

Verificação da Atividade Fotodinâmica da Clorofila a e da Feofitina a

Carlos Eduardo Guerino Biondo (IC), Adriana Passarella Gerola (IC), Angela Scarcelli (PET), Rafael Ribeiro da Silva Soares (PG), Vagner Roberto de Souza (PQ) e Noboru Hioka* (PQ).

Departamento de Química – Universidade Estadual de Maringá (UEM). Avenida Colombo, 5790 CEP 87020-900

*nhioka@uem.br

Palavras Chave: clorofila a, feofitina a, atividade fotodinâmica

Introdução

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica promissora para o tratamento de doenças que possuem crescimento celular anormal, como o câncer. A TFD decorre da interação de um fotossensibilizador com luz de comprimento de onda adequado, acarretando na formação de oxigênio singlete (1O_2), principal espécie citotóxica na TFD. A clorofila a (Clo a) e a feofitina a (Feo a) apresentam características interessantes para aplicação em TFD, entre elas, forte absorção na região de 660 a 670 nm, fácil obtenção e baixo custo, além de serem capazes de gerar oxigênio singlete (alto rendimento quântico de oxigênio singlete, F_2 , em solvente orgânico puro). Em meio aquoso, sofrem auto-agregação, fator que diminui drasticamente o valor de F_2 . Assim sendo, faz-se necessário investigar a atividade fotodinâmica desses compostos, para posteriormente realizar-se testes *in vitro* com microorganismos (modelos para células tumorais), objetivando verificar o real potencial aplicativo em TFD.

Resultados e Discussão

Extraíu-se a Clo a a partir de folhas de espinafre; a Feo a foi obtida da Clo a, por reação com HCl em etanol. A purificação se deu por cromatografia de camada delgada circular (Chromatotron) e a caracterização pelos espectros eletrônico na região do VIS e RMN 1H . Iluminando-se soluções de Feo a, em etanol e em água/Tween 80 1,0%, por um longo período de tempo com uma fonte de LED (emissão máxima 665 nm, potência total 30 mW), observou-se que não há reação de foto-branqueamento. No entanto, este fato foi observado para as soluções de Clo a, em ambos os solventes, inclusive em soluções desaeradas (ausência de O_2), evidenciando que a degradação da Clo a ocorre independentemente da ação do 1O_2 . Para verificar a ação fotodinâmica dos compostos foi realizado o teste do ácido úrico (A.U.). Uma solução contendo A.U. (10^{-4} mol L^{-1}) e o composto a ser testado (10^{-6} mol L^{-1}) em etanol foi colocada em uma cubeta de quartzo e iluminada com a fonte de LED, sob agitação e à temperatura ambiente. Registraram-se espectros de absorção a cada 3 minutos de iluminação. Observou-se a diminuição do pico característico do A.U. (293 nm) à

medida que se aumentava o tempo de iluminação da solução; este fato está relacionado com a formação de 1O_2 , que reage com o A.U. provocando a sua degradação. No sistema da Clo a, concomitante ao decréscimo da banda do A.U., observou-se a diminuição dos seus picos característicos, embora a presença do A.U. na solução retardou o início do processo de foto-branqueamento. A partir do teste do A.U., calculou-se a atividade fotodinâmica (PA) utilizando a seguinte equação: $PA = \Delta A_{A.U.} \cdot 10^5 / W \cdot t \cdot A_{PS\lambda irr}$, onde $\Delta A_{A.U.}$ = variação da absorbância do A.U. durante o tempo de iluminação; W = potência da fonte (mW); t = tempo (s) e $A_{PS\lambda irr}$ = absorbância do fotossensibilizador no comprimento de onda da irradiação. Os resultados obtidos foram (em escala comparativa): 2,11 (Clo a) e 3,99 (Feo a). Realizou-se um ensaio biológico preliminar com *Artemia salina*, cujo resultado pode ser relacionado com uma possível atividade antitumoral. Após a eclosão dos ovos de *A. salina*, colocou-se cerca de 20 camarões em cada tubo teste contendo Clo a ou Feo a, em água/Tween 80 1,0%, em diversas concentrações. Um grupo de amostras recebeu iluminação com a fonte de LED por uma hora. A contagem dos animais vivos e mortos, após o teste, evidenciou que a luz potencializou a atividade biológica dos compostos frente ao microcrustáceo. Diante dos resultados obtidos avaliou-se a ação fotodinâmica da Clo a e da Feo a frente a cultura de bactérias *Staphylococcus aureus*. A Clo a não apresentou ação fotodinâmica no crescimento bacteriano em todas as concentrações testadas, enquanto que a Feo a apresentou baixo efeito, e somente em concentrações mais elevadas.

Conclusões

A atividade fotodinâmica dos compostos (relacionada à capacidade de gerar 1O_2) pôde ser evidenciada através do teste do A.U., embora a Clo a sofra reação de foto-branqueamento. Apesar do ensaio com *A. salina* ter sido bem sucedido, os testes *in vitro* com culturas de *S. aureus* mostraram que apenas a Feo a apresentou uma pequena ação fotodinâmica. A atividade fotodinâmica da Feo a é maior que a da Clo a.

Agradecimentos

CNPq, PET/SESu/MEC e Fundação Araucária - PR