

PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS DA FEOFITINA E CLOROFILA α

Adriana Lima¹, Augusto Gracetto², Vagner Batistella², Adriana Passarela Gerola², Noboru Hioka², Divinomar Severino³, Antônio Eduardo da Hora Machado⁴, Máira R. Rodrigues⁵, Hueder P. M. de Oliveira⁵

¹Universidade do Vale do Paraíba/ FCS. Av. Shishima Hifumi, 2911 – São José dos Campos – SP

²Universidade Estadual de Maringá /Departamento de Química. Av. Colombo, 5790 – Maringá – PR

³Universidade de São Paulo / Instituto de Química. Av. Prof. Lineu Prestes, 748, São Paulo – SP.

⁴Universidade Federal de Uberlândia/Instituto de Química – Laboratório de Fotoquímica. Av. João Naves de Ávila, 2121 – Bloco 1D – 38408-100 Uberlândia, MG

⁵Universidade do Vale do Paraíba/ IP&D. Av. Shishima Hifumi, 2911 – São José dos Campos – SP
drikalima00@hotmail.com, mrr@univap.br, hueder@univap.br

Resumo: Com o intuito de verificar a influência do solvente no comportamento fotofísico da clorofila α e da feofitina, corantes com alto potencial para uso em Terapia Fotodinâmica (TFD), estudos espectroscópicos de fluorescência foram feitos em misturas água/etanol. Por ser hidrofóbicas, as características espectroscópicas desses compostos são melhor visualizadas em proporção maior de etanol. Em altas concentrações de água, tanto a clorofila quanto a feofitina, tendem a formar agregados diméricos ou com estruturas maiores, dificultando sua aplicação em TFD, uma vez que o fenômeno de auto-agregação diminui a capacidade de formação de oxigênio singlete. É importante o desenvolvimento de novos estudos para mostrar uma melhor adequação da proporção de solventes para uma melhor absorção/emissão dessas moléculas, para eventuais aplicações futuras no ramo da biomedicina.

Palavras – chave: Clorofila α e feofitina, fluorescência, agregação.

Área de conhecimento: Química e Engenharia Biomédica.

Introdução

A clorofila α é um derivado porfirínico classificado como clorina, sendo metalada com o íon Mg^{2+} , possuindo ainda cadeia longa e apolar, acarretando em caráter hidrofóbico. É um importante pigmento, participando na fotossíntese das plantas. O processo de fotossíntese serve para a produção de matéria orgânica e para liberação de oxigênio em todas as plantas autotróficas (DOLPHIN, 1978).

Outras clorofilas podem ser sintetizadas por meio da substituição do íon Mg^{2+} por Zn^{2+} e Cu^{2+} . Particularmente, a feofitina é o derivado não-metalado da clorofila. Clorofila e feofitina apresentam alta absorção de luz dentro da janela terapêutica, o que favorece a aplicação em Terapia Fotodinâmica (TFD). Os compostos geram oxigênio singlete com bons rendimentos quânticos (de 0,60 a 0,85) quando são excitadas em solventes orgânicos puros (NYMAN e HYNINEN, 2004).

Neste trabalho, estudou-se a influência do solvente nas propriedades da Clorofila α e da feofitina.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas onze soluções contendo clorofila ou feofitina (50 μ L da solução estoque com concentração de $5,885 \times 10^{-4}$ mol/l-clorofila $3,95 \times 10^{-4}$ mol/l-feofitina) em 2 mL de diferentes proporções água/etanol. As medidas foram feitas a 298 K. A água empregada no preparo das soluções era de grau Milli-Q, enquanto que o etanol era de grau espectroscópico. Ambos os pigmentos fornecidos pela UEM

Os espectros de excitação e emissão foram obtidos em um espectrofluorímetro Jobin-Yvon Spex FluoroMax-2. Os espectros de emissão foram tomados a partir dos picos de máximo de intensidade dos espectros de excitação das amostras. As amostras foram acondicionadas em cubetas de quartzo 1x1 cm. Os espectros de excitação foram feitos

para a obtenção do valor do comprimento de onda de excitação e conseqüentemente os espectros de emissão das porfirinas.

Estudos de RLS (Espalhamento de luz ressonante) foram realizados por meio da varredura simultânea de monocromadores de emissão e excitação, no intervalo de 200 a 800 nm com $\Delta\lambda$ de 0 nm, a fim de verificar o processo de auto-agregação.

Resultados e discussão

Os espectros de fluorescência são largos e apresentam a mesma estrutura, e as intensidades das bandas variam com a proporção de solventes. Para ambos os corantes, os dados evidenciam uma dependência da fluorescência com a proporção de água.

A figura 1 ilustra a relação entre a intensidade de absorção para a clorofila α e a porcentagem de água. É possível perceber uma maior intensidade de absorção em etanol puro, com o composto apresentando-se na forma monomérica. Na medida em que a proporção de água na mistura cresce, a intensidade de absorção cai, fato associado com o fenômeno da auto-agregação da porfirina.

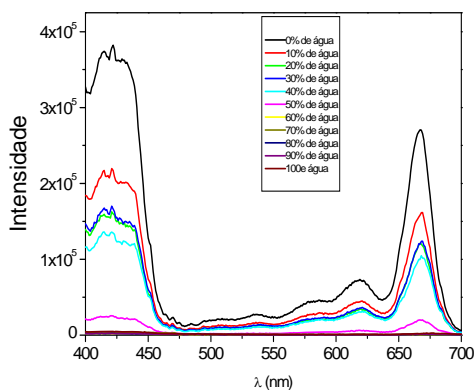


Figura 1: Variação na absorção de luz pela clorofila α em misturas água/etanol.

As figuras 2 e 3 ilustram a emissão de fluorescência para a clorofila α em mistura água/etanol. É possível perceber que o pico da intensidade de fluorescência apresenta um decréscimo gradativo a partir de 40% de água, sendo que a 50% a banda apresenta baixa intensidade em relação às amostras com teor menor de água. A partir de 60% de

água, a fluorescência da clorofila α praticamente desaparece, o que justifica que a partir dessa porcentagem a porfirina está completamente agregada.

Durante a formação da espécie agregada, as unidades monoméricas se associam e se estabelecem de maneiras diversas, sendo possíveis diferentes orientações de momentos dipolares de transição de cada monômero (KASHA, 1963; ARBELOA et al 1982).

Na figura 3, é possível perceber a total supressão da fluorescência da clorofila α , a partir de 60% de água.

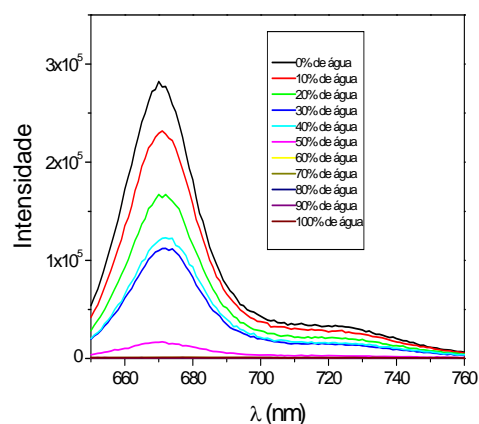


Figura 2: Variação de emissão da clorofila α em misturas água/etanol.

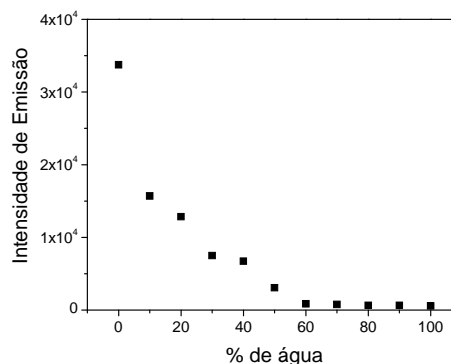


Figura 3: Variação da intensidade de emissão da clorofila α em função da porcentagem de água.

A figura 4 apresenta o espectro de excitação da feofitina. Em etanol puro, o comportamento é o mesmo: elevada intensidade de fluorescência, sugerindo a

presença apenas de monômeros na solução. A partir de 50% de água, a intensidade de excitação é praticamente nula.

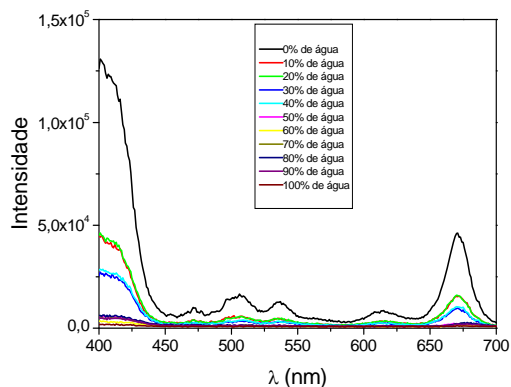


Figura 4: Variação no espectro de excitação da feofitina em misturas água/etanol.

Com o máximo de excitação da feofitina (Figura 4), obtiveram-se as emissões para as misturas (Figura 5), de acordo com o volume de água.

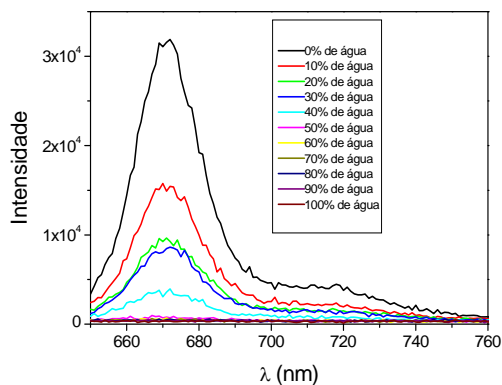


Figura 5: Variação da emissão da feofitina em misturas água/etanol.

A feofitina apresentou o fenômeno da auto-agregação com uma quantidade menor de água, quando comparada à clorofila. A figura 6 ilustra o decréscimo e a dependência de água no máximo de intensidade de emissão da feofitina.

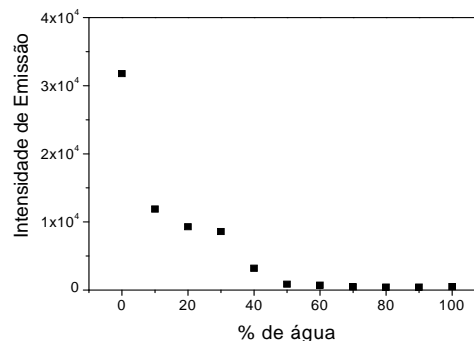


Figura 6: Variação da intensidade de emissão da feofitina em função da porcentagem de água.

A adição do solvente orgânico, o etanol, favorece a existência da clorofila e da feofitina na forma monomérica, manifestando altas intensidades de excitação e emissão.

Conclusão

Ambos os corantes apresentam características favoráveis para aplicação em Terapia Fotodinâmica como a absorção de luz na faixa terapêutica entre 660 e 670 nm, com elevadas absorvidades molares. Devido à alta hidrofobicidade, o processo de auto-agregação ocorre facilmente de acordo com o aumento no teor de água, sendo que para a feofitina isso ocorre antes que para a clorofila α , muito possivelmente em função da sua não-metalacção. Estes dados servirão de apoio para estudos posteriores, com o intuito de definir a proporção adequada de solvente orgânico para uma melhor emissão/absorção da clorofila e da feofitina, levando em consideração o fenômeno de auto-agregação.

Agradecimentos

Ao suporte financeiro fornecido pela FAPESP (Projeto de auxílio a pesquisa 06/56701-3), FAPEMIG (EDT-515/05 e CEX-652/05) e CNPq (Universal). A. Lima (IC), Antonio E.H. Machado (PQ 1-C) e N. Hioka (PQ 2) agradecem ao CNPq pelas bolsas concedidas.

Referências

-Dolphin, D.; **The porphyrins. Physical Chemistry.** Part C (vol v). Academic Press Inc., New York, EUA, 1978.

- Nyman, E. S. and Hynninen, P. H.
Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy
Journal of photochemistry and photobiology B- biology 73 (1-2): 1-28 JAN 23 2004

- Kasha, M., **Radiation Research**, 20, p.55-71 1963.

- Arbeloa, I. L.; Ojeda, P. R. **Chem. Phys. Letters**, 87(6), p.556-560. 1982.