

Síntese e Atividade de um derivado da Clorofilina-M

Adjaci Uchoa Fernandes^{*1,2} (PQ), Thatiane Feher¹ (IC), Maurício da Silva Baptista¹ (PQ).

adjaci@usp.br

¹Instituto de Química – USP, ²Departamento de Química FFCLRP-USP

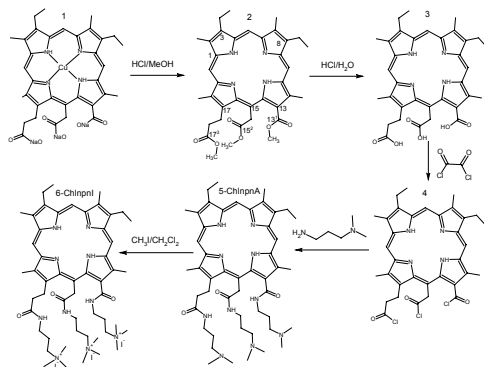
Palavras Chave: PDT, Novo Fotossensibilizador, Clorofilina-M

Introdução

Ação fotodinâmica refere-se à destruição do tecido vivo por luz visível em presença de um fotossensibilizador (Fs) e de oxigênio. Com o intuito de desenvolver a ação fotodinâmica como terapia (PDT) inúmeros Fs tem sido sintetizadosⁱ, tanto a partir de substâncias naturais (Photofrin, derivado da protoporfirina e clorina E₆ derivada da clorofila a), como de origem sintética, por exemplo os fenotiazínicos e as ftalocianinas. A clorofilina-M é um novo Fs, que foi desenvolvida a partir de um intermediário sintético da clorofila a na síntese de Woodwardⁱⁱ. A substância precursora, por estar metalada com Cu²⁺ não é viável para aplicação em PDT. A funcionalização com cargas positivas de maneira assimétrica deve facilitar a ligação em membranas e especialmente acúmulo na mitocôndria.

Resultados e Discussão

A Clorofilina-M, um novo Fs, assimétrico (Esq. 1), foi obtida por desmetilação da cupro-clorofilina e funcionalização nas posições 13¹, 15² e 17³. A caracterização estrutural foi realizada mediante espectroscopia de absorção, fluorescência, infravermelho e RMN ¹H e ¹³C a 500 MHz e espectrometria de massas. Também foram determinadas as propriedades fotofísicas e a atividade fotodinâmica em células Hela. Por ser um fotossensibilizador com potencial aplicação em PDT foi encaminhado o pedido de patente e concedido, com registros P. I. 0. 802.590-8.



Esquema 1: Rota sintética de obtenção dos novos Fs porfirínicos derivados de Cu²⁺-clorofilina.

Os compostos 5 e 6, apresentam forte absorção na janela terapêutica, com λ_{max} em 652 nm e ϵ de $3,7 \times 10^3$ e $3,5 \times 10^3$ respectivamente. Alto rendimento

quântico de oxigênio singlete, 0,57 e 0,56 (fig.1) e baixo rendimento quântico de fluorescência, 0,015 e 0,014. As estruturas triamina e tricatiônica (5 e 6) apresentam excelente coeficiente de partição n-octanol/água, próximo de zero ou ligeiramente negativa (composto 6) entre os pH 4 e 10 (fig.2A) e altas taxas de incorporação em lipossomos, em células e em mitocôndrias (fig.2B). Os estudos com células Hela *in vitro*, mostrou atividade fotodinâmica superior ao azul de metileno (Fig 2C), Fs com atividade fotodinâmica altamente difundida e que apresenta absorção na mesma região, da janela terapêutica. E por ser catiônico, a clorofilina-M é atraída para mitocôndria pelo potencial eletrostático.

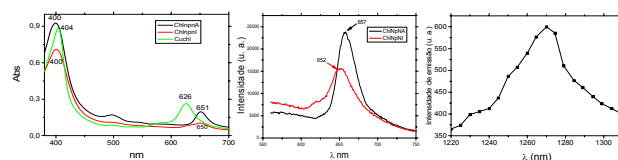


Figura 1:(A) Espectros de Absorção, (B) Espectro de emissão, (C) Espectro de emissão de oxigenio singlete.

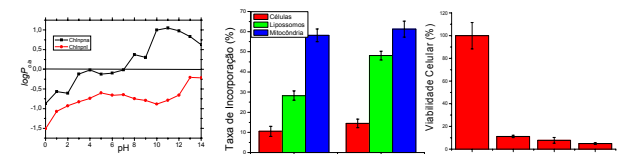


Figura 2:(A) Coeficiente de partição octanol/água (B) Taxa de incorporação e (C) viabilidade Celular.

Conclusões

A Clorofilina-M foi sintetizada com rendimento global de reação de 56%, apresenta características físicas e fotofísicas favoráveis para PDT, com elevado índice de internalização celular e alta fototoxicidade. Este novo Fs induz a morte celular superior ao azul de metileno por um fator de dez vezes, quando considerado a relação de fótons absorvidos.

Agradecimentos: FAPESP e CAPES

BONNETT, R et al Photobleachin of sensitisers used in photodynamic therapy. *Tetrahedron*, 2001,57, 9513-9547.

Woodward R. B et al The total synthesis of chlorophyll a *Tetrahedron* 1990,46, 7599-7659.