UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

CARACTERIZAÇÃO DE FERROPORFIRINAS ATRAVÉS DAS TÉCNICAS DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR) E ABSORÇÃO ELETRÔNICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-Vis).

USP/IFSC/SBI

8-2-001314

Ednalva Aparecida Vidoto

Tese apresentada ao Instituto de Física de São Carlos para obtenção do título de Doutor em Ciências (Física Aplicada).

Orientado: Prof. Dr. Otaciro Rangel Nascimento

Departamento de Física e Informática

São Carlos – 1999.

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA INFORMAÇÃO

Vidoto, Ednalva Aparecida
Caracterização de Ferroporfirinas através das técnicas de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) e Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (Uv-Vis) / Ednalva Aparecida Vidoto. --São Carlos, 1999.
135 p.

Tese (Doutorado)--Instituto de Física de São Carlos, 1999.

Orientador: Prof. Dr. Otaciro Rangel Nascimento

1. Ressonância Paramagnética Eletrônica. 2. Ferroporfirinas

I. Título.

UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO
Instituto de Física de São Carlos

Av. Dr. Carlos Botelho, 1465
CEP 13560-250 - São Carlos - SP
Brasil

Fone (016) 273-9333
Fax (016) 272-2218

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO DE EDNALVA APARECIDA VIDOTO APRESENTADA AO INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS, DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, EM 24 DE NOVEMBRO DE 1999.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Otaciro Rugel Nascimento/IFSC/USP

Prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano/IFSC/USP

Profa. Dra. Maria Cristina Terrile/IFSC/USP

Prof. Dr. Marcel Tabak/IQSC/USP

Prof. Dr. Amando Siuiti Ito/IF/USP

Dedico este trabalho aos meus pais

Antonia Vidoto e Natalino Vidoto

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Otaciro Rangel Nascimento não só pela orientação e pelo inestimável apoio, sempre presente, discutindo e ensinando, como também pela amizade, confiança e lições de vida.

Aos amigos Bel, Beto e Sueli por todo o carinho, paciência, incentivos, sugestões e pela presteza e competência.

Aos amigos "eprristas" Jabáh e "MaryZu" pela amizade, companheirismos, pelo auxílio durante todo o trabalho e adorável convivência!

À Ana Paula, Leila e Rose pelo incentivo e amizade.

Aos amigos do Laboratório de Biofísica pelo espírito de cooperação sempre demonstrado, pelo incentivo e pelo carinho: Andressa, Ane, Carol, Ciça, Cicinho, Cris Nordi, Fernanda, Hérica, Joselaine, Lia, Marcelo, Marli, Nilva, Patrícia e Rosinha.

À Profa. Dra. Yassuko Iamamoto da FFCLRP - USP – Ribeirão Preto, por fornecer as amostras de ferroporfirinas, pelo apoio e ensinamentos relevantes durante todo o trabalho, pela amizade e confiança.

À Profa. Dra. Marilda das Dores Assis e ao Prof. Dr. Osvaldo A. Serra pela colaboração e sugestões.

Ao Prof. Dr. Cláudio Magon pelas discussões.

À Profa. Dra. Eliane Wajnberg e ao Marcos Flores do CBPF – Rio de Janeiro - pelas medidas de EPR em banda Q.

À Bianca, Suzana e Wanda, do grupo de Cristalografia, pela utilização do espectrofotômetro e também pela amizade.

À Débora e ao Totó pela colaboração no início do trabalho na tentativa de fazer funcionar o espectrofotômetro.

Aos amigos do grupo de Ressonânica pelo apoio durante o primeiro ano do meu Doutorado: Prof. Dr. Tito Bonagamba, Prof. Dr. José Pedro Donoso, Prof. Dr. Renê Aires, Profa. Dra. Cristina Terrile, Ana Carolina, Bernd, Braulio, Carlinhos, Eduardo, Fábio, Henrique, Joãozinho, Odir, Roberto e Ruberley.

Ao pessoal de Ribeirão Preto por todo o apoio, atenção e amizade: Ana Paula, Andréa, Cláudio, Cynthia, Daniela, Fábio, Kátia, Maria e Patrícia.

Ao amigos, companheiros diários, pelas horas de papos e convivência bem humorada: Cláudia Bonardi, Cláudia Pio, Cristiane, Gerson, Lígia, Márcio, Samuel e Suzana.

À Edna e ao Ed por todo o carinho, preocupação, pela força e, pelo Micro!!

À Néia pela correção do texto e também ao Ricardo pelo carinho e atenção dos dois.

Aos meus pais Antónia e Natalino que sempre me incentivaram e apoiaram em todos os momentos, sempre com muito amor e dedicação.

Ao Dear Mal pelo carinho, apoio e compreensão:

Onde andas tu? Que nem em pensamento consigo te achar. Porque sumistes? Porque não estas aqui?
Você se perde entre palavras e linhas, nas discussões e conclusões. Em pensamentos tortuosos.
Quando você acordar desses momentos, estarei te esperando!

Às meninas da Biblioteca e à Wladerez, pela ajuda e atenção.

À Fapesp, pelo apoio financeiro e científico ao longo do desenvolvimento deste projeto.

Sumário

SUMÁRIO I
ÍNDICE DE FIGURAS III
ÍNDICE DE TABELAS VII
LISTA SIGLAS DE ABREVIATURAS IX
RESUMO XI
ABSTRACT XII
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO 1
CAPÍTULO 2 – CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS. 9
2.1. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica: EPR. 9
2.1.1. Introdução. 9
2.1.2. O fator - g. 11
2.1.3. O átomo de ferro. 13
2.1.4. A Hamiltoniana de Spin 17
2.2. Espectroscopia de Absorção Eletrônica : UV-Vis. 23
2.2.1. Introdução. 23
2.2.2. Espectros eletrônicos de absorção de porfirinas e metaloporfirinas. 24
CAPÍTULO 3 - MATERIAIS E MÉTODOS. 32
3.1. Materiais. 32
3.1.1. Porfirinas. 32
3.1.2. Preparação das soluções. 41
3.2. Métodos. 45
3.2.1. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica – EPR. 45
3.2.2. Espectroscopia de Absorção Eletrônica. 46
3.2.3. Programas para simulações dos espectros de EPR e UV-Vis. 47
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES. 52
4.1. Introdução. 52
4.2. Ferroporfirina monopentafluorofenil substituída: $FeTF_5PP$. 57
4.2.1. Espectros de absorção eletrônica. 57
4.2.2. Espectros de EPR. 61

4.3. Ferroporfirina bispentafluorofenil substituída: $FeTF_{10}PP$. 66
4.3.1. Espectros de absorção eletrônica. 66
4.3.2. Espectros de EPR. 68
4.4. Ferroporfirina trispentafluorofenil substituída: $FeTF_{15}PP$. 77
4.4.1. Espectros de absorção eletrônica. 77
4.4.2. Espectros de EPR. 79
4.5. Ferroporfirina tetrakispentafluorofenil substituída: $FeTF_{20}PP$. 84
4.5.1. Espectros de absorção eletrônica. 84
4.5.2. Espectros de EPR. 91
4.6. Discussões. 100
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES. 113
5.1. Sugestão para continuidade dos estudos. 115
CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. 117

Índice de Figuras

Figura 1: Esqueleto porfirínico apresentando as variações nas posições *meso* para obtenção de catalisadores mais eficiente. 8

Figura 2: Espectros de EPR: (a) FeP em solução congelada e (b) Citocromo-c. 13

Figura 3: Dependência angular dos cindo orbitais d[29]. 14

Figura 4: Representação dos cinco orbitais d de um metal de transição posicionado no centro dos eixos cartesianos e ao redor os seis ligantes formando uma simetria octaédrica[29]. 15

Figura 5: Efeito do campo cristalino sobre os níveis de energia dos orbitais d: (a) íon metálico livre (simetria esférica); (b) geometria octaedrica, (c) geometria octaedrica com distorção tetragonal. 17

Figura 6: Valores de ***g-efetivo*** para a Hamiltoniana apresentada na equação (1) sem a interação super hiperfina[32]. 20

Figura 7: Esqueleto porfirínico com destaque para os 18 elétrons π em negrito[38]. 25

Figura 8: Representação esquemática das transições entre os diferentes níveis eletrônicos e vibracionais das porfirinas base livre (D_{2h}) e metaloporfirinas (D_{4h}). 27

Figura 9: Orbitais moleculares de porfirinas: ocupados de maior energia (HOMO) b_1 e b_2; não ocupados de menor energia (LUMO) c_1 e c_2. Os coeficientes de orbital são proporcionais ao tamanho dos círculos, o sinal da função de onda é indicado por círculos contínuos ou tracejados. Os planos de simetria são indicados por linhas cheias. 29

Figura 10: Espectros para as porfirinas base livre (a) e metalada (b), adquiridos durante a síntese da $FeTF_{20}PP$ em DCM. 31

Figura 11: Compostos utilizados para a formação do porfirinogênio. 33

Figura 12: Formação da porfirina através da oxidação do porfirinogênio. As posições R indicam onde se encontram os pentafluorofenis. 35

Figura 13: Espectro de UV-Vis da porfirina bruta, sem ser purificada. Destaque para a intensa banda de absorção centrada em 350 nm atribuída às impurezas. Este espectro foi adquirido no espectrômetro do laboratório de Química da FFCLRP e não dispomos dos arquivos dos dados experimentais. 36

Figura 14: Espectros de UV-Vis da porfirina após sua eluição em coluna de alumina. Com a ausência da intensa banda em 350 nm constatamos a purificação da porfirina. 37

Figura 15: Espectros de UV-Vis da porfirina metalada, retirado após uma hora do início da metalação. 38

Figura 16: $TFPPH_2$ eluída em diclorometano e ciclohexano nas proporções 1:2. 39

Figura 17: Fe(III)TFPP eluída em diclorometano e metanol em proporções iguais. 40

Figura 18: Exemplo das simulações realizadas com o programa SimFonia[46] para determinação dos sinais de EPR que contribuem para a formação dos espectros resultante da solução 80:80 para a $FeTF_{20}PP$. Os espectros simulados são diferenciados por suas anisotropias e formas de linhas.. 49

Figura 19: Exemplo das simulações realizadas com o programa ADJ4[47] apresentando as várias bandas de absorção que formam o espectro resultante da solução 80:80 para a $FeTF_{20}PP$. 51

Figura 20: Espectros da $FeTF_{20}PP$ nos solventes DCM (——), DCM + MeOH (——) e MeOH (——) medidos em banda - X a uma temperatura de 4K. São destacadas na figura a contribuição de dois sinais para o formação dos espectros. Concentração para a solução de DCM igual a 2mM..... 53

Figura 21: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_5PP$ adquiridos em temperatura ambiente para os diversos solventes. A concentração de FeP foi igual a de 15μM. Em destaque estão as posições das bandas provenientes da ligação Fe-Cl, presentes somente para o solvente DCM (——)..... 58

Figura 22: Ilustrações das espécies formadas pela FeP com diferentes ligantes. 61

Figura 23: Espectros de EPR da $FeTF_5PP$ para os diversos solventes. Temperatura de 4K e concentração inicial igual a 1mM. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_\perp$..... 62

Figura 24: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas..... 65

Figura 25: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_{10}PP$ (20μM de concentração) para os diversos solventes..... 67

Figura 26: Espectros de EPR da $FeTF_{10}PP$ obtidos a 4K para os diversos solventes. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_\perp$..... 71

Figura 27: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas..... 73

Figura 28: Espectros EPR para a $FeTF_{10}PP$ adquiridos em temperatura igual a 4K. (a) 1ª derivada do espectro de absorção; (b) e (c) 2ª derivada do espectro de absorção para as regiões de g~6 e g~2, respectivamente..... 76

Figura 29: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_{15}PP$ (21μM de concentração) para os diversos solventes. 78

Figura 30: Espectros de EPR da $FeTF_{15}PP$ obtidos a 4K para os diversos solventes. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_{\perp}$ 81

Figura 31: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas..... 83

Figura 32: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_{20}PP$ (21μM de concentração) para os diversos solventes. 86

Figura 33: Ilustrações das novas espécies encontradas nas soluções da $FeTF_{20}PP$ considerando como ligante a molécula de OH^-..... 87

Figura 34: Contribuição das espécies 4 e 5 para os espectros obtidos com as misturas de solventes. 90

Figura 35: Espectros de EPR da $FeTF_{20}PP$ obtidos a 4K para os diversos solventes. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_{\perp}$ 94

Figura 36: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas. 96

Figura 37: Espectros de EPR adquiridos a 4K de temperatura para várias freqüências de microondas. 98

Figura 38: Espectros de EPR adquiridos a 4K de temperatura para várias freqüências de microondas, apresentados em função do parâmetro g... 99

Índice de Tabelas

Tabela 1: Possíveis valores de spin para as ferroporfirinas e hemo complexos[22]..... 14

Tabela 2: Coeficientes de extinção para a banda mais intensa (banda Soret) e peso molecular para a série das FeP fluoradas..... 41

Tabela 3: Parâmetros dos espectros de EPR para a porfirina $FeTF_{20}PP$, determinados através da simulação espectral. As larguras das linhas são expressas em Gauss. 55

Tabela 4: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_5PP$ nas diversas misturas de solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4..... 59

Tabela 5: Parâmetros de EPR determinados pela simulação com o programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_5PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas são expressas em Gauss. 64

Tabela 6: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_{10}PP$ nos diversos solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4..... 68

Tabela 7: Parâmetros de EPR determinados pela simulação com o programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_{10}PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas e interação super hiperfinas são expressas em Gauss. 72

Tabela 8: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_{15}PP$ nos diversos solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4. 78

Tabela 9: Parâmetros de EPR determinados pela simulação através do programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_{15}PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas são expressas em Gauss. 82

Tabela 10: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis da ferroporfirina $FeTF_{20}PP$ nos diversos solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4. 89

Tabela 11: Parâmetros de EPR determinados pela simulação através do programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_{20}PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas são expressas em Gauss. 95

Tabela 12: Parâmetros de EPR determinados pela simulação através do programa WinEPR SimFonia para os espectros da $FeTF_{20}PP$ adquiridos em diferentes Bandas e para a FeP dissolvida em MeOH. As larguras de linhas são expressas em Gauss. 100

Tabela 13: Posições das bandas centrais nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$, $FeTF_{15}PP$ e $FeTF_{20}PP$ nos solventes DCM e MeOH. 104

Tabela 14: Fator de rombicidade determinado para as espécies das FeP ligadas ao solvente MeOH. Segundo a equação (11). 109

Lista Siglas de Abreviaturas

Br	→	átomo de bromo
C	→	átomo de carbono
Cl	→	átomo de cloro
D	→	parâmetro que determina a simetria axial do campo cristalino
DCM	→	diclorometano
E	→	parâmetro que determina a rombicidade do campo cristalino
e^-	→	elétron
EPR	→	do inglês *Electron Paramagnetica Resonance*
F	→	átomo de flúor
FeP	→	Ferro(III) porfirina
$FeTF_5PP$	→	monopentafluorofeniltrifenilporfirina ferro (III)
$FeTF_{10}PP$	→	bispentafluorofeniltbisfenilporfirina ferro (III)
$FeTF_{15}PP$	→	trispentafluorofenilmonofenilporfirina ferro (III)

$FeTF_{20}PP$	→	tetrakis(pentafluorofenil)porfirina ferro (III)
g	→	fator giromagnético
H	→	átomo de hidrogênio
H_2O	→	molécula de água
H_2O_2	→	molécula de água oxigenada
HPLC	→	do inglês *High Performance Liquid Chromatograph*
MeOH	→	metanol
MeP	→	metaloporfirina
Mn	→	átomo de manganês
NADPH	→	do inglês *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*
O_2	→	Oxigênio molecular
P-450	→	enzima citocromo P-450
RH	→	Substrato Orgânico
UV-Vis	→	Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta ao visível
ϕ	→	fenil

Resumo

As ferroporfirinas sintéticas são sistemas complexos que vêm sendo amplamente estudadas. A dificuldade em obter informações estruturais, reações químicas e ligantes do íon central vêm estimulando o estudo pormenorizado desses sistemas. Nestes trabalho é apresentada a caracterização da série de FeP fluorosubstituídas, que compreende as mono-, di-, tri e tetra- fluorofenilporfirina, denominadas $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$, $FeTF_{15}PP$ e $FeTF_{20}PP$, respectivamente. Essas FeP são estudadas em função dos solventes diclorometano (DCM), metanol (MeOH) e das várias misturas em volume desses dois. As técnicas espectroscópicas de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta ao Visível (UV-Vis) e Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) são as duas ferramentas de estudos escolhidas para caracterizar esses sistemas. Partindo-se de uma solução de FeP dissolvida em DCM, foram adicionadas alíquotas de MeOH até completar-se 50% em volume desses dois solventes. Através dessa titulação, observamos a formação de diferentes espécies como conseqüência da coordenação do MeOH à FeP. Notamos também, as modificações estruturais reveladas principalmente pelo EPR, ocasionadas pelos diferentes números de substituintes fluorofenis. Essa técnica espectroscópica revelou ainda a existência de interações que não foram anteriormente observadas. Para a $FeTF_{10}PP$ foi verificada a interação super hiperfina entre o Fe e o ligante Cl^- além da interação super hiperfina entre o Fe e os nitrogênios do anel porfirínico. Para a $FeTF_{20}PP$ foi verificada apenas a interação super hiperfina entre o Fe e o ligante Cl^-. As demais FeP não apresentaram essas interações.

Abstract

Synthetic iron porphyrins are complex systems that have been largely studied. Difficulties to obtain structural information, chemical reactions and ligands of the central ions have been a subject to investigate details of these systems. In this work, a systematic characterization of one series of fluorophenyl iron porphyrins is presented. *Mono-*, *di-*, *tri-* and *tetra-* fluorophenyl substituents called $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$, $FeTF_{15}PP$, and $FeTF_{20}PP$, respectively, are included in this series. Iron porphyrins were studied as a function of dichloromethane, methanol solvents and several of their mixture in volume. These systems were characterized by Ultraviolet- Visible and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopes. From iron porphyrin solutions, dissolved in dichloromethane, aliquots of methanol were added up to 50% in volume of these two solvents. With this titration, we found different species because of the methanol coordination to the iron porphyrins. We also observed the structures modification revealed by the EPR spectroscopy, as a function of different numbers of fluorophenyl substituents. The EPR spectroscopy also revealed the existence of the super hyperfine interactions not observed before. It was found for $FeTF_{10}PP$ between the central ion and the axial ligand chlorine Cl^- ion, besides the hyperfine interaction between iron and the nitrogen of the pyrrole ring. For $FeTF_{20}PP$ only the super hyperfine interaction, Fe-Cl was found. These interactions were not observed for the other iron porphyrins.

Capítulo 1 - Introdução.

A maioria do oxigênio molecular consumido pelas células aeróbicas é reduzido à água às custas de elétrons que fluem da cadeia respiratória da mitocôndria. Porém, pequenas quantidades são usadas em reações enzimáticas, nas quais um ou ambos átomos de oxigênio são diretamente inseridos na molécula de substrato orgânico. As enzimas que catalisam estas reações são denominadas oxigenases e podem ser subdivididas em duas classes: as monooxigenases e as dioxigenases[1]. Como o próprio nome sugere, as dioxigenases catalisam reações onde ambos os átomos de oxigênio molecular são incorporados à molécula de substrato orgânico; enquanto as monooxigenases catalisam reações em que somente um dos dois átomos de O_2 é incorporado ao substrato orgânico[1-3].

As mais numerosas e mais complexas reações de monooxigenação são aquelas que utilizam um tipo de hemoproteína denominada citocromo P-450. Ao contrário da maioria dos citocromos, o P-450 não funciona meramente como um carregador de elétrons, mas é também, uma enzima capaz de catalisar reações de oxigenação[3]. Ela promove a transferência de um átomo

de oxigênio proveniente do oxigênio molecular O_2, ao substrato, sendo o segundo oxigênio reduzido à água, com a utilização de dois elétrons do NADPH (do inglês *α - Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*), conforme a reação descrita abaixo[4]:

$$RH + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow ROH + H_2O \qquad (1)$$

O nome citocromo P-450 origina-se do deslocamento do comprimento de onda máximo da banda de absorção Soret para 450 nm, do complexo de hemo-enzimas no estado de ferro coordenado com monóxido de carbono, que é uma característica incomum em relação às outras hemoproteinas. Estas enzimas ocorrem amplamente na natureza, na maioria dos tecidos animais (fígado, rim, pele), plantas, insetos, leveduras e bactérias.

Destas enzimas as que são encontradas no fígado possuem, aparentemente, a função de proteger o organismo de xenobióticos, oxidando compostos tóxicos em materiais hidrofílicos excretáveis. Por outro lado, algumas transformações metabólicas mediadas pelo citocromo P-450 levam a produtos tóxicos e carcinogênicos. Como exemplo, pode ser citado o benzopireno (encontrado na fumaça do cigarro) que é oxidado no pulmão a um diol-epóxido carcinogênico[3,5]. Do ponto de vista industrial, o interesse pelo citocromo P-450 está em utilizá-lo na quebra de ligações do tipo C-H e C-C de alcanos sob condições brandas, uma vez que, a dificuldade em se clivar e transformar tais ligações em outras, limita o uso de hidrocarbonetos como matéria-prima na indústria[3-6].

In vitro, o citocromo P-450 pode catalisar a transferência de um átomo de oxigênio proveniente de doadores simples de oxigênio, como por exemplo a H_2O_2, para o substrato. A transferência de um átomo de oxigênio para a Fe(III)-protoporfirina IX, que constitui o ciclo ativo do P-450, leva à espécie de alta valência ferro-oxo, formalmente representada por $Fe^V(O)P$, sendo esta última espécie, reativa o suficiente para abstrair átomos de hidrogênio dos hidrocarbonetos[7,8].

Através de técnicas espectroscópicas variadas, muitas informações à respeito do ciclo catalítico do P-450 e de espécies intermediárias, decorrentes da ativação do oxigênio, têm sido obtidas nos últimos anos[3-9]. No entanto, algumas etapas detalhadas do ciclo catalítico não foram esclarecidas, principalmente com relação à ativação do oxigênio molecular. Na tentativa de esclarecer esses pontos, os pesquisadores têm utilizado modelos do centro ativo, isto é, ferroporfirinas sintéticas (FeP) que sejam química e espectroscopicamente equivalentes à enzima nativa.

Dois importantes objetivos têm direcionado os estudos das FeP como modelo para o citocromo P-450: o primeiro consiste na determinação da natureza dos complexos de FeP, envolvidos nas etapas intermediárias no ciclo catalítico de ativação do oxigênio molecular, e hidroxilação de substratos por P-450; o segundo compreende a utilização de FeP como catalisadores, capazes de reproduzir várias reações promovidas pelo P-450,

em catálise homogênea e heterogênea, efetuando oxidações eficientes e seletivas em condições brandas[3].

Inicialmente foram utilizadas como modelo para o P-450, ferroporfirinas simples, com substituintes fenila denominada meso-tetrakis(fenilporfirina)ferro(III), FeTPP, ilustrada na Figura 1. Porém, a necessidade de maior estéreo e régio-seletividade nas reações de oxidação de substratos orgânicos, associados às reações mais eficientes com catalisadores mais estáveis e com alto índice de recuperação, direcionaram o trabalho de síntese de novas porfirinas, contendo substituintes volumosos e/ou eletronegativos que atendessem a esses requisitos.

Visando atender esses mesmos propósitos, um outro caminho encontrado pelos pesquisadores foi a proposta de imobilização das FeP em matrizes orgânicas (polímeros) ou inorgânicas (como zeólitas e sílica). Isto é sugerido como um sistema biomimético, uma vez que em monooxigenação a Fe(III)-protoporfirina IX é rodeada pela matriz de proteína, sendo um centro ativo protegido.

Um outro estímulo para o estudo das FeP baseia-se na busca da chamada "tecnologia limpa", utilizando esses sistemas modelos para substituir o tradicional processo estequiométrico na indústria e, portanto, ajudando a minimizar os problemas de tratamento e eliminação de dejetos industriais.

Acompanhando a crescente pesquisa na área de catalisadores, nosso grupo vem trabalhando em conjunto com o grupo de Bioinorgânica da FFCLRP para a síntese e caracterização de novas metaloporfirinas (MeP), atendendo aos objetivos de determinação de intermediários catalíticos que mimetizam o citocromo P-450 inicialmente, e mais recentemente, buscando desenvolver catalisadores mais eficientes, com maior recuperação e aplicações tecnológicas.

Marilda et.al.[59] observaram que a porfirina mono ortofenil substituída FeMNPP (Figura 1) é um eficiente catalisador na hidroxilação do cicloexano pelo iodosobenzeno. Através da espectroscopia de EPR e UV-Vis foi possível estabelecer que a espécie catalítica ativa predominante é dada por um radical dimérico PFe^{IV} — O — PFe^{IV}.

Em estudos realizados por Iamamoto et.al.[15] e Nagakaki et.al.[13] com ferroporfirinas catiônicas alquilpiridil substituídas (Figura 1) destacaram a participação do solvente na atividade catalítica. Observaram que essas FeP possuem pequena tendência à dimerização em solventes orgânicos. Iamamoto et al[12] também observou uma redução na atividade catalítica em função do solvente MeOH, uma vez que esse pode competir com o substrato.

Outra FeP bastante estudada é a $FeTF_{20}PP$ (Figura 1), por apresentar alta estabilidade e eficiência[60] além de um comportamento irregular oxidando cicloexano a cicloexanol com rendimentos de 36% a 200%, dependendo das condições de reação e armazenamento[12,16,18].

Para compreender o comportamento anômalo dessa FeP surgiu a necessidade de se estender esses estudos variando o número de grupamento pentafluorfenil. Além disso, como é de nosso interesse realizar uma caracterização com detalhes estruturais das FeP, o estudo dessa série de FeP fluorofenil substituídas apresentou-se como um atrativo material para pesquisa. Podemos nomeá-las mono-, di- tri- e tetra- fluorofenilporfirina, denominadas respectivamente por $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$, $FeTF_{15}PP$ e $FeTF_{20}P$. Todas essas FeP também se encontram ilustradas na Figura 1.

Contribuindo para a compreensão das questões propostas acima, apresentamos nesse trabalho o estudo da influência dos solventes, como o diclorometano (DCM) e o metanol (MeOH) para essa série de FeP fluorofenil substituídas.

Em primeiro lugar, cabe adiantar que o papel do solvente DCM não altera a estrutura das FeP, uma vez que este é um solvente não coordenante. Destaca-se, portanto, a importância do estudo da ligação do solvente MeOH a FeP. Assim a coordenação com o MeOH é um veículo importante para a compreensão da relação entre o ligante axial e as propriedades físicas das FeP. Sendo esse solvente um expressivo doador de oxigênio, destaca-se ainda, sua importância para as reações catalíticas e biológicas das MeP[19,20]. Podemos descrever também um outro fator estimulante que compreende a dificuldade em distinguir as formas diméricas, hidróxidos e as coordenadas

com o MeOH, que podem tornar-se melhor esclarecidas através dos estudos propostos nesse trabalho.

As diferenças estruturais estabelecidas pelos diferentes números de substituintes fluorfenis bem como os diferentes ligantes podem ser monitoradas com o uso de técnicas espectroscópicas. Com isso, nossa proposta de estudo é caracterizar a série de FeP fluoro substituídas em função dos solventes DCM e MeOH através das técnicas espectroscópicas de absorção eletrônica na região do ultravioleta ao visível (UV-Vis) e Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR).

A razão da escolha destas duas técnicas se deve ao fato de que a absorção eletrônica UV-Vis é amplamente utilizada pelos pesquisadores da área de química, mas que tem limitações na resolução das bandas apresentadas pelas porfirinas, quando ocorrem pequenas mudanças estruturais, enquanto que a técnica de EPR é extremamente sensível a estas pequenas mudanças e de pouco uso pelos pesquisadores dessa área.

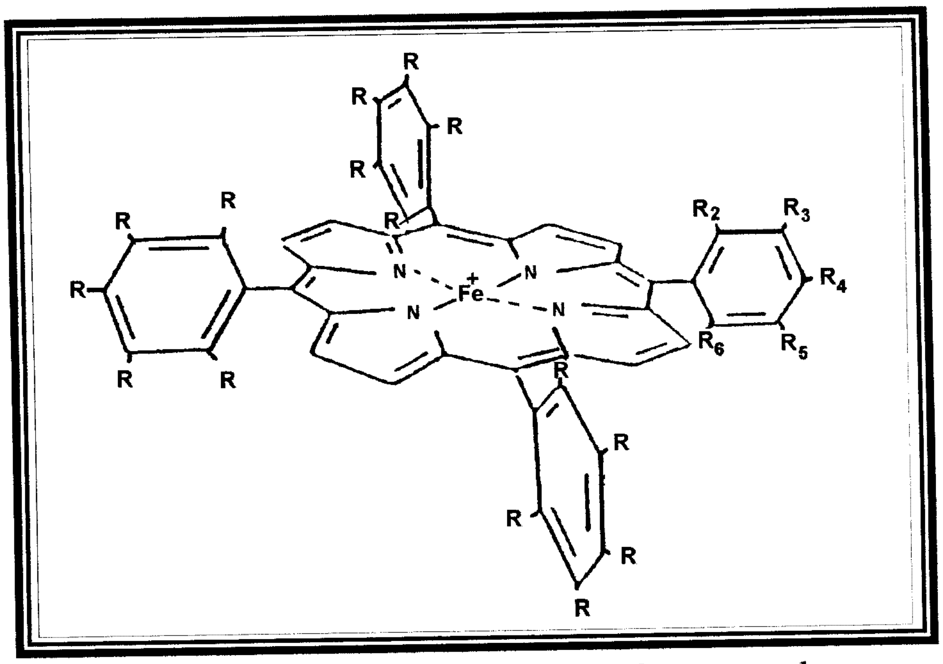
A caracterização da série de FeP fluoro substituídas em função dos solventes DCM e MeOH é apresentada neste trabalho de acordo com a seguinte distribuição:

- No capítulo 2 está apresentado um resumo sobre a teoria de Ressonância Paramagnética Eletrônica e Absorção Eletrônica dedicado aos sistemas de porfirinas;

♦ No capítulo 3 estão descritos os materiais e métodos de preparação das amostras para o estudo com cada técnica espectroscópica;

♦ No capítulo 4 apresentamos os resultados obtidos e fazemos as discussões pertinentes;

♦ O capítulo 5 foi exclusivamente dedicado as conclusões obtidas sobre os estudos realizados.



- **FeTPP: todas as posições indicadas por R são ocupadas por átomos de hidrogênio: grupos fenis;**
- **FeMNPP: posição $R_2 = NO_2$, demais posições indicadas por R são ocupadas por átomos de hidrogênio;**
- **$FeTF_5PP$: um grupo fluorofenil (R=F) e três grupos fenila.**
- **$FeTF_{10}PP$: dois grupos fluorofenis e dois grupos fenila.**
- **$FeTF_{15}PP$: três grupos fluorofenis e um grupo fenil.**
- **$FeTF_{20}PP$: quatros grupos fluorofenis.**

Figura 1: Esqueleto porfirínico apresentando as variações nas posições *meso* para obtenção de catalisadores mais eficiente.

Capítulo 2 - Considerações teóricas.

2.1. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica: EPR.

2.1.1. Introdução.

A Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR do inglês: *Electron Paramagnetic Resonance*) tem sido, nos últimos anos, amplamente aplicada à estudos de sistemas biológicos[21-26]. Entre as espécies paramagnéticas presentes em materiais biológicos podemos citar, como exemplo, as metaloenzimas, cujo centro paramagnético é composto por um metal de transição. A técnica de EPR é especialmente útil em estudos de reações de transferência de elétrons, na determinação da simetria em que o

sítio paramagnético está envolvido, na determinação de radicais produzidos durante reações de oxi-redução e em mecanismos de atividades enzimáticas, entre outras[21,22].

A espectroscopia de EPR, como geralmente é referenciada essa técnica, compreende o fenômeno de absorção de energia por elétrons não emparelhados de um átomo, molécula ou íon quando estes se encontram sujeitos à aplicação de um campo magnético. A primeira informação que se pode obter de um espectro de EPR de um sistema biológico é a identificação das espécies paramagnéticas contidas nas amostras, normalmente feitas por comparação dessas com substâncias conhecidas. Íons com momentos nucleares, como por exemplo o Mn^{2+} e o Cu^{2+}, podem ser facilmente detectados devido às várias linhas encontradas no espectro, provocadas pelas interação magnética entre os elétrons desemparelhados e o núcleo do próprio íon, denominada interação hiperfina. Além disso, a técnica de EPR permite determinar interações spin-spin entre elétrons de espécies distintas, podendo fornecer informações de distâncias entre esses centros paramagnéticos. É importante destacar que esta técnica também apresenta algumas desvantagens, como por exemplo, o estado de oxidação de alguns metais: Fe^{II}, que não pode ser detectado por essa técnica, necessitando a introdução de substâncias paramagnéticas para o estudo desses estados de spin. Pode-se citar ainda, como uma desvantagem dessa técnica, a necessidade de utilização de temperaturas criogênicas, como por exemplo, os sinais

procedentes do Fe^{III}, que necessitam de temperaturas de hélio líquido para serem devidamente detectados[21]. Segundo Wikman[32] a necessidade de temperaturas baixas é devido aos tempos de relaxação muito curtos, como para o sistema Ferricitocromo a. Wertz[27] apresenta a flutuação dos campos cristalinos como responsável pelo alargamento das linhas. No entanto, se a vizinhança do ferro oferecer um sistema rígido, como para o FeF_6^{3+}, não há necessidade de temperaturas criogênicas.

2.1.2. O fator - g.

A identificação das espécies paramagnéticas é estabelecida por um fator denominado fator ***g efetivo***, que é um parâmetro adimensional obtido diretamente do espectro de EPR. Esse parâmetro é determinado pelo momento angular orbital e de spin de um elétron desemparelhado.

O valor do fator *g*, faremos referência apenas por fator *g*, que serve de referência para a determinação dos demais valores de *g* de um íon metálico, é igual a 2.0023, e corresponde ao valor para o elétron livre, o que equivale dizer que o elétron encontra-se em um meio esfericamente simétrico, resultando em um momento angular orbital igual a zero. Em um radical livre orgânico o elétron se encontra deslocalizado, apresentando muito pouco momento angular orbital, o que provocará apenas desvios pequenos do valor de *g* com relação ao do elétron livre. No caso dos íons de metais de transição,

temos a presença de campos elétricos ou moleculares originados por ligantes ou por íons vizinhos, e que são os responsáveis pela supressão parcial ou completa do momento angular, levando a desvios maiores no valor de g. Nesses termos, podemos destacar dois fatores importantes que determinam a posição e a dependência angular do espectro de EPR para um íon metálico em particular. Primeiro, é o tipo de ligante, sua força de ligação com o íon em estudo; segundo é a posição do ligante e a simetria do sítio com relação a este íon. Outro fator importante, que também é afetado pela presença de ligantes em volta do metal de transição, é a mudança do estado de oxidação deste, que em muitos casos, pode levar a uma fácil identificação desse ligante.

Um átomo de especial interesse em sistemas biológicos é o ferro, que pode ser encontrados em distintos estados de oxidação. Pode constituir parte de um grupo heme de alto spin, como ocorre na Fe^{III}-hemoglobina e na maioria das FeP. Esse estado de oxidação é caracterizado por um sinal que corresponde a uma simetria axial que apresenta valores para o fator g iguais a $g_x = g_y = g_\perp = 6$ e $g_z = g_{//} = 2$, ilustrado na Figura 2 (a). Um sinal de baixo-spin, cujo espectro corresponde a uma simetria rômbica, apresenta todos os valores de g menores que 4, que é um sinal característico, por exemplo, do citocromo-c[22,28], ilustrado na Figura 2 (b).

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA INFORMAÇÃO

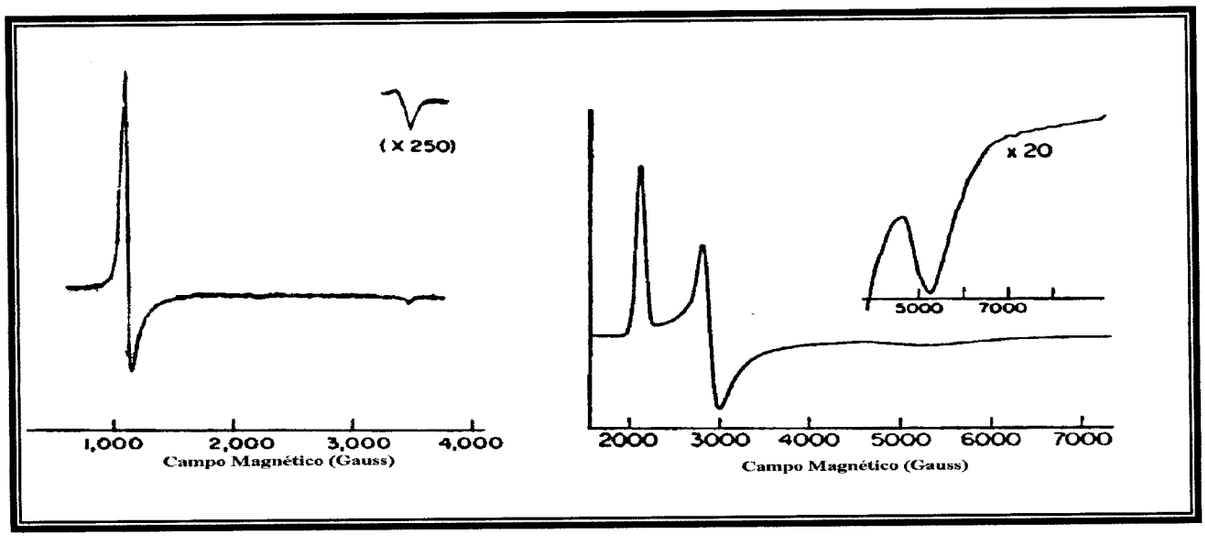


Figura 2: Espectros de EPR: (a) FeP em solução congelada e (b) Citocromo-c.

2.1.3. O átomo de ferro.

Um átomo de ferro possui 26 elétrons com 18 destes agrupados em camadas fechadas e 8 na configuração orbital $3d^6\ 4s^2$. Nas FeP e hemo complexos os átomos de ferro podem aparecer no estado trivalente, Fe^{3+}- férrico, no estado bivalente, Fe^{2+}- ferroso, ou ainda no estado ferríl Fe^{4+}, e as configurações orbitais são, respectivamente $3d^5$, $3d^6$ e $3d^4$. A camada 3d consiste de 5 orbitais que podem acomodar no máximo 10 elétrons com spins opostos, como é requerido pelo Princípio de Exclusão de Pauli. Quando há menos de 10 elétrons vários arranjos são possíveis, resultando em diferentes valores de spin, ilustrados na Tabela 1:

Tabela 1: Possíveis valores de spin para as ferroporfirinas e hemo complexos[22].

	Spin alto	Spin intermediário	baixo spin
4 elétrons d - Fe^{4+}	s = 2	s = 1	s = 0
5 elétrons d - Fe^{3+}	s = 5/2	s = 3/2	s = 1/2
6 elétrons d - Fe^{2+}	s = 2	s = 1	s = 0

A dependência angular das cinco funções de onda (orbitais) 3d estão ilustradas na Figura 3.

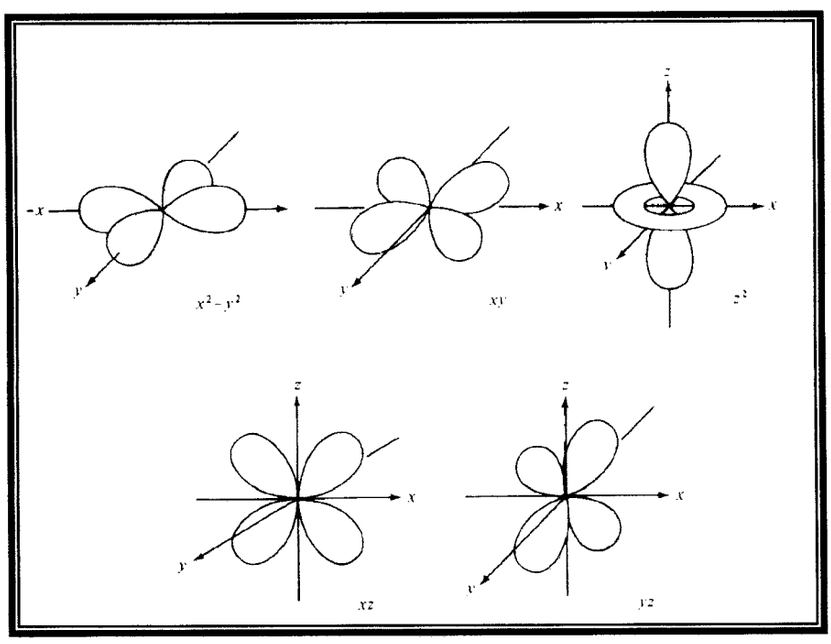


Figura 3: Dependência angular dos cindo orbitais d[29].

Para entendermos mais claramente o efeito da simetria nos estados de spin do íon metálico e sua influência na forma do espectro, vamos considerar que os seis ligantes formam uma simetria octaédrica e estão posicionados simetricamente ao longo dos eixos cartesianos com o íon metálico na origem, Figura 4.

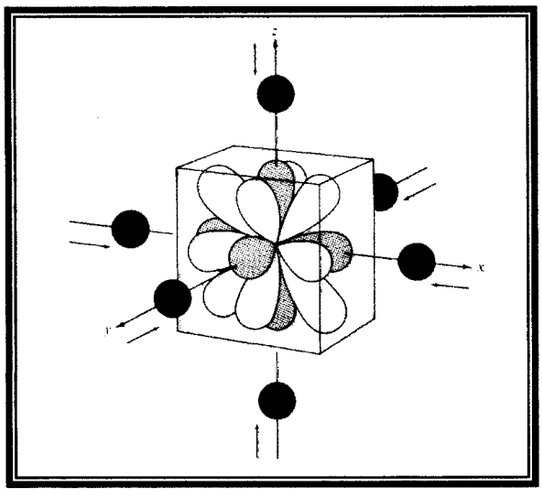


Figura 4: Representação dos cinco orbitais d de um metal de transição posicionado no centro dos eixos cartesianos e ao redor os seis ligantes formando uma simetria octaédrica[29].

Em um campo elétrico esfericamente simétrico, a energia dos cinco orbitais é a mesma, ou seja, o estado fundamental é pentadegenerado, Figura 5(a). Em um campo cristalino o efeito dos ligantes vizinhos não é o mesmo sobre todos os orbitais d e, sendo assim, a degenerescência é levantada. Os elétrons que ocupam os orbitais alinhados ao longo dos eixos coordenados d_{z^2} e $d_{x^2-y^2}$ serão mais fortemente repelidos que os elétrons nos orbitais com os lóbulos direcionados entre os eixos cartesianos d_{xz}, d_{yz} e d_{xy}. No primeiro caso, os orbitais são duplamente degenerados e denotado por e_g, no outro, os

orbitais são triplamente degenerados e denotados por t_{2g}, Figura 5(b). A separação energética entre os níveis e_g e t_{2g} em um complexo octaédrico é dada por Δ_o ou 10 Dq. Os termos D e q são quantidades resultantes do formalismo matemático do modelo eletrostático. Eles dependem da carga do íon metálico, da distribuição radial dos elétrons d, da distância metal-ligante e da natureza dos ligantes. Dependendo da intensidade do campo cristalino Δ_o pode-se ter configurações que variam de baixo spin a alto spin. Assim, ligantes fortes como o cianeto (CN^-) fornecem uma configuração de baixo spin (S=1/2 para o Fe^{3+}), e ligantes fracos como a água e o flúor fornecem uma configuração de alto spin (S=5/2 para o Fe^{3+}).

Como foi dito anteriormente, o desdobramento dos níveis de energias degenerados é sensível à simetria do meio. Se o octaedro regular é perturbado, resultando em uma distorção tetragonal com alongamento do eixo z, os orbitais t_{2g} e e_g são desdobrados com abaixamento das energias dos orbitais d_{z^2} e d_{xy}. Os orbitais d_{xz} e d_{yz} permanecem degenerados, Figura 5(c). Por outro lado, se a perturbação introduzir uma distorção rômbica, os eixos x e y perdem sua equivalência, e os orbitais d_{xz} e d_{yz} são também desdobrados (estes desdobramentos não estão ilustrados na Figura 5).

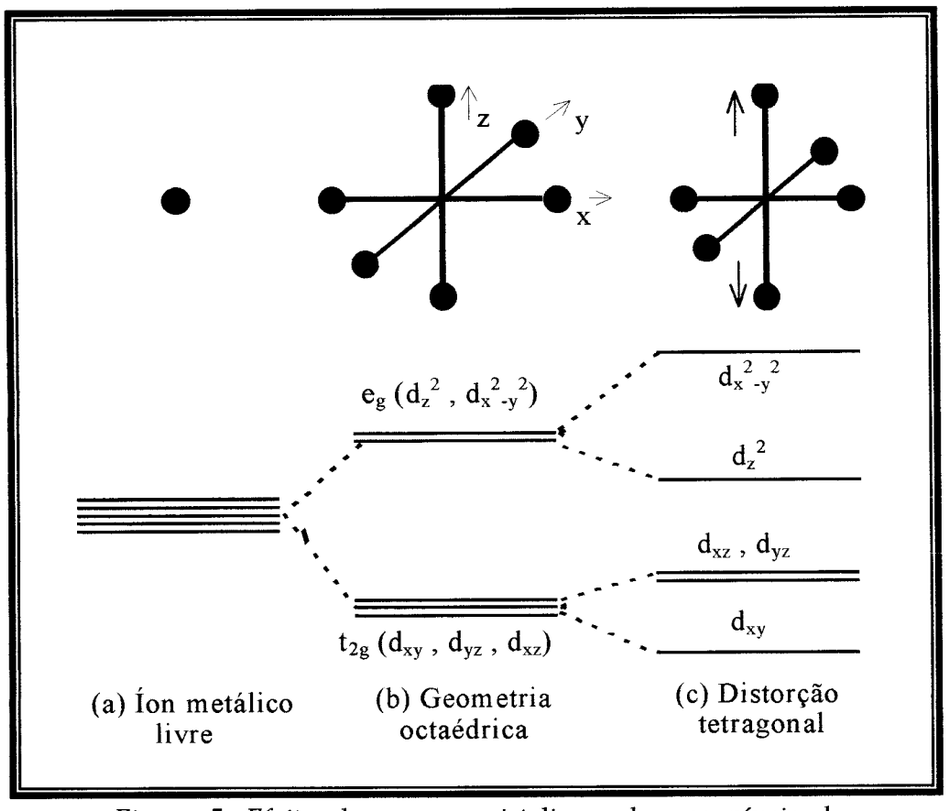


Figura 5: Efeito do campo cristalino sobre os níveis de energia dos orbitais d: (a) íon metálico livre (simetria esférica); (b) geometria octaedrica, (c) geometria octaedrica com distorção tetragonal.

2.1.4. A Hamiltoniana de Spin

A Hamiltoniana de spin é uma função dos operadores de spin eletrônico S, nuclear I, do campo magnético aplicado H, que descrevem as autofunções e os níveis de energia estudados em experimentos de ressonância. Seus parâmetros são determinados experimentalmente e através de simulações espectrais, e contém informações que podem ser obtidas do sistema em estudo. Deste modo, a Hamiltoniana de Spin é uma função de S, I

e H, compatível com a simetria do sistema e as regras de seleção dos elementos de matriz **S e I**[31].

Para o presente trabalho a Hamiltoniana que descreve o sistema em estudo é dada pela seguinte equação:

$$H = D\left\{S_z^2 - \frac{1}{3}S(S+1)\right\} + E\left\{S_x^2 - S_y^2\right\} + \beta\,\vec{S}\cdot\vec{\vec{g}}\cdot\vec{H} + \hbar\,\vec{S}\cdot\vec{\vec{A}}\cdot\vec{I} \qquad (1)$$

Os dois primeiros termos da equação representam a interação de Campo Cristalino. Este campo surge das cargas eletrostáticas dos íons e átomos vizinhos como ligantes próximos e podem provocar deslocamento e desdobramento da energia eletrônica.

O terceiro termo, conhecido por Hamiltonia Zeeman Eletrônica, representa a interação entre os momentos magnéticos dos elétrons com um campo magnético aplicado, produzindo um desdobramento adicional dos níveis de energia. Sua energia é da ordem de 0,3 cm^{-1} para espectrômetros que operam em Banda X, com freqüências na faixa de 10^{10} Hz. Quando as interações de Campo Cristalino e Zeeman possuem a mesma ordem de grandeza o espectro torna-se fortemente dependente da orientação angular.

O último termo é a Hamiltoniana de Interação Super Hiperfina e descreve o acoplamento dos momentos magnéticos orbital e de spin eletrônico com o spin nuclear de átomos vizinhos. Essa interação também produz um desdobramento dos níveis de energia. A estrutura de multiplete dos espectros de EPR está ligado ao fato do momento magnético de spin

interagindo com o núcleo ser sensível a um campo total diferente, dependendo das 2I+1 orientações do momento magnético nuclear I no campo magnético externo.

Uma interpretação dos espectro de EPR do íon Fe^{3+} foi dada por Wikman et.al.[32] e Castner et.al.[33], considerando a mesma Hamiltoniana acima, sem a interação super hiperfina. Em seu artigo os autores assumem que a interação de campo cristalino é muito maior que a interação Zeeman e introduzem o parâmetro $\lambda = E/D$, que mede o grau de rombicidade do campo cristalino. Através da diagonalização da interação de campo cristalino em um sistema J=5/2, são determinados os três dubletos de Kramer (±5/2, ±3/2, ±1/2). Os valores de ***g-efetivo*** em função de $\lambda = E/D$ é apresentado na Figura 6 para os três dubletos de Kramer, considerados separadamente com spin efetivo ½.

Para o nível de energia mais baixa, em que ocorrem as transições de microondas, fica claro os valores de $g_{\perp} = 6$ e $g_{//} = 2$, no limite de simetria axial, para E = 0.

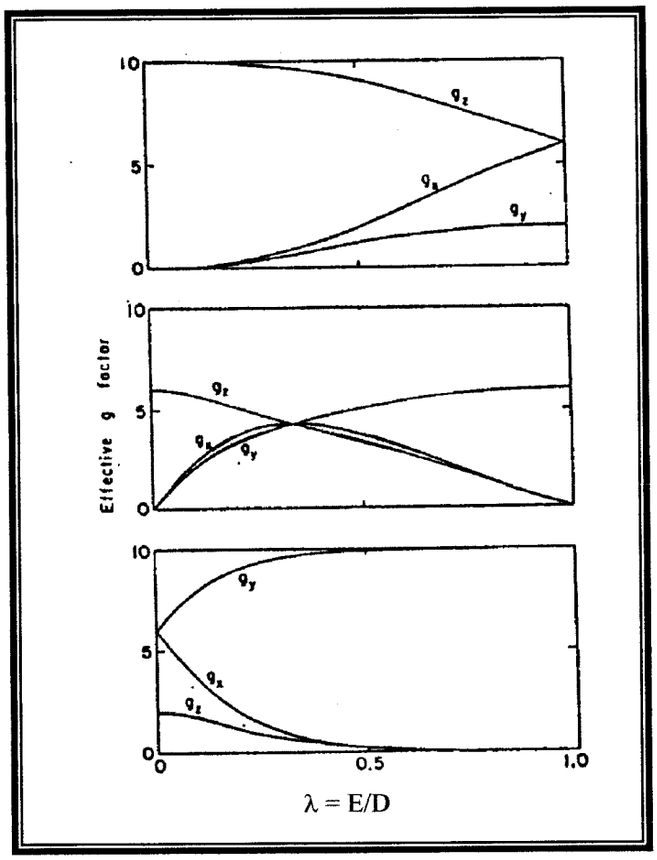


Figura 6: Valores de ***g-efetivo*** para a Hamiltoniana apresentada na equação (1) sem a interação super hiperfina[32].

O parâmetro E assume valores diferentes de zero quando uma distorção rômbica do campo cristalino que circunda o metal central, leva a uma quebra de simetria do plano xy, considerado o plano do anel porfirínico. Os valores de g_x e g_y passam agora a ser dados por:

$$g_x = 6 - 24\frac{E}{D} \tag{2}$$

$$g_y = 6 + 24\frac{E}{D} \tag{3}$$

ou ainda, o fator $\lambda = E/D$ pode ser expresso por $\frac{E}{D} = \frac{g_x - g_y}{48}$.

Podemos notar, ainda, da Figura 6 que no intervalo de $0 < \lambda \leq 1/3$ a variação nos valores de g do nível mais alto é pequena. Para o nível do meio os valores de g vão de altamente anisotrópico até a isotrópico enquanto que para o nível mais baixo os valores de g variam consideravelmente. Há uma completa simetria entre os valores de g de diferentes níveis para o intervalo $0 < \lambda \leq 1/3$ e $1/3 \leq \lambda \leq 1$.

No limite de $\lambda = 1/3$, o grau de distorção rômbica, ou rombicidade do sistema pode ser definido[34] pela seguinte relação[34]:

$$\% \quad \text{Rombicidade} = \frac{|g_x - g_y|}{10} \times 100\% \qquad (4)$$

Nas discussões apresentada acima os autores Wikman e Castner fazem um tratamento do espectro de EPR baseados na teoria do campo Cristalino[28,36]. Através dessa teoria podemos resolver uma grande quantidade de dados sobre complexos de metais de transição, porém esta apresenta certas limitações. Há vários experimentos e argumentos que apresentam evidências contra o fato do desdobramento dos orbitais **d** do metal ser resultado somente dos efeitos eletrostáticos com ligações de caráter iônico entre o metal e o ligante. Evidências de que os elétrons dividem-se entre o metal e o ligante, o que atribui para a ligação metal-ligante um caráter covalente, é apresentada pela espectroscopia de EPR através das interações hiperfinas, que descrevem o acoplamento dos momentos magnéticos orbital

e de spins eletrônicos com spins nucleares dos núcleos constituintes do campo ligante[29,36].

No presente trabalho é introduzida à Hamiltoniana de Spin a interação super hiperfina, que é análoga a interação hiperfina, já que ela descreve a interação do spin eletrônico com os spins nucleares vizinhos. Como discutido acima, produz um desdobramento dos níveis de energia que corresponde às 2I+1 orientações do momento magnético de spin nuclear I no campo magnético externo. A separação das linhas mede o valor da interação magnética A para uma dada direção do campo magnético. Esta interação é, geralmente, anisotrópica e pode ser descrita por um tensor de 2ª ordem. Entretanto, o fato de seu valor ser, em alguns casos, menor que as larguras de linhas do espectro, faz com que este desdobramento não seja observado, a não ser em algumas direções onde o valor do tensor seja maior que a largura de linha.

No caso de existir mais de um núcleo na coordenação do íon que possua spin nuclear, ou considera-se cada núcleo individualmente como um termo da interação, e o resultado será a superposição dos desdobramentos de cada um deles, ou se considera grupos de núcleos que possam ser equivalentes, e neste caso o spin nuclear total será a superposição deles, dando desdobramentos correspondentes ao spin total.

A Hamiltoniana de Spin discutida resumidamente é apresentada com detalhes em vários textos, como Abragan e Bleaney[31], Pake[28], Poole e Farach[30], entre outros.

2.2. Espectroscopia de Absorção Eletrônica : UV-Vis.

2.2.1. Introdução.

A absorção da luz na região do ultravioleta e do visível é dependente da estrutura eletrônica da molécula, produzindo mudanças na energia eletrônica da mesma e resultando na transição de elétrons de valência da molécula. Em uma transição eletrônica, uma molécula absorve um quantum de energia e um elétron é excitado do orbital que ocupa no estado fundamental para outro de maior energia. São os orbitais do estado fundamental e excitado que caracterizam o tipo de transição eletrônica observada.

Um espectro de absorção eletrônica é caracterizado pela intensidade da luz absorvida definida como densidade óptica ou absorbância e pela

posição da banda de absorção. A posição da banda de absorção corresponde ao comprimento de onda da radiação cuja energia é igual aquela requerida para uma transição eletrônica. A intensidade de absorção depende de dois fatores: a probabilidade de interação entre a radiação eletromanética e a molécula e a diferença entre o estado fundamental e o estado excitado. A probabilidade de transição ou momento dipolar de transição é proporcional à mudança na distribuição de carga eletrônica que ocorre durante a excitação. A maior intensidade de absorção ocorre quando a transição é acompanhada por uma grande mudança no momento de dipolo de transição.

A variedade de cores dos complexos de metais de transição estão intimamente ligadas ao espaçamento energético entre os níveis de energia eletrônica destes complexos. Desde que estes espaçamentos dependam de fatores como a geometria do complexo, a natureza do ligante e o estado de oxidação do metal central, os espectros eletrônicos podem fornecer valiosas informações relacionadas às ligações e estruturas dos complexos[29].

2.2.2. Espectros eletrônicos de absorção de porfirinas e metaloporfirinas.

A Figura 7 ilustra o esqueleto básico da porfirina, com 16 átomos de carbono, dois átomos de nitrogênio e 18 elétrons. Os elétrons π movem-se neste esqueleto através dos orbitais moleculares. Quando há dois átomos de

hidrogênio nos nitrogênio pirrólicos o composto é chamado de porfirina base livre e apresenta uma simetria retangular D_{2h}. Os átomos de hidrogênio externos e internos, bem como os substituintes nas posições α, β, γ e δ (denominadas posições *meso*) podem ser substituídos dando origem a uma grande variedade de porfirinas e metaloporfirinas[38-40].

Com base nos espectros de absorção das porfirinas podemos dividi-las em duas classes: as porfirinas regulares, cujo espectros de absorção não se alteram muito com a inserção do metal; e as porfirinas irregulares, no caso contrário. Dentro das porfirinas irregulares temos ainda uma nova divisão: as Hypso que apresentam os espectros de absorção deslocado para a região do azul, tais espectros são vistos em porfirinas de metais de transição d^n com n = 6-9, que possuem os orbitais e_g completos (consultar Figura 8 para reconhecimento dos orbitais e_g); e as Hyper que apresentam bandas extras na região de $\lambda > 320$ nm e que fazem parte as porfirinas dos metais de transição com configuração d^n com $1 \leq n < 6$. Neste último caso, encontramos as porfirinas de Fe^{2+} ($S \neq 0$) e Fe^{3+} ($S=5/2$).

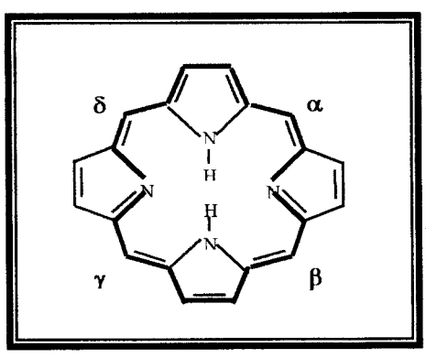


Figura 7: Esqueleto porfirínico com destaque para os 18 elétrons π em negrito[38].

As porfirinas base livre apresentam um espectro de absorção com quatro bandas na região do visível, denominadas banda Q, entre 500 a 700 nm com $\varepsilon \cong 10^4$ $M^{-1}cm^{-1}$ e uma intensa banda na região do ultravioleta em 400 nm com $\varepsilon \cong 10^5$ $M^{-1}cm^{-1}$ denominada banda Soret (ou banda B)[39,40]. A troca dos substituintes na periferia da porfirina pode provocar uma perturbação dos níveis de energia e a intensidade relativa das bandas na região do visível pode ser alterada.

Quando o metal é coordenado ao anel substituindo os dois hidrogênios pirrólicos, a simetria molecular é alterada passando de uma simetria retangular D_{2h}, para uma simetria quadrada D_{4h}. Na simetria quadrado planar de uma metaloporfirina o número de bandas na região do visível é dois com $\varepsilon \cong 10^4$ $M^{-1}cm^{-1}$. Na Figura 8 temos uma representação esquemática das transições entre os diferentes níveis eletrônicos e vibracionais das porfirinas base livre (D_{2h}) e metaloporfirinas (D_{4h}).

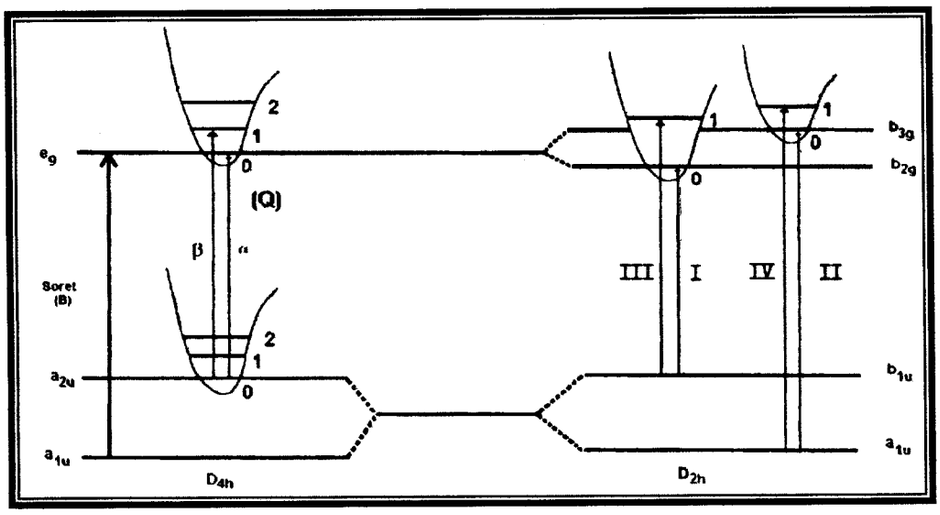


Figura 8: Representação esquemática das transições entre os diferentes níveis eletrônicos e vibracionais das porfirinas base livre (D_{2h}) e metaloporfirinas (D_{4h}).

A posição destas bandas são dependentes do estado de spin e de oxidação do metal bem como da basicidade do ligante. A banda de Soret tem coeficientes que variam de 2 a $4x10^4$ $M^{-1}cm^{-1}$ e pode apresentar um ombro no lado de menor energia do espectro, esta banda, denominada B(1,0), é devida a um acoplamento vibrônico eletrônico da banda Soret da porfirina e a vibração de a_1 ($a_{1u} \rightarrow e_g^*$). As bandas na região do visível, bandas Q ($a_{2u} \rightarrow e_g^*$) no espectro de metaloporfirinas são de intensidade moderada. Estas correspondem à transição vibracional de menor energia do estado fundamental singlete para o nível vibracional de menor energia do primeiro estado eletrônico singlete excitado Q(0,0) daí a nomenclatura Q_0 (de origem eletrônica) e ao primeiro nível vibracional deste Q(1,0) daí a nomenclatura Q_v (inclui um modo de excitação vibracional), são geralmente nomeadas como α, β, respectivamente. Ferropofirinas de alto spin exibem as bandas de Soret

semelhantes a da porfirina base livre, próximas de 380-400nm, com Q_o e Q_v próximas de 500 e 545 nm, respectivamente. Ferrocomplexos de baixo spin apresentam as bandas de Soret próximas de 400-420 nm com Q_o e Q_v deslocadas para 540 e 560 nm. Estes deslocamentos das bandas Q quando passa de compostos alto spin para baixo spin depende da força do campo ligante dos coordenantes axiais do átomo de ferro, que aproximam ou distanciam os níveis de energia.

Em simetria D_{4h} as bandas Q são devidas aos estados excitados degenerados com equivalência em x e y. Nas porfirinas base livre o abaixamento da simetria para D_{2h} rompe a degenerescência e as bandas Q(0,0) desdobram-se em $Q_x(0,0)$ e $Q_y(0,0)$ com cada uma destas bandas tendo bandas *overtones* $Q_x(1,0)$ e $Q_y(1,0)$. Quanto mais próxima for a degenerescência das configurações mais fraca serão as bandas Q.

Segundo Gouterman[39] a intensidade da banda Q_v é independente da natureza do ligante axial e do estado de oxidação do metal. O aumento da intensidade desta banda em ferrocomplexos é atribuído a um acoplamento vibrônico muito intenso com a Banda de Soret. No entanto, a banda Q_o é sensível a estas mudanças e sua intensidade também é dependente da estrutura do grupo porfirínico. Em sua teoria Gouterman elaborou um modelo de orbitais moleculares conhecido como "modelo dos quatro orbitais" apresentados na Figura 9 que é tido como a melhor interpretação dos espectros eletrônicos de porfirinas. Dos quatros orbitais, em escalas de

energia, dois destes representam os últimos orbitais moleculares ocupados π e os outros dois são os primeiros orbitais desocupados de caráter π^*.

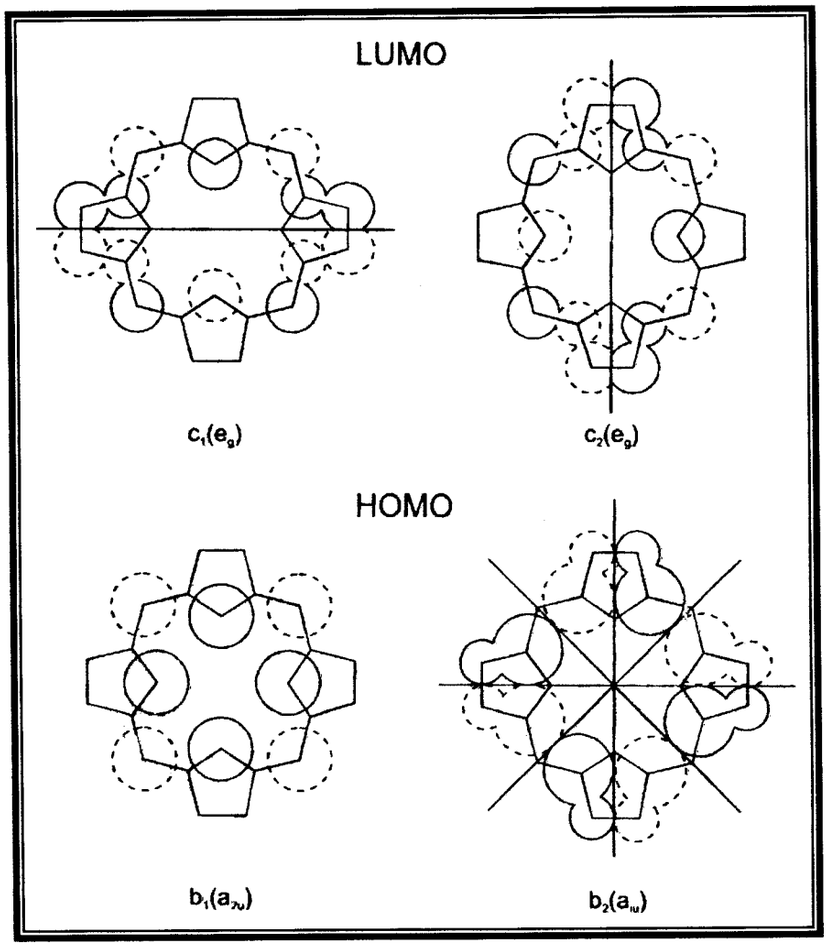


Figura 9: Orbitais moleculares de porfirinas: ocupados de maior energia (HOMO) b_1 e b_2; não ocupados de menor energia (LUMO) c_1 e c_2. Os coeficientes de orbital são proporcionais ao tamanho dos círculos, o sinal da função de onda é indicado por círculos contínuos ou tracejados. Os planos de simetria são indicados por linhas cheias.

Os dois orbitais moleculares ocupados de maior energia são chamados de HOMO (do inglês: *highest occupied molecular orbital*) e os dois orbitais moleculares desocupados de menor energia de LUMO (do inglês: *lowest unoccupied molecular orbital*). Um dos orbitais HOMO pertence à

representação irredutíveis a_{2u} e o segundo a a_{1u} . Os orbitais LUMO pertencem à representação irredutível e_g. Neste modelo impõem-se que os dois últimos orbitais ocupados sejam aproximadamente degenerados. A metodologia de Gouterman consistiu em considerar os HOMO acidentalmente degenerados e em uma simetria mais baixa que a D_{4h} permitindo a banda Soret e proibindo a banda Q. Para isso, Gouterman nomeia (Figura 9) os orbitais como b_1 e b_2 (antes a_{2u} e a_{1u}) e c_1 e c_2 (antes como e_g).

Como mostra a figura dos quatros modelos, o orbital b_1 apresenta maior densidade de carga nos átomos de nitrogênio pirrólico e carbonos *meso* enquanto que o b2 apresenta maior planos nodais nestas posições. Assim, este modelo possibilita avaliar como as alterações na estrutura da porfirina, como a presença de substituintes, ou ainda a troca do metal central e dos ligantes axiais irão afetar as transições óptica. As bandas α e β e Soret do espectro de absorção de metaloporfirinas sofrem deslocamentos e mudanças nas intensidades em respostas a estas variações.

A seguir são apresentados os espectros para as porfirinas base livre e metalada, adquiridos durante a síntese da $FeTF_{20}PP$ e que descreveremos no próximo capítulo. Na Figura 10 (a) o espectro da porfirina base livre apresenta duas bandas mais evidentes na região do visível. A diferença encontrada no espectro eletrônico desta porfirina, em relação aquele que descreve 4 bandas na região do visível entre 500-700 nm (como por exemplo

a $TPPH_2$) pode ser explicada baseada na perturbação nos níveis dos elétrons π pela presença dos substituintes fluorofenis, que acabam restringindo sua rotação, suprimindo duas bandas.

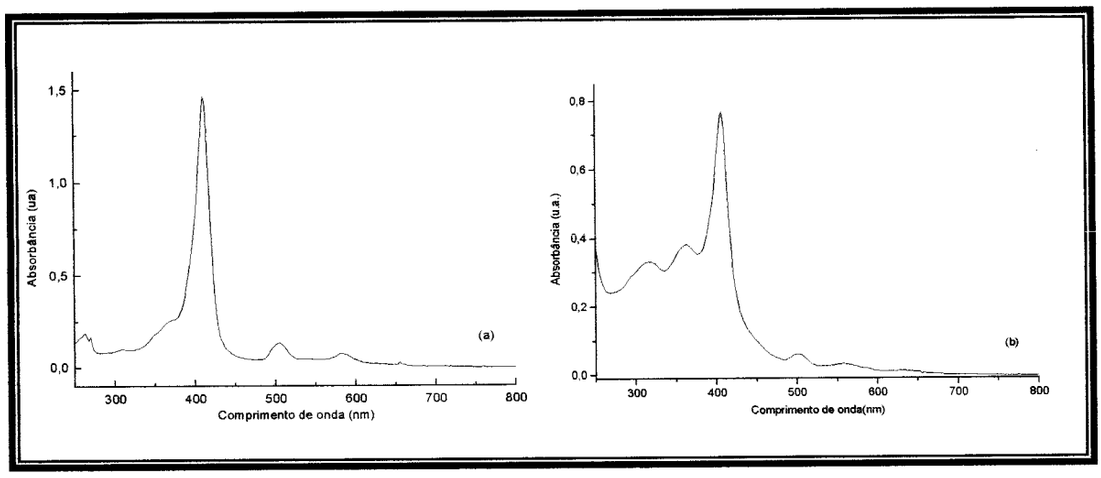


Figura 10: Espectros para as porfirinas base livre (a) e metalada (b), adquiridos durante a síntese da $FeTF_{20}PP$ em DCM.

Capítulo 3 - Materiais e Métodos.

3.1. Materiais.

3.1.1. Porfirinas.

As ferroporfirinas apresentando diferentes números de substituintes fluorofenis foram sintetizadas pelo grupo de Bioinorgânica do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, em colaboração com a Profa. Dra. Yassuko Iamamoto.

Dentre as FeP estudadas tivemos a oportunidade de realizar a síntese da pentafluorofenilporfirina $FeTF_{20}PP$ que passamos a descrever nas seções seguintes. Essa síntese foi realizada no laboratório de Bioinorgânica, com o acompanhamento da Profa. Yassuko, da Dra. Kátia Ciuffi e dos doutorandos

Cláudio Néri e Patrícia Riul Martins. Todo o material descrito na síntese da $FeTF_{20}PP$ foi fornecido pelo referido laboratório.

3.1.1.1. Síntese da tetrafluorofenilporfirina base livre - $TFPPH_2$.

O composto 5,10,15,20-tetrafluorofenilporfirina foi sintetizado segundo o método de Lindsey et.al.[41-43], que consistiu na reação, em temperatura ambiente, do pirrol com o pentaflúorbenzaldeido, utilizando DCM como solvente, ilustrados na Figura 11:

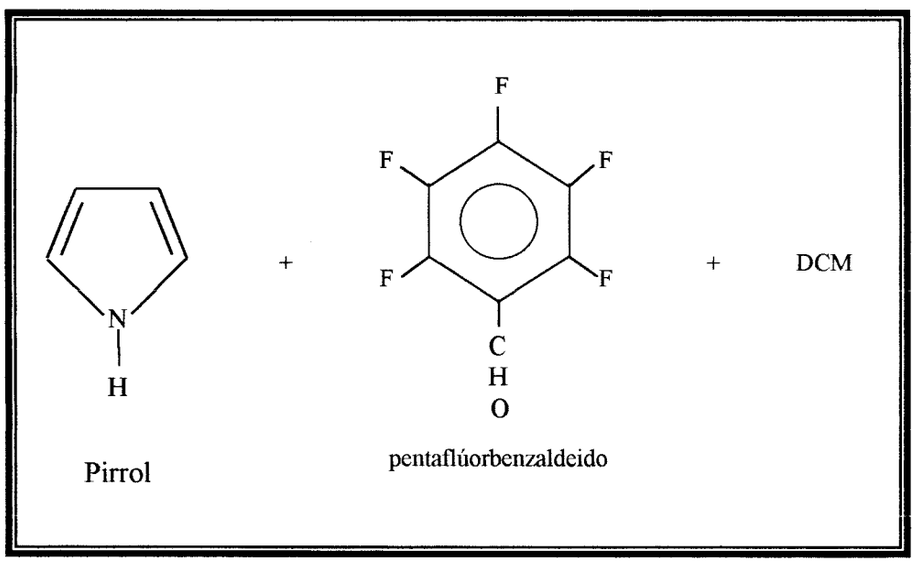


Figura 11: Compostos utilizados para a formação do porfirinogênio.

Para eliminar possíveis traços de água na síntese da porfirina, o solvente DCM foi colocado em sulfato de sódio por um período de 24 horas. Em seguida o DCM foi filtrado e adicionou-se uma pequena quantidade de

hidrato de cálcio. A presença de água durante esse procedimento prejudica a formação do porfirinogênio, formando no lugar do anel porfirínico uma cadeia polipirrol.

No dia da síntese foram destilados 1,2ml de DCM que foi mantido sob atmosfera de argônio. Após 1 hora foram adicionados 3,21 ml de pentaflúorbenzaldeido ($2,6x10^{-2}$moles) e 1,8ml de pirrol ($2,6x10^{-2}$moles). A mistura foi mantida à temperatura ambiente e protegida da luz por um período de 2 horas. Em seguida, foram adicionados, lentamente, 500 μl do catalisador $BF_3.Et_2$ (boro trifluor eterato). Novamente a mistura foi deixada sob atmosfera de argônio por um período de 1,5 horas. A mistura foi mantida vedada por um período de 2 dias. Nesse estágio obtém-se a formação do porfirinogênio.

Transcorridos os 2 dias de reação, foram adicionados 7,29 g de DDq (2,3 dicloro - 5,6 diciano - 1,4 benzoquinona) dissolvidos em 300 ml de tolueno. Novamente a mistura foi mantida vedada por 4 dias para a formação da porfirina, através da oxidação do porfirinogênio, Figura 12.

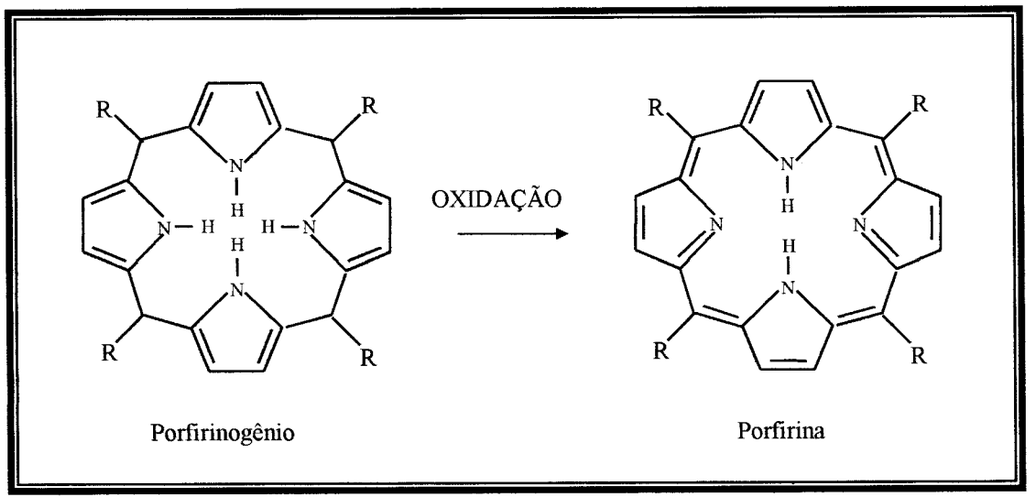


Figura 12: Formação da porfirina através da oxidação do porfirinogênio. As posições R indicam onde se encontram os pentafluorofenis.

Em seguida, a mistura reacional foi filtrada em um balão através de um funil e lã de vidro para posterior purificação.

3.1.1.2. Purificação da tetrafluorofenilporfirina - base livre - $TFPPH_2$.

A purificação da $TFPPH_2$ foi feita através de coluna de alumina e acompanhada por cromatografia de camada delgada (TLC) e espectros de UV-Vis.

A determinação da mistura de solventes utilizado foi estabelecida por TLC e uma proporção satisfatória foi encontrada nas quantidades 2:1 de ciclohexano (CH):DCM. A coluna foi montada com alumina neutra (Aldrich 150-mesh, 58 Å) utilizando-se a mistura de solvente nas proporções citadas acima.

Antes de eluirmos a porfirina na coluna de alumina, foi adquirido um espectro de UV-Vis que está apresentado na Figura 13. Nesse espectro verificamos uma intensa banda de absorção em 350 nm, que é atribuída às impurezas referentes ao processo de formação da porfirina base livre[43]; a banda de Soret em 410 nm e as bandas na região de 500-600 nm caracterizam a formação da porfirina base livre[39].

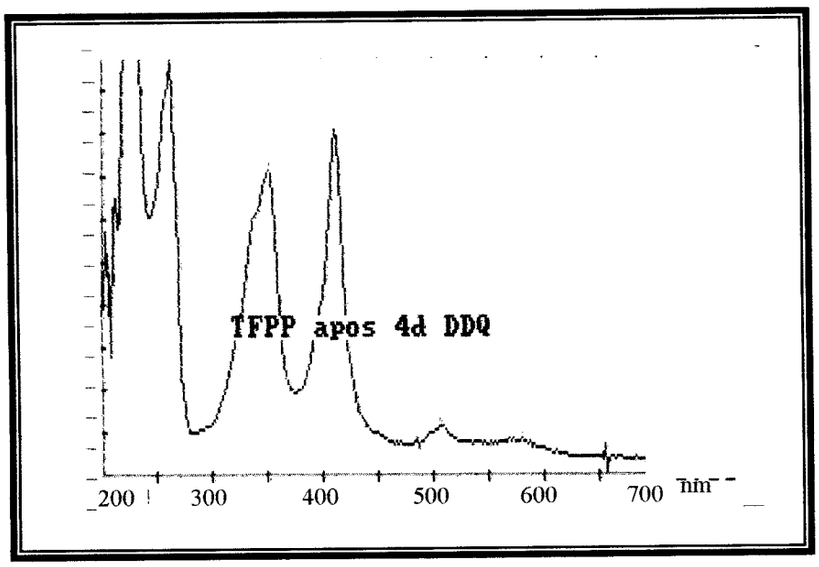


Figura 13: Espectro de UV-Vis da porfirina bruta, sem ser purificada. Destaque para a intensa banda de absorção centrada em 350 nm atribuída às impurezas. Este espectro foi adquirido no espectrômetro do laboratório de Química da FFCLRP e não dispomos dos arquivos dos dados experimentais.

Com a eluição da porfirina bruta em coluna de alumina neutra concluímos o processo de purificação da mesma, confirmado pelo espectro de UV, Figura 14, que não apresenta mais a intensa banda em 350 nm, no entanto a banda pouco intensa na região de 365 nm pode ainda ser uma pequena parcela de contaminação mantida após a eluição da porfirina.

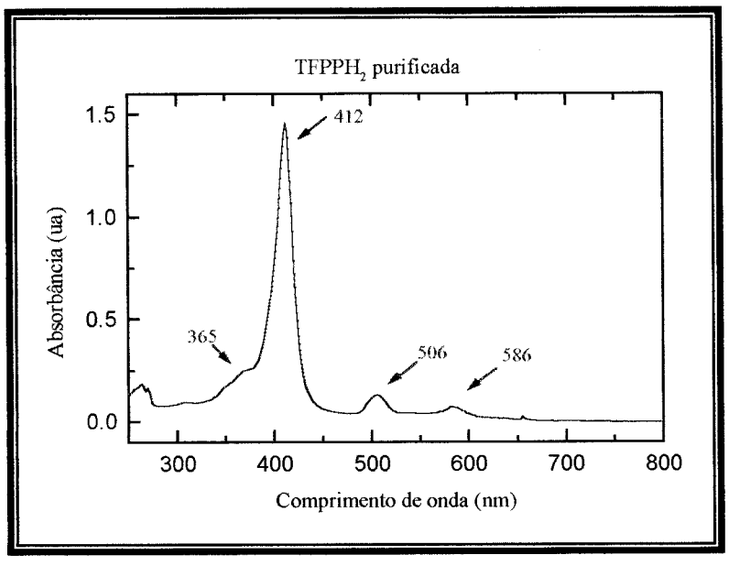


Figura 14: Espectros de UV-Vis da porfirina após sua eluição em coluna de alumina. Com a ausência da intensa banda em 350 nm constatamos a purificação da porfirina.

3.1.1.3. Inserção do metal na tetrafluorofenilporfirina.

A inserção do ferro na porfirina $TFPPH_2$ foi realizada através do método descrito por Adler[44].

Foram dissolvidas 1 g de porfirina em 400 ml de acetonitrila e a mistura foi levada a refluxo com agitação magnética. A seguir foram adicionados 2,1 g de cloreto ferroso, como sal fornecedor do ferro, essa nova mistura foi deixada em refluxo pelo período de 1 hora. O final da reação foi acompanhado pela perda de fluorescência vermelha da porfirina base livre sob a incidência de luz ultravioleta e também pelo espectro eletrônico característico das metaloporfirinas, com banda na região de 300-700 nm. Na

Figura 15 é apresentado o espectro de UV-Vis em que podemos observar uma banda centrada em 366 nm referente à transição metal-ligante[39,40].

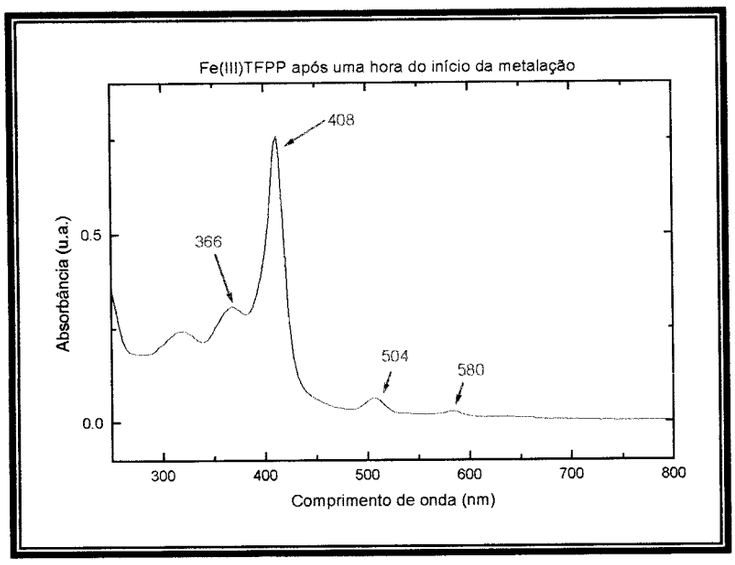


Figura 15: Espectros de UV-Vis da porfirina metalada, retirado após uma hora do início da metalação.

3.1.1.4. Purificação porfirina Fe(III)TFPP.

Como processo final da síntese da Fe(III)TFPP temos a sua purificação, que foi realizada em coluna de alumina neutra (Aldrich 150-mesh, 58 Å) e acompanhada por cromatografia de camada delgada (TLC) e espectros de UV-Vis.

Como as placas de TLC obtidas com a porfirina recém metalada ainda apresentaram fluorescência vermelha sob a incidência de luz ultra-violeta, uma característica da porfirina base livre, o processo de purificação da porfirina metalada teve início com a eluição da porfirina base livre restante.

Para essa primeira eluição usamos um gradiente de ciclohexano e diclorometano nas proporções de 2:1. Para a eluição da porfirina metalada o gradiente dos solventes diclorometano e metanol utilizado foi na proporção 1:1.

Na Figura 16 apresentamos o espectro de UV-Vis para a porfirina base livre remanescente da metalação, com a banda de Soret em 401 nm e as bandas na região visível em 503 e 556 nm. A banda proeminente em 650 nm é atribuída ao precipitado formado pela FeP e que é chamado de "piche". Um composto comumente encontrado nesse precipitado é o polipirrol, que compreende uma cadeia de pirróis que não formaram o anel porfirínico. O espectro para a porfirina metalada pura é apresentado na Figura 17, com banda de Soret em 407 nm e as bandas na região visível em 501 e 556 nm.

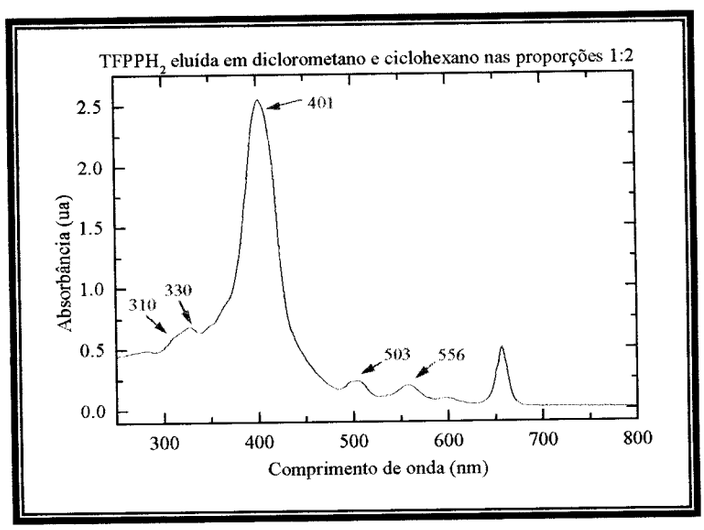


Figura 16: $TFPPH_2$ eluída em diclorometano e ciclohexano nas proporções 1:2.

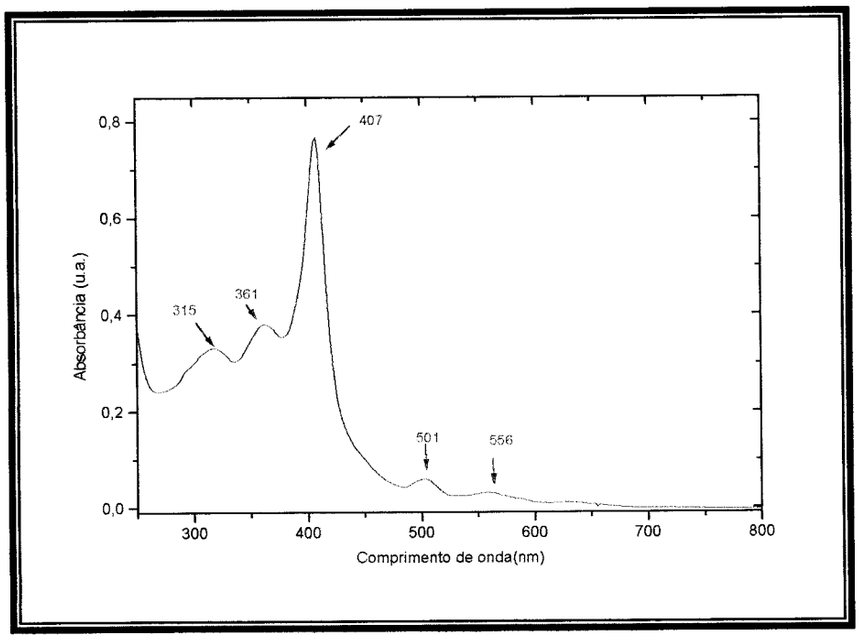


Figura 17: Fe(III)TFPP eluída em diclorometano e metanol em proporções iguais.

3.1.1.5. Porfirinas fluorosubstituídas.

As FeP utilizadas para o estudo foram preparadas pelo grupo de Bioinorgânica do Departamento de Química da FFCLRP. As sínteses das $FeTF_5PP$ e $FeTF_{15}PP$ foram preparadas pela aluna de mestrado Daniela G. de Abreu. A $FeTF_{10}PP$ foi preparada pela Dra. Maria Medeiros e a $FeTF_{20}PP$ foi preparada pela Dra. Kátia Ciuffi.

A obtenção da $FeTF_{20}PP$ foi descrita nas seções anteriores. Para a obtenção das FeP mono-, di-, e tri- substituídas são utilizadas diferentes relações de benzaldeído e pentafluorbenzaldeido, que permitem a obtenção de um determinado produto. A separação dessas FeP são feitas por coluna de

alumina longa e a ordem de eluição ocorre segundo o peso molecular, recolhendo-se primeiramente as $FeTF_{15}PP$ e no final a $FeTF_5PP$.

3.1.2. Preparação das soluções.

Para a preparação das soluções de FeP para aquisição dos espectros de EPR e UV-Vis, inicialmente devemos conhecer o peso molecular destas, bem como seus coeficientes de extinção, determinado para o comprimento de onda da banda Soret. Esses parâmetros estão listados na Tabela 2 para cada uma das FeP estudadas.

Tabela 2: Coeficientes de extinção para a banda mais intensa (banda Soret) e peso molecular para a série das FeP fluoradas.

Ferroporfirina	Peso Molecular ($g.mol^{-1}$)	Coeficiente de extinção $(M.cm)^{-1}$
$FeTF_5PP$	793,7	$1,17 \times 10^5$
$FeTF_{10}PP$	883,94	$7,5 \times 10^4$
$FeTF_{15}PP$	973,7	$8,29 \times 10^4$
$FeTF_{20}PP$	1063	$1,18 \times 10^5$

A proposta inicial do trabalho compreendia um estudo das FeP em função dos solventes DCM, MeOH e da mistura 50%, em volume, desses dois

solventes. Porém, os primeiros resultados obtidos com a técnica de EPR revelaram que para as $FeTF_{20}PP$ os espectros adquiridos com o solvente MeOH puro e com a mistura de solventes não apresentaram diferenças. Desta forma decidimos realizar um trabalho pormenorizado que possibilitasse acompanhar gradualmente a influência do solvente MeOH sobre às FeP. Para tanto, foram estabelecidas misturas entre os solventes DCM e MeOH com proporções variadas de seus volumes.

Tomando-se como ponto de partida os experimentos de EPR estabelecemos um volume inicial de solução de FeP igual a 80μl e concentração igual a 1mM. A solução de controle foi preparada com DCM e concentração igual a 1mM, que chamaremos de solução de partida, e a esta foram adicionadas sucessivas alíquotas de 10μl de MeOH, até completarmos a proporção 1:1, em volume, dos solventes. Para isso, a solução de partida foi preparada com concentração suficiente que possibilitasse chegarmos ao final da adição do solvente MeOH ainda com uma concentração ótima para obtenção dos espectro de EPR com boa relação sinal/ruído.

Para os resultados e discussões que se seguem nos capítulos 4 e 5, vamos estabelecer uma nomenclatura que descreve as várias proporções dos solventes utilizados. Como iniciamos com uma solução de 80μl de DCM e adicionamos, em primeiro lugar 10μl de MeOH, mencionaremos esta proporção de solvente como 80:10. Com a adição sucessiva de alíquotas de

10μl de MeOH temos, portanto, as proporções seguintes: 80:20, 80:30, 80:40, 80:50, 80:60, 80:70 e 80:80.

Para a aquisição dos espectros com o solvente MeOH, secamos as soluções de FeP dentro dos próprios tubos de quartzo em estufa a 50 °C. Em seguida, a amostra foi diluída com 80μl do solvente MeOH.

Como descrito nos parágrafos acima, as proporções dos solventes foram estabelecidas para a aquisição dos espectros de EPR. Porém, para os espectros de absorção eletrônica é necessário um maior volume de solução, e com concentração (da ordem de 20μM) que forneça uma densidade óptica igual a 1 para a banda de Soret. Conseqüentemente, não podemos adicionar à solução de partida de DCM sucessivas alíquotas do solvente MeOH. Separamos as FeP em diferentes frascos, e a cada um destes, adicionamos a mistura nas proporções adequadas dos solventes.

Baseados em resultados obtidos em nosso laboratório e descritos na literatura[12,18,45], verificamos que um minucioso critério de preparação das soluções de FeP era fundamental para obtermos uma solução de partida que fornecesse resultados fiéis aos efeitos provocados pela adição de diferentes solventes.

Inicialmente, foram utilizados solventes com baixa porcentagem de água (< 0.005%). Em seguida esses foram saturados com vapor de HCl e posteriormente utilizados para dissolver as FeP. Essa saturação é necessária

tanto para evitar uma dimerização das FeP, bem como para induzir a coordenação do íon Cl^- à molécula de FeP.

Para maximizar o número de FeP contendo como 5º coordenante o íon Cl^-, estas foram dissolvidas em DCM saturado com HCl e armazenadas em tubos de quartzo, utilizados nas medidas de EPR. Em seguida, os tubos de quartzo contendo as amostras foram submetidos a um banho-Maria a 60ºC mantendo os tubos de quartzo ligados a uma bomba de vácuo. Após a completa evaporação do solvente, o vácuo foi desligado e as FeP foram novamente dissolvidas em DCM saturado com HCl. Fez-se vácuo novamente no sistema. Este procedimento foi repetido no mínimo três vezes.

Para a preparação das soluções utilizadas na aquisição dos espectros de EPR, o tubo de quartzo foi vedado com septo e os solventes foram adicionados através de microseringas.

Para a preparação das soluções utilizadas nos experimentos de UV-Vis, as amostras foram dissolvidas e distribuídas (em vários fracos), em quantidades iguais de volumes. Essa transferência de recipiente foi feita dentro de uma câmara de gás de N_2. Os frascos foram mantidos em dessecador com vácuo e sílica-gel. Após a evaporação do solvente cada um destes recebeu uma mistura diferente dos solventes, preparadas nas proporções 80:10, 80:20, 80:30, 80:40, 80:50, 80:60, 80:70, 80:80, DCM e MeOH, perfazendo um volume necessário para fornecer uma absorção adequada para a aquisição dos espectros de UV-Vis.

3.2. Métodos.

3.2.1. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica – EPR.

As medidas de EPR foram realizadas no espectrômetro Bruker-ELEXSYS, operando em sua versão CW na faixa de freqüência de microondas (3cm), conhecida como banda-X. As medidas foram realizadas com a utilização de uma cavidade retangular e o freqüência de modulação de 100KHz. Para o resfriamento da amostra foi usado um sistema comercial de transferência de hélio líquido, criostato modelo ESR900 da Oxford. A temperatura é controlada digitalmente por uma unidade microprocessadora, modelo ITC50 da Oxford, e utiliza como referência para temperatura o nitrogênio líquido.

As soluções de partida das FeP foram inicialmente preparadas com uma concentração de 1mM chegando ao final da adição do solvente MeOH a uma concentração de 0,5mM, ainda apresentando boa relação sinal/ruído.

Os parâmetros para a aquisição dos espectros de EPR são:

Freqüência de modulação: 100 KHz;

Amplitude de modulação: 4 Gauss

Constante de tempo: 0,064 seg

Potência da microonda: 25dB de atenuação ou 0.15mW

Temperatura: 4K

3.2.2. Espectroscopia de Absorção Eletrônica.

Os espectros de absorção eletrônica na região de UV-Vis foram medidos em um Espectrofotômetro UV-Vis Hitachi modelo U-2001, cuja varredura, em comprimentos de onda, estende-se de 190 a 1100 nm, com uma resolução de 0,1 nm. Os experimentos foram realizados em temperatura ambiente, utilizando-se cubetas de quartzo com 0.1 cm e com tampa. As concentrações das porfirinas foram em média 20μM.

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA INFORMAÇÃO

3.2.3. Programas para simulações dos espectros de EPR e UV-Vis.

3.2.3.1. Simulação dos espectros de EPR.

Para as simulações dos espectros de EPR utilizamos o programa WIN-EPR *SimFonia,* versão 1.2[46], que trabalha com o método de teoria de perturbação para o resolver os espectros. A Hamiltoniana, apresentada em ordem de grandeza das interações, estabelece como perturbação à interação Zeeman eletrônica as interações de desdobramento de campo zero, interação hiperfina nuclear, interação de quadrupolo nuclear e interação Zeeman nuclear.

Os espectros de EPR das FeP em estudo correspondem a sinais provenientes de Fe^{3+}, em um campo cristalino fraco, portanto, apresentam um spin eletrônico 5/2, com valores de $g_{\perp} = 6$ e $g_{//} = 2$. Para a maioria dos espectros adquiridos com alguma proporção do solvente MeOH, determinamos que estes são formados pela contribuição de, no mínimo, dois sinais diferentes. Um deles correspondendo a um sinal de Fe^{3+} em simetria axial, e os demais provenientes do Fe^{3+} em simetria com distorção rômbica. Para uma melhor reprodução dos espectros experimentais, as simulações foram realizadas considerando as possíveis combinações entre as formas de linhas Lorentzianas e Gaussianas. Ficou determinado que a forma de linha

para o espectro com menor anisotropia foi a Lorentziana, enquanto para os espectros que apresentavam maior anisotropia a forma de linha foi a Gaussiana. Para a determinação da contribuição de cada um dos sinais para a formação de um espectro experimental, inicialmente normalizamos as áreas de todos esses (espectros simulados e espectro experimental). Posteriormente estabelecemos uma soma entre os espectros simulados, sendo cada um multiplicado por um fator adequado para que o espectro resultante da soma desses reproduzisse o espectro experimental.

Para ilustrarmos os resultados das simulações realizadas nos espectros de EPR, apresentamos na Figura 18 a combinação dos vários sinais que formam o espectro experimental. Como exemplo, escolhemos o espectro resultante da solução da $FeTF_{20}PP$ dissolvida na proporção de solvente 80:80. As linhas extras que aparecem em H ~ 1590 gauss são atribuídas às porfirinas degradadas provocadas pelo excesso de HCl na solução, e as linhas extras na região de g ~ 2 são provenientes de uma contaminação com Mn^{2+}.

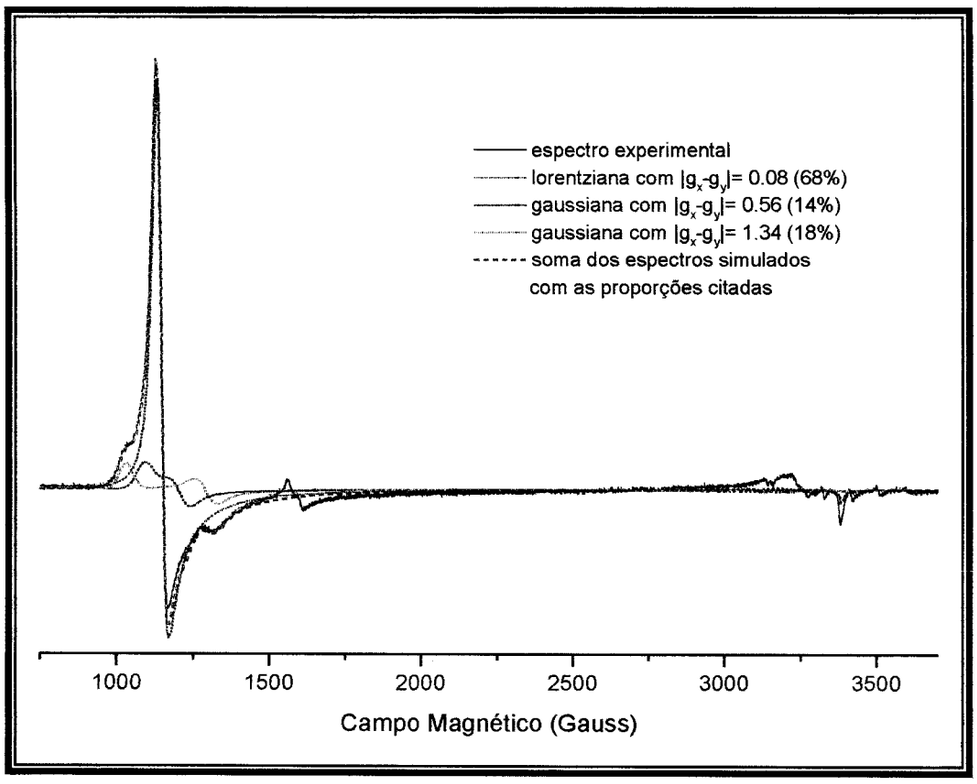


Figura 18: Exemplo das simulações realizadas com o programa SimFonia[46] para determinação dos sinais de EPR que contribuem para a formação dos espectros resultante da solução 80:80 para a $FeTF_{20}PP$. Os espectros simulados são diferenciados por suas anisotropias e formas de linhas.

3.2.3.2. Simulação dos espectros de UV-Vis.

Para a simulação dos espectros de UV-Vis, foi utilizado um programa especialmente desenvolvido para esses sistemas[47]. O espectro experimental é reproduzido através da sobreposição de várias linhas Gaussianas, sendo que estas podem apresentar variações nas intensidades, superiores a um

fator 10. Essa característica não é encontrada em programas comerciais comumente utilizados para ajuste de curvas. Esse programa, nomeado como ADJ4, permite também calcular a área de cada componente em separado, o que possibilita uma análise de equilíbrio de espécies coexistentes, sendo de fundamental importância na análise de uma curva formada por diferentes espécies. Podemos destacar ainda, como uma da vantagens na utilização do programa ADJ4, a possibilidade que este proporciona ao usuário em ter uma interação direta com o processo de simulação, resultando em uma melhor interpretação dos resultados obtidos pelo acompanhamento, passo a passo, do efeito de cada componente no espectro resultante.

Tratando-se de um programa que realiza a sobreposição de linhas Gaussianas, estabelecemos um critério para determinação do surgimento de novas bandas, caracterizando o surgimento de novas espécies, e para o deslocamento das bandas, representando, por exemplo, a influência dos solventes. Tendo como as principais características das linhas gaussianas as suas posições e larguras, a comparação entre as bandas em diferentes espectros só é justificável quando esses dois parâmetros são aproximadamente iguais (mantendo uma diferença de até 10%), somente desta forma podemos identificar um deslocamento dessas bandas. Por outro lado, quando nenhum dos dois parâmetros são conservados podemos interpretar como o aparecimento de uma nova banda.

Para ilustrarmos os resultados das simulações realizadas nos espectros de UV-Vis, apresentamos na Figura 19 as várias bandas de absorção que formam o espectro experimental obtido para a $FeTF_{20}PP$ para a proporção de solvente 80:80.

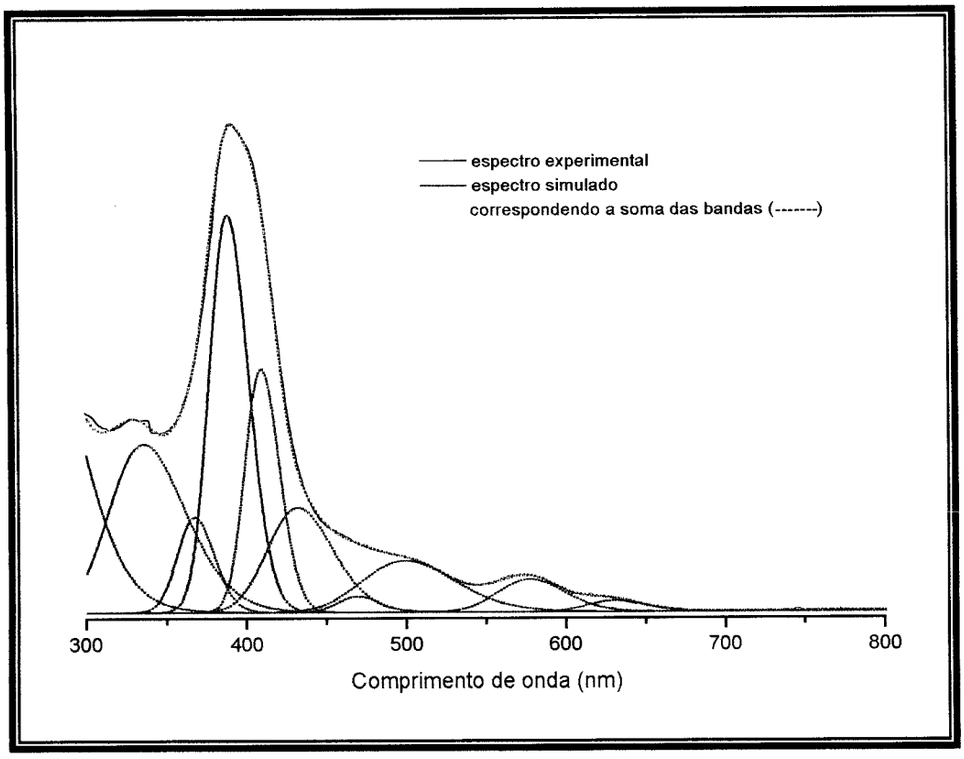


Figura 19: Exemplo das simulações realizadas com o programa ADJ4[47] apresentando as várias bandas de absorção que formam o espectro resultante da solução 80:80 para a $FeTF_{20}PP$.

Capítulo 4 - Resultados e Discussões.

4.1. Introdução.

A proposta inicial deste trabalho era estudar as FeP com diferentes substituintes fluorofenis, sob a influência dos solventes MeOH, DCM e da mistura 50%, em volume desses dois. Porém, com os resultados preliminares obtidos, buscamos evidenciar a importância por um estudo pormenorizado da influência dos solventes, bem como deixar claro a necessidade de um critério minucioso para a preparação das soluções de FeP.

Segundo os procedimentos apresentados no capítulo 3, a primeira amostra estudada foi a $FeTF_{20}PP$ sintetizada pela Dra. Kátia Ciuffi, junto ao grupo de Bioinorgânica do Departamento de Química da FFCLRP, sob orientação da Profa. Dra. Yassuko Iamamoto.

O estudo da influência dos solventes foi iniciado com a aquisição dos espectros de EPR, utilizando inicialmente o solvente DCM. O espectro resultante é apresentado na Figura 20.

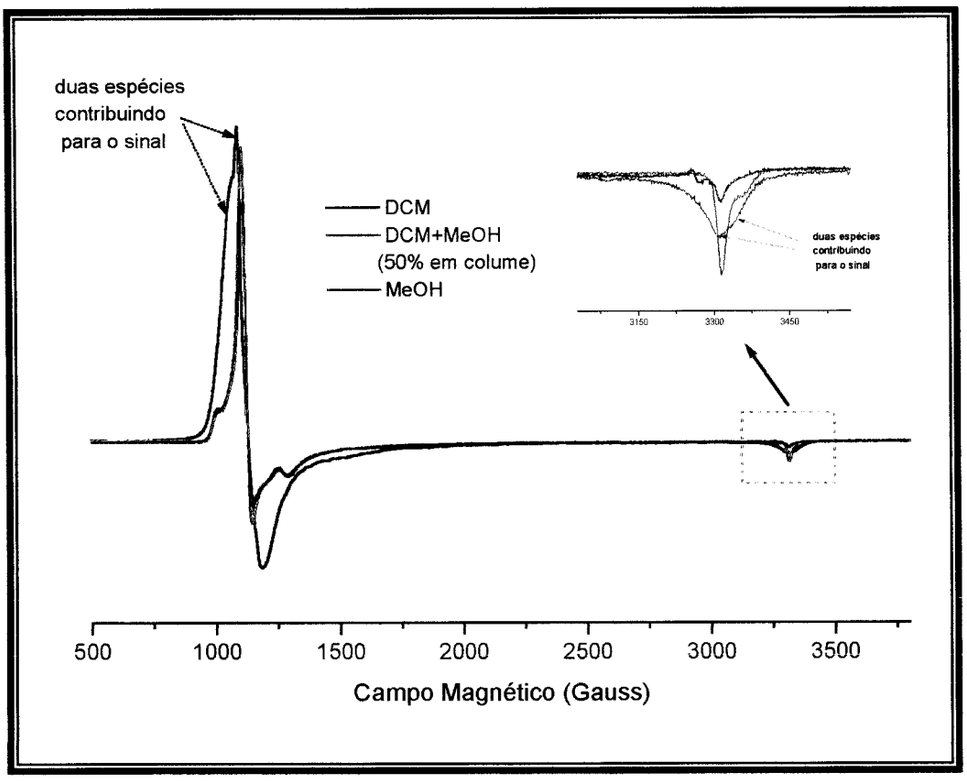


Figura 20: Espectros da $FeTF_{20}PP$ nos solventes DCM (——), DCM + MeOH (——) e MeOH (——) medidos em banda - X a uma temperatura de 4K. São destacadas na figura a contribuição de dois sinais para o formação dos espectros. Concentração para a solução de DCM igual a 2mM.

Podemos verificar que este não corresponde a um único sinal de Fe^{3+} alto-spin em simetria axial, como o obtido anteriormente por nosso grupo e discutido na literatura[12,18,45]. A presença de dois sinais nesse espectro poderia ser atribuída às diferentes coordenações do ferro: uma delas seria a coordenação de moléculas de água, provavelmente presente no solvente

DCM, e a outra seria a coordenação de moléculas de OH^-, provenientes da eluição desta porfirina em coluna de alumina.

Os espectros obtidos com a mistura dos solventes DCM + MeOH e MeOH também são apresentados na Figura 20, onde podemos observar as semelhanças entre eles: ambos apresentam sinais de Fe^{3+} alto-spin em uma simetria que não é puramente axial, o que também pode ser justificado pela composição de dois espectros, sendo um resultante de uma simetria axial e o outro resultante de uma simetria apresentando uma pequena distorção rômbica, provocada pela presença do solvente MeOH. Os parâmetros obtidos através da simulação dos espectros apresentados na Figura 20 estão listados na Tabela 3.

De posse desses resultados iniciais nosso objetivo passou a ser a eliminação dessas suspeitas de contaminações por moléculas de OH^- e de água. Para tanto, decidimos dissolver as FeP em solventes que apresentassem baixa porcentagem de água e que fossem previamente saturados com vapor de ácido clorídrico (HCl), induzindo, desta forma, a coordenação do íon Cl^- à molécula de FeP. Além disso, a semelhança entre os espectros adquiridos com MeOH incentivaram a realização de um estudo pormenorizado que evidenciasse a influência dos solventes nas FeP. Para cumprir com esse objetivo foram estabelecidas misturas de solventes com proporções variadas de volume, como foi descrito no capítulo 3.

Tabela 3: Parâmetros dos espectros de EPR para a porfirina $FeTF_{20}PP$, determinados através da simulação espectral. As larguras das linhas são expressas em Gauss.

Solventes	g_x (±0.02)	g_y (±0.02)	g_z (±0.0001)	ΔH_x (±2)	ΔH_y (±2)	ΔH_z (±2)	%*
DCM	6.02	6.02	1.9900	20	20	50	60
	6.28	5.78	1.9900	45	50	50	40
DCM + MeOH	5.92	5.92	1.9900	24	24	18	65
	6.57	5.70	1.9870	33	40	10	35
MeOH	5.92	5.92	1.9900	24	24	18	60
	6.57	5.60	1.9870	38	45	10	40

* indica a contribuição em % de cada sinal de EPR para a área do espectro experimental

Com esse procedimento acreditávamos ter estabelecido um critério para a preparação das soluções de FeP livre de coordenação com água e/ou OH^-. Porém, uma nova dúvida surgiu quando realizamos o estudo da influência dos solventes para a $FeTF_{10}PP$, cujos espectros de UV-Vis e EPR obtidos para o solvente DCM, evidenciaram uma coordenação do íon Cl^- ao Fe. Esses espectros estão apresentados neste capítulo na seção dedicada ao estudo da $FeTF_{10}PP$. O espectro de UV-Vis, Figura 25, apresentou uma banda intensa centrada em 370 nm, proveniente da ligação Fe-Cl[45], enquanto no espectro de EPR, Figura 26, essa ligação ficou evidente com a presença de 4 linhas na região de g = 2, característica de uma interação super hiperfina com um átomo de spin nuclear 3/2, como é o caso do cloro.

Após essa evidência, suspeitamos que as demais FeP ainda não apresentavam o íon Cl^- como coordenante. A partir disso, decidimos repetir o processo de dissolução das FeP em DCM acidificado por várias vezes, para

dessa forma induzir tal coordenação. O procedimento final de preparação das soluções de FeP também está descrito no capítulo 3.

A seguir apresentamos os resultados finais obtidos para a série de FeP fluoradas. Estes estão dispostos de forma a discutir separadamente os efeitos dos solventes a cada uma das FeP e, posteriormente, é feita uma discussão comparativa entre estas amostras.

4.2. Ferroporfirina monopentafluorofenil substituída: $FeTF_5PP$.

4.2.1. Espectros de absorção eletrônica.

Segundo os procedimentos apresentados no capítulo 3, a FeP monopentafluorofenil substituída $FeTF_5PP$, bem como a FeP trispentafluorofenil substituída, foram sintetizadas pela aluna de mestrado Daniela G. de Abreu, sob orientação da Profa. Dra. Yassuko Iamamoto.

Os espectros de UV-Vis obtidos para a $FeTF_5PP$ nas diferentes misturas de solventes são apresentados na Figura 21. O espectro resultante da solução de FeP no solvente DCM apresentou uma banda Soret centrada em 412 nm e três bandas principais na região do visível, centradas em 454, 506 e 565 nm. As posições dessas bandas foram determinadas através da simulação espectral realizada com o programa ADJ4, como descrito no capítulo 3. As bandas provenientes da ligação Fe-Cl, 370 e 506 nm[45], são apresentadas em destaque na Figura 21.

Na Tabela 4 estão listadas as posições das principais bandas para os espectros obtidos com as diferentes misturas de solventes, bem como para os solventes puros.

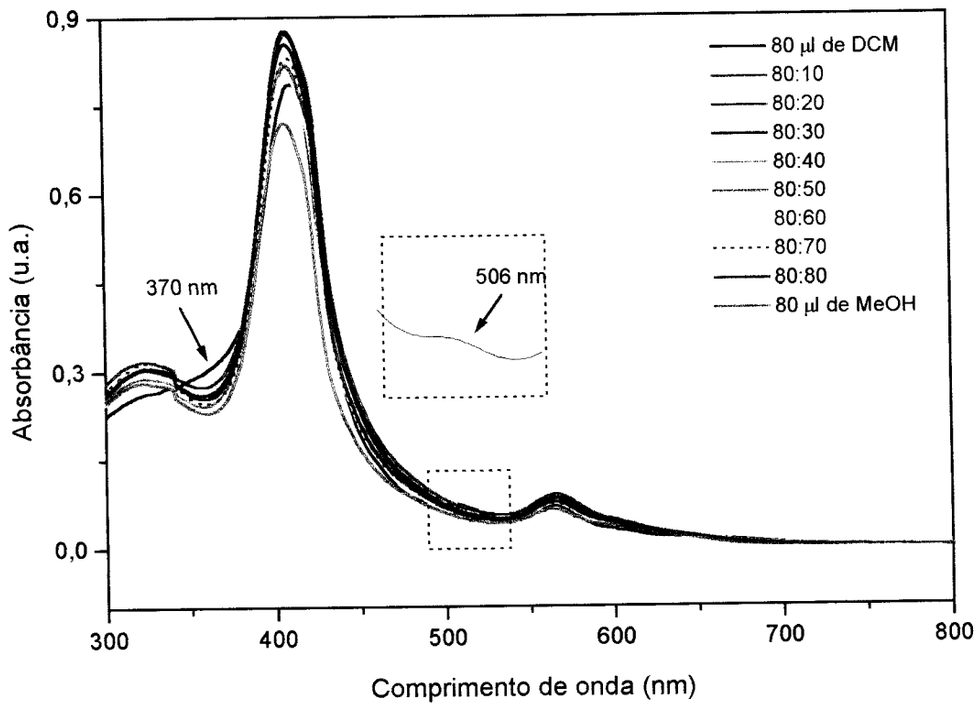


Figura 21: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_5PP$ adquiridos em temperatura ambiente para os diversos solventes. A concentração de FeP foi igual a de 15µM. Em destaque estão as posições das bandas provenientes da ligação Fe-Cl, presentes somente para o solvente DCM (——).

Em primeiro lugar, podemos notar que para a proporção de solvente 80:10, em comparação com o espectro obtido para o solvente DCM puro, ocorre um deslocamento da banda Soret de 412 nm para 405 nm, e também, um desaparecimento das bandas características da ligação Fe-Cl, em 370 e 506

nm. Ao mesmo tempo, observamos o surgimento das bandas nas regiões de 420, 440, 480 e 530 nm.

Tabela 4: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_5PP$ nas diversas misturas de solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4.

Solventes	Posições centrais das Bandas (nm)						
	UV (±1)	Soret (±1)	Visível (±1)				
DCM	370	412		454	506		565
80:10	389	405	423	444	488	526	566
80:20	390	405	423	441	488	528	566
80:30	393	405	421	441	488	526	565
80:40	394	405	421	440	488	526	565
80:50	394	405	421	440	488	526	565
80:60	394	405	421	440	488	526	565
80:70	394	404	421	440	488	526	565
80:80	390	405	420	438	486	528	563
MeOH	390	405	420	442	488	528	563

Uma outra evidência das modificações nos espectros provocadas pela presença do solvente MeOH, é o discreto deslocamento das bandas na região de 420 a 560 nm, da ordem de 3nm, para comprimentos de onda menores. Isso ocorre em função da maior quantidade do solvente MeOH na solução.

Essas alterações podem ser interpretadas como resultantes das diferentes espécies formadas por diferentes ligantes das FeP, como ilustrado na Figura 22 bem como das variações nas distâncias que estes ligantes experimentam com relação ao anel porfirínico.

Estabelecemos que o processo de preparação das amostras após sucessivas lavagens com o solvente DCM acidificado induziu a coordenação do íon Cl^- ao ferro, formando uma espécie cloro-complexo, ilustrada pela espécie **1**, Figura 22, que pode ser caracterizada pelas bandas em 370 e 506 nm[45]. Para a proporção de solvente 80:10 encontramos um espectro que apresenta novas bandas (423, 488 e 526), que podem ser características das espécies **2** ou **3**, Figura 22. No entanto, a espectroscopia de UV-Vis não apresenta resolução suficiente para distinguir essas duas espécies. Acreditamos que em um primeiro momento ocorra a formação de espécies mistas, ou seja, com a presença do MeOH e do Cl^-, fazendo um aduto com a molécula de FeP, que é ilustrada pela espécie **2**. Posteriormente, ocorreria a formação da espécie **3**, responsável pelos deslocamentos das bandas na região entre 420 e 560 nm. Cabe ressaltar que inicialmente a FeP está carregada positivamente, e que é neutralizada somente pela presença dos íons Cl^-, cuja função não pode ser substituída pela molécula de MeOH. Nestes termos, a formação da espécie **3** é menos provável. Porém, encontramos, já para a proporção 80:10, 250μM de MeOH, que representa um número significativamente maior do que os 15 μM de FeP, o que seria suficiente para obtermos uma espécie de FeP hexacoordenada com o MeOH. Podemos adiantar que a formação destas duas espécies será melhor esclarecida através da espectroscopia de EPR, cujos resultados serão apresentados na seção seguinte.

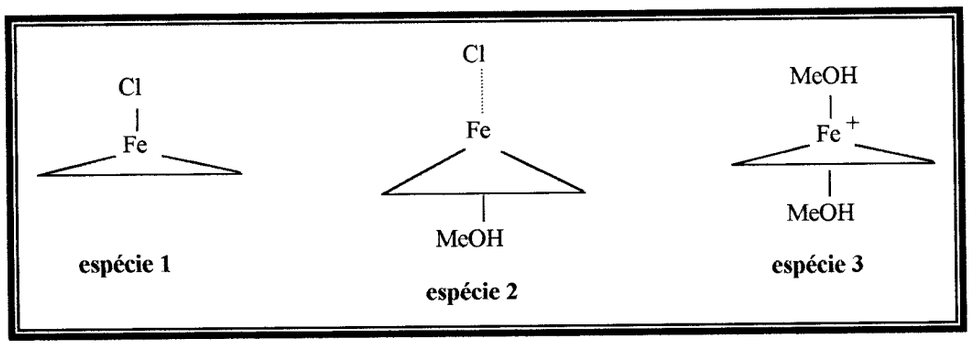


Figura 22: Ilustrações das espécies formadas pela FeP com diferentes ligantes.

4.2.2. Espectros de EPR.

Os espectros de EPR para a $FeTF_5PP$ correspondem a sinais de Fe^{3+} alto spin (S = 5/2) com valores de $g_{\perp} \sim 6$ e $g_{//} \sim 2$. Estes são apresentados na Figura 23 com destaques para essas duas regiões. Podemos verificar que o espectro resultante da solução de FeP em DCM apresenta um único sinal axialmente simétrico, cujos parâmetros estão listados na Tabela 5. Como discutido na introdução deste capítulo, os espectros adquiridos para as soluções de FeP com a presença de alguma proporção do solvente MeOH, são formados pela contribuição de mais de um sinal de Fe^{3+} alto spin. Para essas FeP, as simulações revelaram que até três sinais diferentes estão contribuindo para a formação do espectro experimental. Esses três sinais seriam provenientes das várias espécies de FeP formadas por diferentes ligantes, produzindo, conseqüentemente, simetrias diferentes para o Fe.

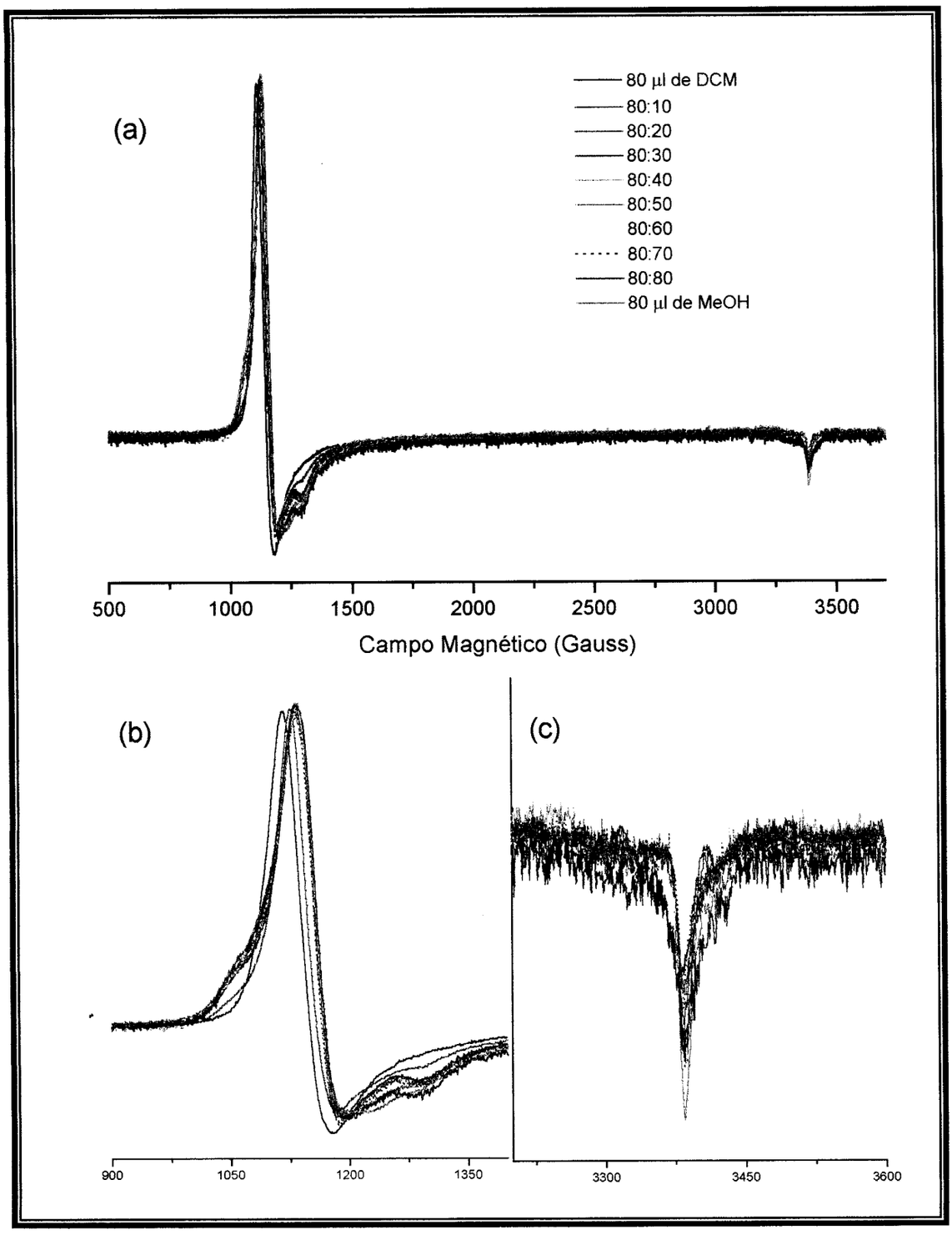


Figura 23: Espectros de EPR da $FeTF_5PP$ para os diversos solventes. Temperatura de 4K e concentração inicial igual a 1mM. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_{\perp}$.

Os parâmetros g e largura de linhas determinados para esses espectros também são apresentados na Tabela 4. A diferença entre eles é feita através das anisotropias em g apresentadas por cada um. A contribuição dada por esses espectros para a formação do espectro experimental é apresentada no gráfico de barras da Figura 24.

Desses resultados podemos interpretar que o único sinal encontrado para a FeP em DCM, que apresenta uma pequena anisotropia $|g_x - g_y| \sim 0{,}17$ e forma de linha Lorentziana, seria proveniente da espécie **1**. Para a proporção de solvente 80:10 verificamos que ocorre a contribuição de dois sinais, permitindo determinar qual é a primeira espécie formada quando adicionamos o solvente MeOH. Levando em consideração as duas espécies prováveis **2** e **3**, podemos atribuir esse novo sinal à espécie **2**, cuja geometria é menos simétrica resultando em uma maior anisotropia em g, $|g_x - g_y| \sim 1$ com forma de linha Gaussiana. Com o aumento da proporção de MeOH na solução comprovamos a formação de mais uma espécie, responsável pelo sinal também com forma de linha Gaussiana, que apresenta menor anisotropia em g, $|g_x - g_y| \sim 0{,}5$, conseqüentemente sendo resultante de uma geometria mais simétrica, como é o caso da espécie **3**. A partir da mistura 80:20 a contribuição destas duas espécies para o espectro experimental são praticamente constantes, como podemos observar na Figura 24.

Tabela 5: Parâmetros de EPR determinados pela simulação com o programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_5PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas são expressas em Gauss.

Solventes	Anisotropias	g_x (±0.02)	g_y (±0.02)	g_z (±0.0001)	ΔH_x (±2)	ΔH_y (±2)	ΔH_z (±2)
DCM	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}17$	6.07	5.90	2.0041	26	32	17
80:10	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0030	26	33	11
	-	-	-	-	-	-	-
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1$	6.40	5.40	1.9900	40	60	50
80:20	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1$	6.40	5.40	1.9900	40	60	50
80:30	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.05$	6.40	5.35	1.9900	40	50	60
80:40	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1$	6.40	5.40	1.9900	40	60	50
80:50	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.05$	6.40	5.35	1.9900	40	50	60
80:60	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.05$	6.40	5.35	1.9900	40	50	60
80:70	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50

	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.05$	6.40	5.35	1.9900	40	50	60
80:80	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}09$	5.95	5.86	2.0032	40	40	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.05$	6.40	5.35	1.9900	40	50	60
MeOH	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	5.95	5.87	2.0026	35	35	12
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}5$	6.15	5.60	2.0010	45	40	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1$	6.40	5.40	1.9900	40	60	50

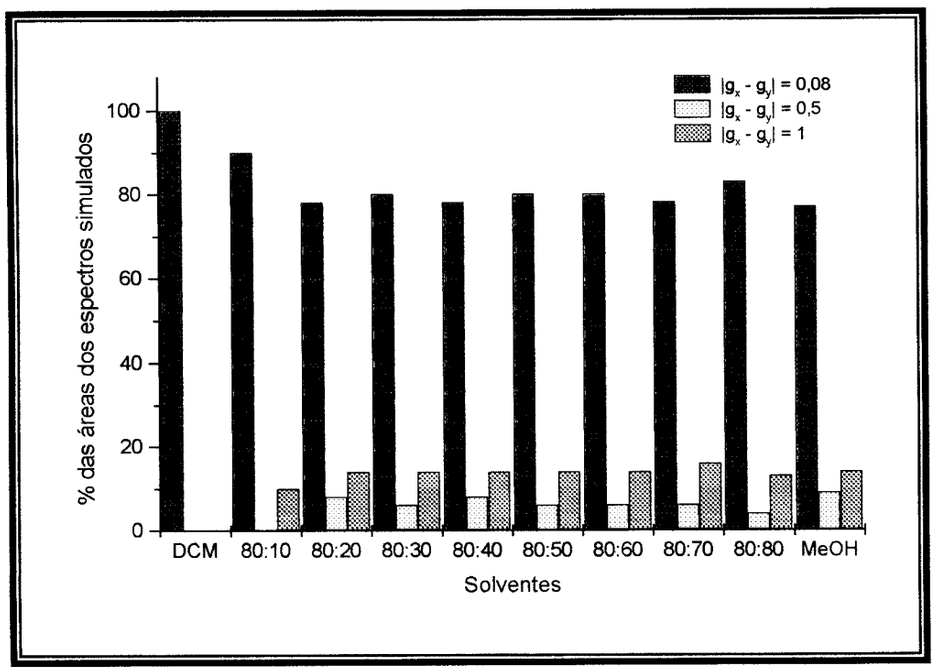


Figura 24: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas.

4.3. Ferroporfirina bispentafluorofenil substituída: $FeTF_{10}PP$.

4.3.1. Espectros de absorção eletrônica.

Seguindo os procedimentos apresentados no capítulo 3, a FeP bispentafluorofenil substituída $FeTF_{10}PP$, foi sintetizada por Dra. Maria Medeiros, sob a orientação da Profa. Dra. Yassuko Iamamoto. Os espectros da $FeTF_{10}PP$ obtidos para as diferentes misturas de solventes são apresentados na Figura 25. Nestes espectros é bastante evidente a diferença entre o resultado com a solução de FeP no solvente DCM e os demais espectros com solvente MeOH. No primeiro caso, encontramos as bandas características da ligação Fe-Cl, centradas em 360 e 509 nm, bem como a banda Soret, centrada em 415 nm, e as outras bandas principais na região do visível, centradas em 456 e 509 nm. Os espectros adquiridos com a presença do solvente MeOH são muito semelhantes entre si, como pode ser notado pelas posições das principais bandas listadas na Tabela 6.

IFSC-USP SERVIÇO DE BIBLIOTECA INFORMAÇÃO

Verificamos, em primeiro lugar, que para a proporção de solvente 80:10 as bandas características da ligação Fe-Cl desaparecem, dando lugar à duas novas bandas, na região de 440, 470 e 570 nm, que também podem caracterizar as espécies **2** e **3**, Figura 22, como discutido para a $FeTF_5PP$. Uma confirmação dessa atribuição pode ser dada pelas alterações nas posições que essas bandas experimentam em função do aumento da proporção do solvente MeOH na solução. É importante notar ainda, que o deslocamento da banda Soret para comprimento de ondas menores chega a 407 nm para a solução de FeP com o solvente MeOH.

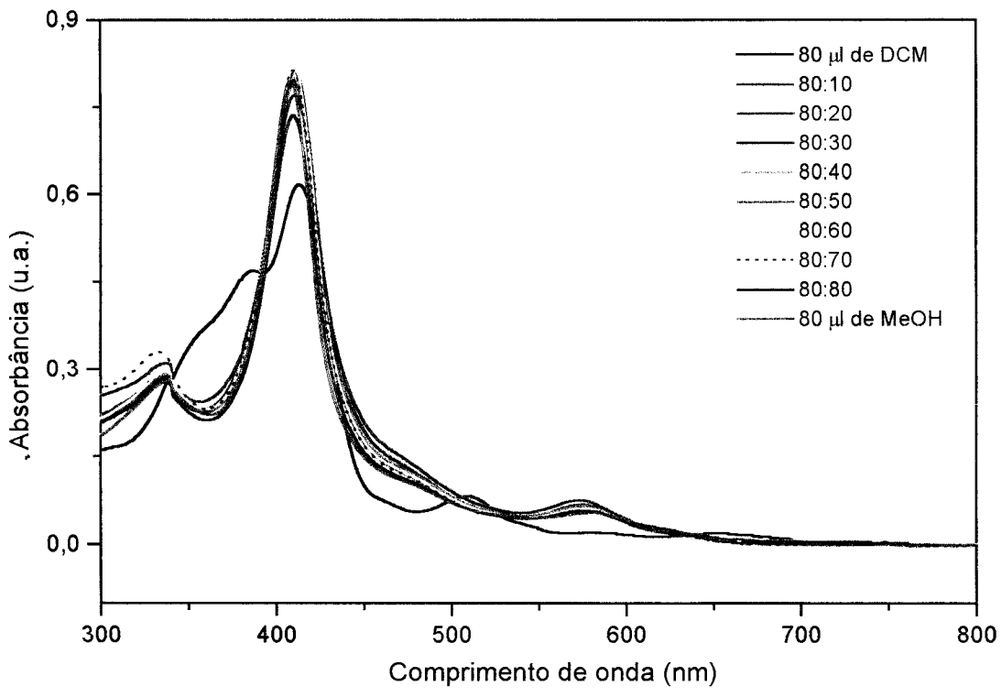


Figura 25: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_{10}PP$ (20µM de concentração) para os diversos solventes.

Tabela 6: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_{10}PP$ nos diversos solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4.

Solventes	Posições centrais das Bandas (nm)						
	UV (±1)	Soret (±1)	Visível (±1)				
DCM	383	415	456	509			
80:10	384	410	442	475	522	573	630
80:20	384	410	442	474	522	573	630
80:30	388	410	442	474	524	576	630
80:40	388	410	442	474	524	576	630
80:50	392	410	442	475	524	577	630
80:60	390	410	444	476	527	578	631
80:70	388	410	442	475	526	578	630
80:80	388	410	442	475	526	578	630
MeOH	388	407	442	476	527	580	630

4.3.2. Espectros de EPR.

Os espectros de EPR para a $FeTF_{10}PP$ correspondem aos sinais de Fe^{3+} alto spin (S = 5/2) com valores de $g_{\perp} \sim 6$ e $g_{//} \sim 2$. Estes são apresentados Figura 26, com destaques para essas duas regiões. Podemos verificar que o espectro resultante da solução de FeP em DCM mostra um sinal que apresenta uma pequena distorção rômbica, $|g_x - g_y| \sim 0{,}19$, com forma de linha Lorentzina. Essa análise evidencia ainda, a interação super hiperfina com o íon Cl^-, através das quatro linhas presentes na região de $g_{//} \sim 2$,

resultante da interação com um núcleo de spin 3/2, também em destaque na Os parâmetros encontrados através da simulação espectral estão listados na Tabela 7.

Novamente constatamos que os espectros adquiridos para as soluções de FeP com a presença do solvente MeOH, são formados pela contribuição de três sinais de Fe^{3+} alto spin, que são provenientes de diferentes espécies de FeP formadas na presença desse solvente.

Como revelado pelos espectros de UV-Vis, os resultados de EPR também mostraram que a adição de apenas 10μl de MeOH são suficientes para enfraquecer ou desfazer a ligação Fe-Cl, pois as evidências dessa forte interação não é mais visível para o espectro da mistura 80:10.

Nesta mistura de solventes, verificamos que ocorre a contribuição de dois sinais, sendo um deles atribuído a espécie **1**, cujo espectro apresenta uma pequena anisotropia em g, $|g_x - g_y| \sim 0{,}08$, em forma de linha Lorentziana; e o outro é atribuído à espécie **2**, caracterizada pela anisotropia $|g_x - g_y| \sim 1{,}13$, com forma de linha Gaussiana. A partir da proporção 80:20 os espectros são formados pela contribuição de três sinais diferentes que são atribuídos à espécie **1**, para $|g_x - g_y| \sim 0{,}11$, a espécie **2**, com anisotropia $|g_x - g_y| \sim 1{,}16$ e a espécie **3**, com $|g_x - g_y| \sim 0{,}66$. Esta última também apresenta uma forma de linha Gaussiana.

Na Figura 27 são apresentadas as contribuições de cada uma das espécies em função das misturas de solvente. Podemos notar um decréscimo

da espécie **1** em favor das espécies **2** e **3** à medida que ocorre um aumento da proporção de solvente MeOH na solução. Esse efeito não foi observado para a $FeTF_5PP$, quando a contribuição das espécies a partir da mistura 80:20 foram praticamente iguais até a solução de MeOH puro. Podemos compreender que o maior número de flúor presentes na FeP dificulta a formação das espécies **2** e **3**, enquanto para a $FeTF_5PP$ um equilíbrio entre essas duas espécies já é estabelecido na proporção 80:20. Outra influência do número de flúor pode ser verificada pelo aumento na anisotropia de g, para os três sinais que contribuem na formação do espectro experimental. Apesar da molécula da $FeTF_{10}PP$ apresentar uma maior simetria que a $FeTF_5PP$, na presença do solvente MeOH, ela assume uma geometria mais assimétrica para favorecer a formação das espécies **2** e **3**.

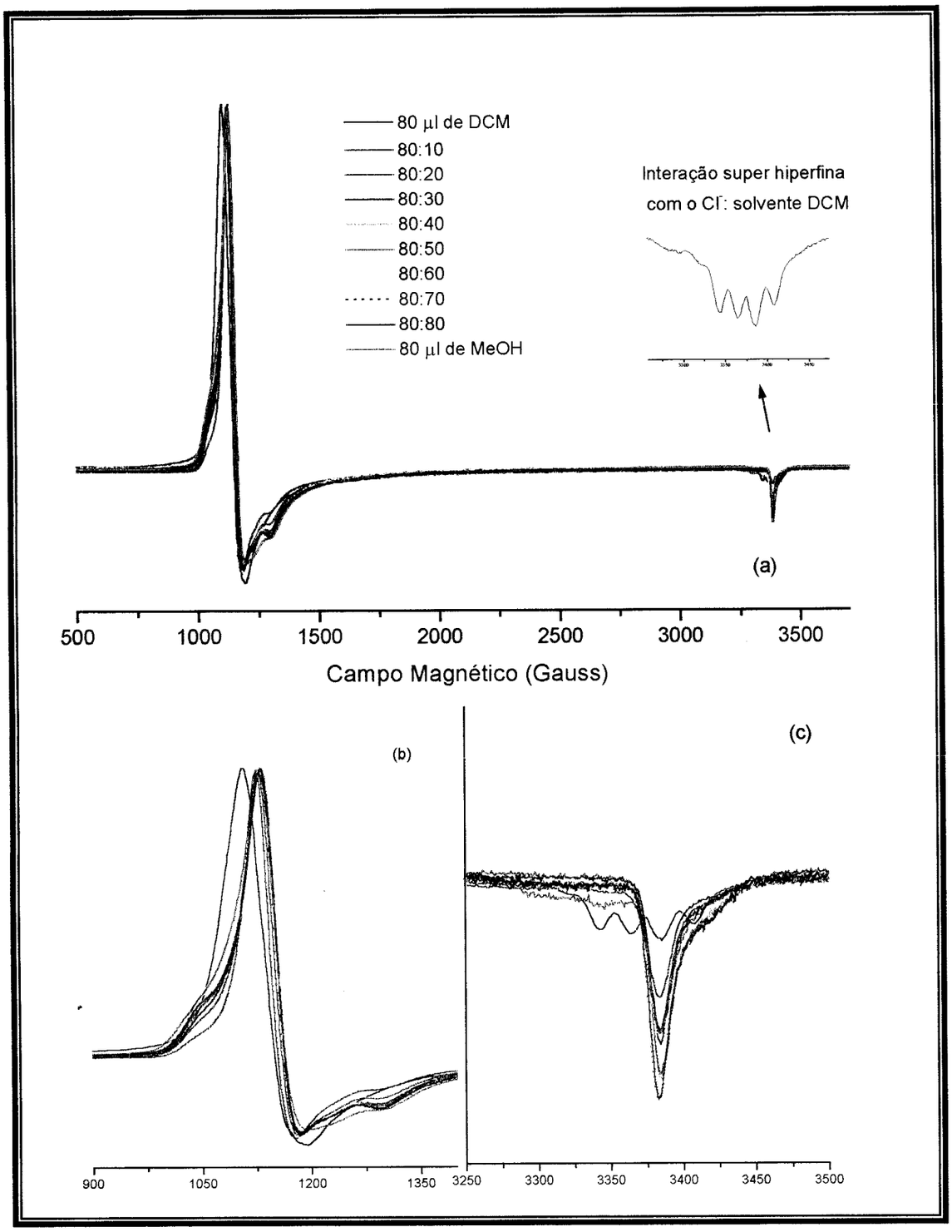


Figura 26: Espectros de EPR da $FeTF_{10}PP$ obtidos a 4K para os diversos solventes. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_{\perp}$.

Tabela 7: Parâmetros de EPR determinados pela simulação com o programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_{10}PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas e interação super hiperfinas são expressas em Gauss.

Solventes / Anisotropias		g_x (±0.02)	g_y (±0.02)	g_z (±0.0001)	ΔH_x (±2)	ΔH_y (±2)	ΔH_z (±2)
DCM	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}19$	6.10	5.91	2.0086	33	33	13
					A_x	A_y	A_z
					22	16	9.4
80:10	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	6.01	5.93	2.0032	28	28	12
	-	-	-	-	-	-	-
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.13$	6.46	5.33	2.0032	45	60	20
80:20	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50
80:30	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50
80:40	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50
80:50	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50
80:60	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50

80:70	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50
80:80	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0034	35	35	10
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.46	5.30	1.9900	45	60	50
MeOH	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}11$	5.98	5.87	2.0027	35	35	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	60	55	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.16$	6.45	5.29	1.9900	50	70	50

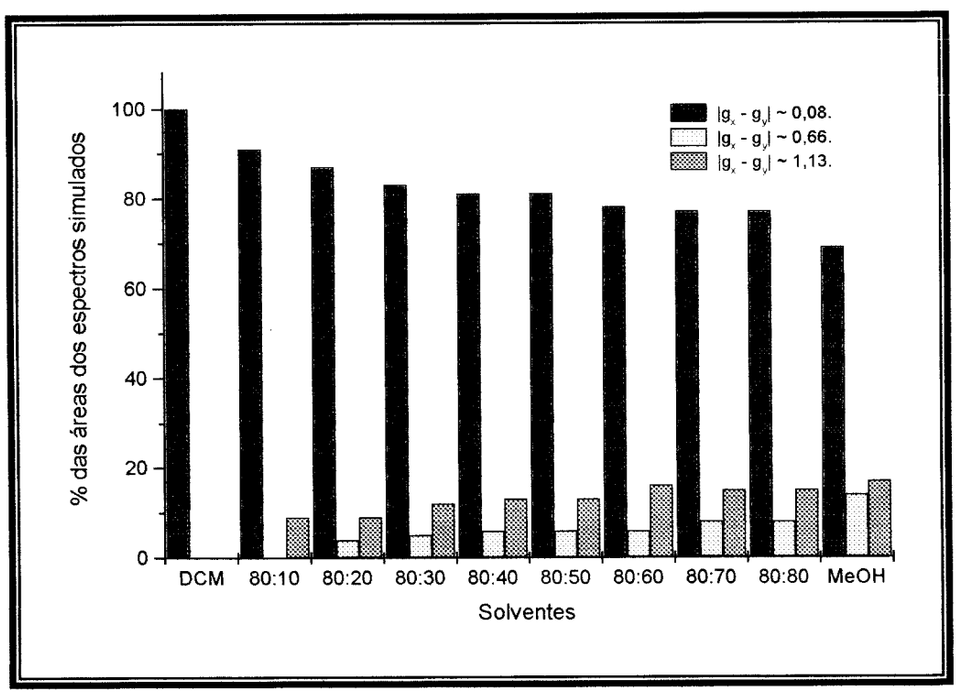


Figura 27: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas.

Visando analisar com maiores detalhes a interação super hiperfina com o íon Cl^- presente no espectro de EPR para a $FeTF_{10}PP$ em DCM, realizamos novamente essa medida adquirindo também, o espectro da segunda derivada da absorção. Essas medidas evidenciaram também uma interação super hiperfina com os nitrogênios (N) do anel porfirínico, Figura 28.

Esse espectro foi adquirido após um processo de média dos sinais com o objetivo de melhorar a relação sinal/ruído e evidenciar as linhas que são atribuídas à interação super hiperfina do ferro com os nitrogênios do anel porfirínico. O spin nuclear do nitrogênio é igual a 1 e a interação ocorre igualmente com os quatro nitrogênios do anel porfirínico, portanto, é estabelecida uma interação com um spin nuclear total igual a 4, resultando em 9 linhas para o espectro. Os parâmetros que descrevem essa nova interação não foram determinados através das simulações espectrais, mas podemos estimá-los medindo-os diretamente no espectro experimental, onde encontramos uma largura de linha ΔH = 3 Gauss, e uma constante de interação hiperfina A_N = 3,5 Gauss, tanto para a região de $g_\perp$ como para $g_{//}$. Essa semelhança nos valores das constantes de interação hiperfina para as duas regiões indica que a interação ocorre igualmente para essas duas direções, o que necessariamente não precisa ser verdade, uma vez que as ligações Fe-N se dá no plano do anel porfirínico, sugerindo que nessa direção, região de $g_\perp$, ocorra uma interação mais forte, portanto, um maior valor para

a constante A_N. No entanto, devemos considerar que a determinação dos valores dessa constante para a região de $g_\perp$ inclui um erro, pois verificamos que há um número de linhas maior que 9, confirmando a anisotropia determinada pela simulação espectral. Desta forma, o espectro revela a sobreposição das 9 linhas correspondentes a cada um dos valores de g, o que certamente induz um erro na determinação direta do parâmetro A_N.

Até o momento, pelo que temos conhecimento, a interação super hiperfina do Fe com os nitrogênios do anel porfirinico não foi observada. O que encontramos descrito na literatura é uma interação entre os nitrogênios do anel porfirínico com outros íons, como o Cu^{2+}, Cr^{5+} e Mo^{5+} quando estes se encontram no centro do anel[48,55].

Além das várias interações reveladas, podemos destacar ainda, uma particularidade que confere somente a $FeTF_{10}PP$, que são as duas prováveis posições ocupadas pelos grupos fluorofenis na molécula de FeP, dadas pelas posições *-cis* e *-trans*. Para os resultados discutidos até o momento, as soluções de FeP apresentavam uma mistura desses dois isômeros. No entanto, nenhuma distinção entre essas duas moléculas foi determinada tanto nos espectros de EPR como nos espectros de UV-Vis. Atualmente, a separação desses dois isômeros já foi estabelecida através da técnica de HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*) utilizando como eluente a acetonitrila. A confirmação dessa separação foi dada pela espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear para o núcleo flúor. Detalhes desses estudos

fazem parte da dissertação de mestrado da aluna Daniela G. de Abreu, que ainda não é de domínio público. Podemos, no entanto, descrever que foi determinada uma proporção entre esses isômeros de 84% com FeP possuindo os dois substituintes fluorofenis nas posições - *cis*, enquanto os outros 16% são formados por FeP com os substituintes fluorofenis nas posições - *trans*.

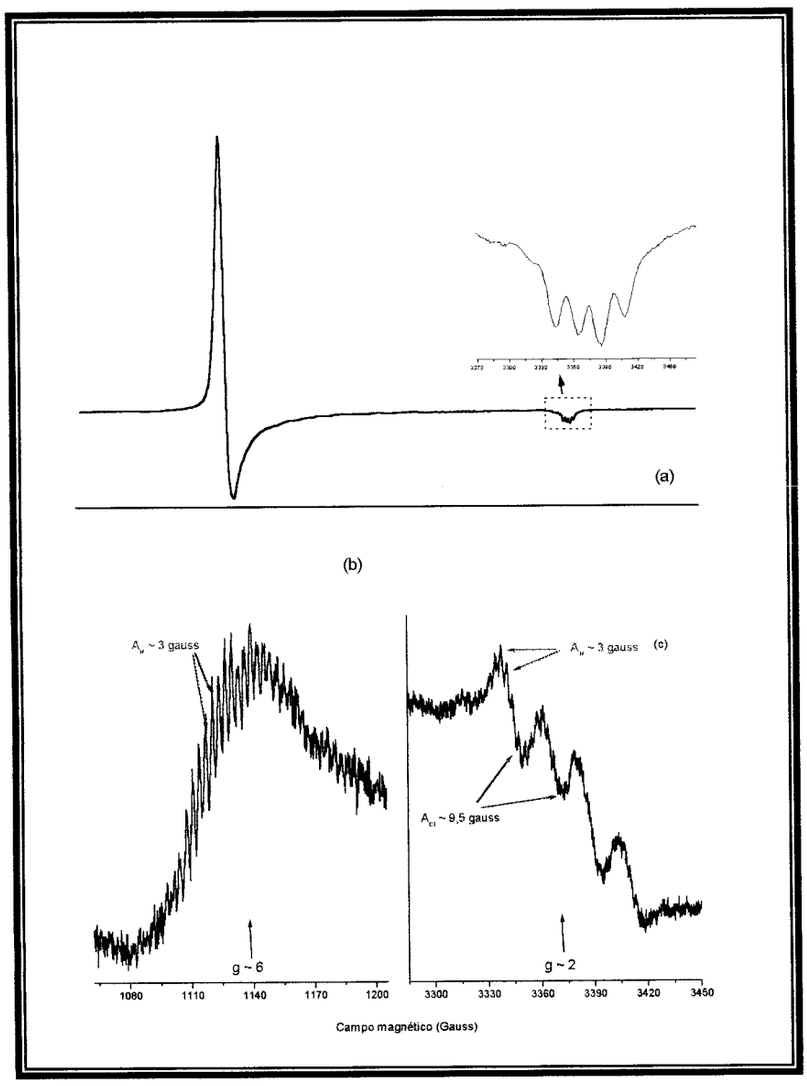


Figura 28: Espectros EPR para a $FeTF_{10}PP$ adquiridos em temperatura igual a 4K. (a) 1ª derivada do espectro de absorção; (b) e (c) 2ª derivada do espectro de absorção para as regiões de g~6 e g~2, respectivamente.

4.4. Ferroporfirina trispentafluorofenil substituída: $FeTF_{15}PP$.

4.4.1. Espectros de absorção eletrônica.

Na Figura 29 são apresentados os espectros de UV-Vis da $FeTF_{15}PP$ adquiridos para o solvente DCM, MeOH e as várias misturas em volume, dos dois. O espectro resultante da solução de FeP no solvente DCM apresentou uma banda Soret centrada em 412 nm, além das bandas características da ligação Fe-Cl, em 370 e 508 nm; as demais bandas principais encontram-se listadas na Tabela 8.

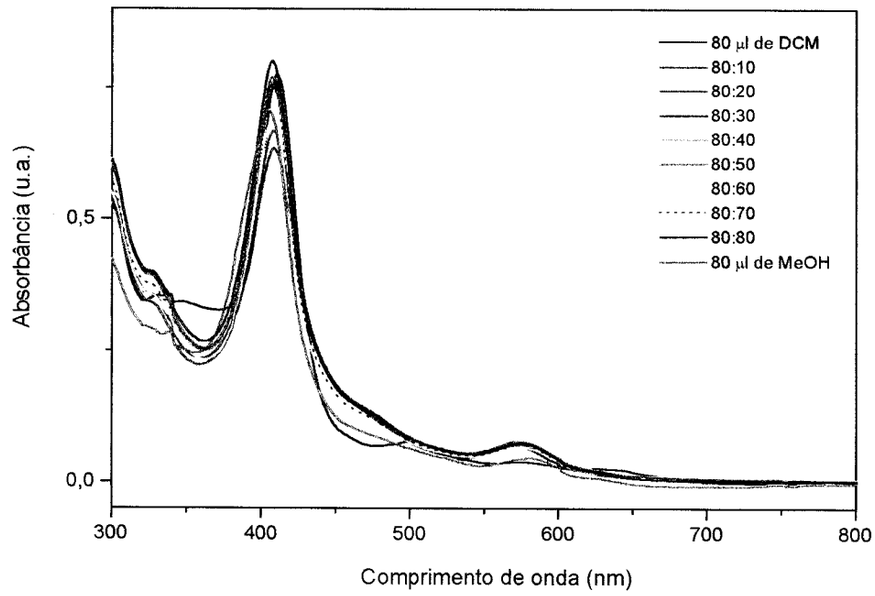


Figura 29: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_{15}PP$ (21µM de concentração) para os diversos solventes.

Tabela 8: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_{15}PP$ nos diversos solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4.

Solventes	Posições centrais das Bandas (nm)					
	UV (±1)	Soret (±1)	Visível (±1)			
DCM	370	412	447		508	
80:10	392	409	442	477	510	569
80:20	392	409	442	477	511	570
80:30	392	409	442	477	510	569
80:40	392	408	442	477	515	573
80:50	392	408	442	477	515	573
80:60	392	408	442	477	515	573
80:70	392	408	442	477	515	574
80:80	391	408	441	477	516	574
MeOH	388	407	437	476	516	580

Também para essa FeP observamos que a proporção de solvente 80:10 já estabelece uma mudança no espectro em comparação com o obtido para o solvente DCM puro. Primeiramente, verificamos que ocorre um deslocamento da banda Soret de 412 nm para 407 nm, e também um desaparecimento da banda em 370 nm, além da redução e do deslocamento da banda em 508 nm. Ao mesmo tempo, observamos o surgimento das bandas nas regiões de 440, 470 e 570 nm.

Aqui também podemos considerar que o espectro resultante da solução de DCM é dado pela espécie **1**, caracterizado pelas bandas em 370 e 508 nm. Enquanto que a presença do solvente MeOH promove a formação das espécies **2** e **3**, não só caracterizadas pelas bandas em 440, 470 e 570 nm, como também pelo deslocamento da banda Soret para um comprimento de onda menor, 407 nm. Novamente a distinção entre essas espécies somente poderá ser fornecida pelos resultados de EPR.

4.4.2. Espectros de EPR.

Os espectros de EPR para a $FeTF_{15}PP$ correspondem aos sinais de Fe^{3+} alto spin (S = 5/2) com valores de $g_{\perp} \sim 6$ e $g_{//} \sim 2$. Estes são apresentados na Figura 30 com destaques para essas duas regiões. Podemos verificar que o espectro resultante da solução de FeP em DCM apresenta um sinal com uma

pequena distorção rômbica, $|g_x - g_y| \sim 0{,}08$, em forma de linha Lorentziana. Esse mesmo padrão de espectro foi encontrado para o resultante da mistura 80:10, e em ambos os casos atribuímos esses sinais a espécie **1**. Os parâmetros determinados pelas simulações espectrais estão listados na Tabela 9.

A contribuição de dois sinais para a formação do espectro experimental somente começa a aparecer para a mistura de solventes 80:20, que é resultante da formação da espécie **2** e que apresenta uma anisotropia $|g_x - g_y| \sim 1{,}26$ em forma de linha Gaussiana. Mas é a partir da mistura 80:30 que encontramos a contribuição de três sinais, com a formação também da espécie **3**, com anisotropia $|g_x - g_y| \sim 0{,}66$, também com forma de linha Gaussiana. Esta observação vem enfatizar a influência do número de substituintes fluorofenis na amostra, cujo aumento retarda a formação das espécies **2** e **3**, pois representa um impedimento para a aproximação do solvente MeOH.

Esta dificuldade também produz uma distorção na molécula, responsável pelo aumento na anisotropia de g, como apresentada na Tabela 9.

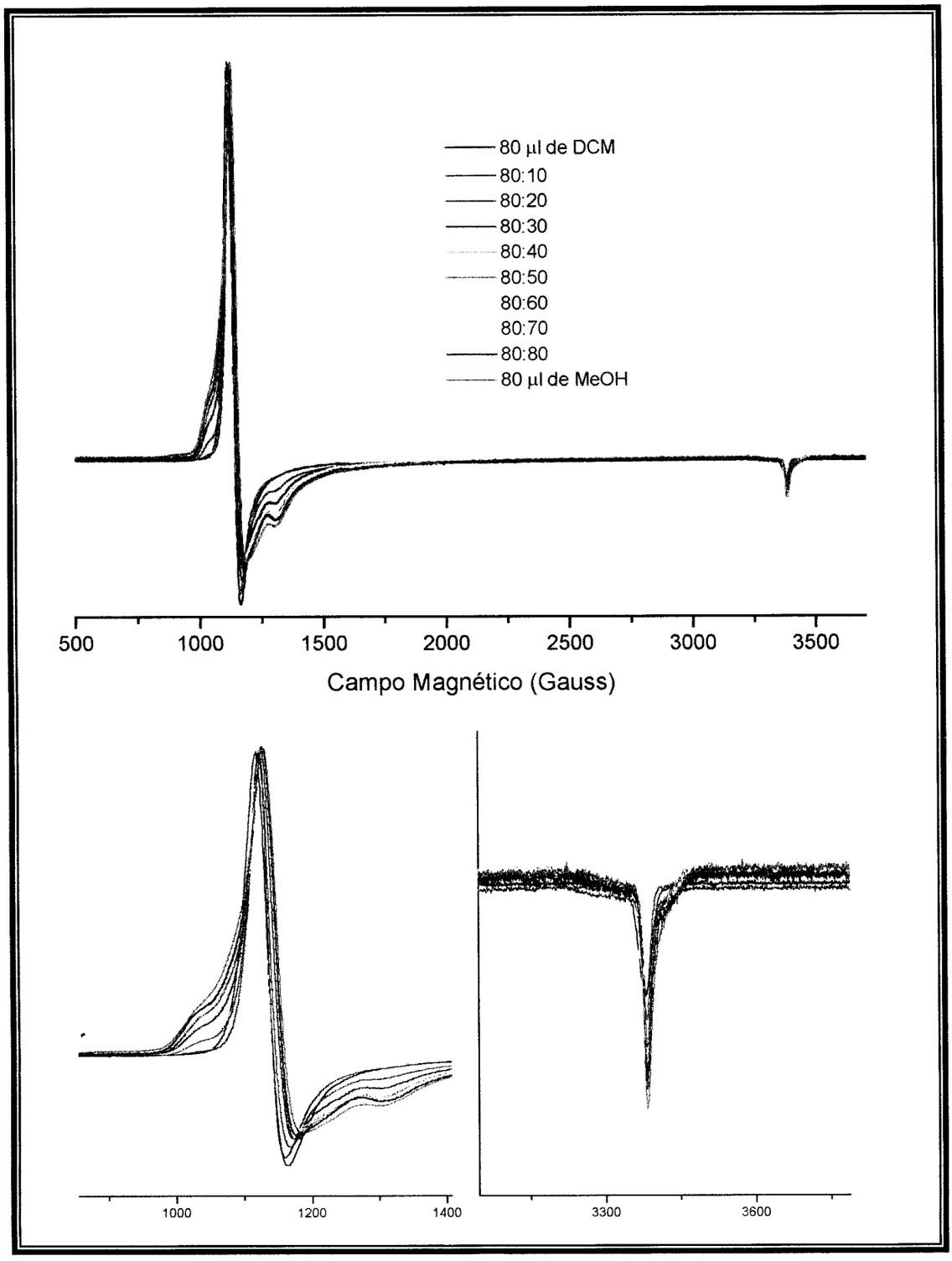


Figura 30: Espectros de EPR da $FeTF_{15}PP$ obtidos a 4K para os diversos solventes. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_{\perp}$.

Tabela 9: Parâmetros de EPR determinados pela simulação através do programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_{15}PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas são expressas em Gauss.

Solventes	Anisotropias	g_x (±0.02)	g_y (±0.02)	g_z (±0.0001)	ΔH_x (±2)	ΔH_y (±2)	ΔH_z (±2)
DCM	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	6.05	5.94	2.0043	22	24	16
80:10	$g_x - g_y \rvert \sim 0{,}08$	6.03	5.95	2.0043	21	21	14
80:20	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}1$	6.03	5.93	2.0039	23	23	13
	-	-	-	-	-	-	-
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50
80:30	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0035	28	28	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	50	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50
80:40	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0035	28	28	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	50	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50
80:50	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0035	28	28	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	50	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50
80:60	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0035	28	28	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	50	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50
80:70	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0035	28	28	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	50	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50

80:80	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.01	5.88	2.0035	28	28	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	50	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.26$	6.53	5.27	1.9900	50	60	50
MeOH	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}13$	6.00	5.87	2.0035	30	30	11
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0{,}66$	6.21	5.55	1.9900	55	65	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.24$	6.51	5.27	1.9900	55	70	50

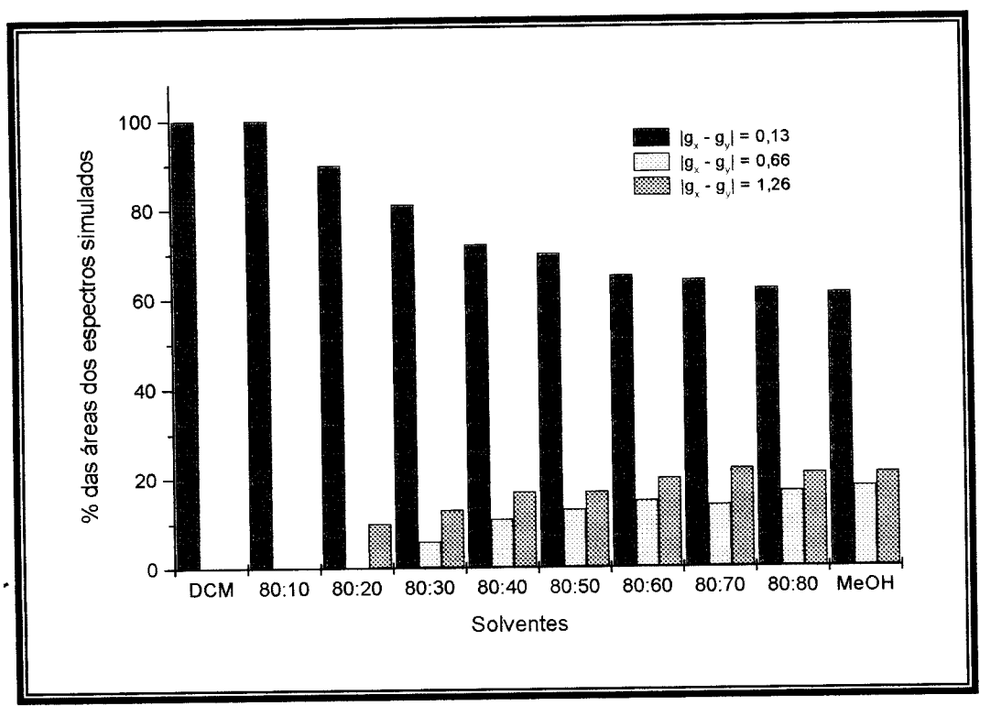


Figura 31: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas

4.5. Ferroporfirina tetrakispentafluorofenil substituída: $FeTF_{20}PP$.

4.5.1. Espectros de absorção eletrônica.

Na Figura 32 são apresentados os espectros de UV-Vis da $FeTF_{20}PP$, sintetizada pela Dra Kátia Ciuffi, adquiridos para os solvente MeOH, DCM e para as várias misturas desses dois. Podemos verificar claramente que o comportamento dos espectros, em função das diferentes misturas de solventes, não corresponde ao comportamento dos espectros de UV-Vis apresentados para as demais FeP. Notamos, em primeiro lugar, que para algumas proporções de solventes, como por exemplo 80:30 e 80:40, são bastante nítidas duas bandas Soret nos espectros, o que indica a presença de duas espécies distintas coexistindo nas soluções de FeP.

Até o momento, consideramos que as FeP apresentavam-se todas coordenadas ao íon Cl^- na solução de partida, formando a espécie cloro-complexa, ilustrada na Figura 22 pela espécie **1**. Desta forma, a mistura de solvente com menor proporção de MeOH era suficiente para modificar os

espectros tanto de UV-Vis como de EPR, sendo que, a partir dessa mistura, as diferenças nos espectros, principalmente de UV-Vis, foram pouco significativas. Isto é tomado como verdade para as três FeP já apresentadas. No entanto, acreditamos que para $FeTF_{20}PP$, mesmo após as várias lavagens com o solvente DCM acidificado, não ficou estabelecida uma solução de partida que apresentasse uma única espécie. Essa é, portanto, formada pelas espécies **1**, mas também por espécies que apresentam o grupo OH^- no lugar do íon Cl^-, ou mesmo água ligada ao Fe. Seguindo os procedimento de Gold[45], que determinou um processo de separação das espécies de FeP cloro-complexas, hidróxido e dimérica, e caracterizou-as pelas técnicas espectroscópicas UV-Vis, Infra-vermelho, EPR e Ressonância Magnética Nuclear, o grupo da Profa. Dra.Yassuko também tentou reproduzir esse procedimento de separação dessa FeP. Foi determinado que a $FeTF_{20}PP$ apresenta grande afinidade com a água, sendo esse um dos fatores responsáveis pelo aumento da atividade catalítica dessa FeP[12,52]. Foi observado ainda, que as espécies de $FeTF_{20}PP$ ligadas ao OH^- são pouco estáveis, sendo encontrada até 24 horas após sua eluição na coluna de alumina. Depois desse período, a $FeTF_{20}PP$ na forma hidróxido é convertida à forma dimérica. Esses dados pertencem a dissertação de mestrado da aluna Daniela G. de Abreu e ainda não são de domínio público.

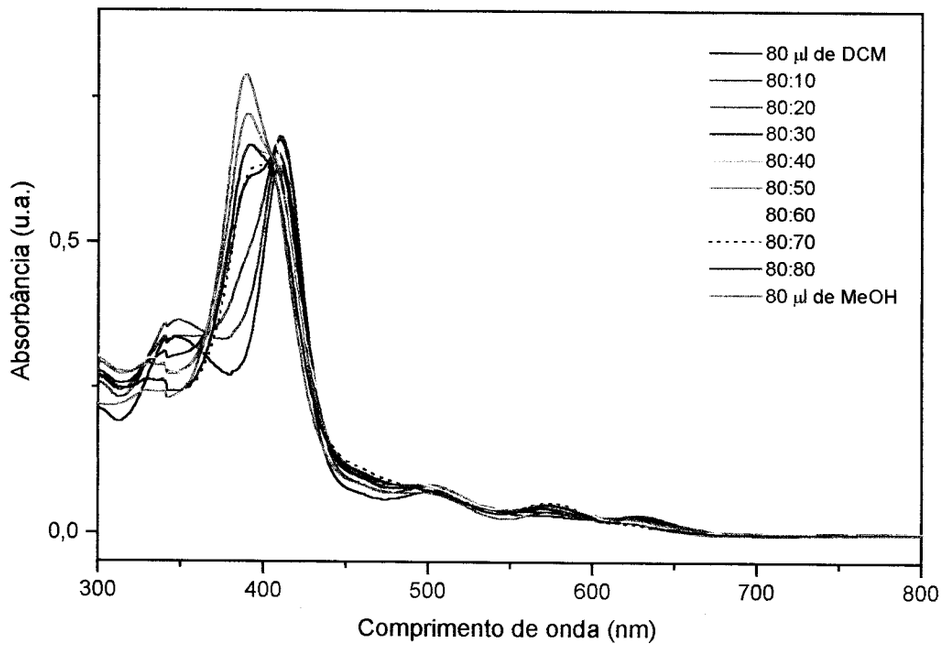


Figura 32: Espectros de absorção eletrônica para a $FeTF_{20}PP$ (21µM de concentração) para os diversos solventes.

Esses estudos também mostraram que a lavagem com DCM acidificado seria suficiente para promover a troca dos ligantes OH^- pelo ligante Cl^-, por outro lado, a presença do HCl na solução induziria a formação de água a partir das moléculas de OH^-, e que esta se ligaria à FeP.

Para que fosse eliminada a hipótese da presença de água na solução, essa FeP recebeu um tratamento diferenciado com relação as demais FeP. Além das sucessivas lavagens com solvente acidificado, também dissolvemos essa FeP em benzeno. Novamente, os tubos de quartzo contendo essa nova solução foram submetidos a um banho-maria a 80°C, mantendo-os ligados a uma bomba de vácuo. Desta forma o azeótropo formado pela água e o

benzeno seriam eliminados, descartando a possibilidade da ligação dessa FeP com a água. As lavagens com DCM acidificado e benzeno foram repetidas três vezes, mas os resultados de UV-Vis obtidos ao final desse tratamento mantiveram-se iguais aos anteriores. É importante deixar claro que os espectros apresentados na Figura 32 foram adquiridos após a dissolução da $FeTF_{20}PP$ em benzeno. Somente os espectros de EPR revelaram uma diferença significativa, e que voltaremos a discutir na seção dedicada a apresentação destes resultados.

Uma vez que a eliminação da água é garantida após a formação do azeótropo, acreditamos que as diferenças, ainda presentes nos espectros da $FeTF_{20}PP$, sejam provenientes da presença das espécies hidróxidos, ilustrada pela espécie **4** na Figura 33, e que somente após a FeP ser dissolvida em DCM acidificado, será convertida na espécie mista, apresentando como coordenantes o íon Cl^- e a água, ilustrada pela espécie **5** na Figura 33.

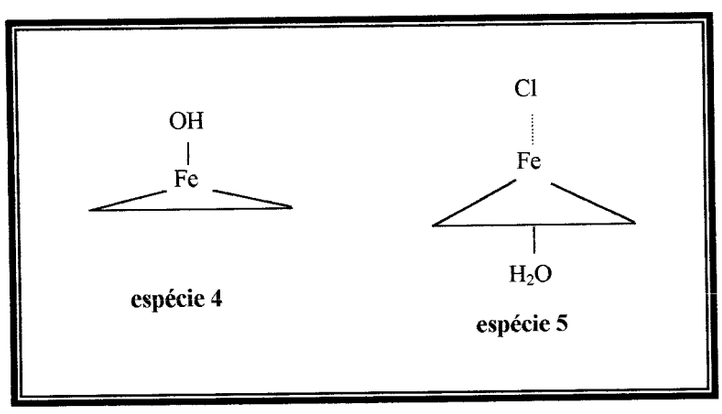


Figura 33: Ilustrações das novas espécies encontradas nas soluções da $FeTF_{20}PP$ considerando como ligante a molécula de OH^-.

A presença de duas espécies para a solução de partida da FeP dissolvida em DCM também é verificada através dos espectros de EPR, discutidos na seção seguinte.

Como agora consideramos espécies coexistindo, sendo essas as espécies **1**, **4** e **5**, a adição do solvente MeOH promoverá também a substituição da água pelas moléculas desse solvente. Desta forma, o que observamos na Figura 32 pode ser interpretado como a troca das espécies **5** (Soret: 411 nm) e espécies **2** e **3** (Soret: 388 nm). Como a H_2O é mais fortemente ligada há uma maior necessidade de MeOH na solução para efetivar a troca. Baseado nos resultados obtidos para as demais FeP acreditamos que a troca das espécies **1** pelas espécies **2** e **3** ocorre totalmente para a proporção de solvente 80:10. As posições das bandas determinadas para os espectros apresentados na Figura 32 estão descritas na Tabela 10, que mostra as duas bandas Soret características das espécies citadas acima. A presença dessas duas bandas Soret podem também ser verificada pela simulação apresentada no capítulo 3, para a proporção de solvente 80:80.

Naquele capítulo também foi mencionado o programa ADJ4 calcula a área de cada componente em separado, o que permite uma análise de equilíbrio de espécies coexistentes. Utilizando as áreas das bandas Soret, fornecidas pela simulação espectral, podemos determinar uma curva de formação de espécies diferentes a partir das suas concentrações relativas. Este gráfico está apresentado na Figura 34.

Tabela 10: Posições centrais das bandas nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis da ferroporfirina $FeTF_{20}PP$ nos diversos solventes, determinadas pela simulação através do programa ADJ4.

Solventes	Posições centrais das Bandas (nm)							
	UV (±1)	Soret (±1) Espécies 2/3/5	Soret (±1) Espécies 1/4	Visível (±1)				
DCM	346	396	411	452		502	571	632
80:10	346	397	411	453		502	570	633
80:20	345	396	412	454		502	571	631
80:30	364	388	412	450		502	572	631
80:40	364	388	412	450		500	573	630
80:50	364	388	412	448		500	574	630
80:60	367	389	409	434	470	499	575	630
80:70	367	389	409	432	468	499	577	630
80:80	367	389	409	432	469	499	577	630
MeOH	367	388	409	430	463	499	579	624

Através do gráfico apresentado na Figura 34 verificamos que as áreas das bandas Soret para a região em torno de 410 nm, não apresentam mudanças significativas com o aumento da concentração de MeOH na solução. No entanto, a presença da banda centrada em 396 nm, para os espectros obtidos até a proporção 80:10, pode também ser atribuída à presença da espécie 5. A formação das espécies contendo o MeOH como coordenante, somente se manifesta a partir da proporção de solventes 80:20. Em primeiro lugar, devemos deixar claro que o acréscimo da área dessa banda deve-se, principalmente, ao aumento de sua largura, determinada pela

simulação espectral, o que poderia estar encobrindo a presença de duas espécies coexistentes, que apresentam bandas muito próximas. De fato, é a partir dessa proporção de solvente que observamos, tanto através da Figura 32 como da Figura 34, uma contribuição maior da banda centrada em 388 nm, que pode caracterizar as espécies ligadas ao MeOH.

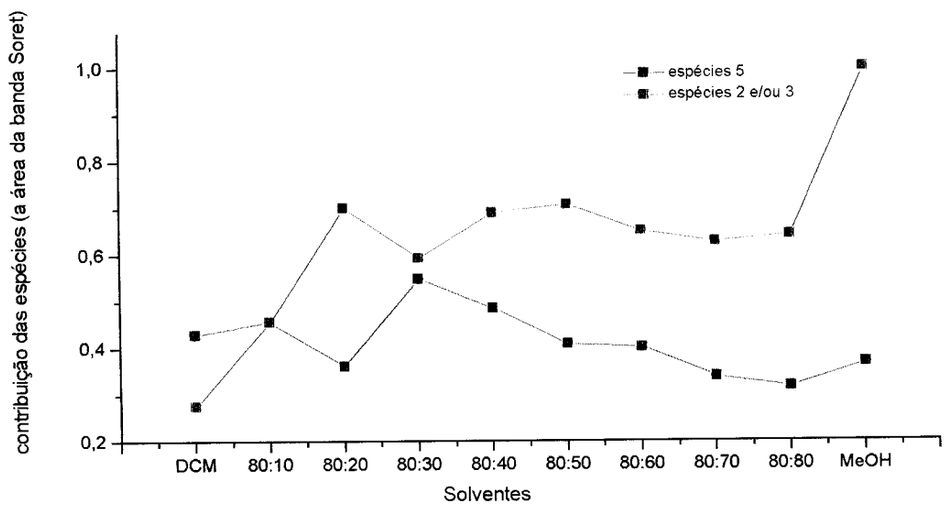


Figura 34: Contribuição das espécies 4 e 5 para os espectros obtidos com as misturas de solventes.

Através dos dados listados na Tabela 10 fica claro o surgimento de uma nova banda em 470 nm a partir da proporção de solvente 80:60. Devido a maior concentração de MeOH na solução acreditamos que o surgimento dessa banda representa a formação da espécie hexacoordenada com o MeOH.

4.5.2. Espectros de EPR.

Os espectros de EPR para a $FeTF_{20}PP$ também correspondem a sinais de Fe^{3+} alto spin (S = 5/2) com valores de $g_{\perp} \sim 6$ e $g_{//} \sim 2$. Estes são apresentados na Figura 35, com destaques para essas duas regiões. Para $g \sim 2$ podemos notar também, a presença dos dois sinais que estão contribuindo para a formação do espectro, obtido com o solvente DCM. Como discutido na seção anterior, esses dois sinais são provenientes das espécies **1**, cujo sinal de EPR apresenta as linhas super hiperfinas produzidas pela interação com o íon Cl^-, e também das espécies **5** que apresentam somente uma linha na região de $g \sim 2$. Uma comprovação da formação das espécies ligadas à água foi determinada quando adicionamos grande quantidade de água à solução da $FeTF_{10}PP$ dissolvida em DCM. O espectro resultante apresentou também a contribuição de dois sinais, sem evidenciar a interação super hiperfina com o Cl^-. Os sinais encontrados foram semelhantes aos apresentados na Figura 20. As simulações realizadas para determinar esse dois sinais revelam um caráter dúbio. Estamos atribuindo o sinal axialmente simétrico, com foma de linha Lorentziana, àquele resultante das espécies cloro-complexas (Tabela 11). Porém, o espectro simulado poderia ter sido calculado com os parâmetros g que apresentam maior anisotropia, $|g_x - g_y| \sim 0{,}17$. A escolha foi feita com base nos espectros obtidos para as soluções subseqüentes. Como estamos atribuindo o sinal que apresenta menor anisotropia àqueles provenientes das

espécies cloro-complexas, é aceitável que esse seja também o sinal complementar ao sinal de EPR que apresenta as linhas super hiperfinas, na região de g ~ 2.

Nesses espectros encontramos ainda, dois outros sinais. O sinal em g ~ 4,3 (H ~ 1580 Gauss) é atribuído ao sinal de Fe^{3+} alto spin, em uma simetria rômbica, que pode ser proveniente de porfirinas degradadas, o que é provocado pelo excesso de HCl na solução[50,51].

Através das simulações realizadas para os espectros apresentados na Figura 35 verificamos que para a mistura de solvente 80:10 temos um único sinal de EPR, que apresenta uma anisotropia $|g_x - g_y|$ ~ 0,04 em forma de linha Lorentziana, deixando evidente que a presença de 10 μl de MeOH são suficientes para enfraquecer a ligação Fe-Cl, ou mesmo a ligação Fe- H_2O. Essa última consideração é ainda mais provável, um vez que o sinal resultante da proporção de solvente 80:10 apresenta parâmetros comparáveis com aqueles dados pelo sinal proveniente da forma cloro - complexa.

Somente a partir da proporção de solvente 80:20 temos a contribuição de um segundo sinal de EPR, com anisotropia $|g_x - g_y|$ ~ 1,34 em forma de linha Gaussiana, que é atribuído às espécies mistas (espécies 2 e 5). Esta contribuição de dois sinais também é verificada para a proporção de solvente 80:30. Somente a partir da mistura 80:40 é que encontramos a contribuição de três sinais, com a formação da espécie 3, com anisotropia $|g_x - g_y|$ ~ 0,59 em forma de linha Gaussiana.

Com esses resultados em primeiro lugar podemos interpretar que um maior número de flúor presente nas amostras retarda a formação das espécies ligada ao MeOH. Porém, devemos considerar que o atraso na formação destas espécies também pode ser provocado pela presença da ligação desta FeP com a água, que por apresentar maior afinidade com a FeP requer uma maior concentração de MeOH na solução, para que se efetue a troca dos ligantes.

Na Figura 36 são apresentadas as contribuições de cada um do sinais de EPR encontrados para as diversas proporções de solventes.

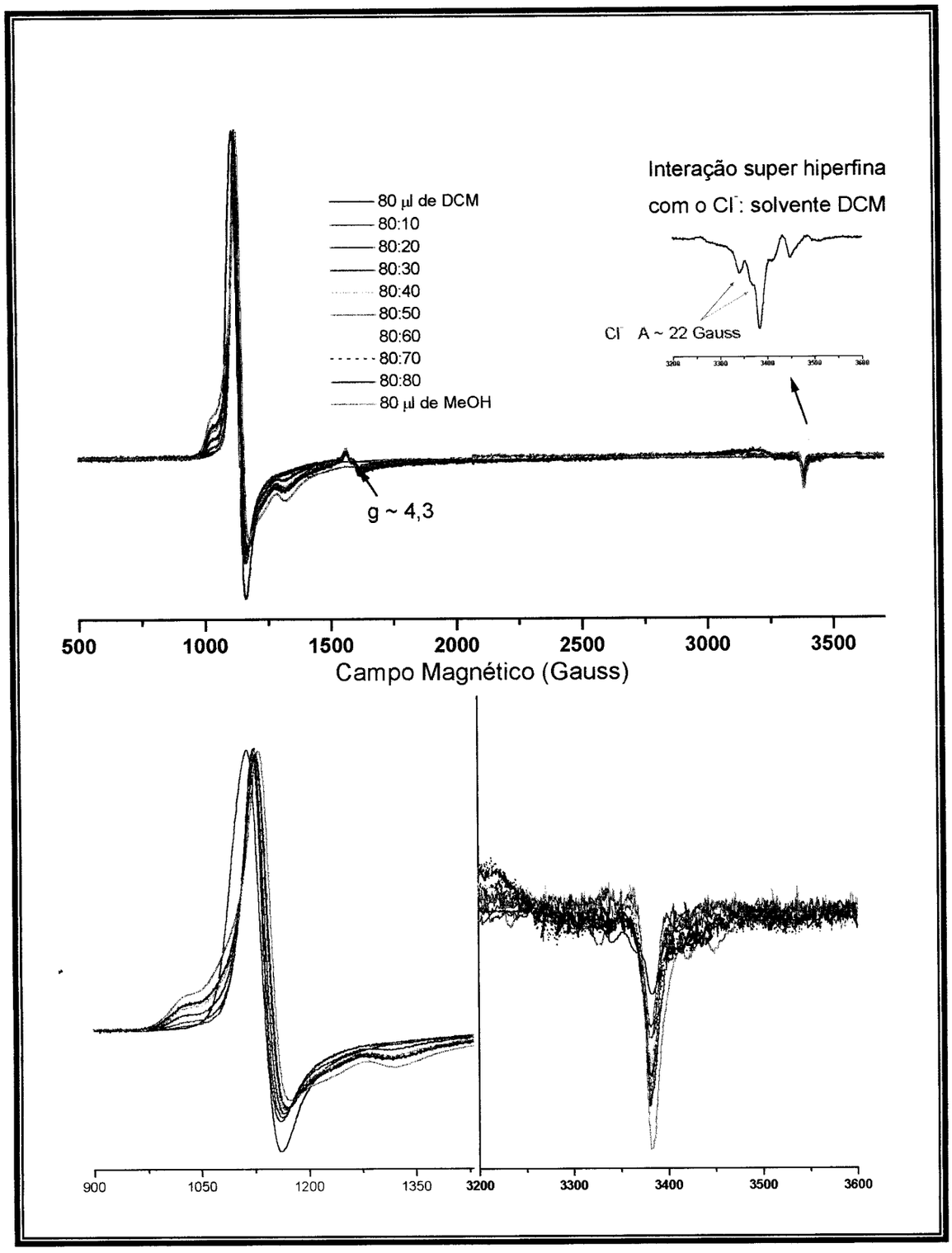


Figura 35: Espectros de EPR da $FeTF_{20}PP$ obtidos a 4K para os diversos solventes. As amplitudes dos espectros foram normalizadas para a região de $g_{\perp}$.

Tabela 11: Parâmetros de EPR determinados pela simulação através do programa WinEPR SimFonia para a $FeTF_{20}PP$ nos diversos solventes. As larguras de linhas são expressas em Gauss.

Solventes	Anisotropias	g_x (±0.02)	g_y (±0.02)	g_z (±0.0001)	ΔH_x (±2)	ΔH_y (±2)	ΔH_z (±2)
DCM	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.17$	6.13	5.96	2.0033	35	35	15
		6.00	6.00	2.0026	30	30	15
					A_x	A_y	A_z
					10	10	22
80:10	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.04$	6.01	5.97	2.0033	23	23	10
80:20	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.04$	6.01	5.97	2.0033	23	23	10
	-						
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
80:30	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.07$	6.02	5.95	2.0033	23	23	10
	-						
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
80:40	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	6.00	5.92	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
80:50	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	6.00	5.92	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
80:60	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	6.00	5.92	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
80:70	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	6.00	5.92	2.0033	25	25	13

80:70	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	6.00	5.92	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
80:80	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	6.00	5.92	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
MeOH	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	5.98	5.90	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50

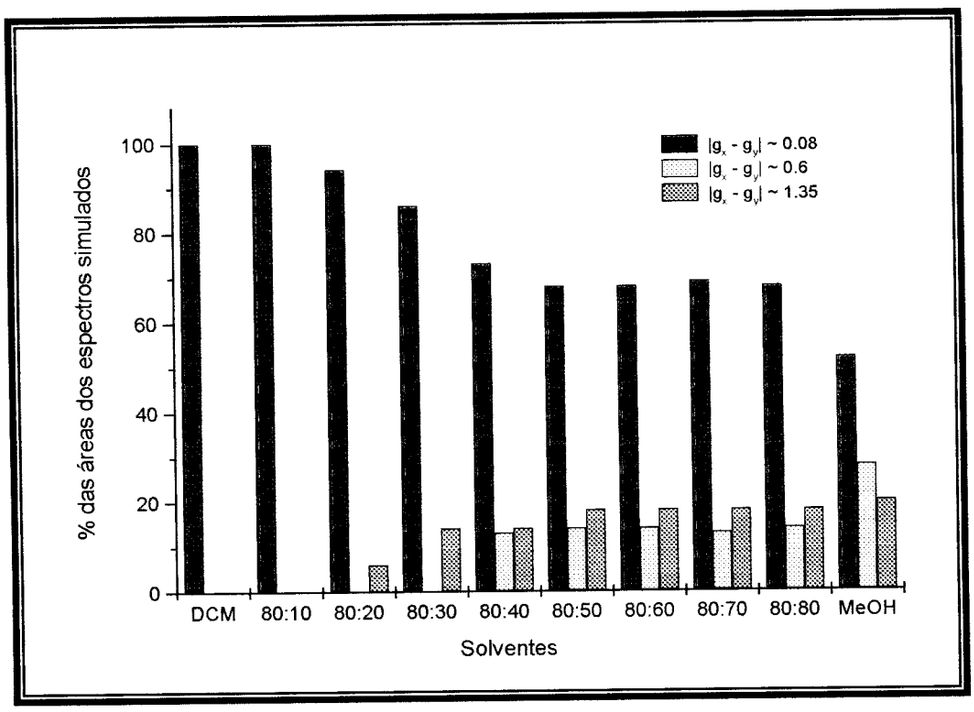


Figura 36: Contribuição dos espectros simulados para a formação do espectro experimental. Para a determinação dessas contribuições, as áreas de todos os espectros foram normalizadas.

Com o objetivo de resolvermos melhor os diferentes sinais apresentados pelos espectros de EPR das FeP, adquirimos também, espectros de EPR em diferentes freqüências de microonda, sendo estas a banda - L (1.28GHz) e a banda - Q (34GHz). A escolha dessa FeP se deve ao fato dela apresentar sinais de EPR com maior anisotropia na presença do solvente MeOH, o que ficaria melhor resolvido ao adquirimos um espectro de EPR em uma freqüência maior.

Os espectros foram adquiridos a uma temperatura de 4K. As medidas em banda - L foram realizadas em nosso Laboratório[62] e as medidas em banda - Q foram realizadas no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF) com a colaboração da Profa. Dra. Eliane Wajnberg e do aluno de doutorado Marcos Flores. Os espectros obtidos nessas bandas são apresentados na Figura 37, juntamente com o espectro obtido em banda - X. As linhas extras aparentes na região de g ~ 2 para os espectros obtidos em banda - Q são resultantes de uma contaminação da cavidade com o Mn^{2+}.

Era esperado que as medidas em banda-Q resolvessem melhor os sinais provenientes das várias espécies. Uma vez que aumentamos as freqüência em um fator da ordem de 4 produzimos uma separação das linhas em campo, por esse mesmo fator. Porém, verificamos um alargamento das linhas introduzido pela mudança na freqüência. Sugerindo que o mesmo efeito que separa os fatores g provoque também um alargamento destas. Os

parâmetros determinados através da simulação espectral são apresentados na Tabela 12.

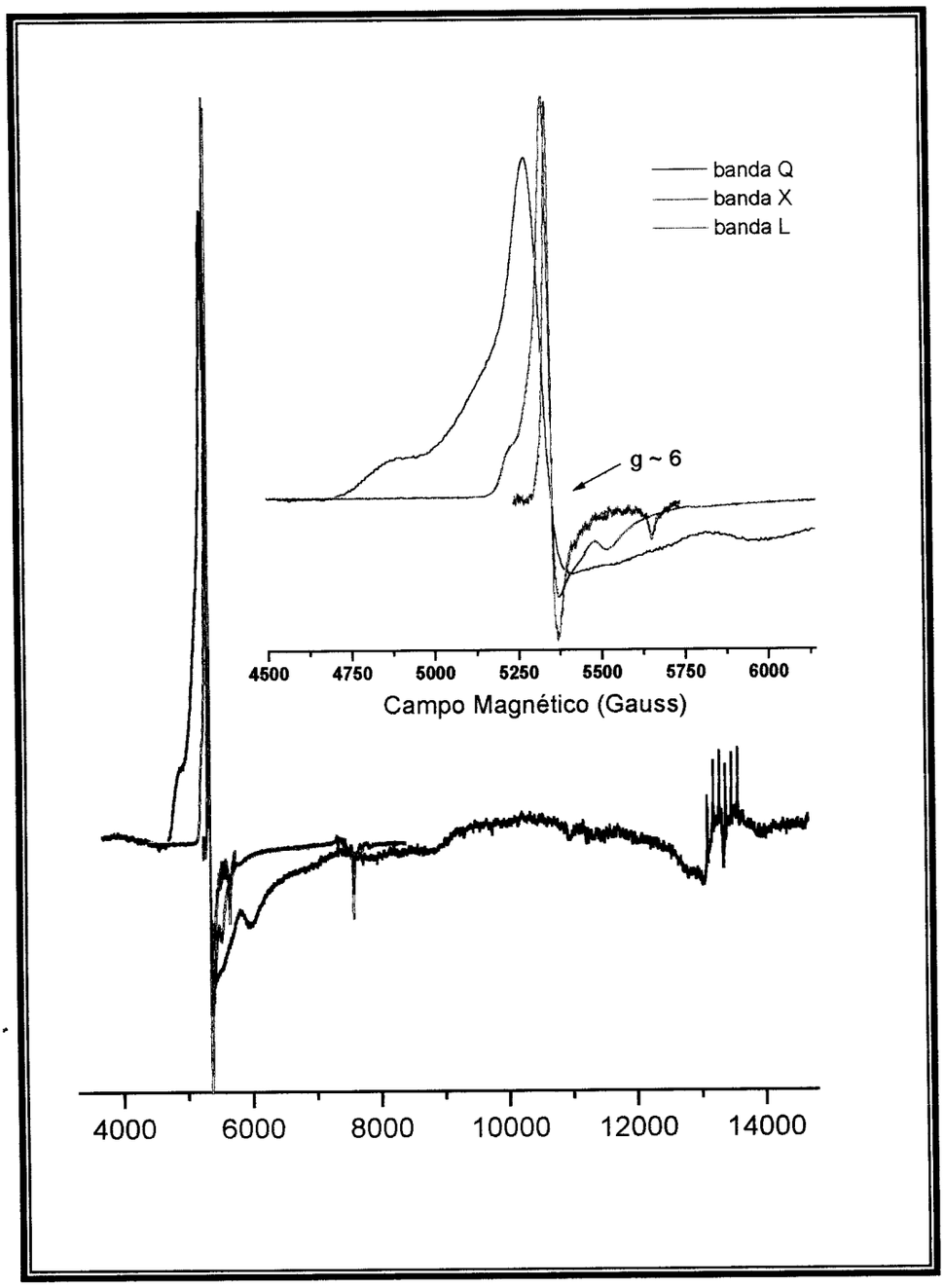


Figura 37: Espectros de EPR adquiridos a 4K de temperatura para várias freqüências de microondas.

Os espectros obtidos nas diferentes freqüências foram comparados e graficados em função do parâmetro g, apresentados na Figura 38. Os espectros adquiridos em banda Q e X são muito semelhantes, apresentando praticamente as mesmas larguras de linhas e as mesmas contribuições dos sinais, provenientes das diferentes espécies formadas na presença do solvente MeOH. Isto indica, que o alargamento das linhas encontrados para os espectros obtidos nas diferentes bandas é dado por uma distribuição nos valores de g, denominado g-strain[54].

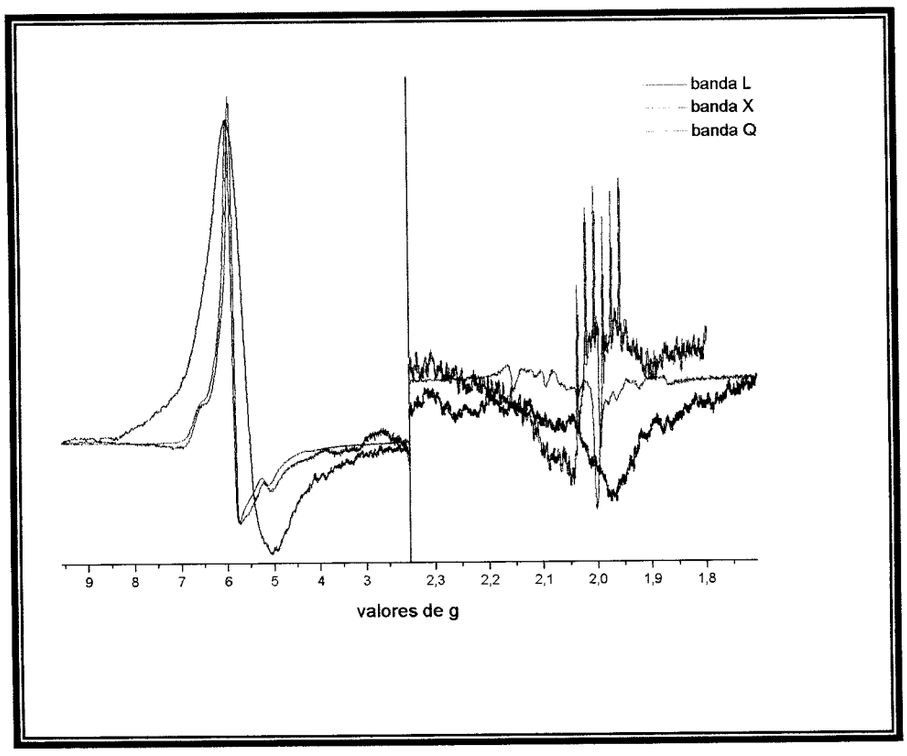


Figura 38: Espectros de EPR adquiridos a 4K de temperatura para várias freqüências de microondas, apresentados em função do parâmetro g.

Tabela 12: Parâmetros de EPR determinados pela simulação através do programa WinEPR SimFonia para os espectros da $FeTF_{20}PP$ adquiridos em diferentes Bandas e para a FeP dissolvida em MeOH. As larguras de linhas são expressas em Gauss.

Bandas / Anisotropias		g_x	g_y	g_z	ΔH_x	ΔH_y	ΔH_z
Banda - L	$\lvert g_x - g_y \rvert = 0.06$	5.80	5.74	1.965	16	16	12
Banda - X	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.08$	5.98	5.90	2.0033	25	25	13
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.22	5.63	1.9900	55	60	50
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.25	1.9900	45	60	50
Banda - Q	$\lvert g_x - g_y \rvert = 0$	5.90	5.90	1.9945	90	90	20
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 0.59$	6.20	5.61	1.9945	196	210	20
	$\lvert g_x - g_y \rvert \sim 1.34$	6.59	5.20	1.9945	161	210	20

4.6. Discussões.

Nosso objetivo com esse trabalho é caracterizar as FeP apresentando diferentes números de substituintes fluorofenis nas posições - *meso* do anel porfirínico. Essa caracterização é estabelecida em função dos solventes DCM, MeOH e das misturas desses dois em volumes variados. Como ferramenta de estudo, utilizamos a Espectroscopia de Ressonância Paramagnética

Eletrônica, ou EPR, e a Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do Ultravioleta - visível, ou UV-Vis.

A escolha por essas duas técnicas deve-se principalmente, pela ampla utilização da técnica de UV-Vis e pelas importantes informações obtidas dos espectros de EPR.

Em primeiro lugar devemos ressaltar que, para compararmos os resultados obtidos por essas duas técnicas espectroscópicas, devemos sempre levar em consideração as diferentes concentrações das soluções utilizadas por cada uma dessas técnicas. Para o UV-Vis as concentrações utilizadas foram em média, 20μM, enquanto para o EPR, as concentrações foram iguais a 1mM. Temos portanto, concentrações com ordem de grandeza 100 vezes diferentes para as soluções de FeP.

Desta forma as espécies formadas, por exemplo, para a proporção de solvente 80:10 na solução preparada para UV-Vis, não correspondem, necessariamente, as mesmas espécies formadas nas soluções para a aquisição dos espectros de EPR, preparadas na mesma proporção de solvente.

Baseados nos resultados obtidos e apresentados nas seções anteriores, verificamos que a menor concentração, determinada para os espectros de UV-Vis, estabelece uma condição final de equilíbrio entre as espécies ligadas ao MeOH, já para a proporção de solvente 80:10. No entanto, pela espectrocopia de UV-Vis não podemos diferenciar as espécies mistas, que apresentam o MeOH como ligante e o Cl^- como aduto (espécie 2) e as espécies

hexacoordenadas com o MeOH (espécie 3). Podemos dizer que estas espécies são caracterizadas pelas bandas 440, 470 e 570 nm.

A partir da proporção de solvente 80:10 os espectros de UV-Vis não apresentam mudanças significativas. Obviamente, essa afirmação é válida para as $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$ e $FeTF_{15}PP$, uma vez que nos espectros de UV-Vis da $FeTF_{20}PP$ são nítidas as diferenças encontradas nas várias proporções de solvente. Fato este, que foi atribuído à presença de duas espécies diferentes na solução de partida, estaria provocando um atraso na formação das espécies ligadas ao MeOH. Para a $FeTF_{20}PP$ a contribuição dessas espécies seria evidente a partir da proporção de solvente 80:60, que passa a apresentar a banda centrada em 470 nm, como verificamos através das posições das bandas da Tabela 10.

Para uma concentração igual a 1mM, determinada para as soluções de partida preparadas para a aquisição dos espectros de EPR, verificamos que uma condição final de equilíbrio entre as espécies ligadas ao MeOH é atingida nas proporções de solventes em torno de 80:30 a 80:50. Esta afirmação pode ser comprovada através dos gráficos que apresentam a contribuição de cada espécie formada na presença do solvente MeOH. Através das figuras: Figura 24, Figura 27, Figura 31 e Figura 36 verificamos que a partir destas proporções de solventes ocorrem pequenas alterações das contribuições de cada espécie.

Resumindo, as discussões acima mostram que dentro das proporções de solvente estabelecidas para preparar as soluções de FeP a espectroscopia de UV-Vis não é uma técnica apropriada para acompanhar as diferentes espécies formadas em função das várias concentrações do solvente MeOH. Para tanto, seriam necessárias concentrações menores deste solvente. Por outro lado, a espectroscopia de EPR permite a identificação das diferentes espécies formadas na presença do solvente MeOH. Este fato alia-se as discussões previamente relatadas na apresentação dos resultados, em que observamos uma limitação da espectroscopia de UV-Vis, gerada pelas grandes larguras das bandas, o que pode prejudicar a identificação de espécies diferentes.

Com exceção da $FeTF_{20}PP$, os espectros de UV-Vis não apresentam diferenças significativas em função das diferentes proporções de solventes DCM:MeOH. Buscamos então, determinar qual é a influência dos diferentes números de substituintes fluorofenis nas FeP. Para tanto, apresentamos na Tabela 13 um resumo das posições das principais bandas encontrada para a $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$, $FeTF_{15}PP$ e $FeTF_{20}PP$ dissolvidas nos solventes DCM e MeOH

Tabela 13: Posições das bandas centrais nos espectros de Absorção Eletrônica na região do UV-Vis para a $FeTF_5PP$, $FeTF_{10}PP$, $FeTF_{15}PP$ e $FeTF_{20}PP$ nos solventes DCM e MeOH.

		Posições centrais das Bandas (nm)							
		UV	Soret		Visível				
$FeTF_5PP$	DCM	370		412		454		506	565
	MeOH	390		405	420	442	488	528	563
$FeTF_{10}PP$	DCM	383		415		456		509	
	MeOH	388		407		442	476	527	580
$FeTF_{15}PP$	DCM	370		412		447		508	
	MeOH	388		407		437	476	516	580
$FeTF_{20}PP$	DCM	346	396	411		452	502	571	632
	MeOH	367	388	409	430	463	499	579	624

Para as FeP dissolvidas em DCM verificamos que os diferentes números de substituintes fluorofenis não oferecem mudanças nas posições das bandas. Todos estes apresentam as bandas características da ligação Fe-Cl, em 370 e 510 nm, e a banda Soret em torno de 413 nm. O fato da banda Soret da $FeTF_{20}PP$ estar centrada em um comprimento de onda menor do que o encontrado para as demais FeP, pode indicar que a espécie **5** é que está fornecendo esse. A presença do oxigênio ligado à FeP pode ser o responsável pelo deslocamento da banda Soret para comprimentos de onda menores,

além de apresentar a banda em 570 nm, também característica da ligação Fe-O[12,45].

Para as FeP dissolvidas em MeOH poderíamos também dizer que não são observadas mudanças significativas nas posições das bandas devido a presença de diferentes números de substituintes fluorofenis. A presença desse solvente provoca um deslocamento das bandas para comprimentos de ondas menores, o que é bastante evidente para a banda Soret. Observamos ainda, o desaparecimento das bandas em 370 e 510 nm e um aparecimento das bandas na região de 440, 470 e 570 nm, que podem caracterizar a ligação Fe-O[45].

No entanto, a intensidade relativa das bandas na região do visível pode ser alterada pelos substituintes *meso*, como descrito na literatura[39] e apresentado no capítulo 2. Esta será maior quanto maior for a sobreposição das funções de onda do estado vibracional em um estado eletrônico superior com o estado vibracional em um estado eletrônico inferior[61]. Considerando o MeOH ligado ao Fe e formando uma variedade de posições e variações nas intensidades da ligação, o que reflete em diferentes estruturas, produzindo diferenças nas sobreposições das funções de onda, conseqüentemente nas diferentes intensidades de absorção.

Segundo Gouterman[39] a intensidade da banda Q_v (~ 550 nm) é independente da natureza do ligante, no entanto a banda Q_0 (~ 500 nm) é sensível a estas mudanças, além de depender do posicionamento do ligante.

De fato, se observarmos os espectros de todas as FeP verificamos que estes apresentam variações nas intensidades da banda Soret e da banda Q_0 e pouca variação para a banda Q_v. A razão das intensidades das bandas Soret/Q_0 e Soret/Q_v cresce proporcional ao aumento de MeOH na solução. A razão Soret/Q_v apresenta uma diferença significativa ao compararmos as razões entre as várias FeP, enquanto a razão Soret/Q_0 não é alterada significativamente. Portanto temos que a banda Q_v sofre maior influência dos substituinte *meso* enquanto as bandas Soret e Q_0 sofrem influênica com o ligante central.

Para a $FeTF_5PP$ dissolvida em DCM observamos um padrão diferente dos espectros em comparação com a $FeTF_{10}$ PP e a $FeTF_{15}PP$. A presença da banda em 565 nm para o solvente DCM é característica da forma dimérica: $(FeTF_5PP)_2O$. A atribuição dessa banda às espécies diméricas foi comprovada pela Dra. Kátia Ciuffi, em sua tese de Doutorado[52]. Em seus estudos foi observado também que mesmo após o tratamento com DCM acidificado ocorria a presença destas espécies. Por apresentar um menor número de substituintes fluorofenis, essa FeP permite a aproximação dos planos de duas FeP.

É importante lembrar que antes das FeP serem submetidas as sucessivas lavagens com DCM acidificado, seus espectros de UV-Vis apresentaram um comportamento semelhante ao descrito para a $FeTF_{20}PP$, Figura 32 – página 86, em função das diferentes proporções de solventes. No

entanto, mesmo após as sucessivas lavagens com DCM acidificado, pode ter ocorrido a formação de dímeros para a $FeTF_5PP$. Acreditamos portanto, que a solução de partida para a $FeTF_5PP$ também é formada por duas espécies, sendo estas as formas cloro-complexas e as formas diméricas. Segundo Gold[45], a banda em 420 nm também caracteriza essa última espécie. Para a $FeTF_5PP$ em estudo essa banda ficou evidente nos espectros obtidos a partir da solução com o solvente MeOH na proporção 80:10. Portanto, acreditamos que os espectros da Figura 23, página 62, apresentam tanto as espécies ligadas aos MeOH, quando a solução apresenta alguma proporção desse solvente, como as espécies diméricas.

Poderíamos nesse momento questionar sobre as possíveis formações dos dímeros para as outras FeP. Primeiramente, para a $FeTF_{10}PP$ e $FeTF_{15}PP$, os espectros de UV-Vis apresentam as bandas características das espécies ligadas ao MeOH bem resolvidas em comparação com os espectros das $FeTF_5PP$ e $FeTF_{20}PP$, além de não apresentarem a banda em 420 nm. Portanto, segundo os resultados obtidos acreditamos que não ocorreu a formação de dímeros para essas duas FeP. Em segundo lugar, a forma dimérica de uma FeP é um sistema não paramagnético, não apresentando sinal de EPR; desta forma os dois sinais de EPR encontrados para a $FeTF_{20}PP$ dissolvida em DCM deixa claro que a solução de partida é composta pelas espécies cloro-complexas **1**, e pelas espécies mistas ligadas ao Cl^- e a água, **5**.

Como discutido no início desta seção, os espectros de EPR revelaram uma influência do número de substituintes fluorofenis em função das diferentes concentrações do solvente MeOH nas soluções. Seja por impedimento estérico ou por eletronegatividade, esses efeitos provocam um atraso na formação das espécies ligadas ao MeOH. Ou seja, um maior número de flúor na amostra requer uma maior concentração de MeOH para formação de tais espécies. Além disso, temos que a contribuição das espécies ligadas ao MeOH é maior quando temos um maior número de flúor, podemos compreender que a partir do momento que ocorre a ligação com uma molécula de MeOH é favorecida a entrada de outro na sexta posição. Porém, esse aumento não se pode afirmar que é muito significativo. O que fica claro das contribuições das áreas é o comportamento diferenciado para as proporções de solventes entre 80:10 e 80:40 em média, e para as proporções superiores a 80:40. No primeiro caso, evidenciamos a formação das espécies mistas e hexacoordenada com o MeOH, enquanto na segunda região desses espectros verificamos um equilíbrio entre essas duas espécies. Essa discussão póde também, ser estendida para a $FeTF_{20}PP$, uma vez que temos na solução de partida as formas cloro-complexas além das formas hidróxidos, que posteriormente é convertida a água através da adição dos solventes acidificados. Como a $FeTF_{20}PP$ apresenta grande afinidade com a água é necessário a presença de um maior número de moléculas de MeOH na solução para que ocorra a substituição dessa coordenação e, novamente,

podemos interpretar que após a ligação de um MeOH é favorecida a entrada deste solvente na outra posição.

Outra evidência da influência do número de fluorofenis é o acréscimo das anisotropias com o aumento do número de flúor, apesar do maior número de flúor conferir uma maior estabilidade à FeP na presença do solvente MeOH, promove também uma maior distorção da mesma.

Segundo a equação 9 do capítulo 2, podemos determinar o fator de rombicidade que se confere a cada uma das FeP. Esses fatores estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Fator de rombicidade determinado para as espécies das FeP ligadas ao solvente MeOH. Segundo a equação (11).

	% Rombicidade = ($\lvert g_x - g_y \rvert$ /16) * 100%		
	Espécie 1: FePCl	Espécie 3: $FeP(MeOH)_2$	Espécie 2: FePClMeOH
$FeTF_5PP$	0.5	3.12	6.56
$FeTF_{10}PP$	0.68	4.12	7.25
$FeTF_{15}PP$	0.81	4.12	7.87
$FeTF_{20}PP$	0.5	3.7	8.37

Com relação aos espectros de EPR podemos ainda apresentar resultados inéditos, como as interações super-hiperfinas evidentes nos espectros obtidos com a $FeTF_{10}PP$ e $FeTF_{20}PP$ dissolvidas em DCM. Pelo que temos conhecimento na literatura, tanto as interações super-hiperfinas com o

íon Cl^-, como as interações super-hiperfinas com os nitrogênios do anel porfirínico, evidente através da aquisição da 2ª derivada do espectro de absorção para a $FeTF_{10}PP$ (Figura 28 - página 76), ainda não foram relatadas para as FeP flúoro substituídas.

A interação super hiperfina Fe-N foi sugerida por Safo et.al.[55] que não obteve uma comprovação da mesma. Em seu artigo, discute a presença dessa interação para os metais Cu^{2+}, Cr^{5+} e Mo^{5+}. A presença dessa interação entre o cobre o os nitrogênios do anel porfirínico foi também apresentada por Assour[48]. A ligação Fe-N é uma ligação σ[55] no plano do anel porfirínico, feita através dos orbitais π do nitrogênio e do orbital $d_{x^2-y^2}$ do Fe o que justificaria a interação na direção perpendicular, mas não na direção paralela, sugerindo que o Cl^- está também interagindo através de uma mistura de orbitais

Para estimarmos quanto da função de onda eletrônica do Cl^- está distribuída sobre o Fe, a partir dos valores encontrados das constantes hiperfinas, devemos comparar com os valores destas constantes já determinados, para sistemas conhecidos e descritos na literatura[53]. Por exemplo, se considerarmos a separação das linhas hiperfinas para o centro V_k $(Cl — Cl)^-$ temos um valor igual a 70 gauss, em que a função de onda eletrônica está distribuída igualmente entre os cloros. Para a $FeTF_{20}PP$ encontramos A_z = 22 gauss, que corresponde a um valor ~1/3 menor que o determinado para o centro V_k. Podemos entender que sobre o Fe temos uma

distribuição 1/3 menor que a "metade da função de onda" encontrada sobre o cloro. Ou seja, apenas 1/6 da função de onda eletrônica do cloro está sobre o Fe, e que corresponde dizer que a função de onda apresenta uma distribuição de 83% para o Cl^- e 17% para o Fe.

Para a $FeTF_{10}PP$ encontramos A_z = 9 gauss, que representa um fator ~1/7 menor que o determinado para o centro V_k. Ou seja, a função de onda apresenta uma distribuição de 93% para o Cl^- e 7% para o Fe.

As diferentes espécies reveladas pelos espectro de EPR foram principalmente diferenciadas por suas anisotropias, mas apresentaram também diferentes formas de linhas. De um modo geral, as formas de linhas resultantes dos sinais das espécies cloro-complexas são Lorentzianas, enquanto os sinais provenientes das espécies que se apresentam mono ou bis coordenada ao MeOH, possuem uma forma de linha Gaussiana.

Para compreendermos essas diferenças nas formas de linhas encontradas, primeiro devemos lembrar que a largura intrínseca de uma linha é governada pelo princípio da incerteza, $\Delta\nu\Delta t \sim 1/2\pi$. Além disso, para a maioria dos metais de transição, a largura de linha é governada exclusivamente pelos seus pequenos tempos de relaxação spin-rede, denominado T_1. Esse tempo de relaxação, que depende da temperatura, é o tempo característico para a recuperação da magnetização do sistema paramagnético ao longo da direção do campo magnético aplicado, depois do equilíbrio térmico ter sido atingido. Quando a relaxação spin-rede é a

responsável pelo alargamento da linha, esta apresentará uma forma dada por uma função Lorentziana. Conseqüentemente, podemos interpretar que as formas de linhas Gaussianas apresentadas pelos espectros resultantes das espécies com MeOH devem-se, principalmente, as superposições de muitas componentes Lorentzianas, provocadas pelas várias posições que a moléculas de MeOH ocupam com relação ao anel porfirínico[27]. Geralmente faz-se referência à essas linhas como sendo inomogeneamente alargadas.

Vários fatores podem ser responsáveis pelos alargamentos das linhas de um sinal de EPR. Além do tempo de relaxação spin-rede T_1, e dos alargamentos inomogêneos, temos ainda o tempo de relaxação spin-spin, caracterizado pelo tempo de relaxação T_2, que é independente da temperatura, e que mede o tempo das componentes oscilantes da magnetização, no plano perpendicular ao campo magnético aplicado. Vários tipos de interações podem também contribuir para um alargamento das linhas, como por exemplo, as interações hiperfinas e os alargamentos causados por "g-strain". Este último é atribuído ao efeito que uma distribuição aleatória de conformações das moléculas exerce sobre o sítio ativo, resultando em diferentes valores de g.

Capítulo 5 - Conclusões.

Com o presente trabalho conseguimos determinar a influência do solvente MeOH como coordenante das FeP fluorosubstituidas, que permite uma compreensão da relação entre o ligante axial e as propriedades físicas das MeP, o que pode ser um veículo importante no entendimento das reações catalíticas e até mesmos biológicas realizadas por esses sistemas modelos.

Através da espectroscopia de EPR foi possível distinguir três espécies distintas presentes nas soluções de FeP com o aumento da concentração do solvente MeOH na solução. Essa técnica espectroscópica possibilitou determinamos a contribuição que cada espécie oferecia ao espectro experimental. Verificamos, ainda, a influência dos substituintes fluorofenis, que provocaram um aumento na assimetria da moléculas proporcional ao número de flúors presente nos substituintes *meso,* quando da presença do solvente MeOH.

Apesar de não observarmos mudanças nos espectros ópticos entre as espécies coordenadas ao MeOH, estas produziram um deslocamento da banda Soret para comprimento de ondas menores, além do surgimento de

novas bandas na região de 400-600 nm, relativo à especie não coordenada ao MeOH.

Podemos destacar, ainda, algumas informações importantes estabelecidas durante o estudo de caracterização da série de FeP fluorosubstituida:

1. A determinação das interações super hiperfinas entre Fe-Cl, presentes nas amostras $FeTF_{10}PP$ e $FeTF_{20}PP$;
2. A determinação da interação super hiperfina entre Fe-N, presente na amostra $FeTF_{10}PP$;
3. A identificação do efeito "g-strain", que pode ser comprovado através da aquisição de espectros de EPR em diferentes bandas (L, X e Q).

Através da literatura disponível[55,58] a identificação das interações descritas nos ítens 1 e 2 não foram determinadas. Sendo, portanto, detectadas pela primeira vez por nosso grupo.

Contudo, a caracterização dessas FeP em função dos solventes DCM, MeOH e das várias misturas desses dois, somente foi concluída após ser estabelecido um minucioso método de preparação das soluções. A forte tendência à dimerização da $FeTF_5PP$ e a grande afinidade com as moléculas de água, apresentada pela $FeTF_{20}PP$, impossibilitou um estudo definitivo dessas FeP, por isso serão ainda, motivos de pesquisa por nosso grupo.

5.1. Sugestão para continuidade dos estudos.

Por se tratar de sistemas complexos, as FeP sintéticas são importantes alvos de pesquisas. Através do estudo realizado para a série de FeP fluorosubstituídas encontramos novos e atrativos caminhos para pesquisar. Principalmente para esclarecerem questões como: Por que a $FeTF_{10}PP$ foi a única FeP que apresentou a interação Fe-N? Qual a influência dos isômeros formados pelas duas possíveis posições dos fluorofenis, *-cis* e *-trans,* nas interações reveladas por essa FeP?

Uma vez determinada a separação desses isômeros, podemos realizar uma caracterização dos mesmos em função dos solventes e de diferentes ligantes.

Além da série de FeP fluorosubstituídas, várias outras FeP são sintetizadas com diferentes modificações do íon central e dos substituintes fenis, que também compreendem sistemas importantes para se efetuar uma caracterização em função de diferentes solventes.

Ainda buscando esclarecimentos sobre a caracterização das FeP fluorosubstituídas, podemos dar continuidade nesses estudos da influência do solvente MeOH, através de proporções menores do que as utilizadas no

presente trabalho, bem como determinar condições de preparação das soluções de FeP, como a $FeTF_5PP$ e a $FeTF_{20}PP$, para a obtenção de amostras que apresentam uma única espécie na solução de partica, conseqüentemente, evitando uma interpretação dúbia dos resultados obtidos pelas espectroscopias de EPR e UV-Vis.

Capítulo 6 - Referências Bibliográficas.

[1] Lehningher, A. L. em Principles of Biochemistry, cap 3.

[2] Senozan, J. T. and Hunt, R. L. - *J. Chem. Edu.* - **59** (3), 173 (1982).

[3] Alexander, L. S. and Goff, H. M. - *J. Chem. Edu.* - **59** (3), 179 (1982).

[4] Mansuy ,D. - *Pure & Appl. Chem.* - **59** (6), 759 (1987).

[5] Groves, J. T. - *J. Chem. Edu.* - **62** (11), 929 (1985).

[6] Groves, J. T. and Gilbert, J. A. - *Inorg. Chem.* - **25**, 125 (1986).

[7] Groves, J. T.; Nemo, T.E.; Myers, R.S. – - *J. Am. Chem. Soc.* - **101** (4), 1032 (1979).

[8] Mashiko, T. and Dolphin, D. - *J. Am. Chem. Soc.* - **107**, 3735 (1985).

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

[10] Iamamoto, Y.; Ciuff, K. J.; Sacco, H. C.; Iwamoto, L.S.; Prado, C. M. C. and Nascimento, O. R. - *J. Mol. Catal. A: Chem* - **116** (3), 405 (1997).

[11] Iamamoto, Y.; Ciuff, K. J.; Sacco, H. C.; Prado, C. M. C.; Moraes, M. and Nascimento, O. R. - *J. Mol. Catal. A: Chem* – **88**, 167(1994).

[12] Iamamoto, Y.; Prado, CMC; Sacco HC, Ciuffi KJ, Assis MD, Maestrin APJ, Melo AJB, Baffa O, Nascimento OR - *J. Mol. Catal. A: Chem.* - **117** (1-3) 259 (1997).

[13] Nakagaki, S.; Iamamoto, Y.; Baffa, O. and Nascimento, O. R - *Inorg. Chem. Acta* - **186**, 39 (1991).

[14] Iamamoto Y, Assis MD, Ciuffi KJ, Prado CMC, Prellwitz BZ, Moraes M, Nascimento OR, Sacco HC - *J. Mol. Catal. A: Chem* - **116** (3), 365 (1997).

[15] Iamamoto, Y.; Assis, MD, Baffa, O.; Nakagaki, S. and Nascimento, O. R *J. Inorg. Biochem.* - **52** (3), 191 (1993).

[16] Manso, C.M.C.P.; Vidoto, E.A.; Vinhado, F.S.; Sacco, H.C.; Ciuffi, K.J.; Martins, P.R.; Ferreira, A.G.; Lindsay-Smith, J.R.; Nascimento, O.R.; Iamamoto, Y. - aceito para publicação no *J. Mol. Catal. A: Chem.* em abril de 1999.

[17] Ciuffi, K.J.; Sacco, H.C.; Valim J.B.; Manso, C.M.C.P.; Serra, O.A. Vidoto, E.A.; Nascimento, O.R.; Iamamoto, Y.; - *Journal of Non-Crystalline Solids,* **247**, 146 (1999).

[18] Manso, C.M.C.P.; Neri, C.R.; Vidoto, E.A.; Sacco, H.C.; Ciuffi, K.J.; Iwamoto, L.S.; Iamamoto, Y.; Nascimento, O.R.; Serra, O.A. - *J. Inorg. Biochem.* - **73** (1-2), 85 (1999).

[19] Hai Mu, X. and Schultz, F.A. - *Inorg. Chem.* - **31**, 3351 (1992).

[20] Uno, T.; Hatano, K. and Nishimura, Y. - *J. Am. Chem. Soc.* - **116**, 4107 (1994).

[21] Rojo, T.; Lezana, L. and Barandiarán - *Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletronica,* capítulos 7-9.

[22] Feher, G. - *Electron Paramagnetic Resonance with Applications to Selected Problems in Biology,* cap 2.

[23] Brill, S.A. - *Transition Metals in Biochemistry* - (1977).

[24] Chammack, R.; Shergill, J.K.; Inalsingh, V.A. and Hughes, M.N. - *Spectrochimica Acta - Part A,* **54**, 2393 (1998).

[25] Decurtins, S. and Wickman, H.H. - *J. Chem. Phys.* - **81** (10), 4251 (1984).

[26] Byrn, M.P.; Katz, B.A.; Keder, N.L.; Levan, K.R.; Magurany, C.J.; Miller, K.M.; Pritt, J.W. and Strouse, C.E. - *J. Am. Chem. Soc.* - **105**, 4916 (1983).

[27] Wertz, J.E.; Bolton, J.R. - *Electron Spin Resonance: Elementaru Theory and practical applications* - MacGraw-Hill (1972).

[28] Pake, G. E.; Estle, T. L. - *The physical principles of electron paramagnetic resonance,* cap 1.

[29] Huheey, J. E.; Keiter, E. A.; Keiter, R. L. - *Inorganic Chemistry - Principles of Structure and Reactivity* - 4ª edição, HarperCollins College Publishers, New York, 1993.

[30] Poole, C. P. - *Electron Spin Resonance* - John Wiley & Sons., Inc., USA, 1983.

[31] Abragan, A.; Bleaney, P. - *Electron Paramagnetic Resonance of Transition Ions* - Dover Publication (1986).

[32] Wickman, H.H; Klein, M.P.and Shirley, D.A. - *J. Chem. Phys.* - **42** (6), 2113 (1965).

[33] Castner Jr., T.; Newell, G.S.; Holton, W.C. and Slichter, C.P. - *J. Chem. Phys.* - **32** (3), 668 (1960).

[34] Peisach, J.; Blumberg, W.E.; Ogawa, S.; Rachmilewitz, E.ª and Oltzik, R. – *J. Biol. Chem.* – **246** (10), 3342 (1971).

[35] Ingram, D. J. E. - *Biological and Biochemical Application of Electron Spin Resonance,* cap 6.

[36] Schläfer, H. L.; Gliemann, G. - *Basic Principles of Ligand Field Theory* - Wiler-Interscience, New York, 1976.

[37] Harris, D.C.; Bertolucci, M.D. - *Symmetry and Spectroscopy - An Introduction to Vibrational and Eletronic Spectrospopy* - Dover Publication, Inc., New York, 1989.

[38] Hudson, M. - *Chemistry Review: The Pyrrole Pigments,* 19 (1996).

[39] Gouterman, M. - *The Porphyrins* - Dolphin, D. - Ed. Academic Press, New York, 1978, cap1.

[40] Adar,F. - *The Porphyrins* - Dolphin, D.- Ed. Academic Press, New York, 1978, cap 2.

[41] Lindsey, J. L.; Schreiman, I. C.; Hsu, H. C.; Kearney, P. C. and Marguerettaz, A. M. - *J. Org. Chem.* - **52**, 827 (1987).

[42] Lindsey, J. L.; Wagner, R. W. - *J. Org. Chem.* - 54, 828 (1989).

[43] Lindsey, J. L.; MacCrum, K.A.; Tyhonas, J.S. and Chuang, Y.Y. - *J. Org. Chem.* - **59**, 579 (1994).

[44] Adler, A.D.; Longo, F.R.; Kampas, F. and Kim, J. – *J. Inorg. Nucl. Chem.* – **32**, 2443 (1970).

[45] Jayaraj, K.; Gold, A.; Toney, G.E.; Helms, J.H. and Hatfield, W.E. - *Inorg. Chem.* – **25**, 3516 (1986).

[46] WinEPR SimFonia, Versão 1.25 – Copyright 1994-96 Brucker Analytische Messtechnik GmbH.

[47] Melo, W. L. B.; Tabak, M. and Nascimento, O. R. - *Química Nova* - **15** (1), 77 (1992).

[48] Assour, J.M. - *J. Chem. Phys.* – **43** (7), 2477 (1965).

[49] Basols, F. and Johnson, R. – *Química de los comouestos de coordenacion* – Reverté ED. (1980).

[50] Groves, J.T. and Watanabe, Y. - *J. Am. Chem. Soc.* - **110**, 8443 (1988).

[51] Mahy, J.P.; Battioni, P.; Bedi, G.; Mansuy, D.; Fisher, J.; Weiss, R. and Badarau, I.M. – *Inorg. Chem.* – **27**, 353 (1988).

[52] Kátia J. Ciuffi - Tese de Doutorado – *Estudo de ferropofirinas fluorossubstituídas como catalisadores em reações de oxidação de hidrocarbonetos: espécies intermediárias e atividade cataítica* – Instituto de Química de Araraquara – UNESP – (1997).

[53] Slichter, C.P. – *Principles of Magnetic Resonance* – Spring-Verlag (1990).

[54] More, C.; Bertrand, P. and Gayda, J.P. – *Journal of Magnetic Resonance* – **73**, 13 (1987).

[55] Safo, M.H.; Walker, F.A.; Raitsimring, A.M.; Walters, W.P.; Dolata, D.P; Debrunner, P.G. and Scheidt, W.R. - *J. Am. Chem. Soc.* - **116**, 7760 (1994).

[56] Cheng, R.; Grazynski, L.L. and Balch, A. – *Inorg. Chem.* – **21**, 2412 (1982).

[57] Otsuka, T.; OhyaT. and Sato, M. - *Inorg. Chem.* – **23**, 1777 (1984).

[58] Rakowsky, M.H.; Zecevic, A.; Eaton, G.R. and Eaton, S.S. - *Journal of Magnetic Resonance* – **131**, 97 (1998).

[59] Assis, M D; Serra, O.A.; Iamamoto, Y. and Nascimento, O.R. – *Inorganic Chimica Acta* – **187**, 107 (1991).

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

[61] Atkins, P.W. - *Physical Chemistry* – 5ª edition, Oxford University Press (1994).

[62] José Carlos Sartori - Tese de Doutorado – Construção de um sistema para Ressonância Paramagnética Eletrônica em Baixa Freqüência: Banda L e Banda S – IQFSC– (1990).