

ESTUDOS DE ATIVIDADE CATALÍTICA E POTENCIAL OXIDANTE DE COMPOSTOS PORFIRÍNICOS BASEADOS EM FERRO E MANGANÊS

Jéssica Aparecida da Silva Pereira¹; Gerson Profeta de Souza²; Wagner Alves de Souza Judice³; Katia Cristina Ugolini Mugnol⁴

Estudante do Curso de Farmácia; e-mail: jsa_pereira@hotmail.com¹

Estudante do Curso de Farmácia; e-mail: gerson.profeta@hotmail.com²

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: wagnerjudice@gmail.com³

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: kcum@uol.com.br⁴

Área de Conhecimento: Bioquímica

Palavras-chave: Porfirinas, Radicais Livres, Sistemas-modelo de membrana

INTRODUÇÃO

Porfirinas são moléculas de origem natural ou sintética, de coloração forte, que apresentam estrutura química formada por um anel macrocíclico aromático composto de quatro resíduos do tipo pirrol, ligado a um grupo metal em transição, o qual é diretamente responsável pelo seu comportamento. Na grande maioria dos casos o metal envolvido é o ferro, porém podem também apresentar metais como cobre, zinco, manganês, rutênio e outros (OKURA, 2000; KOOLMAN *et al*, 2005; MONTANARI *et al*, 1998). Devido a seu vasto campo de aplicação, a realização de estudos relacionados à compreensão e controle de diversos fenômenos químicos e biológicos envolvendo esta classe de moléculas tem se tornado algo extremamente interessante, principalmente por apresentarem propriedades catalíticas que podem ser aplicadas tanto na terapia anti-tumoral quanto no tratamento de resíduos em efluentes. Além disso, as aplicações biotecnológicas destas estruturas se estendem a diversas áreas, como na construção de nanoestruturas e estruturas supramoleculares capazes de atuar a nível molecular como pequenas máquinas direcionadas a atividades específicas (TATSUMA *et al*, 1992). A capacidade antitumoral de diferentes metaloporfirinas costuma estar associada ao seu potencial de gerar oxigênio singlete quando submetidas à irradiação, o que explica sua associação ao processo de terapia fotodinâmica anti-neoplásica. Além disso, porfirinas baseadas em ferro e manganês são citadas como agentes em potencial no combate ao câncer, principalmente de pele, do tipo não-melanoma, sendo muitas delas utilizadas como fotossensibilizadores. Outro fator atrativo se dá pelo fato destas serem absorvidas cerca de 20 vezes mais por células tumorais do que por células sadias, além da capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio que em contato com a membrana da célula cancerosa promovem danos biológicos que podem ir da alteração ou perda da função celular, até sua morte, o que ocorre mais frequentemente (PIVETTA, 2000). Dentre as porfirinas contendo ferro, existem vários trabalhos envolvendo a classe das meso-tetrakis porfirinas, que vêm sendo empregadas em diferentes estudos envolvendo atividade catalítica, terapia fotodinâmica e aparatos nanotecnológicos como sensores e captadores de energia solar, bem como o estudo de sua interação com interfaces aniônicas, importante evento nos processos de morte celular (TOMA, 2009). Com base nos dados apresentados na literatura, torna-se interessante não somente a investigação dos efeitos destas moléculas sobre linhagens celulares normais e tumorais como também dos mecanismos moleculares prováveis pelos quais isto ocorre.

OBJETIVOS

Investigar o potencial oxidante das porfirinas FeTDC(SO₃⁻Na⁺)PP e MnTDC(SO₃⁻Na⁺)PP frente a sistemas-modelo de membrana e sua atividade catalítica na presença de aldeídos e peróxidos.

METODOLOGIA

Para o atendimento aos objetivos foram empregados dois compostos porfirínicos, um com base em ferro (FeTDC(SO₃⁻Na⁺)PP) e outro em manganês (MnTDC(SO₃⁻Na⁺)PP), os quais foram submetidos a estudos de atividade catalítica frente a peróxidos e aldeídos e de avaliação do potencial de geração de radicais livres em sistemas modelo de membrana mitocondrial. No estudo de atividade catalítica por espectroscopia no UV-vis preparou-se solução com os compostos porfirínicos a 10 µM, em tampão fosfato de sódio 5 mM e pH 7,4. As amostras foram submetidas a leituras cinéticas por 3600 segundos, tendo adição de agentes redutores e oxidantes após 30 segundos do início da corrida. Posteriormente, os tempos desejados foram extraídos e analisados no programa Origin 8.0, onde avaliou-se a capacidade de cada porfirina em doar e receber elétrons. A avaliação do potencial oxidante de cada porfirina foi realizada através de técnica de quantificação de compostos derivados do ácido tiobarbitúrico (TBARs) de Buege e Aust, com modificações (BUEGE *et al*, 1978). Para tanto, realizou-se preparo de lipossomos constituídos de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e cardiolipina (50, 30 e 20% respectivamente) como sistemas biomiméticos de membrana mitocondrial. No preparo das amostras utilizou-se lipídios a 1 mM em tampão fosfato de sódio 5 mM, pH 7,4 e porfirinas nas concentrações de 2 µM, 5 µM, 10 µM, 15 µM e 20 µM. Seguindo o protocolo TBARs o complexo MDA-TBA foi extraído com 1 mL de n-butanol e a absorbância determinada em 532 nm. O valor de absorbância obtido foi multiplicado pelo fator de diluição 3,33 e então utilizado o $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença do ferro garante à porfirina, um espectro característico, com um único pico de alta intensidade de absorbância em 412 nm. Já a porfirina contendo manganês apresenta um espectro com dois picos, em 414 e 467 nm. A ação da porfirina FeTDC(SO₃⁻Na⁺)PP sobre os lipossomos resultou em dano proporcional à sua concentração constatado pelo aumento da produção de MDA, conforme pode ser observado na figura 2A. Quando no sistema foi incluído o *t-butyl* como agente oxidante os danos também foram maiores do que na amostra controle, constituída somente por lipossomos, porém menor do que nas amostras contendo somente a porfirina (figura 2B). Este comportamento pode ser explicado por resultados obtidos nos testes de atividade catalítica. Esta porfirina, na presença de *t-butyl* foi convertida à sua forma Fe⁴⁺ (figura 1) e sofre um *bleaching* gradativo. Desta forma, quando na presença de lipossomos, ocorre um dano significativamente menor. Entretanto, a porfirina MnTDC(SO₃⁻Na⁺)PP protegeu os lipossomos da oxidação espontânea, obtendo-se leituras da concentração de MDA inferior ao da amostra controle.

Figura 1 – Cinética de 3600 segundos realizada em espectrofotômetro Multispec Shimadzu utilizando 10 μM da porfirina $\text{FeTDC}(\text{SO}_3^-\text{Na}^+)\text{PP}$ em tampão fosfato de sódio 5 mM pH 7,4. **A:** adição de 25 μM de *t-butyl*. Linha verde 0 segundos; Linha laranja 30 segundos; Linha azul 500 segundos; Linha roxa 1500 segundos; Linha rosa 1750 segundos. **B:** adição de 1 μM de H_2O_2 . Linha verde 0 segundos; Linha laranja 30 segundos; Linha roxa 1500 segundos; Linha rosa 2000 segundos; Linha azul 3600 segundos.

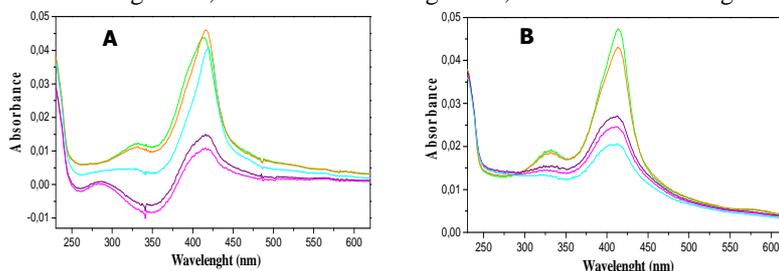


Figura 2 – Dosagem de TBARs em membrana biomimética constituída por 1 mM de PCb 50% PEb 30% CLb 20%, em tampão fosfato de sódio 5 mM pH 7,4. **A:** Porfirina $\text{MnTDC}(\text{SO}_3^-\text{Na}^+)\text{PP}$ nas concentrações de 2 μM , 5 μM , 10 μM , 15 μM , 20 μM . **B:** Porfirina $\text{MnTDC}(\text{SO}_3^-\text{Na}^+)\text{PP}$ nas mesmas condições, na presença de 10 μM de ferro.

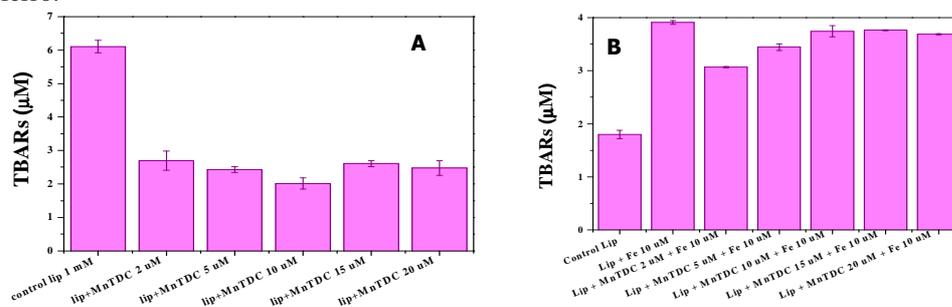
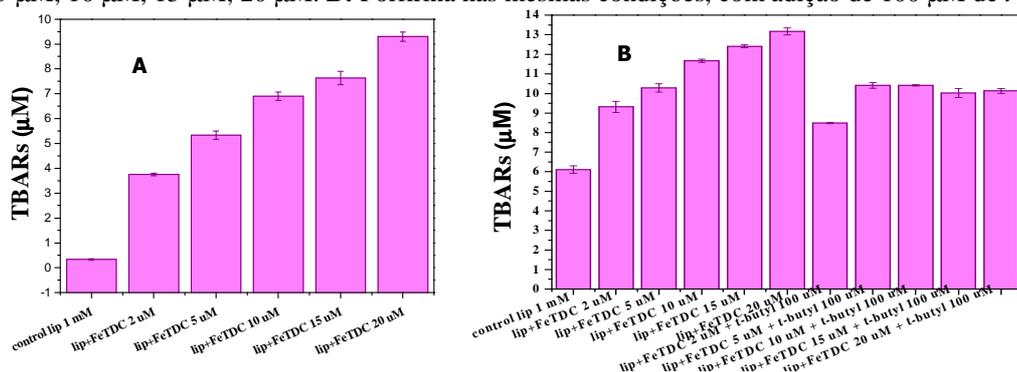


Figura 3 – Dosagem de TBARs em membrana biomimética constituída por 1 mM de PCb 50% PEb 30% CLb 20%, em tampão fosfato de sódio 5 mM pH 7,4. **A:** Porfirina $\text{FeTDC}(\text{SO}_3^-\text{Na}^+)\text{PP}$ nas concentrações de 2 μM , 5 μM , 10 μM , 15 μM , 20 μM . **B:** Porfirina nas mesmas condições, com adição de 100 μM de *t-butyl*.



CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos foi possível demonstrar que o metal presente na estrutura da porfirina altera seu comportamento frente a agentes oxidantes e redutores, suas características espectroscópicas no UV-vis bem como seu potencial como agente pró-oxidante ou anti-oxidante frente a sistemas modelo de membrana. Enquanto a porfirina baseada em ferro atua como pró-oxidante de lipídios e de forma concentração-dependente,

a porfirina baseada em manganês atua como agente protetor contra a oxidação de lipídios induzida pelo oxigênio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUEGE, J. A., AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Rev. Methods in Enzymol*, New York, v. 52, p. 302-310, 1978.

KOOLMAN, J., RÖHM, K-H. *Bioquímica, texto e atlas*. 3. ed., São Paulo, Editora Artmed, p. 6-29, 2005.

MONTANARI, M.L.C.; MONTANARI, C.A.; PILÓ-PELOSO, D. Sistemas Transportadores de Drogas. *Rev. Quím. Nova*, Belo Horizonte, v. 21, n.4, p. 470-476, 1998.

OKURA, I. *Photosensitization of porphyrins and phthalocyanines*. 1. ed., Yokohama, Editora Kodansha - Gordon and Breach Science Publishers, p. 4-8, 2000.

PIVETTA, M. Arquitetos de moléculas. *Rev. Pesquisa Fapesp*, 60. ed., 2000. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2000/12/01/arquitetos-de-moleculas/>>. Acesso em 20 de junho de 2013 às 22h46.

TATSUMA, T., WATANABE, T. Model analysis of enzyme monolayer- and bilayer-modified electrodes: the transient response. *Anal. Chem.*, v. 64, n.6, p. 630-635, 1992.

TOMA, H.E. *O mundo nanométrico: a dimensão do novo século*. 2. ed., São Paulo, Editora Oficina de Textos, 2009.