metabolism. **Eur. J. Med. Chem.**, vol. 25, p. 61-66, 1990.

LAHAYE, D. GROVES, J.T. Modeling the haloperoxidases: Reversible oxygen atom transfer between bromide ion and an oxo-Mn(V) porphyrin **J. Inorg. Biochem.** vol. 101, p. 1786-1797, 2007.

LEE, K.A.; NAM, W. Determination of Reactive Intermediates in Iron Porphyrin Complex-Catalyzed Oxygenations of Hydrocarbons Using Isotopically Labeled Water: Mechanistic Insights. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 119, p. 1916-1922,1997.

LEE N.H., MUCI A.R., ERIC N. Enantiomerically Pure Epoxychromans via Asymmetric Catalysis. **Tetrahedron Lett.** vol. 32, p. 5055-5058, 1991.

LEE, N.H.; LEE, C.S.; JUNG, D.S. Selective oxidation of benzylic hydrocarbons to carbonyl compounds catalyzed by Mn(III) salen complexes. **Tetrahedron Lett.** vol. 39, p. 1385-1388,1998.

LEE S.H.; HAN J.H.; KWAK H.;LEE S.J.; LEE E.Y.; KIM H.J.; LEE J.H.; BAE C.; LEE S.N.; KIM Y.; KIMAL C. Biomimetic hydrocarbon oxidation catalyzed by Nonheme Iron(III) complexes with peracids: Evidence for an Fe-V=O species. **Chem. Eur. J.** vol. 13, p. 9393-9398, 2007.

LYNCH, J. E.; CHOI, W. B.; CHURCHILL, H. R. O.; VOLANTE, R. P.; REAMER, R. A.; BALL, R. G. Asymmetric Synthesis of CDP840 by Jacobsen Epoxidation. An Unusual Syn Selective Reduction of an Epoxide. **J. Org. Chem.** vol. 62, p. 9223-9228, 1997.

LEMBERGER, L.; BERGSTROM, R.F.; WOLEN, R.L.; FARID, N.A.; ENAS, G.G.; ARANOFF, G.R. Fluoxetine: clinical pharmacology and physiologic disposition. **J. Clin. Psychiatry** vol. 46 p. 14-19, 1985.

LI, C.; ZHANG, L.; ZHANG, C.; HIRAO, H.; WU, W.; SHAIK, S. Which Oxidant Is Really Responsible for Sulfur Oxidation by Cytochrome P450? **Angew. Chem. Int. Ed.** vol. 46, p. 8168-8170, 2007.

LI, Z.; XIA, C. Oxidation of hydrocarbons with iodobenzene diacetate catalyzed by manganese(III) porphyrins in a room temperature ionic liquid. **J. Mol. Catal. Chem.** vol. 214, p. 95-101, 2004.

LIMA, O.J.; OLIVEIRA, D.C.; SILVA, M.A.; MELLO, C.; SACCO, H.C.; CIUFFI, K.J. Porphyrins entrapped in an alumina matrix. **J. Mat. Chem.** vol.11, p. 2476-2481, 2001.

LINDE, C.; AKERMARK, B.; NORRBY, P.; Svensson, M. Timing is critical: effect of spin changes on the diastereoselectivity in Mn(salen)-catalyzed epoxidation. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 121, p. 5083-5084, 1999.

LINDE, C.; KOLIAI, N.; NORRBY, P.; AKERMARK, B. Experimental evidence for multiple oxidation pathways in the (salen)Mn-catalysed epoxidation of alkenes. **Chem. Eur. J.** vol. 8, p. 2568-2573, 2002.

LINDSAY, J.R.S. **Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations**, 1ª ed., New York: Marcel Dekker, ch. 11, 1994.

LIU, Z.; TAN, Z.; WANG, D.; HUANG, S.; WANG, L.; ZHOU, H. Simultaneous determination of fluoxetine and its metabolite p-trifluoromethylphenol in human liver microsomes using a gas chromatographic–electron-capture detection procedure **J. Chromatogr. B: Anal.Technol. Biomed. Life Sci.** vol. 769 p. 305-311, 2002.

LUCAS, H.J.; KENEDY, E.R.; FORNO, M.W. Iodosobenzene. **Org. Syntheses Coll.** vol. 3, p. 483, 1963.

LUCIA, H.S. Depressão. http://www.santalucia.com.br/neurologia/depressao/. Acesso 05 de março, 2008.

MAC LEOD, T.C.O.; GUEDES, D.F.C.; LELO, M.R.; ROCHA, R.A.; CAETANO, B.L.; CIUFFI, K.J. ASSIS, M.D. Catalytic activity of Jacobsen catalyst encapsulated in an alumina matrix by the sol–gel process. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 259, p. 319-327, 2006.

MAC LEOD, T.C.O.; BARROS, V.P.; FARIA, A.L.; SCHIAVON, M.A.; YOSHIDA, I.V.P.; QUEIROZ, M.E.C.; ASSIS, M.D. Jacobsen catalyst as a P450 biomimetic model for the oxidation of an antiepileptic drug. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 273, 1 p. 259-264, 2007.

MANSUY, D. Activation of alkanes: the biomimetic approach. **Coord. Chem. Rev.** vol. 125, p. 129-142, 1993.

MANSUY, D. A brief history of the contribution of metalloporphyrin models to cytochrome P450 chemistry and oxidation catalysis. **C. R. Chimie.** vol. 10, p. 392-413, 2007.

MARGOLIS, J.M.; O'DONNELL, J.P.; MANKOWSKI, D.C.; EKINS, S.; OBACH, R.S. (R)-, (S)-, and Racemic Fluoxetine N-Demethylation by Human Cytochrome P450 Enzymes**. Drug Metab. Dispos.** vol. 28, p. 1187-1191, 2000.

MARQUES, R.S.; MAC LEOD, T.C.; ASSIS, M.D.; YOSHIDA, I.V.P.; SCHIAVON, M.A. Síntese e caracterização de redes poliméricas à base de poli(álcool vinílico) e poli(dimetilsiloxano). **IX Congresso Brasileiro de Polímeros**, 2007.

MASRI, H.A.; PORTIER, C.J. Physiologically based pharmacokinetics model of primidone and its metabolites phenobarbital and phenylethylmalonamide in humans, rats, and mice. **Drug Metab. Dispos.** vol. 26, p. 585-594, 1998.

MATACHOWSKI, L.; PAMIN, K.; POŁTOWICZ, J.; SERWICKA, E.M.; JONES, W.; MOKAYA, R. Oxidation of cyclooctane over metalloporphyrin-exchanged Al,Si-mesoporous molecular sieves of HMS (MMS) type. **Appl. Catal. A: Gen.,** vol. 313, p. 106-111, 2006.

MAURIN, A.J.M.; IAMAMOTO,Y.; LOPES, N.P.; LINDSAY-SMITH,J.R.; BONATO,P.S. LC-MS-MS identification of drug metabolites obtained by metalloporphyrin mediated oxidation. **J. Braz. Chem. Soc.** vol 14, p. 322-328, 2003.

MAYER, I.; NAKAMURA, M.; TOMA, H.E.; ARAKI, K. Multielectronic redox and electrocatalytic supramolecular films based on a tetraruthenated iron porphyrin **Electrochim. Acta**, vol. 52, p. 263-271, 2006.

MCCLAIN RM. Phenobarbital mouse liver tumors: implications of hepatic tumor promotion for cancer risk assessment. **Prog. Clin. Biol. Res.** vol. 391, p. 325-336, 1995.

MELO, A.J.B.; IAMAMOTO, Y.; MAESTRIN, A.P.J.; SMITH, J.R.L.; SANTOS, M.D.; LOPES, N.P.; BONATO, P.S. Biomimetic oxidation of praziquantel catalysed by metalloporphyrins. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 226, p. 23-31, 2005.

MEUNIER, B.; GUILMET, E.; CARVALHO, M.E.; POILBLANC. R. Sodium Hypochlorite: A Convenient Oxygen Source for Olefin Epoxidation Catalyzed by (Porphyrinato)manganese Complexes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 106, p. 6668-6676, 1984.

MEUNIER, B. Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. **Chem. Rev.** vol. 92, p.1411-1456, 1992.

MEUNIER, B.; ROBERT, A.; PRATVIEL, G.; BERNADOU, J. **The Porphyrin Handbook**, 1ª ed. New York: Academic Press, vol. 4, ch. 31, 2000.

MEUNIER, B.; VISSER, S.P.; SHAIK, S. Mechanism of Oxidation Reactions Catalyzed by Cytochrome P450 Enzymes. **Chem. Rev.** vol. 104, p. 3947-3980, 2004.

MEYER, D.; LEIFELS, T.; SBARAGLI, L.; WOGGON, W.D. Reactivity of a new class of P450 enzyme models. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** vol. 338, p. 372-377, 2005.

MIRKHANI, V.; MOGHADAM, M.; TANGESTANINEJAD, S.; KARGAR, H. Mn(Br_8TPP)Cl supported on polystyrene-bound imidazole: An efficient and reusable catalyst for biomimetic alkene epoxidation and alkane hydroxylation with sodium periodate under various reaction conditions. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 303, p. 221-229, 2006.

MONTELLANO, P.R.O.; **Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry** ed. 3, New York: Plenum Press, 2004.

MYLLYNEN, P.; PIENIMAKI, P.; RAUNIO, H.; VAHAKANGAS, K. Microsomal metabolism of carbamazepine and oxcarbazepine in liver and placenta. **Hum. Exp. Toxicol.** vol. 17, p. 668-676, 1998.

NAKAGAKI, S.; MACHADO, A.M.; WYPYCH, F.; DRECHSEL, S.M. Study of the Catalytic Behavior of Montmorillonite/Iron(III) and Mn(III) Cationic Porphyrins. **J. Colloid Interf. Sci.** vol. 254, p. 158-164, 2002.

NAKAGAKI, S.; WYPYCH, F. Nanofibrous and nanotubular supports for the immobilization of metalloporphyrins as oxidation catalysts. **J. Coll. Int. Sci.** vol. 315, p. 142-157, 2007.

NAM, W.; CHOI, H.J.; HAN, H.J.; Cho, S.H.; Lee, H.J.; HAN, S.Y. Use of 2-methyl-1-phenylpropan-2-yl hydroperoxide (MPPH) as a mechanistic probe for the heterolytic versus homolytic O–O bond cleavage of tert-alkyl hydroperoxide by iron(III) porphyrin complex. **Chem. Commun.** vol. 4, p. 387-388,1999.

NAM, W.; HAN, H.J.; OH, S.Y.; LEE, Y.J.; CHOI, M.H.; HAN, S.Y.; KIM, C.; WOO, S.K. SHIN, W. New insights into the mechanisms of O-O bond cleavage of hydrogen peroxide and tert-alkyl hydroperoxides by iron(III) porphyrin complexes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 8677-8684, 2000A.

NAM, W.; LIM, M.H.; LEE, H.J.; KIM, C. Evidence for the participation of two distinct reactive intermediates in iron(III) porphyrin complex-catalyzed epoxidation reactions. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 6641-6647, 2000B.

NAM, W.; Lee, H.J.; OH, S.Y.; KIM, C.; Jang, H.G. First success of catalytic epoxidation of olefins by an electron-rich iron(III) porphyrin complex and H_2O_2: imidazole effect on the activation of H_2O_2 by iron porphyrin complexes in aprotic solvent. **J. Inorg. Biochem.** vol. 80, p. 219-225, 2000C.

NAM, W.; LIM, M.H.; MOON, S.K.; KIM, C. Participation of two distinct hydroxylating intermediates in iron(III) porphyrin complex-catalyzed hydroxylation of alkanes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 10805-10809, 2000D.

NAM, W.; JIN, S. W.; LIM, M. H.; RYU, J. Y.; KIM, C. Anionic ligand effect on the nature of epoxidizing intermediates in iron porphyrin complex-catalyzed epoxidation reactions. **Inorg. Chem.** vol. 41, p. 3647-3652, 2002.

NAM, W.; RYU, Y.O.; SONG, W.J. Oxidizing intermediates in cytochrome P450 model reactions. **J. Biol. Inorg. Chem.** vol. 9, p. 654-660, 2004.

NAZARI, K.; SHOKROLLAHZADEH, S.; MAHMOUDI, A.; MESBAHI, F.; SEYED MATIN, N.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A.A. Iron(III)protoporphyrin/MCM41 catalyst as a peroxidase enzyme model: Preparation and typical test reactions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 239, p. 1-9, 2005

NELSON, D.R.; KOYMANS, L.; KAMATAKI, T.; STEGEMAN, J.J.;, FEYEREISEN, R.; WAXMAN, D.J.; WATERMAN, M.R.; GOTOH, O.; COON, M.J.; ESTABROOK, R.W.; GUNSALUS, I.C.; NEBERT, D.W. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. **Pharmacogenetics**, vol. 6, p. 1 - 42, 1996.

NELSON, D. R. Cytochrome P450 and the Individuality of Species. **Arch. Biochem. Biophys.**, vol. 369, p. 1-10, 1999.

NELSON, D.R.; ZELDIN, D.C.; HOFFMAN, S.M.; MALTAIS, L.J.; WAIN, H.M.; NEBERT, D.W. Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. **Pharmacogenetics**, vol.14, p. 1–18, 2004.

NEYS, P.E.F.; SEVEREYS, A.; VANKELECOM, I.F.J.; CEULEMANS, E.; DEHAEN, W.; JACOBS, P.A. Manganese porphyrins incorporated in polydimethylsiloxane membranes: selective catalysts for the epoxidation of deactivated alkenes. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 144, p. 373-377, 1999.

NEWCOMB, M.; CHANDRASENA, R.E.P. Highly reactive electrophilic oxidants in cytochrome P450 catalysis. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** vol. 338, p. 394-403, 2005.

NIOLA, F.; BASORA, N.; CHORNET, E.; VIDAL, P.F. A rapid method for the determination of the degree of N-acetylation of chitin-chitosan samples by acid hydrolysis and HPLC. **Carbohydr. Res.** vol. 238, p. 1-9, 1992.

NUNES, G.S.; MAYER, I.; TOMA, H.E.; ARAKI, K. Kinetics and mechanism of cyclohexane oxidation catalyzed by supramolecular manganese(III) porphyrins. **J. Catal.** vol. 236, p. 55-61, 2005.

OMURA, T. Forty Years of Cytochrome P450. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, vol. 266, p.690-698,1999.

ORTIZ, B.; PARK, S. Electrochemical and Spectroelectrochemical Studies of Cobalt Salen and Salophen as Oxygen Reduction Catalysts. **Bull. Korean Chem. Soc.** vol. 21, p. 405-411, 2000.

OTHMAN, S.; MOURIES, V.M.; BENSOUSSAN, C.; BATTIONI, P.; MANSUY, D. Hydroxylation of diclofenac: an illustration of the complementary roles of biomimetic metalloporphyrin catalysts and yeasts expressing human cytochromes P450 in drug metabolism studies. **C. R. Acad. Sci. Paris**, vol. 3, p. 751-755, 2000.

PAPACÍDERO, A.T.; ROCHA, L.A.; CAETANO, B.L.; MOLINA, E.; SACCO, H.C.; NASSAR, E.J.; MARTINELLI, Y.; MELLO, C.; NAKAGAKI, S.; CIUFFI, K.J. Preparation and characterization of spherical silica–porphyrin catalysts obtained by the sol–gel methodology. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,** vol. 275, p. 27-35, 2006.

PARK, M. J.; LEE, J.; SUH, Y.; KIM, J.; NAM, W. Reactivities of mononuclear non-heme iron intermediates including evidence that iron(III)-hydroperoxo species is a sluggish oxidant. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 128, p. 2630-2634, 2006.

PARTON, R. F.; VANKELECOM, I. F. J.; TAS, D.; JANSSEN, K. B. M.; KNOPS-GERRITS, P.; JACOBS, P. A. Membrane occluded catalysts: a higher order mimic with improved performance. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 113, p. 283-292, 1996.

PAYNE, G.P.; DEMING, P.H.; WILLIAMS, P.H. Reactions of Hydrogen Peroxide. VII. Alkali-Catalyzed Epoxidation and Oxidation Using a Nitrile as Co-reactant. **J. Org. Chem.** vol. 26, p. 659-663, 1961.

POULOS, T.L.; JOHNSON, E.F. In: P.R. Ortiz de Montellano (Ed.), **Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry**, 3ª ed., Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, 2005.

PEARCE, R.E.; VAKKALAGADDA, G.R.; LEEDER, J.S. Pathways of Carbamazepine Bioactivation in Vitro I. Characterization of Human Cytochromes P450 Responsible for the Formation of 2- and 3-Hydroxylated Metabolites. **Drug Metab. Dispos.** vol. 30, p.1170-1179, 2002.

PEARCE, R.E.; UETRECHT, J.P.; LEEDER, J.S. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro: II. The role of human cytochrome p450 enzymes in the formation of 2-hydroxyiminostilbene. **Drug Metab. Dispos**. vol. 33, p. 1819-1826, 2005.

PETROVIC, M.; BARCELÓ. D. LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. **Trends Anal. Chem.** vol. 26, p. 486-493, 2007.

PICCALUGA, G.; CORRIAS, A.; ENNAS, G.; MUSINU, A. **Sol-gel preparation and characterization of metal-silica and metal oxide-silica nanocomposites**. Trans tech publications, Switzerland, 2000.

PIETIKÄINEN, P. Convenient asymmetric (salen)Mn(III)-catalyzed epoxidation of unfunctionalized alkenes with hydrogen peroxide using carboxylate salt cocatalysts. **Tetrahedron** vol. 54, p. 4319-4326,1998.

PIETIKÄINEN, P. Asymmetric Mn(III)-salen catalyzed epoxidation of unfunctionalized alkenes with in situ generated peroxycarboxylic acids. **J. Mol. Catal. A: Chem**. vol.165, p. 73-79, 2001.

PLAETZER, K.; KRAMMER, B.; BERLANDA, J.; BERR, F.; KIESSLICH, T. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. **Lasers Med. Sci.**, In press, 2008.

RANI, V.R.; KISHAN, M.R.; KULKARNI, S.J.; RAGHAVAN, K.V. Immobilization of metalloporphyrin complexes in molecular sieves and their catalytic activity. **Catal. Comm.** Vol. 6, p. 531-538, 2005.

RAYMOND, L.; MORIN, F.G.; MARCHESSAUT, R.H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. **Carbohdr. Res.**, vol. 246, p. 331-336, 1993.

RENEHAN, M.F.; SCHANZ, H.; MCGARRIGLE, E.M.; DALTON, C.T.; DALY, A.M.; GILHEANY, D.G. Unsymmetrical chiral salen Schiff base ligands: Synthesis and use in metal-based asymmetric epoxidation reactions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 231, p. 205-220, 2005.

RIBEIRO, S.M.; SERRA, A.C.; GONSALVES, A.M.A.R. Covalently immobilized porphyrins as photooxidation catalysts. **Tetrahedron** vol. 63, p. 7885-7891, 2007.

RIMEZ, B.; RAHIER, H.; VAN ASSCHE, G.; ARTOOS, T.; BIESEMANS, M.; VAN MELE, B. The thermal degradation of poly(vinyl acetate) and poly(ethylene-co-vinyl acetate), Part I: Experimental study of the degradation mechanism. **Polym. Degrad. Stab.**, vol. 93, p. 800-810, 2008.

RINALDI, R.; SCHUCHARDT, U. Factors responsible for the activity of alumina surfaces in the catalytic epoxidation of cis-cyclooctene with aqueous H_2O_2. **J. Catal.** vol. 227, p. 109-116, 2004A.

RINALDI, R.; SEPULVEDA, J.; SCHUCHARDT, U**.** Cyclohexene and Cyclooctene Epoxidation with Aqueous Hydrogen Peroxide using Transition Metal-Free Sol-Gel Alumina as Catalyst. **Adv. Synth. Catal.** vol. 346, p. 281-285, 2004B.

SAMSEL, E.G.; SRINIVASAN, K.; KOCHI, J.K. Mechanism of the chromium-catalyzed epoxidation of olefins. Role of oxochromium(V) cations. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 107, p. 7606-7617,1985.

SANTOS, J.E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R.; CAMPANA FILHO, S.P.; CAVALHEIRO, E.T.G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. Polímeros - Ciência e Tecnologia, vol. 13, p. 243-250, 2003.

SANTOS, A.C.M.A.; SMITH, J.R.L.; ASSIS, M.D. Chloroquine-iron(III) tetraarylporphyrin interactions and their effect on the oxidations catalysed by iron(III) tetra-arylporphyrins. **J. Porph. Phthalocyan.**, vol. 09, p. 326-333, 2005.

SCHIAVON, M.A.; IAMAMOTO, Y.; NASCIMENTO, O.R.; ASSIS, M.D. Catalytic activity of nitro- and carboxy-substituted iron porphyrins in hydrocarbon oxidation: Homogeneous solution and supported systems. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 174, p. 213-222, 2001.

SCHONEBOOM, J.C.; COHEN, S.; LIN, H.; SHAIK, S.; THIEL, W. Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Investigation of the Mechanism of C-H Hydroxylation of Camphor by Cytochrome $P450_{cam}$: Theory Supports a Two-State Rebound Mechanism. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 126, p. 4017-4034, 2004.

SCHOTTNER, G. Hybrid Sol-Gel-Derived Polymers: Applications of Multifunctional Materials. **Chem. Mater.** vol. 13, p. 3422-3435, 2001.

SELISKAR, M.; ROZMAN, D. Mammalian cytochromes P450 - Importance of tissue specificity. **Biochim. Biophys. Acta**, vol. 1770, p. 458–466, 2007.

SENANAYAKE, C.H.; SMITH, G.B.; RYAN, K.M.; FREDENBURGH, L.E.; LIU, J.; ROBERTS, F.; HUGHES, D.L.; LARSEN, R.D.; VERHOEVEN, T.R.; REIDER, P.J. The role of 4-(3-phenylpropyl)pyridine N-Oxide (P_3NO) in the manganese-salen-catalyzed asymmetric epoxidation of indene. **Tetrahedron Lett**. vol. 37, p. 3271-3274, 1996.

SERRA, A.C.; MARÇALO, E.C.; GONSALVES, A.M.A.R. A view on the mechanism of metalloporphyrin degradation in hydrogen peroxide epoxidation reactions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 215, p.17-21, 2004.

SERRANO, D.P.; AGUADO, J.; VARGAS, C. A comparison of methods for the heterogenization of the chiral Jacobsen catalyst on mesostructured SBA-15 supports. **Appl. Catal. A: Gen.**, vol. 335, p. 172-179, 2008.

SHAIK, S.; COHEN, S.; VISSER, S.P.; SHARMA, P.K.; KUMAR, D.; KOZUCH, S.; OGLIARO, F.; DANOVICH, D. The "rebound controversy": an overview and theoretical modeling of the rebound step in c-h hydroxylation by cytochrome P450, **Eur. J. Inorg. Chem.** vol. 2, p 207-226, 2004.

SHAIK, S.; KUMAR, D.; VISSER, S.P.; ALTUN, A.; THIEL, W. Theoretical perspective on the structure and mechanism of cytochrome P450 enzymes. **Chem. Rev.** vol. 105, p. 2279-2328, 2005.

SHAREFKIN, J.G.; SALTZMAN, H. Iodosobenzenzene. **Org. Syntheses Coll.**, vol. 5, p. 658,1973.

SHELDON, R.A. **Metalloporphyrins in catalytic oxidations.** New York: Marcel Dekker, 1994.

SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S.P., Purificação e caracterização de quitosana comercial. Polímeros: Cienc. Tecnol. vol. 4, p. 63-68, 1998.

SILVA, M.A.; OLIVEIRA, D.C.; MELLO, C.; SACCO, H.C.; NASSAR, E.J.; CIUFFI, K.J. Nitro-Porphyrin Entrapped in a Silica Matrix by Sol-Gel Methodology. **J. Sol-gel Sci. Tech.** vol.26, p. 329-334, 2003.

SILVA, J.C.; FERREIRA, A.G.; GOTARDO, M.C.A.F.; ASSIS, M.D. Mono-crowned Substituted Ironporphyrin: Synthesis, Analytical Properties and Catalytic Activity. **J. Porph. Phthalocyan.** vol. 9, p. 637-645, 2005.

SILVA, M.; FREIRE, C.; CASTRO, B.; FIGUEIREDO, J.L. Styrene oxidation by manganese Schiff base complexes in zeolite structures. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 258, p. 327-33, 2006.

SILVA, G.F.; SILVA, D.C.; GUIMARÃES, A.S.; NASCIMENTO, E.; REBOUÇAS, J. S.; ARAÚJO, M.P.; CARVALHO, M.E.M.D.; IDEMORI, Y.M. Cyclohexane hydroxylation by iodosylbenzene and iodobenzene diacetate catalyzed by a new β-octahalogenated Mn porphyrin complex: The effect of meso-3-pyridyl substituents. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 266, p. 274-283, 2007.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER G.C.; MORRIL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 5ª ed. Tradução de R. B. Alencastro. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

SIUZDAK, G. **Mass Spectrometry for Biotechnology**. San Diego, Academic Press, 1996.

SONG, W.J.; RYU, Y.O.; SONG, R.; NAM, W. Oxoiron (IV)porphyrin π-Cation Radical complexes with a chameleon behavior in cytochrome P450 model reactions. **J. Biol. Inorg. Chem.** vol. 10, p. 294-304, 2005A.

SONG, W.J.; SUN, Y.J.; CHOI, S.K.; NAM, W. Mechanistic insights into the reversible formation of iodosylarene-iron porphyrin complexes in the reactions of oxoiron(iv) porphyrin π-cation radicals and iodoarenes: equilibrium, epoxidizing intermediate, and oxygen exchange. **Chem. Eur. J.** vol. 12, p. 130-137, 2005B.

SPIELBERG, S.P.; GORDON, G.B.; BLAKE, D.A., MELLITS, E.D.; BROSS, D.S. Anticonvulsant toxicity in vitro: possible role of arene oxides. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** vol. 217, p. 386-389, 1981.

SUN, Y.; TANG, N. Enantioselective epoxidation of olefins catalyzed by chiral dimeric and partially water-soluble monomeric salen-Mn(III) complexes in the presence of novel co-catalysts. **J. Mol.Catal. A: Chem.** vol. 255, p. 171-179, 2006.

SUSLICK, K.S. **The porphyrin Handbook**, 1ª ed., New York: Academic Press, vol. 4, ch. 28, 2000.

SUZUKI, N.; HIGUCHI, T.; NAGANO, T. Multiple active intermediates in oxidation reaction catalyzed by synthetic heme-thiolate complex relevant to cytochrome p450. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 9622-9628, 2002.

SRINIVASAN, K.; MICHAUD, P.; KOCHI, J.K. Epoxidation of olefins with cationic (salen)manganese(III) complexes. The modulation of catalytic activity by substituents. **J. Am. Chem. Soc.** vol.108, p. 2309-2320, 1986.

TAKENAKA, N.; HUANG, Y.; RAWAL, V.H. The first catalytic enantioselective Diels–Alder reactions of 1,2-dihydropyridine: efficient syntheses of optically active 2-azabicyclo[2.2.2]octanes with chiral BINAM derived Cr(III) salen complexes **Tetrahedron,** vol. 58, p. 8299-8305, 2002.

TANIELIAN, C.; MECHIN, R.; SEGHROUCHNI, R.; SCHWEITZER, C. Mechanistic and Kinetic Aspects of Photosensitization in the Presence of Oxygen. **Photochem. Photobiol.** vol. 71, p. 12-19, 2000.

TESTA, B.T. **The metabolism f drugs and other xenobiotics**. San Diego, Califórnia: Academic Press, eds. Testa B.T., J. Caldwell. 1995.

THELLEND, A.; BATTIONI, P.; MANSUY, D. Ammonium acetate as a very simple and efficient cocatalyst for manganese porphyrin-catalysed oxygenation of hydrocarbons by hydrogen peroxide. **J. Chem. Soc. Chem. Commun.** p. 1035-1036, 1994.

THOMSON, B.A. Atmospheric Pressure Ionization and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry – Together at Last. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.** vol. 9, p.187-193, 1998.

UETRECHT, J. Evaluation of which reactive metabolite, if any, is responsible for a specific idiosyncratic reaction. **Drug Metab. Rev.**, vol. 38, p. 745-753, 2006.

ULHOA, C.J.; SILVA, R.N.; Biotecnologia farmacêutica e seus desafios. http://www.proec.ufg.br/revista_ufg/agosto2007/textos/biotecnologiaFarmaceutica.htm. Acesso em 05 de março, 2008.

URICHUK, L.J.; ASPESLET, L.J.; HOLT, A.; SILVERSTONE, P.H.; COUTTS, R.T.; BAKER, G.B. Determination of p-trifluoromethylphenol, a metabolite of fluoxetine, in tissues and body fluids using an electron-capture gas chromatographic procedure. **J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.** vol. 698, p.103-109, 1997.

VAN HAMEREN, R.; VAN BUUL, A.M.; CASTRICIANO, M.A.; VILLARI, V.; MICALI, N.; SCHON, P.; SPELLER, S.; SCOLARO, L.M., ROWAN, A.E., ELEMANS, J.A.A.W.; NOLTE, R.J.M. Supramolecular porphyrin polymers in solution and at the solid-liquid interface. **Nano Lett.** vol. 8, p. 253-259, 2008.

VANKELECOM, I. F. J.; PARTON, R.F.; CASSELMAN, M.J.A.; UYTTERHOEVEN, J.B.; JACOBS, P.A. Oxidation of Cyclohexane Using FePcY-Zeozymes Occluded in Polydimethylsiloxane Membranes. **J. Catal.** vol. 163, p. 457-464, 1996.

VANKELECOM, I. F. J.; JACOBS, P.A. Dense organic catalytic membranes for fine chemical synthesis. **Catal. Today** vol. 56, p. 147-157, 2000.

VARUM, K.M.; OTTOY, M.H.; SMIDSROD, O. Acid hidrolysis of chitosan. **Carbohydr. Polym.**, vol. 46, p. 89-98, 2001.

VASHI. P.R.; MARQUES, H.M. The coordination of imidazole and substituted pyridines by the hemeoctapeptide N-acetyl-ferromicroperoxidase-8 (Fe^{II}NAcMP8). **J. Inorg. Biochem.**, vol. 98, p.1471-1482, 2004.

VASWANI, M.; LINDA, F.K.; RAMESH, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry** vol. 27, p. 85-102, 2003.

VAZ, A.D.N.; MCGINNITY, D.F.; COON M.J. Epoxidation of olefins by cytochrome P450: evidence from site-specific mutagenesis for hydroperoxo-iron as an electrophilic oxidant. **Proc. Natl. Acad. Sci.** vol. 95, p. 3555–3560, 1998.

VENKATARAMANAN, N.S.; KUPPURAJ, G.; RAJAGOPAL, S. Metal–salen complexes as efficient catalysts for the oxygenation of heteroatom containing organic compounds-synthetic and mechanistic aspects. **Coord. Chem. Rev.** vol. 249, p. 1249-1268, 2005.

VIDAL, M.; BONNAFOUS, M.; DEFRANCE, S.; LOISEAU, P.; BERNADOU, J.; MEUNIER, B. Model systems for oxidative drug-metabolism studies: catalytic behavior of water-soluble metalloporphyrins depends on both the intrinsic robustness of the catalyst and the nature of substrates. **Drug Metab. Dispos.** vol. 21, p. 811–817, 1993.

VINHADO, F.S.; GANDIN, M.E.F.; IAMAMOTO, Y.; SILVA, A.M.G.; SIMÕES, M.M.Q.; NEVES, M.G.P.M.S.; TOMÉ, A.C.; REBELO, S.L.H.; PEREIRA, A.M.V.M.; CAVALEIRO, J.A.S. Novel Mn(III)chlorins as versatile catalysts for oxyfunctionalisation of hydrocarbons under homogeneous conditions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 239, p. 138-143, 2005.

VOGNA, D.; MAROTTA, R.; ANDREOZZI, R.; NAPOLITANO, A.; D'ISCHIA, M. Kinetic and chemical assessment of the UV/H_2O_2 treatment of antiepileptic drug carbamazepine. **Chemosphere** vol. 54, p. 497-505, 2004.

VOLZ, T. J.; ROCK, D. A.; JONES, J. P. Evidence for Two Different Active Oxygen Species in Cytochrome P450 BM3 Mediated Sulfoxidation and N-Dealkylation Reactions. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 9724-9725, 2002.

WADHWANI, P.; MUKHERJEE, M.; BANDYOPADHYAY, D. The prime reactive intermediate in the iron(III) porphyrin complex catalyzed oxidation reactions by *tert*-butyl hydroperoxide. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 123, p. 12430-12431, 2001.

WANG, S.H.; MANDIMUTSIRA, B.S.; TODD, R.; RAMDHANIE, B.; FOX, J.P.; GOLDBERG, D.P. Catalytic sulfoxidation and epoxidation with a mn(iii) triazacorrole: evidence for a "third oxidant" in high-valent porphyrinoid oxidations. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 126, p. 18-19, 2004.

WEISSMAN, S.A.; ZEWGE, D. Recent advances in ether dealkylation. **Tetrahedron,** vol. 61, p. 7833-7863, 2005.

WILLIAMS, P.A.; COSME, J.; SRIDHAR, V.; JOHNSON, E.F.; MCREE, D.E. Mammalian Microsomal Cytochrome P450 Monooxygenase: Structural Adaptations for Membrane Binding and Functional Diversity. **Mol. Cell.** vol. 5, p. 121-131, 2000.

WOLKENSTEIN, P.; TAN, C.; LECOEUR, S.; WECHSLER, J.; GARCIA-MARTIN, N.; CHARUE, D. Covalent binding of carbamazepine reactive metabolites to P450 isoforms present in the skin. **Chem. Biol. Interact.** vol. 113, p. 39-50, 1998.

XINWEN, L.; NING, T.; WEISHENG, L.; MINYU, T. Synthesis, catalytic activity and recycle of novel dimeric salen-Mn(III) complexes in asymmetric epoxidation **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 212, p. 353-358, 2004.

YAMADA, T.; IMAGAWA, K.; NAGATA, T.; MUKAIYAMA, T. Aerobic Enantioselective Epoxidation of Unfunctionalized Olefins Catalyzed by Optically Active Salen–Manganese (III) Complexes. **Bull. Chem. Soc. Jpn.** vol. 67, p. 2248-2256, 1994.

YANG, S. J.; NAM, W. Water-Soluble Iron Porphyrin Complex-Catalyzed Epoxidation of Olefins with Hydrogen Peroxide and *tert*-Butyl Hydroperoxide in Aqueous Solution **Inorg. Chem.** vol. 37, p. 606-607, 1998.

YANG, H.; ZHANG, L.; SU, W.; YANG, Q., LI, C. Asymmetric ring-opening of epoxides on chiral Co(Salen) catalyst synthesized in SBA-16 through the "ship in a bottle" strategy. **J. Catal.**, vol. 248, p. 204-212, 2007.

ZEIGER, E.; ANDERSON, B.; HAWORTH, S.; LAWLOR, T.; MORTELMANS, K. Salmonella mutagenicity tests: IV, results from testing of 300 chemicals. **Environ. Mol. Mutagenesis** vol. 11, p. 1-158, 1988.

ZHANG, H.; WANG, Y.M; ZHANG, L.; GERRITSEN, G.; ABBENHUIS, H.L.C.; VAN SANTEN, R.A.; LI, C. Enantioselective epoxidation of β-methylstyrene catalyzed by immobilized Mn(salen) catalysts in different mesoporous silica supports. **J. Catal.** , vol. 256, p. 226-236, 2008.

ZHANG, R.; NEWCOMB, M. Laser Flash Photolysis Generation of High-Valent Transition Metal-Oxo Species: Insights from Kinetic Studies in Real Time. **Acc. Chem. Res.,** vol. 41, p. 468-477, 2008.

ZHOU, L.; XU, J.; MIAO, H.; WANG, F.; LI, X. Catalytic oxidation of cyclohexane to cyclohexanol and cyclohexanone over Co_3O_4 nanocrystals with molecular oxygen. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 292, p. 223-228, 2005.

VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHARYA, M.M.; HATTIANGADY, B.; SHETTY, A.K. Progress in neuroprotective strategies for preventing epilepsy. **Prog. Neurobiol.**, vol. 84, p. 363-404, 2008.

ADAM, W.; KROBLAUCH, C.M.; MOELLER, C.R.S.; HERDERICH, M. Are Mn^{IV} species involved in Mn(Salen)-catalyzed Jacobsen-Katsuki epoxidations? A mechanistic elucidation of their formation and reaction modes by EPR spectroscopy, mass-spectral analysis, and product studies: chlorination versus oxygen transfer. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122 p. 9685-9691, 2000.

ADAM, W.; ROSCHMANN, K. J.; SAHA-MOLLER, C. R.; SEEBACH, D. Cis-stilbene and (1α,2β,3α)-(2-ethenyl-3-methoxycyclopropyl)benzene as mechanistic probes in the mn^{iii}(salen)-catalyzed epoxidation: influence of the oxygen source and the counterion on the diastereoselectivity of the competitive concerted and radical-type oxygen transfer. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 5068-5073, 2002.

AL-GAILANY, K.A.S.; BRIDGES, J.W.; NETTER, K.J. The dealkylation of some p-nitrophenylalkylethers and their α-deuterated analogues by rat liver microsomes. **Biochem. Pharmacol.** vol. 24, p. 867-870, 1975.

AL-TARAKJI-KHALFH, Y.; CAVÉ, C.; MÉNAGER, S.; LEGRAS, Y.; FARNOUX, C.C.; LAFONT, O. Mechanism of the formation in vivo of α-phenyl-γ-lactones in the glutethimide series. **Eur. J. Med. Chem.** vol. 28, p. 593-600,1993.

ANDRESEN, B.D.; DAVIS, F.T.; TEMPLETON, J.L.; HAMMER, R.H.; PANZIK, H.L. Synthesis and characterization of alpha-phenyl-gamma-butyrolactone, a metabolite of glutethimide, phenobarbital and primidone, in human urine. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.** vol. 15, p. 21-29, 1976.

ANDRESEN, B.D.; DAVIS, F.T.; TEMPLETON, J.L.; HAMMER, R.H.; PANZIK, H.L. Toxicity of alpha-phenyl-gamma-butyrolactone, a metabolite of glutethimide in human urine. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.** vol. 18, p. 439-51,1977.

ANELLI, P.L.; BANFI, S.; MONTANARI, F.; QUICI, S. Synergistic effect of lipophilic carboxylic acids and heterocyclic axial ligands in alkene epoxidation by hydrogen peroxide catalysed by manganese(III) tetra-aryl porphyrins**. J. Chem. Soc. Chem. Commun.** p. 779-780, 1989.

ASSIS, M.D.; SMITH, J.R.L. Hydrocarbon oxidation with iodosylbenzene catalysed by the sterically hindered iron(III) 5-(pentafluorophenyl)-10,15,20-tris(2,6-dichlorophenyl)porphyrin in homogeneous solution and covalently bound to silica. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2**, vol. 10, p. 2221-2226, 1998.

ATHAYDE, P. Sofrer faz bem. http://www.cartanaescola.com.br/edicoes/19/sofrer-faz-bem/. Acesso em 05 de março, 2008.

AZENHA, E.G.; SERRA, A.C.; PINEIRO, M.; PEREIRA, M.M.; MELO, J.S.; ARNAUT, L.G.; FORMOSINHO, S.J.; GONSALVES, A.M.A.R. Heavy-atom effects on metalloporphyrins and polyhalogenated porphyrins. **Chem. Phys.** vol. 280, p. 177-190, 2002.

BAHRAMIAN, B.; MIRKHANI, V.; TANGESTANINEJAD, S.; MOGHADAM, M. Catalytic epoxidation of olefins and hydroxylation of alkanes with sodium periodate by water-soluble manganese(III)salen. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 244, p. 139-145, 2005.

BAHRAMIAN, B.; MIRKHANI, V.; MOGHADAM, M. S.; TANGESTANINEJAD, S. Manganese (III) salen immobilized on montmorillonite as biomimetic alkene epoxidation and alkane hydroxylation catalyst with sodium periodate. **Catal. Comm.** vol. 7, p. 289-296, 2006.

BALASUBRAMANIAN; P.N.; SCHMIDT, E.S.; BRUICE, T.C. Catalase modeling. 2. Dynamics of reaction of a water-soluble and non .mu.-oxo dimer forming manganese(III) porphyrin with hydrogen peroxide. **J. Am. Chem. Soc.** vol.109, p. 7865-7873, 1987.

BANFI, S.; MANFREDI, A.; MONTANARI, F.; POZZI, G.; QUICI S.; URSINO, F. Mn(III)-tetraarylporphyrins bearing covalently bonded crown-ethers: synthesis and catalytic activity in 1-dodecene epoxidation promoted by aqueous HOCl/OCl. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 113, p. 369-377,1996.

BARROS, V.P.; ZANONI, M. V. B. ASSIS, M.D. Characterization of electrodes chemically modified with Mn(III) porphyrin/polypyrrole films as catalytic surfaces for an azo dye. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, vol. 10, p. 962-970, 2006.

BARROS, V.P.; FARIA, A.L.; MAC LEOD, T.C.O.; MORAES L.A.B., ASSIS, M.D. Ironporphyrin immobilized onto montmorillonite as a biomimetical model for azo dye oxidation. **Int. Biodeter. Biodegr.**, vol. 61, p. 337-344, 2008.

BATTIONI, P.; RENAUD, J.P.; BARTOLI, J.F.; ARTILES, M.R.; FORT, M.; MANSUY, D. Heme model studies related to cytochrome P-450 reactions: preparation of iron porphyrin complexes with carbenes bearing a .beta.-oxygen atom and their transformation into iron-N-alkylporphyrins and iron-metallacyclic complexes. **J. Am Chem. Soc.** vol.110, p. 8462-8470, 1988.

BEDIOUI, F. Zeolite-encapsulated and clay-intercalated metal porphyrin, phthalocyanine and Schiff-base complexes as models for biomimetic oxidation catalysts: an overview. **Coord. Chem. Rev.** vol. 144, p. 39-68, 1995.

BELL, D.; DAVIES, M.R.; FINNEY, F.J.L.; GEEN, G.R.; KINCEY, P.M.; MANN, I.S. The effect of catalyst loading and donor ligands in the Mn(III) salen catalysed chiral epoxidation of chromenes: Synthesis of BRL 55834. **Tetrahedron Lett.** vol. 37, p. 3895-3898, 1996.

BENEDITO, F.L.; NAKAGAKI, S.; SACK, A.A.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; COSTA, C.M.M. Study of metalloporphyrin covalently bound to silica as catalyst in the ortho-dianisidine oxidation. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 250, p. 1-11, 2003.

BEREZIN, I.V.; DENISOV, E.T.; EMANUEL, N.M. **Oxidation of Cyclohexane**, Pergamon Press, New York, 1968.

BERGSTROM, R.F.; LEMBERGER, L.; FARID, N.A.; WOLEN, R.L. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: A review. **Brit. J. Psychiatry** vol. 153, p. 47-50, 1988.

BERNADOU, J.; BONNAFOUS, M.; LABAT, G.; LOISEAU, P.; MEUNIER, B.; Model systems for metabolism studies: biomimetic oxidation of acetaminophen and ellipticine derivatives with water-soluble metalloporphyrins associated to potassium monopersulfate. **Drug Metab. Dispos.** vol. 19, p. 360-365, 1991.

BERNADOU, J.; FABIANO, A.; ROBERT, A.; MEUNIER, B. "Redox Tautomerism" in high-valent metal-oxo-aquo complexes. Origin of the oxygen atom in epoxidation reactions catalyzed by water-soluble metalloporphyrins. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 116, p. 9375-9376, 1994.

BERNADOU, J.; MEUNIER, B. Biomimetic chemical catalysts in the oxidative activation of drugs. **Adv. Synt. & Catal.** vol. 346, p. 171-184, 2004.

BERTELSEN, K.M.; Venkatakrishnan, K.; Moltke, L.L.;. Obach, R.S; Greenblatt, D.J. Apparent mechanism-based inhibition of human CYP2D6 in vitro by paroxetine: comparison with fluoxetine and quinidine. **Drug Metab. Dispos.** vol. 31, p. 289-293, 2003.

BHAKTA, M.N.; WIMALASENA, K. Microsomal P_{450}-Catalyzed N-Dealkylation of *N,N*-Dialkylanilines: Evidence for a C_{α}-H Abstraction Mechanism. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 1844-1845, 2002.

BONNETT, R. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. **Chem. Soc. Rev.**, vol. 24, p. 19-34, 1995.

BOTTCHER, A.; GRINSTAFF, M.W.; LABINGER, J.; GRAY, H.B. Aerobic oxidation of hydrocarbons catalyzed by electronegative iron salen complexes. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 113, p. 191-200, 1996.

BRETON, H.; COCIGLIO, M.; BRESSOLLE, F.; PEYRIERE, H.; BLAYAC, J.P.; BUYS, D.H. Liquid chromatography–electrospray mass spectrometry determination of carbamazepine, oxcarbazepine and eight of their metabolites in human plasma. **J. Chromatogr. B** vol. 828 p. 80–90, 2005.

BRUGNEROTTO, J.; LIZARD, J.; GOYCOOLEA, F.M.; ARGÜELLES-MONAL, W.; DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer** vol. 42, p. 3569 -3580, 2001.

BRUNAUER, S.; DEMING, L.S.; DEMING, W.S; TELLER, E. On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 62, p. 1723-1732, 1940.

BU, H.; KANG, P.; DEESE, A.J.; ZHAO, P.; POOL, W.F. Human in vitro glutathionyl and protein adducts of carbamazepine-10,11-epoxide, a stable and pharmacologically active metabolite of carbamazepine. **Drug Metab. Dispos.** vol. 33, p. 1920-1924, 2005.

BUGAMELLI, F.; SABBIONI, C.; MANDRIOLI, R.; KENNDLER, E.; ALBANI, F.; RAGGI, M.A. Simultaneous analysis of six antiepileptic drugs and two selected metabolites in human plasma by liquid chromatography after solid-phase extraction. **Anal. Chim. Acta** vol. 472, p. 1-10, 2002.

CAIUT, J.M.A.; NAKAGAKI, S.; LIMA, O.J.; MELLO, C.; LEITE, C.A.P.; NASSAR, E.J.; CIUFFI, K.J. Encapsulation of tetraazaannulenato compounds in matrix by sol-gel process. **J. Sol-Gel Sci. Tech.** vol. 28, p. 57-64, 2003.

CAMINO, G.; LOMARKIN, S. M.; LAZZARI, M. Polydimethylsiloxane thermal degradation Part 1. Kinetic aspects. **Polymer** vol. 42, p. 2395-2402, 2001.

CAMPBELL, K.A.; LASHLEY, M.R.; WYATT, J.K.; NANTZ, M.H.; BRITT, R.D. Dual-Mode EPR Study of Mn(III) Salen and the Mn(III) Salen-Catalyzed Epoxidation of cis-Methylstyrene. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 123 p. 5710-5919, 2001.

CANALI, L.; SHERRINGTON, D.C.; DELEUZE H. Synthesis of resins with pendently-bound chiral manganese–salen complexes and use as heterogeneous asymmetric alkene epoxidation catalysts. **React. Funct. Polym.** vol. 40, p. 155-168,1999.

CANALI, L.; COWAN, E.; DELEUZE H.; GIBSON, H.; SHERRINGTON, D.C. Polystyrene and polymethacrylate resin-supported Jacobsen's alkene epoxidation catalyst**. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1** p. 2055-2066, 2000.

CARON, S.; DUGGER, R.W.; S.G. RUGGERI, RAGAN, J.A.; RIPIN, D.H.B. Large-scale oxidations in the pharmaceutical industry. **Chem. Rev.** vol. 106, p. 2943-2989, 2006.

CAVALLO, L.; JACOBSEN, H. Electronic Effects in (salen)Mn-Based Epoxidation Catalysts. **J. Org. Chem.** vol. 68, p. 6202-6207, 2003.

CASS, Q.B.; DEGANI, A.N.G. Desenvolvimento de Métodos por HPLC: Fundamentos, Estratégias e Validação. São Carlos, Ed. UFSCAR, 2001.

CAVÉ, C.; LAFONT O.; MÉNAGER, S.; LAMBREY, B.; MIOCQUE, M. Interpretation of 2-phenyl-γ-butyrolactone formation from phenobarbital oxidized in vivo. **Eur. J. Med. Chem.** vol. 21, p. 487-492, 1986.

CERVEAU, G.; CORRIU, R.J.P.; LEPEYTRE, C.; MUTIN, P.H. Influence of the nature of the organic precursor on the textural and chemical properties of silsesquioxane materials **J. Mater. Chem.** vol. 8, p. 2707-2713. 1998.

CHANDRASENA, R.E.P.; VATSIS, K.P.; COON, M.J.; HOLLENBERG, P.F.; NEWCOMB, M. Hydroxylation by the Hydroperoxy-Iron Species in Cytochrome P450 Enzymes. **J. Am. Chem. Soc.**, vol.126, p.115-126, 2004.

CHANG, C.J.; CONNICK, W.B.; LOW, D.W.; DAY, M.W.; GRAY, H.B. Electronic Structures of Nitridomanganese(V) Complexes. **Inorg. Chem.** vol. 37, p. 3107-3110, 1998.

CHATTOPADHYAY, T.; ISLAM, S.; NETHAJI, M.; MAJEE, A.; DAS, D. Mono- and bi-metallic Mn(III) complexes of macroacyclic salen type ligands: Syntheses, characterization and studies of their catalytic activity. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 267, p. 255-264, 2007.

CHIAVARINO, B.; CIPOLLINI, R.; CRESTONI, M.E.; FORNARINI, S.; LANUCARA, F.; LAPI, A. Probing the compound I-like reactivity of a bare high-valent oxo iron porphyrin complex: the oxidation of tertiary amines. **J. Am. Chem. Soc.**, vol. 130, p. 3208-3217, 2008.

CHIAVETTO, L.B.; GUGLIELMETTI, G.; QUERCI, C.; RICCI, M. Oxidation of isosafrole by sodium hypochlorite catalysed by manganese porphyrins: unusual competition between epoxidation and O-dealkylation. **Tetrahedron Lett.**, vol. 37, p. 1091-1094, 1996.

CHOI, S.K.; LEE, H.J.; KIM, H.; NAM, W. Epoxidation of olefins by cobalt-containing polyoxotungstate and potassium monopersulfate in aqueous solution. **Bull. Korean Chem. Soc.** vol. 23, p. 1039-1041, 2002.

CHORGHADE, M.S.; HILL, D.R.; LEE, E.C.; PARIZA, R.J. Metalloporphyrins as chemical mimics of cytochrome P-450 systems. **Pure Appl. Chem.** vol. 68, p. 753-756. 1996.

CIUFFI, K.J.; NASSAR, E.J.; ROCHA, L.A.; ROCHA, Z.N.; NAKAGAKI, S.; MATA, G.; TRUJILLANO, R.; VICENTE, M.A.; KORILI, S.A.; GIL, A. Preparation and characterization of new Ni-aluminosilicate catalysts and their performance in the epoxidation of (Z)-cyclooctene. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 319, p. 153-162, 2007.

COLLMAN, J.P.; CHIEN, A.S.; EBERSPACHER, T.A.; BRAUMAN, J.I. Multiple active oxidants in cytochrome p-450 model oxidations. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 11098-11100, 2000.

COLLMAN, J.P.; ZENG, L.; BRAUMAN, J.I. Donor ligand effect on the nature of the oxygenating species in mn^{iii}(salen)-catalyzed epoxidation of olefins: experimental evidence for multiple active oxidants. **Inorg. Chem.** vol. 43, p. 2672-2679, 2004.

COOKE, P.R.; SMITH, J.R.L. Alkene epoxidation catalysed by ligand-bound supported metalloporphyrins. **Tetrahedron Lett.** vol. 33, p. 2737-2740, 1992.

COOKE, P.R.; GILMARTIN, C.; GRAY, G.W.; SMITH, J.R.L. Characterisation of iron tetraarylporphyrins co-ordinatively bound to solid supports. **J. Chem. Soc. Perkin Trans 2,** p.1573-1578, 1995.

COON, M.J. Cytochrome P450: nature's most versatile biological catalyst. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** vol. 45, p. 1-25, 2005.

CORRIU, R.J.P. A new trend in metal-alkoxide chemistry: the elaboration of monophasic organic-inorganic hybrid materials. **Polyhedron** vol.17, p. 925-934, 1998.

COSTA, A.A.; GHESTI, G.F.; MACEDO, J.L.; BRAGA, V.S.; SANTOS, M.M.; DIAS, J.A.; DIAS, S.C.L. Immobilization of Fe, Mn and Co tetraphenylporphyrin complexes in MCM-41 and their catalytic activity in cyclohexene oxidation reaction by hydrogen peroxide. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 282, p. 149-157, 2008.

COSTAS, M.; CHEN, K. QUE JR, L. Biomimetic nonheme iron catalysts for alkane hydroxylation. **Coord. Chem. Rev.** vol. 200, p. 517-544, 2000.

DAPURKAR, S.E.; SAKTHIVEL, A.; SELVAM, P. Mesoporous VMCM-41: highly efficient and remarkable catalyst for selective oxidation of cyclohexane to cyclohexanol. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 223, p. 241-250, 2004.

DENISOV, I.G.; MAKRIS, T.M.; SLIGAR, S.G.; SCHLICHTING, I. Structure and Chemistry of Cytochrome P450. **Chem. Rev.**, vol.105, p. 2253-2278, 2005.

DOLPHIN, D.; TRAYLOR, T. G.; XIE, L. Y. Polyhaloporphyrins: Unusual Ligands for Metals and Metal-Catalyzed Oxidations. **Acc. Chem. Res.** vol. 30, p. 251-259, 1997.

DORO, F.G.; SMITH, J.R.L.; FERREIRA, A.G.; ASSIS, M.D. Oxidation of alkanes and alkenes by iodosylbenzene and hydrogen peroxide catalysed by halogenated manganese porphyrins in homogeneous solution and covalently bound to silica. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol.164, p. 97-108, 2000.

DOWERS, T. S.; ROCK, D. A.; ROCK, D. A.; JONES, J. P. Kinetic Isotope Effects Implicate the Iron-Oxene as the Sole Oxidant in P450-Catalyzed N-Dealkylation **J. Am. Chem. Soc.** vol. 126, p. 8868-8869, 2004.

ELGER, C.E.; SCHMIDT, D. Modern management of epilepsy: A practical approach. **Epilepsy Behav.** vol. 12, p. 501-539, 2008.

FARIA, A.L.; AIROLDI, C.; DORO, F.G.; FONSECA, M.G. ASSIS, M.D. Anchored ironporphyrins-the role of talc-aminofunctionalyzed phyllosilicates in the catalysis of oxidation of alkanes and alkenes. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 268 p. 217-226, 2004.

FARIA, A.L.; MAC LEOD, T.C.O.; ASSIS, M.D. Carbamazepine oxidation catalyzed by iron and manganese porphyrins supported on aminofunctionalized matrices. **Catal. Today** vol. 133-135, p. 863-869, 2008.

FEICHTINGER, D.; PLATTNER, D.A. Probing the Reactivity of Oxomanganese-Salen Complexes: An Electrospray Tandem Mass Spectrometric Study of Highly Reactive Intermediates. **Chem. Eur. J.** vol. 7, p. 591-599, 2001.

FEITERS, M.C.; ROWAN, A.E.; NOLTE, R.J.M.; From simple to supramolecular cytochrome P450 mimics. **Chem. Soc. Rev.**, vol. 29, p. 375-384, 2000.

FERNANDES, C.; HOECK, E.V.; SANDRA, P.; LANÇAS, F.M. Determination of fluoxetine in plasma by gas chromatography–mass spectrometry using stir bar sorptive extraction. **Anal. Chim. Acta** vol. 614, p. 201–207, 2008.

FERRANTI, V.; CHABENAT, C.; MÉNAGER, S.; LAFONT, O. Simultaneous determination of primidone and its three major metabolites in rat urine by high-performance liquid chromatography using solid-phase extraction. **J. Chromatogr. B** vol. 718, p. 199-204, 1998.

FERREIRA, A.D.Q.; VINHADO, F.S.; IAMAMOTO, Y. Characterization of Mn(III)porphyrin immobilized on modified silica surfaces by EXAFS spectroscopy: A promising tool for analysis of supported metalloporphyrin catalysts. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 243, p. 111-119, 2006.

FOLTZ, R.L.; COUCH, M.W.; GREER, M.; SCOTT, K.N.; WILLIAMS, C.M. Chemical ionization mass spectrometry in the identification of drug metabolites **Biochem. Med.** vol. 6, p. 294-298,1972.

FURST, S.M.; UETRECHT J.P. Carbamazepine metabolism to a reactive intermediate by the myeloperoxidase system of activated neutrophils. **Biochem. Pharmacol.** vol. 45, p. 1267-1275, 1993.

FURST, S.M.; SUKHAI, P.; MCCLELLAND, R.A.; UETRECHT J.P. Covalent binding of carbamazepine oxidative metabolites to neutrophils. **Drug Metab. Dispos.** vol. 23, p. 590-594, 1995.

GARERI, P.; GRAVINA, T.; FERRERI, G.; SARRO, G. Treatment of epilepsy in the elderly. **Prog. Neurobiol.** vol. 58, p. 389-407, 1999.

GARLAND, W.A.; NELSON, S.D.; SASAME, H.A. Primary and β-secondary deuterium isotope effects in the O-deethylation of phenacetin. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** vol. 72, p. 539-545, 1976.

GELMAN, F.; AVNIR, D.; SCHUMANN, H.; BLUM, J. Sol–gel entrapped chiral rhodium and ruthenium complexes as recyclable catalysts for the hydrogenation of itaconic acid. **J. Mol. Catal.** vol. 46, p.123-128, 1999.

GILL, I.; BALLESTEROS, A. Encapsulation of Biologicals within Silicate, Siloxane, and Hybrid Sol-Gel Polymers: An Efficient and Generic Approach. **J. Am. Chem. Soc.** vol.120, p. 8587-8598, 1998.

GILMARTIN, C.; SMITH, J.R.L. Alkene epoxidation by iodosylbenzene catalysed by iron(III) 5, 10, 15, 20-tetra(2,6-dichlorophenyl)porphyrin coordinated to pyridine-modified silica. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2** p. 243-251,1995.

GOLDSBY, K.A.; BLAHO, J.K.; HOFERKAMP, L.A. Oxidation of nickel(II) bis(salicylaldimine) complexes: Solvent control of the ultimate redox site. **Polyhedron** vol. 8, p. 113-115, 1989.

GONSALVES, A.M.A.R.; JOHNSTONE, R.A.W.; PEREIRA, M.M.; SHAW, J. Metal-assisted reactions. Part 21. Epoxidation of alkenes catalysed by manganese-porphyrins: the effects of various oxidatively-stable ligands and bases. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1** p. 645-649, 1991.

GONSALVES, A.M.A.R.; SERRA, A.C. On the mechanism of carboxylic acid co-catalyst assisted metalloporphyrin oxidations. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 168, p. 25-32, 2001.

GOTARDO, M.C.A.F.; GUEDES, A.A.; SCHIAVON, M.A.; JOSÉ, N.M.; YOSHIDA, I.V.P.; ASSIS, M.D. Polymeric membranes: the role this support plays in the reactivity of the different generations of metalloporphyrins. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 229, p. 137-143, 2005.

GOTARDO, M.C.A.F.; MORAES, L.A.B.; ASSIS, M.D. Metalloporphyrins as Biomimetic Models for Cytochrome P-450 in the Oxidation of Atrazine. **J. Agric. Food Chem. vol.** 54, p. 10011-10018, 2006.

GRAY, H.B.; BOTTCHER, A.; GRINSTAFF, M.W.; LABINGER, J.A. Aerobic oxidation of hydrocarbons catalyzed by electronegative iron salen complexes. **J. Mol. Catal. A: Chem** vol. 113, p.191-200, 1996.

GROVES, J.T.; KRUPER, W.J.; NEMO, T.E.; MYERS, R.S. Hydroxylation and expoxidation reactions catalyzed by synthetic metalloporphyrinates. Models related to the active oxygen species of cytochrome P-450. **J. Mol. Catal.** vol. 7, p. 169-177, 1980.

GROVES, J.T.; Myers, R.S. Catalytic asymmetric epoxidations with chiral iron porphyrins **J. Am. Chem. Soc.** vol. 105, p. 5791-5796, 1983.

GROVES, J.T.; ADHYAM, D.V. Hydroxylation by cytochrome P-450 and metalloporphyrin models. Evidence for allylic rearrangement. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 106, p. 2177-2181, 1984.

GROVES, J.T. LEE, J.; MARLA, S.S. Detection and characterization of an oxomanganese(V) porphyrin complex by rapid-mixing stopped-flow spectrophotometry. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 119, p. 6269-6273, 1997.

GROVES, J.T. High-valent iron in chemical and biological oxidations **J. Inorg. Biochem.**, vol. 100, p. 434-447, 2006.

GUEDES, A.A.; SMITH, J.R.L.; NASCIMENTO, O.R.; GUEDES, D.F.C.; ASSIS, M.D. Catalytic Activity of a Poly-halogenated Iron Porphyrin in Alkene and Alkane Oxidations by Iodosylbenzene and Hydrogen Peroxide. **J. Braz. Chem. Soc.** vol. 16, p. 835-843, 2005A.

GUEDES, D.F.C.; MAC LEOD, T.C.O.; GOTARDO, M.C.A.F.; SCHIAVON, M.A.; YOSHIDA, I.V.P.; CIUFFI, K.J.; ASSIS, M.D. Investigation of a new oxidative catalytic system involving Jacobsen's catalyst in the absence of organic solvents **Appl. Catal. A: Gen.**, vol. 296, p. 120-127, 2005B.

GUEDES, A.A.; SANTOS, A.C.M.A.; ASSIS, M.D. Evaluation of some parameters in the mechanism for the oxidation of styrene catalyzed by three generations of ironporphyrins. **Kin. Catal.** vol. 47, p. 555-563, 2006.

GUEDES, A.A. ”Atividade catalítica de metaloporfirinas na oxidação de hidrocarbonetos e do fármaco antituberculose isoniazida”, Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP-USP), Ribeirão Preto-SP (2006).

GUENGERICH, F.P. Cytochrome P450: what have we learned and what are the future issues? **Drug Metab. Rev.,** vol. 36, p. 159–197, 2004.

GUNTER, M.J.; TURNER, P. The role of the axial ligand in meso-tetraarylmetalloporphyrin models of the P-450 cytochromes. **J. Mol. Catal.** vol. 66, p. 121-141,1991.

GUNTER, M.J.; JEYNES, T.P.; JOHNSTON, M.R.; TURNER, P.; CHEN, Z. Structural control of co-receptor binding in porphyrin–bipyridinium supramolecular assemblies. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1** p. 1945-1958, 1998.

GUPTA, K.C.; SUTAR, A.K. Catalytic activities of Schiff base transition metal complexes. **Coord. Chem. Rev.**, vol. 252, p. 1420-1450, 2008.

GUIBAL, E. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials: a review. **Prog. Polym. Sci.** vol. 30, p. 71-109, 2005.

HATA, M.; TANAKA, Y.; KYODA, N.; OSAKABE, T.; YUKI, H.; ISHII, I.; KITADA, M.; NEYA, S.; HOSHINO, T.; An epoxidation mechanism of carbamazepine by CYP3A4. **Bioorg. Med. Chem.**, vol. 16, p. 5134-5148, 2008.

HAY, J.N.; RAVAL. H.M. Solvent-free synthesis of binary inorganic oxides. **J. Mater. Chem.** vol. 8, p. 1233-1239, 1998.

HILBORN, J.W.; LU, Z.; JURGENS, A.R.; FANG, Q.K.; BYERS, P.; WALD, S.A.; SENANAYAKE, C.H. A practical asymmetric synthesis of (R)-fluoxetine and its major metabolite (R)-norfluoxetine. **Tetrahedron Lett.** vol. 42, p. 8919-8921, 2001.

HILL, C.L. Homogeneous catalysis: Controlled green oxidation. **Nature.** vol. 401, p.436-437, 1999.

HIRAO, H.; KUMAR, D.; SHAIK, S. On the identity and reactivity patterns of the "second oxidant" of the T252A mutant of cytochrome $P450_{cam}$ in the oxidation of 5-methylenenylcamphor. **J. Inorg. Biochem.,** vol. 100, p. 2054-2068, 2006.

HOLL, R.H.; SOLOMON, E.I. Preface: biomimetic inorganic chemistry. **Chem. Rev.** vol. 104, p. 347-348, 2004.

HOLLAND, J. B.; HAY, J. N. The thermal degradation of poly(vinyl alcohol). **Polymer** vol. 42, p. 6775-6783, 2001.

HOUK, K.N.; DEMELLO, N.C.; CONDROSKI, K.; FENNEN, J.; KASUGA, T. Origins of stereoselectivity in Jacobsen epoxidations. http://www.ch.ic.ac.uk/ectoc/echet96/hyperwave/00000031.htm. Acesso em 05 de março, 2008.

HSIEH, W.Y.; PECORARO, V.L. Oxidation of m-chlorobenzoic acid by Mn(V)=O complexes. **Inorg. Chim. Acta**, vol. 341, p. 113-117, 2002.

HUANG, C.G.; ZHANG, X.; GUO, D.C. Catalysis of chitosan-supported iron tetraphenylporphyrin for aerobic oxidation of cyclohexane in absence of reductants and solvents. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 247, p.261-267, 2003.

HUBIN, T.J.; MCCORNICK, J.M.; COLLINSON, S.R.; BUCHALOVA, M.; PERKINS, C.M.; ALCOCK, N.W.; KAHOL, P.K.; RAGHUNATHAN, A.; BUSCH, D.H. New Iron(II) and Manganese(II) Complexes of Two Ultra-Rigid, Cross-Bridged Tetraazamacrocycles for Catalysis and Biomimicry. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 2512-2522, 2005.

IN, J.H.; PARK, S.E.; SONG, R.; NAM, W. Iodobenzene diacetate as an efficient terminal oxidant in iron(III) porphyrin complex-catalyzed oxygenation reactions. **Inorg. Chim. Acta** vol. 343, p. 373-376, 2003.

ISHIZUKA, T.; IKEDA, S.; TOGANOH, M.; YOSHIDA, I.; ISHIKAWA, Y.; OSUKA, A.; FURUTA, H. Substitution, dimerization, metalation, and ring-opening reactions of N-fused porphyrins. **Tetrahedron**, vol. 64, p. 4037-4050, 2008.

ISIN, E.M.; GUENGERICH, F.P. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes. **Biochim. Biophys. Acta,** vol. 1770, p. 314–329, 2007.

IVANIC, J.; COLLINS, J.R.; BURT, S.K. Theoretical study of the low lying electronic states of oxoX(salen) (X = Mn, Mn^-, Fe, and Cr^-) complexes. **J. Phys. Chem. A**, vol. 108, p. 2314 -2323, 2004.

JACOBSEN, E.N. Asymmetric Catalysis of Epoxide Ring-Opening Reactions. **Acc. Chem. Res.** vol.33, p. 421-431, 2000.

JAWECKI, G.N. Evaluation of the *in vitro* biotransformation of fluoxetine with HPLC, mass spectrometry and ecotoxicological tests. **Chemosphere** vol 70, p. 29-35, 2007.

JIN, N.; IBRAHIM, M.; SPIRO, T.G.; GROVES, J.T.Trans-dioxo Manganese(V) Porphyrins. **J. Am. Chem. Soc.** vol.129, p. 12416-12417, 2007.

JOHNSON, E.F.; STOUT, C.D. Structural diversity of human xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 monooxygenases. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** vol. 338, p. 331-336, 2005.

JÓNSSON, S.; ODILLE, F.G.J.; NORRBY, P.; WÄRNMARK, K. Modulation of the reactivity, stability and substrate- and enantioselectivity of an epoxidation catalyst by noncovalent dynamic attachment of a receptor functionality—aspects on the mechanism of the Jacobsen–Katsuki epoxidation applied to a supramolecular system. **Org. Biomol. Chem.,** vol. 4, p. 1927 - 1948, 2006.

JU, C.; UETRECHT, J.P. Detection of 2-hydroxyiminostilbene in the urine of patients taking carbamazepine and its oxidation to a reactive iminoquinone intermediate. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** vol. 288, p. 51–56, 1999.

KAMARAJ, K.; BANDYOPADHYAY, D. Oxene versus Non-oxene Reactive Intermediates in Iron(III) Porphyrin Catalyzed Oxidation Reactions: Organometallic Compounds as Diagnostic Probes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 119, p. 8099-8100, 1997.

KANG M.J.; SONG W.J.; HAN A.R.; CHOI Y.S.; JANG H.G.; NAM W. Mechanistic insight into the aromatic hydroxylation by high-valent Iron(IV)-oxo porphyrin pi-cation radical complexes. **J. Org. Chem.** vol. 72, p. 6301-6304, 2007.

KARKI, S.B.; DINNOCENZO, J.P.; JONES, J.P.; KORZEKWA, K.R. Mechanism of oxidative amine dealkylation of substituted N,N-dimethylanilines by cytochrome p-450: application of isotope effect profiles. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 117, p. 3657-3664, 1995.

KATSUKI, T. Catalytic Asymmetric Oxidations using optically active (salen) manganese (III) complexes as catalysts. Coord Chem Rev. vol. 140, p. 189-214, 1995.

KELLY, S.L.; KADISH, K.M. Counterion and solvent effects on the electrode reactions of manganese porphyrins . **Inorg. Chem.** vol. 21, p. 3631-3639, 1982.

KENNEDY, S.H.; A review of antidepressant treatments today. **Eur. Neuropsychopharmacol.** vol. 16, p. S619-S623, 2006.

KHAVASI, H.R.; DAVARANI, S.S.H.; SAFARI, N. Remarkable solvent effect on the yield and specificity of oxidation of naphthalene catalyzed by iron(III)porphyrins **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 188, p. 115-122, 2002.

KHAVRUTSKII, I.V.; MUSAEV, D.G.; MOROKUMA, K. Insights into the Structure and Reactivity of Acylperoxo Complexes in the Kochi-Jacobsen-Katsuki Catalytic System. A Density Functional Study. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 125 p. 13879-13889, 2003.

KISS, J.P. Theory of active antidepressants: A nonsynaptic approach to the treatment of depression. **Neurochem. Int.** vol. 52, p. 34-39, 2008.

KITTUR, F.S.; PRASHANTH, K.V.H.; SANKAR, K.U.; THARANATHAN, R.N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydr. Polymer** vol. 49, p. 185-193, 2002.

KLINGENBERG M. Pigments of rat liver microsomes. **Arch. Biochem. Biophys.**, vol. 75, p. 376-386,1958.

KOMURO, M.; HIGUCHI, T.; HIROBE, M. Application of chemical P- 450 model systems to studies on drug metabolism. Novel hydroxylactonization of gamma,delta- and beta,gamma-unsaturated carboxylic acids with an iron porphyrin-iodosylbenzene system. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1** vol. 18, p. 2309–2313, 1996.

KURESHY, R.I.; KHAN, N.H.; ABDI, S.H.R.; SINGH, S.; AHMAD, I.; JASRA, R.V.; VYAS, A.P. Enantioselective epoxidation of nonfunctionalized alkenes catalyzed by recyclable new homochiral dimeric Mn(III) salen complexes **J. Catal.** vol. 224, p. 229-235, 2004.

LAFONT, O.; CAVÉ, C.; MÉNAGER, S.; MIOCQUE, M. New chemical aspects of primidone metabolism. **Eur. J. Med. Chem.**, vol. 25, p. 61-66, 1990.

LAHAYE, D. GROVES, J.T. Modeling the haloperoxidases: Reversible oxygen atom transfer between bromide ion and an oxo-Mn(V) porphyrin **J. Inorg. Biochem.** vol. 101, p. 1786-1797, 2007.

LEE, K.A.; NAM, W. Determination of Reactive Intermediates in Iron Porphyrin Complex-Catalyzed Oxygenations of Hydrocarbons Using Isotopically Labeled Water: Mechanistic Insights. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 119, p. 1916-1922,1997.

LEE N.H., MUCI A.R., ERIC N. Enantiomerically Pure Epoxychromans via Asymmetric Catalysis. **Tetrahedron Lett.** vol. 32, p. 5055-5058, 1991.

LEE, N.H.; LEE, C.S.; JUNG, D.S. Selective oxidation of benzylic hydrocarbons to carbonyl compounds catalyzed by Mn(III) salen complexes. **Tetrahedron Lett.** vol. 39, p. 1385-1388,1998.

LEE S.H.; HAN J.H.; KWAK H.;LEE S.J.; LEE E.Y.; KIM H.J.; LEE J.H.; BAE C.; LEE S.N.; KIM Y.; KIMAL C. Biomimetic hydrocarbon oxidation catalyzed by Nonheme Iron(III) complexes with peracids: Evidence for an Fe-V=O species. **Chem. Eur. J.** vol. 13, p. 9393-9398, 2007.

LYNCH, J. E.; CHOI, W. B.; CHURCHILL, H. R. O.; VOLANTE, R. P.; REAMER, R. A.; BALL, R. G. Asymmetric Synthesis of CDP840 by Jacobsen Epoxidation. An Unusual Syn Selective Reduction of an Epoxide. **J. Org. Chem.** vol. 62, p. 9223-9228, 1997.

LEMBERGER, L.; BERGSTROM, R.F.; WOLEN, R.L.; FARID, N.A.; ENAS, G.G.; ARANOFF, G.R. Fluoxetine: clinical pharmacology and physiologic disposition. **J. Clin. Psychiatry** vol. 46 p. 14-19, 1985.

LI, C.; ZHANG, L.; ZHANG, C.; HIRAO, H.; WU, W.; SHAIK, S. Which Oxidant Is Really Responsible for Sulfur Oxidation by Cytochrome P450? **Angew. Chem. Int. Ed.** vol. 46, p. 8168-8170, 2007.

LI, Z.; XIA, C. Oxidation of hydrocarbons with iodobenzene diacetate catalyzed by manganese(III) porphyrins in a room temperature ionic liquid. **J. Mol. Catal. Chem.** vol. 214, p. 95-101, 2004.

LIMA, O.J.; OLIVEIRA, D.C.; SILVA, M.A.; MELLO, C.; SACCO, H.C.; CIUFFI, K.J. Porphyrins entrapped in an alumina matrix. **J. Mat. Chem.** vol.11, p. 2476-2481, 2001.

LINDE, C.; AKERMARK, B.; NORRBY, P.; Svensson, M. Timing is critical: effect of spin changes on the diastereoselectivity in Mn(salen)-catalyzed epoxidation. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 121, p. 5083-5084, 1999.

LINDE, C.; KOLIAI, N.; NORRBY, P.; AKERMARK, B. Experimental evidence for multiple oxidation pathways in the (salen)Mn-catalysed epoxidation of alkenes. **Chem. Eur. J.** vol. 8, p. 2568-2573, 2002.

LINDSAY, J.R.S. **Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations**, 1ª ed., New York: Marcel Dekker, ch. 11, 1994.

LIU, Z.; TAN, Z.; WANG, D.; HUANG, S.; WANG, L.; ZHOU, H. Simultaneous determination of fluoxetine and its metabolite p-trifluoromethylphenol in human liver microsomes using a gas chromatographic–electron-capture detection procedure **J. Chromatogr. B: Anal.Technol. Biomed. Life Sci.** vol. 769 p. 305-311, 2002.

LUCAS, H.J.; KENEDY, E.R.; FORNO, M.W. Iodosobenzene. **Org. Syntheses Coll.** vol. 3, p. 483, 1963.

LUCIA, H.S. Depressão. http://www.santalucia.com.br/neurologia/depressao/. Acesso 05 de março, 2008.

MAC LEOD, T.C.O.; GUEDES, D.F.C.; LELO, M.R.; ROCHA, R.A.; CAETANO, B.L.; CIUFFI, K.J. ASSIS, M.D. Catalytic activity of Jacobsen catalyst encapsulated in an alumina matrix by the sol–gel process. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 259, p. 319-327, 2006.

MAC LEOD, T.C.O.; BARROS, V.P.; FARIA, A.L.; SCHIAVON, M.A.; YOSHIDA, I.V.P.; QUEIROZ, M.E.C.; ASSIS, M.D. Jacobsen catalyst as a P450 biomimetic model for the oxidation of an antiepileptic drug. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 273, 1 p. 259-264, 2007.

MANSUY, D. Activation of alkanes: the biomimetic approach. **Coord. Chem. Rev.** vol. 125, p. 129-142, 1993.

MANSUY, D. A brief history of the contribution of metalloporphyrin models to cytochrome P450 chemistry and oxidation catalysis. **C. R. Chimie.** vol. 10, p. 392-413, 2007.

MARGOLIS, J.M.; O'DONNELL, J.P.; MANKOWSKI, D.C.; EKINS, S.; OBACH, R.S. (R)-, (S)-, and Racemic Fluoxetine N-Demethylation by Human Cytochrome P450 Enzymes**. Drug Metab. Dispos.** vol. 28, p. 1187-1191, 2000.

MARQUES, R.S.; MAC LEOD, T.C.; ASSIS, M.D.; YOSHIDA, I.V.P.; SCHIAVON, M.A. Síntese e caracterização de redes poliméricas à base de poli(álcool vinílico) e poli(dimetilsiloxano). **IX Congresso Brasileiro de Polímeros**, 2007.

MASRI, H.A.; PORTIER, C.J. Physiologically based pharmacokinetics model of primidone and its metabolites phenobarbital and phenylethylmalonamide in humans, rats, and mice. **Drug Metab. Dispos.** vol. 26, p. 585-594, 1998.

MATACHOWSKI, L.; PAMIN, K.; POŁTOWICZ, J.; SERWICKA, E.M.; JONES, W.; MOKAYA, R. Oxidation of cyclooctane over metalloporphyrin-exchanged Al,Si-mesoporous molecular sieves of HMS (MMS) type. **Appl. Catal. A: Gen.,** vol. 313, p. 106-111, 2006.

MAURIN, A.J.M.; IAMAMOTO,Y.; LOPES, N.P.; LINDSAY-SMITH,J.R.; BONATO,P.S. LC-MS-MS identification of drug metabolites obtained by metalloporphyrin mediated oxidation. **J. Braz. Chem. Soc.** vol 14, p. 322-328, 2003.

MAYER, I.; NAKAMURA, M.; TOMA, H.E.; ARAKI, K. Multielectronic redox and electrocatalytic supramolecular films based on a tetraruthenated iron porphyrin **Electrochim. Acta**, vol. 52, p. 263-271, 2006.

MCCLAIN RM. Phenobarbital mouse liver tumors: implications of hepatic tumor promotion for cancer risk assessment. **Prog. Clin. Biol. Res.** vol. 391, p. 325-336, 1995.

MELO, A.J.B.; IAMAMOTO, Y.; MAESTRIN, A.P.J.; SMITH, J.R.L.; SANTOS, M.D.; LOPES, N.P.; BONATO, P.S. Biomimetic oxidation of praziquantel catalysed by metalloporphyrins. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 226, p. 23-31, 2005.

MEUNIER, B.; GUILMET, E.; CARVALHO, M.E.; POILBLANC. R. Sodium Hypochlorite: A Convenient Oxygen Source for Olefin Epoxidation Catalyzed by (Porphyrinato)manganese Complexes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 106, p. 6668-6676, 1984.

MEUNIER, B. Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. **Chem. Rev.** vol. 92, p.1411-1456, 1992.

MEUNIER, B.; ROBERT, A.; PRATVIEL, G.; BERNADOU, J. **The Porphyrin Handbook**, 1ª ed. New York: Academic Press, vol. 4, ch. 31, 2000.

MEUNIER, B.; VISSER, S.P.; SHAIK, S. Mechanism of Oxidation Reactions Catalyzed by Cytochrome P450 Enzymes. **Chem. Rev.** vol. 104, p. 3947-3980, 2004.

MEYER, D.; LEIFELS, T.; SBARAGLI, L.; WOGGON, W.D. Reactivity of a new class of P450 enzyme models. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** vol. 338, p. 372-377, 2005.

MIRKHANI, V.; MOGHADAM, M.; TANGESTANINEJAD, S.; KARGAR, H. Mn(Br_8TPP)Cl supported on polystyrene-bound imidazole: An efficient and reusable catalyst for biomimetic alkene epoxidation and alkane hydroxylation with sodium periodate under various reaction conditions. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 303, p. 221-229, 2006.

MONTELLANO, P.R.O.; **Cytochrome P450: structure, mechanism, and biochemistry** ed. 3, New York: Plenum Press, 2004.

MYLLYNEN, P.; PIENIMAKI, P.; RAUNIO, H.; VAHAKANGAS, K. Microsomal metabolism of carbamazepine and oxcarbazepine in liver and placenta. **Hum. Exp. Toxicol.** vol. 17, p. 668-676, 1998.

NAKAGAKI, S.; MACHADO, A.M.; WYPYCH, F.; DRECHSEL, S.M. Study of the Catalytic Behavior of Montmorillonite/Iron(III) and Mn(III) Cationic Porphyrins. **J. Colloid Interf. Sci.** vol. 254, p. 158-164, 2002.

NAKAGAKI, S.; WYPYCH, F. Nanofibrous and nanotubular supports for the immobilization of metalloporphyrins as oxidation catalysts. **J. Coll. Int. Sci.** vol. 315, p. 142-157, 2007.

NAM, W.; CHOI, H.J.; HAN, H.J.; Cho, S.H.; Lee, H.J.; HAN, S.Y. Use of 2-methyl-1-phenylpropan-2-yl hydroperoxide (MPPH) as a mechanistic probe for the heterolytic versus homolytic O–O bond cleavage of tert-alkyl hydroperoxide by iron(III) porphyrin complex. **Chem. Commun.** vol. 4, p. 387-388,1999.

NAM, W.; HAN, H.J.; OH, S.Y.; LEE, Y.J.; CHOI, M.H.; HAN, S.Y.; KIM, C.; WOO, S.K. SHIN, W. New insights into the mechanisms of O-O bond cleavage of hydrogen peroxide and tert-alkyl hydroperoxides by iron(III) porphyrin complexes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 8677-8684, 2000A.

NAM, W.; LIM, M.H.; LEE, H.J.; KIM, C. Evidence for the participation of two distinct reactive intermediates in iron(III) porphyrin complex-catalyzed epoxidation reactions. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 6641-6647, 2000B.

NAM, W.; Lee, H.J.; OH, S.Y.; KIM, C.; Jang, H.G. First success of catalytic epoxidation of olefins by an electron-rich iron(III) porphyrin complex and H_2O_2: imidazole effect on the activation of H_2O_2 by iron porphyrin complexes in aprotic solvent. **J. Inorg. Biochem.** vol. 80, p. 219-225, 2000C.

NAM, W.; LIM, M.H.; MOON, S.K.; KIM, C. Participation of two distinct hydroxylating intermediates in iron(III) porphyrin complex-catalyzed hydroxylation of alkanes. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 122, p. 10805-10809, 2000D.

NAM, W.; JIN, S. W.; LIM, M. H.; RYU, J. Y.; KIM, C. Anionic ligand effect on the nature of epoxidizing intermediates in iron porphyrin complex-catalyzed epoxidation reactions. **Inorg. Chem.** vol. 41, p. 3647-3652, 2002.

NAM, W.; RYU, Y.O.; SONG, W.J. Oxidizing intermediates in cytochrome P450 model reactions. **J. Biol. Inorg. Chem.** vol. 9, p. 654-660, 2004.

NAZARI, K.; SHOKROLLAHZADEH, S.; MAHMOUDI, A.; MESBAHI, F.; SEYED MATIN, N.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A.A. Iron(III)protoporphyrin/MCM41 catalyst as a peroxidase enzyme model: Preparation and typical test reactions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 239, p. 1-9, 2005

NELSON, D.R.; KOYMANS, L.; KAMATAKI, T.; STEGEMAN, J.J.;, FEYEREISEN, R.; WAXMAN, D.J.; WATERMAN, M.R.; GOTOH, O.; COON, M.J.; ESTABROOK, R.W.; GUNSALUS, I.C.; NEBERT, D.W. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. **Pharmacogenetics**, vol. 6, p. 1 - 42, 1996.

NELSON, D. R. Cytochrome P450 and the Individuality of Species. **Arch. Biochem. Biophys.**, vol. 369, p. 1-10, 1999.

NELSON, D.R.; ZELDIN, D.C.; HOFFMAN, S.M.; MALTAIS, L.J.; WAIN, H.M.; NEBERT, D.W. Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. **Pharmacogenetics**, vol.14, p. 1–18, 2004.

NEYS, P.E.F.; SEVEREYS, A.; VANKELECOM, I.F.J.; CEULEMANS, E.; DEHAEN, W.; JACOBS, P.A. Manganese porphyrins incorporated in polydimethylsiloxane membranes: selective catalysts for the epoxidation of deactivated alkenes. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 144, p. 373-377, 1999.

NEWCOMB, M.; CHANDRASENA, R.E.P. Highly reactive electrophilic oxidants in cytochrome P450 catalysis. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** vol. 338, p. 394-403, 2005.

NIOLA, F.; BASORA, N.; CHORNET, E.; VIDAL, P.F. A rapid method for the determination of the degree of N-acetylation of chitin-chitosan samples by acid hydrolysis and HPLC. **Carbohydr. Res.** vol. 238, p. 1-9, 1992.

NUNES, G.S.; MAYER, I.; TOMA, H.E.; ARAKI, K. Kinetics and mechanism of cyclohexane oxidation catalyzed by supramolecular manganese(III) porphyrins. **J. Catal.** vol. 236, p. 55-61, 2005.

OMURA, T. Forty Years of Cytochrome P450. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, vol. 266, p.690-698,1999.

ORTIZ, B.; PARK, S. Electrochemical and Spectroelectrochemical Studies of Cobalt Salen and Salophen as Oxygen Reduction Catalysts. **Bull. Korean Chem. Soc.** vol. 21, p. 405-411, 2000.

OTHMAN, S.; MOURIES, V.M.; BENSOUSSAN, C.; BATTIONI, P.; MANSUY, D. Hydroxylation of diclofenac: an illustration of the complementary roles of biomimetic metalloporphyrin catalysts and yeasts expressing human cytochromes P450 in drug metabolism studies. **C. R. Acad. Sci. Paris**, vol. 3, p. 751-755, 2000.

PAPACÍDERO, A.T.; ROCHA, L.A.; CAETANO, B.L.; MOLINA, E.; SACCO, H.C.; NASSAR, E.J.; MARTINELLI, Y.; MELLO, C.; NAKAGAKI, S.; CIUFFI, K.J. Preparation and characterization of spherical silica–porphyrin catalysts obtained by the sol–gel methodology. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,** vol. 275, p. 27-35, 2006.

PARK, M. J.; LEE, J.; SUH, Y.; KIM, J.; NAM, W. Reactivities of mononuclear non-heme iron intermediates including evidence that iron(III)-hydroperoxo species is a sluggish oxidant. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 128, p. 2630-2634, 2006.

PARTON, R. F.; VANKELECOM, I. F. J.; TAS, D.; JANSSEN, K. B. M.; KNOPS-GERRITS, P.; JACOBS, P. A. Membrane occluded catalysts: a higher order mimic with improved performance. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 113, p. 283-292, 1996.

PAYNE, G.P.; DEMING, P.H.; WILLIAMS, P.H. Reactions of Hydrogen Peroxide. VII. Alkali-Catalyzed Epoxidation and Oxidation Using a Nitrile as Co-reactant. **J. Org. Chem.** vol. 26, p. 659-663, 1961.

POULOS, T.L.; JOHNSON, E.F. In: P.R. Ortiz de Montellano (Ed.), **Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry**, 3ª ed., Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, 2005.

PEARCE, R.E.; VAKKALAGADDA, G.R.; LEEDER, J.S. Pathways of Carbamazepine Bioactivation in Vitro I. Characterization of Human Cytochromes P450 Responsible for the Formation of 2- and 3-Hydroxylated Metabolites. **Drug Metab. Dispos.** vol. 30, p.1170-1179, 2002.

PEARCE, R.E.; UETRECHT, J.P.; LEEDER, J.S. Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro: II. The role of human cytochrome p450 enzymes in the formation of 2-hydroxyiminostilbene. **Drug Metab. Dispos**. vol. 33, p. 1819-1826, 2005.

PETROVIC, M.; BARCELÓ. D. LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. **Trends Anal. Chem.** vol. 26, p. 486-493, 2007.

PICCALUGA, G.; CORRIAS, A.; ENNAS, G.; MUSINU, A. **Sol-gel preparation and characterization of metal-silica and metal oxide-silica nanocomposites**. Trans tech publications, Switzerland, 2000.

PIETIKÄINEN, P. Convenient asymmetric (salen)Mn(III)-catalyzed epoxidation of unfunctionalized alkenes with hydrogen peroxide using carboxylate salt cocatalysts. **Tetrahedron** vol. 54, p. 4319-4326,1998.

PIETIKÄINEN, P. Asymmetric Mn(III)-salen catalyzed epoxidation of unfunctionalized alkenes with in situ generated peroxycarboxylic acids. **J. Mol. Catal. A: Chem**. vol.165, p. 73-79, 2001.

PLAETZER, K.; KRAMMER, B.; BERLANDA, J.; BERR, F.; KIESSLICH, T. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. **Lasers Med. Sci.**, In press, 2008.

RANI, V.R.; KISHAN, M.R.; KULKARNI, S.J.; RAGHAVAN, K.V. Immobilization of metalloporphyrin complexes in molecular sieves and their catalytic activity. **Catal. Comm.** Vol. 6, p. 531-538, 2005.

RAYMOND, L.; MORIN, F.G.; MARCHESSAUT, R.H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. **Carbohdr. Res.**, vol. 246, p. 331-336, 1993.

RENEHAN, M.F.; SCHANZ, H.; MCGARRIGLE, E.M.; DALTON, C.T.; DALY, A.M.; GILHEANY, D.G. Unsymmetrical chiral salen Schiff base ligands: Synthesis and use in metal-based asymmetric epoxidation reactions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 231, p. 205-220, 2005.

RIBEIRO, S.M.; SERRA, A.C.; GONSALVES, A.M.A.R. Covalently immobilized porphyrins as photooxidation catalysts. **Tetrahedron** vol. 63, p. 7885-7891, 2007.

RIMEZ, B.; RAHIER, H.; VAN ASSCHE, G.; ARTOOS, T.; BIESEMANS, M.; VAN MELE, B. The thermal degradation of poly(vinyl acetate) and poly(ethylene-co-vinyl acetate), Part I: Experimental study of the degradation mechanism. **Polym. Degrad. Stab.**, vol. 93, p. 800-810, 2008.

RINALDI, R.; SCHUCHARDT, U. Factors responsible for the activity of alumina surfaces in the catalytic epoxidation of cis-cyclooctene with aqueous H_2O_2. **J. Catal.** vol. 227, p. 109-116, 2004A.

RINALDI, R.; SEPULVEDA, J.; SCHUCHARDT, U**.** Cyclohexene and Cyclooctene Epoxidation with Aqueous Hydrogen Peroxide using Transition Metal-Free Sol-Gel Alumina as Catalyst. **Adv. Synth. Catal.** vol. 346, p. 281-285, 2004B.

SAMSEL, E.G.; SRINIVASAN, K.; KOCHI, J.K. Mechanism of the chromium-catalyzed epoxidation of olefins. Role of oxochromium(V) cations. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 107, p. 7606-7617,1985.

SANTOS, J.E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R.; CAMPANA FILHO, S.P.; CAVALHEIRO, E.T.G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. Polímeros - Ciência e Tecnologia, vol. 13, p. 243-250, 2003.

SANTOS, A.C.M.A.; SMITH, J.R.L.; ASSIS, M.D. Chloroquine-iron(III) tetraarylporphyrin interactions and their effect on the oxidations catalysed by iron(III) tetra-arylporphyrins. **J. Porph. Phthalocyan.**, vol. 09, p. 326-333, 2005.

SCHIAVON, M.A.; IAMAMOTO, Y.; NASCIMENTO, O.R.; ASSIS, M.D. Catalytic activity of nitro- and carboxy-substituted iron porphyrins in hydrocarbon oxidation: Homogeneous solution and supported systems. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 174, p. 213-222, 2001.

SCHONEBOOM, J.C.; COHEN, S.; LIN, H.; SHAIK, S.; THIEL, W. Quantum Mechanical/Molecular Mechanical Investigation of the Mechanism of C-H Hydroxylation of Camphor by Cytochrome $P450_{cam}$: Theory Supports a Two-State Rebound Mechanism. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 126, p. 4017-4034, 2004.

SCHOTTNER, G. Hybrid Sol-Gel-Derived Polymers: Applications of Multifunctional Materials. **Chem. Mater.** vol. 13, p. 3422-3435, 2001.

SELISKAR, M.; ROZMAN, D. Mammalian cytochromes P450 - Importance of tissue specificity. **Biochim. Biophys. Acta**, vol. 1770, p. 458–466, 2007.

SENANAYAKE, C.H.; SMITH, G.B.; RYAN, K.M.; FREDENBURGH, L.E.; LIU, J.; ROBERTS, F.; HUGHES, D.L.; LARSEN, R.D.; VERHOEVEN, T.R.; REIDER, P.J. The role of 4-(3-phenylpropyl)pyridine N-Oxide (P_3NO) in the manganese-salen-catalyzed asymmetric epoxidation of indene. **Tetrahedron Lett**. vol. 37, p. 3271-3274, 1996.

SERRA, A.C.; MARÇALO, E.C.; GONSALVES, A.M.A.R. A view on the mechanism of metalloporphyrin degradation in hydrogen peroxide epoxidation reactions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 215, p.17-21, 2004.

SERRANO, D.P.; AGUADO, J.; VARGAS, C. A comparison of methods for the heterogenization of the chiral Jacobsen catalyst on mesostructured SBA-15 supports. **Appl. Catal. A: Gen.**, vol. 335, p. 172-179, 2008.

SHAIK, S.; COHEN, S.; VISSER, S.P.; SHARMA, P.K.; KUMAR, D.; KOZUCH, S.; OGLIARO, F.; DANOVICH, D. The "rebound controversy": an overview and theoretical modeling of the rebound step in c-h hydroxylation by cytochrome P450, **Eur. J. Inorg. Chem.** vol. 2, p 207-226, 2004.

SHAIK, S.; KUMAR, D.; VISSER, S.P.; ALTUN, A.; THIEL, W. Theoretical perspective on the structure and mechanism of cytochrome P450 enzymes. **Chem. Rev.** vol. 105, p. 2279-2328, 2005.

SHAREFKIN, J.G.; SALTZMAN, H. Iodosobenzenzene. **Org. Syntheses Coll.**, vol. 5, p. 658,1973.

SHELDON, R.A. **Metalloporphyrins in catalytic oxidations.** New York: Marcel Dekker, 1994.

SIGNINI, R.; CAMPANA FILHO, S.P., Purificação e caracterização de quitosana comercial. Polímeros: Cienc. Tecnol. vol. 4, p. 63-68, 1998.

SILVA, M.A.; OLIVEIRA, D.C.; MELLO, C.; SACCO, H.C.; NASSAR, E.J.; CIUFFI, K.J. Nitro-Porphyrin Entrapped in a Silica Matrix by Sol-Gel Methodology. **J. Sol-gel Sci. Tech.** vol.26, p. 329-334, 2003.

SILVA, J.C.; FERREIRA, A.G.; GOTARDO, M.C.A.F.; ASSIS, M.D. Mono-crowned Substituted Ironporphyrin: Synthesis, Analytical Properties and Catalytic Activity. **J. Porph. Phthalocyan.** vol. 9, p. 637-645, 2005.

SILVA, M.; FREIRE, C.; CASTRO, B.; FIGUEIREDO, J.L. Styrene oxidation by manganese Schiff base complexes in zeolite structures. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 258, p. 327-33, 2006.

SILVA, G.F.; SILVA, D.C.; GUIMARÃES, A.S.; NASCIMENTO, E.; REBOUÇAS, J. S.; ARAÚJO, M.P.; CARVALHO, M.E.M.D.; IDEMORI, Y.M. Cyclohexane hydroxylation by iodosylbenzene and iodobenzene diacetate catalyzed by a new β-octahalogenated Mn porphyrin complex: The effect of meso-3-pyridyl substituents. **J. Mol. Catal. A: Chem.**, vol. 266, p. 274-283, 2007.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER G.C.; MORRIL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 5ª ed. Tradução de R. B. Alencastro. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

SIUZDAK, G. **Mass Spectrometry for Biotechnology**. San Diego, Academic Press, 1996.

SONG, W.J.; RYU, Y.O.; SONG, R.; NAM, W. Oxoiron (IV)porphyrin π-Cation Radical complexes with a chameleon behavior in cytochrome P450 model reactions. **J. Biol. Inorg. Chem.** vol. 10, p. 294-304, 2005A.

SONG, W.J.; SUN, Y.J.; CHOI, S.K.; NAM, W. Mechanistic insights into the reversible formation of iodosylarene-iron porphyrin complexes in the reactions of oxoiron(iv) porphyrin π-cation radicals and iodoarenes: equilibrium, epoxidizing intermediate, and oxygen exchange. **Chem. Eur. J.** vol. 12, p. 130-137, 2005B.

SPIELBERG, S.P.; GORDON, G.B.; BLAKE, D.A., MELLITS, E.D.; BROSS, D.S. Anticonvulsant toxicity in vitro: possible role of arene oxides. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** vol. 217, p. 386-389, 1981.

SUN, Y.; TANG, N. Enantioselective epoxidation of olefins catalyzed by chiral dimeric and partially water-soluble monomeric salen-Mn(III) complexes in the presence of novel co-catalysts. **J. Mol.Catal. A: Chem.** vol. 255, p. 171-179, 2006.

SUSLICK, K.S. **The porphyrin Handbook**, 1ª ed., New York: Academic Press, vol. 4, ch. 28, 2000.

SUZUKI, N.; HIGUCHI, T.; NAGANO, T. Multiple active intermediates in oxidation reaction catalyzed by synthetic heme-thiolate complex relevant to cytochrome p450. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 9622-9628, 2002.

SRINIVASAN, K.; MICHAUD, P.; KOCHI, J.K. Epoxidation of olefins with cationic (salen)manganese(III) complexes. The modulation of catalytic activity by substituents. **J. Am. Chem. Soc.** vol.108, p. 2309-2320, 1986.

TAKENAKA, N.; HUANG, Y.; RAWAL, V.H. The first catalytic enantioselective Diels–Alder reactions of 1,2-dihydropyridine: efficient syntheses of optically active 2-azabicyclo[2.2.2]octanes with chiral BINAM derived Cr(III) salen complexes **Tetrahedron,** vol. 58, p. 8299-8305, 2002.

TANIELIAN, C.; MECHIN, R.; SEGHROUCHNI, R.; SCHWEITZER, C. Mechanistic and Kinetic Aspects of Photosensitization in the Presence of Oxygen. **Photochem. Photobiol.** vol. 71, p. 12-19, 2000.

TESTA, B.T. **The metabolism f drugs and other xenobiotics**. San Diego, Califórnia: Academic Press, eds. Testa B.T., J. Caldwell. 1995.

THELLEND, A.; BATTIONI, P.; MANSUY, D. Ammonium acetate as a very simple and efficient cocatalyst for manganese porphyrin-catalysed oxygenation of hydrocarbons by hydrogen peroxide. **J. Chem. Soc. Chem. Commun.** p. 1035-1036, 1994.

THOMSON, B.A. Atmospheric Pressure Ionization and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry – Together at Last. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.** vol. 9, p.187-193, 1998.

UETRECHT, J. Evaluation of which reactive metabolite, if any, is responsible for a specific idiosyncratic reaction. **Drug Metab. Rev.**, vol. 38, p. 745-753, 2006.

ULHOA, C.J.; SILVA, R.N.; Biotecnologia farmacêutica e seus desafios. http://www.proec.ufg.br/revista_ufg/agosto2007/textos/biotecnologiaFarmaceutica.htm. Acesso em 05 de março, 2008.

URICHUK, L.J.; ASPESLET, L.J.; HOLT, A.; SILVERSTONE, P.H.; COUTTS, R.T.; BAKER, G.B. Determination of p-trifluoromethylphenol, a metabolite of fluoxetine, in tissues and body fluids using an electron-capture gas chromatographic procedure. **J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.** vol. 698, p.103-109, 1997.

VAN HAMEREN, R.; VAN BUUL, A.M.; CASTRICIANO, M.A.; VILLARI, V.; MICALI, N.; SCHON, P.; SPELLER, S.; SCOLARO, L.M., ROWAN, A.E., ELEMANS, J.A.A.W.; NOLTE, R.J.M. Supramolecular porphyrin polymers in solution and at the solid-liquid interface. **Nano Lett.** vol. 8, p. 253-259, 2008.

VANKELECOM, I. F. J.; PARTON, R.F.; CASSELMAN, M.J.A.; UYTTERHOEVEN, J.B.; JACOBS, P.A. Oxidation of Cyclohexane Using FePcY-Zeozymes Occluded in Polydimethylsiloxane Membranes. **J. Catal.** vol. 163, p. 457-464, 1996.

VANKELECOM, I. F. J.; JACOBS, P.A. Dense organic catalytic membranes for fine chemical synthesis. **Catal. Today** vol. 56, p. 147-157, 2000.

VARUM, K.M.; OTTOY, M.H.; SMIDSROD, O. Acid hidrolysis of chitosan. **Carbohydr. Polym.**, vol. 46, p. 89-98, 2001.

VASHI. P.R.; MARQUES, H.M. The coordination of imidazole and substituted pyridines by the hemeoctapeptide N-acetyl-ferromicroperoxidase-8 (Fe^{II}NAcMP8). **J. Inorg. Biochem.**, vol. 98, p.1471-1482, 2004.

VASWANI, M.; LINDA, F.K.; RAMESH, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry** vol. 27, p. 85-102, 2003.

VAZ, A.D.N.; MCGINNITY, D.F.; COON M.J. Epoxidation of olefins by cytochrome P450: evidence from site-specific mutagenesis for hydroperoxo-iron as an electrophilic oxidant. **Proc. Natl. Acad. Sci.** vol. 95, p. 3555–3560, 1998.

VENKATARAMANAN, N.S.; KUPPURAJ, G.; RAJAGOPAL, S. Metal–salen complexes as efficient catalysts for the oxygenation of heteroatom containing organic compounds-synthetic and mechanistic aspects. **Coord. Chem. Rev.** vol. 249, p. 1249-1268, 2005.

VIDAL, M.; BONNAFOUS, M.; DEFRANCE, S.; LOISEAU, P.; BERNADOU, J.; MEUNIER, B. Model systems for oxidative drug-metabolism studies: catalytic behavior of water-soluble metalloporphyrins depends on both the intrinsic robustness of the catalyst and the nature of substrates. **Drug Metab. Dispos.** vol. 21, p. 811–817, 1993.

VINHADO, F.S.; GANDIN, M.E.F.; IAMAMOTO, Y.; SILVA, A.M.G.; SIMÕES, M.M.Q.; NEVES, M.G.P.M.S.; TOMÉ, A.C.; REBELO, S.L.H.; PEREIRA, A.M.V.M.; CAVALEIRO, J.A.S. Novel Mn(III)chlorins as versatile catalysts for oxyfunctionalisation of hydrocarbons under homogeneous conditions. **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 239, p. 138-143, 2005.

VOGNA, D.; MAROTTA, R.; ANDREOZZI, R.; NAPOLITANO, A.; D'ISCHIA, M. Kinetic and chemical assessment of the UV/H_2O_2 treatment of antiepileptic drug carbamazepine. **Chemosphere** vol. 54, p. 497-505, 2004.

VOLZ, T. J.; ROCK, D. A.; JONES, J. P. Evidence for Two Different Active Oxygen Species in Cytochrome P450 BM3 Mediated Sulfoxidation and N-Dealkylation Reactions. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 124, p. 9724-9725, 2002.

WADHWANI, P.; MUKHERJEE, M.; BANDYOPADHYAY, D. The prime reactive intermediate in the iron(III) porphyrin complex catalyzed oxidation reactions by *tert*-butyl hydroperoxide. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 123, p. 12430-12431, 2001.

WANG, S.H.; MANDIMUTSIRA, B.S.; TODD, R.; RAMDHANIE, B.; FOX, J.P.; GOLDBERG, D.P. Catalytic sulfoxidation and epoxidation with a mn(iii) triazacorrole: evidence for a "third oxidant" in high-valent porphyrinoid oxidations. **J. Am. Chem. Soc.** vol. 126, p. 18-19, 2004.

WEISSMAN, S.A.; ZEWGE, D. Recent advances in ether dealkylation. **Tetrahedron,** vol. 61, p. 7833-7863, 2005.

WILLIAMS, P.A.; COSME, J.; SRIDHAR, V.; JOHNSON, E.F.; MCREE, D.E. Mammalian Microsomal Cytochrome P450 Monooxygenase: Structural Adaptations for Membrane Binding and Functional Diversity. **Mol. Cell.** vol. 5, p. 121-131, 2000.

WOLKENSTEIN, P.; TAN, C.; LECOEUR, S.; WECHSLER, J.; GARCIA-MARTIN, N.; CHARUE, D. Covalent binding of carbamazepine reactive metabolites to P450 isoforms present in the skin. **Chem. Biol. Interact.** vol. 113, p. 39-50, 1998.

XINWEN, L.; NING, T.; WEISHENG, L.; MINYU, T. Synthesis, catalytic activity and recycle of novel dimeric salen-Mn(III) complexes in asymmetric epoxidation **J. Mol. Catal. A: Chem.** vol. 212, p. 353-358, 2004.

YAMADA, T.; IMAGAWA, K.; NAGATA, T.; MUKAIYAMA, T. Aerobic Enantioselective Epoxidation of Unfunctionalized Olefins Catalyzed by Optically Active Salen–Manganese (III) Complexes. **Bull. Chem. Soc. Jpn.** vol. 67, p. 2248-2256, 1994.

YANG, S. J.; NAM, W. Water-Soluble Iron Porphyrin Complex-Catalyzed Epoxidation of Olefins with Hydrogen Peroxide and *tert*-Butyl Hydroperoxide in Aqueous Solution **Inorg. Chem.** vol. 37, p. 606-607, 1998.

YANG, H.; ZHANG, L.; SU, W.; YANG, Q., LI, C. Asymmetric ring-opening of epoxides on chiral Co(Salen) catalyst synthesized in SBA-16 through the "ship in a bottle" strategy. **J. Catal.**, vol. 248, p. 204-212, 2007.

ZEIGER, E.; ANDERSON, B.; HAWORTH, S.; LAWLOR, T.; MORTELMANS, K. Salmonella mutagenicity tests: IV, results from testing of 300 chemicals. **Environ. Mol. Mutagenesis** vol. 11, p. 1-158, 1988.

ZHANG, H.; WANG, Y.M; ZHANG, L.; GERRITSEN, G.; ABBENHUIS, H.L.C.; VAN SANTEN, R.A.; LI, C. Enantioselective epoxidation of β-methylstyrene catalyzed by immobilized Mn(salen) catalysts in different mesoporous silica supports. **J. Catal.** , vol. 256, p. 226-236, 2008.

ZHANG, R.; NEWCOMB, M. Laser Flash Photolysis Generation of High-Valent Transition Metal-Oxo Species: Insights from Kinetic Studies in Real Time. **Acc. Chem. Res.,** vol. 41, p. 468-477, 2008.

ZHOU, L.; XU, J.; MIAO, H.; WANG, F.; LI, X. Catalytic oxidation of cyclohexane to cyclohexanol and cyclohexanone over Co_3O_4 nanocrystals with molecular oxygen. **Appl. Catal. A: Gen.** vol. 292, p. 223-228, 2005.