

Estudo quimiométrico do equilíbrio ácido-base de derivados de Clorofila e análise de sua partição no sistema bifásico água-octanol.

Amanda Santana¹ (IC), Tayana Mazin Tsubone¹ (IC), Adriana P. Gerola¹ (PG), Wilker Caetano^{1*} (PQ), Noboru Hioka¹ (PQ). e-mail: *wcaetano@uem.br.

¹Departamento de Química – Universidade Estadual de Maringá – PR

Palavras Chave: clorofila, pKa, partição.

Introdução

A clorofila e alguns derivados foram sintetizados no grupo: clorofila de zinco (Zn-Chl), clorofilida de zinco (Zn-Chld), feofitina (Pheo), feoforbídeo (Pheid) e a clorofila de cobre (Cu-Chl). Absorvem luz na região entre 600-800 nm e possuem alto rendimento quântico de oxigênio singlete (¹O₂), apropriadas para a terapia fotodinâmica (TFD), modalidade médica que usa luz e um fotossensibilizador (FS) para gerar espécies reativas que destroem células-alvo¹. Uma característica importante é a incorporação destes em membranas biológicas, um dos seus principais alvos na TFD. Outro fator relevante é o estado de carga da molécula (protonação), que pode ser influenciado diretamente pela sua interação com sistemas biológicos, modulando suas propriedades físico-químicas e fotofísicas, relevantes na TFD. Neste apresentam-se os estudos dos equilíbrios ácido-base; posteriormente, a tendência primária de incorporação em sistemas-modelo e membranas biológicas foi avaliada pelo coeficiente de partição (K_p) dos FS no sistema bifásico água/octanol.

Resultados e Discussão

Os equilíbrios ácido-base do anel porfirínico (pK_{a1}), do grupo carboxílico dos forbídeos (pK_{a2}), e de desmetalização (pK_M) dos FS (μM) foram avaliados por métodos quimiométricos² calculados a partir dos espectros UV-Vis em meio homogêneo (Fig. 1).

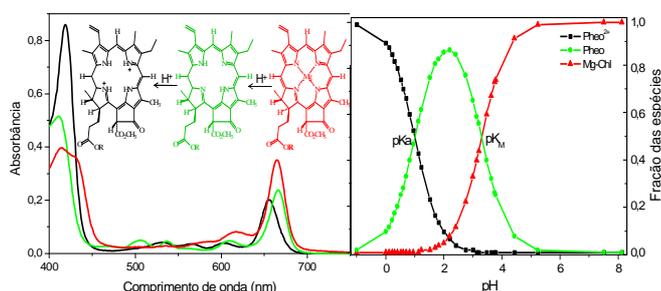


Fig1. Espectros UV-Vis vs pH das espécies Mg-Chl, Pheo e Pheo²⁺ (desmetalado) e sua concentração relativa vs pH em 10% água/etanol.

Para a determinação do coeficiente de partição (K_p), o FS (μM) foi adicionado ao sistema água/octanol a 50% (v/v), e sua concentração nas fases foi avaliada por UV-Vis/Fluorescência, estimando-se os coeficientes de partição (K_p) (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de pK_a, pK_M das clorofilas (FS) em 10% água/etanol(v/v), a 30,0 °C. Os valores de K_p foram estimados em 50% água/octanol (v/v).

FS	pK _{a1}	pK _M	pK _{a2}	K _p
Mg-Chl	1,0	3,5	-	275
Zn-Chl	1,1	2,3	-	247
Cu-Chl	-	-	-	283
Zn-Chld	1,0	1,9	2,4	32
Pheid	1,0	-	5,9	209
Pheo	1,1	-	-	326

Os resultados mostraram um valor obtido por volta de 1 para o pK_{a1} do nitrogênio pirrólico do anel porfirínico, onde o estudo do equilíbrio de desmetalização dos FS (pK_M) seguiu a ordem de estabilidade frente ao pH: Zn-Chld>Zn-Chl>Mg-Chl. O pH de desmetalização da Cu-Chl não foi determinado uma vez que o FS é degradado em meio ácido. O valor de pK_{a2} para o grupo propionato foi maior para o Pheid (5,9) do que para a forma metalada (Zn-Chld; 2,4) atribuído a efeitos de auto-complexação. Por outro lado, os resultados de partição mostraram que os FS possuem significativa tendência de acumular em interfaces hidrofóbicas na seqüência: Pheo > Cu-Chl ≈ Mg-Chl > Zn-Chl > Pheid > Zn-Chld, em acordo com as características estruturais destes compostos. Os de cadeia fitilica apresentam maior hidrofobicidade. A tendência observada das clorofilas metaladas com Mg e Zn particionarem-se para a fase aquosa é devido à capacidade de formarem ligações axiais com água. Por outro lado, o maior tamanho do Zn comparado ao Mg lhe atribui uma localização mais fora do plano, resultando na maior hidrofobicidade da Zn-Chl.

Conclusões

O anel porfirínico (desmetalado) possui o mesmo estado de carga para todos os FS em meio homogêneo. Por outro lado, o pK_{a2} do Pheid (5,9), maior que a forma metalada Zn-Chld deve-se à auto-complexação do Zn²⁺ com o seu grupo propionato¹. Os estudos de partição mostraram que os FS possuem alta afinidade pela fase orgânica (octanol), relacionado à tendência de interação e incorporação interfacial das membranas biológicas, por sua vez dependentes da presença da cadeia fitilica e das características do metal complexado. Estas partições estão correlacionadas a estudos de associação dos FS em formulações contendo micelas neutras, poliméricas e lipossomos.

Agradecimentos

PIBIC/CNPq, Fundação Araucária (PR) e CAPES.

¹ Fiedor, L. et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1777 (2008) 1491–1500.

² Março, P.H.; Scarminio, I.S. *Anal. Chim. Acta* 583 (2007) 138–146.