

ESTUDOS CINÉTICOS DA FOTOSSÍNTESE DO FÁRMACO HIPERICINA A PARTIR DA PROTOHIPERICINA EM MEIO HOMOGÊNEO E MICROHETEROGÊNEO.

Mariana Alves Zampar (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Wilker Caetano (Orientador),
e-mail: mariana.zampar@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas/
Departamento de Química/Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra/Química

Palavras-chave: Hipericina, Sistemas surfactantes, Reações fotoquímicas.

Resumo

O projeto teve como objetivo realizar o estudo da etapa fotossintética da Hipericina (HIP) a partir do composto Protohipericina (Protohip), visando obter aplicações em Terapia Fotodinâmica (TFD). Para isso realizou-se a síntese do candidato a pró-fármaco (Protohip), o qual foi posteriormente iluminado, ativando a reação de foto-ciclização da Protohip que leva à formação da Hipericina. Foi utilizado um mini foto-reator como fonte de radiação luminosa para ativação da reação. Esse processo foi investigado em meio homogêneo (etanol e acetona) e em sistemas micro-heterogêneos formado pelos surfactantes iônicos (SDS e CTABr), tendo como objetivo avaliar as constantes de velocidade da foto-conversão nos diversos meios, visando a possibilidade de estabelecimento de um protocolo voltado para química verde.

Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma modalidade clínica que se baseia direta ou indiretamente em reações de natureza fotoquímica, ou seja, utiliza-se luz para ativar um composto fotossensibilizador gerando espécies altamente reativas, como por exemplo o oxigênio singlete 1O_2 , que desencadeiam os processos de morte celular nos tecidos alvo (Simplicio et al., 2002).

As reações fotoquímicas são exemplos de fenômenos de interação luz e matéria de grande importância científica, pois contribuem para existência de uma vasta gama de compostos que não poderiam ser obtidos pelos métodos térmicos convencionais. Deste modo, utilizando a luz como fonte de energia, as moléculas absorvem a radiação na forma de fótons passando para um estado eletrônico excitado, com características foto-físicas e físico-químicas diferentes da molécula em seu estado fundamental (Salem, 1975).

A Hipericina é um composto pertencente à família das naftodiantronas encontrado no extrato de plantas do gênero *Hypericum perforatum*. A obtenção sintética da Hipericina ocorre a partir de uma reação fotoquímica que leva ao fechamento do segundo anel na parte central da molécula,

transformando a Protohip em Hipericina (Figura 1) (Kitanov, 2001). A Hipericina é uma molécula promissora para o uso como fotossensibilizador em TFD no entanto possui elevado caráter hidrofóbico, necessitando ser solubilizada em sistemas surfactantes nanoestruturados.

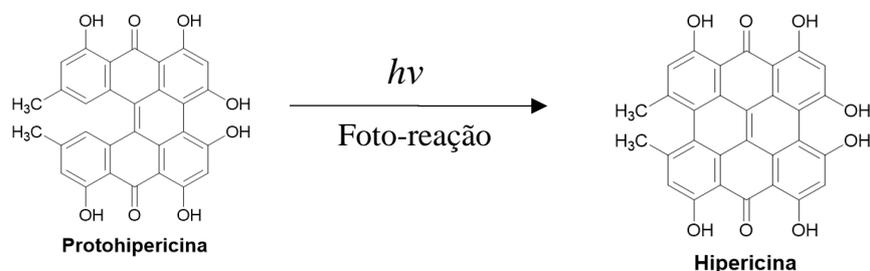


Figura 1: Representação esquemática da foto-ciclicação da Protohipericina

Os surfactantes iônicos podem ser classificados de acordo com seu estado de carga ou grupo cabeça polar, sendo utilizados como sistemas nanoestruturados solubilizadores de drogas hidrofóbicas. Em meio aquoso seus monômeros se auto-estruturam para formar micelas iônicas com core hidrofóbico capaz de solubilizar o fotossensibilizador (hidrofóbico). Neste trabalho foram utilizados os surfactantes dodecil sulfato de sódio (SDS, aniônico) e o brometo de cetil trimetilamônio (CTABr, catiônico) (Figura2)(Yokoyama, 2005).

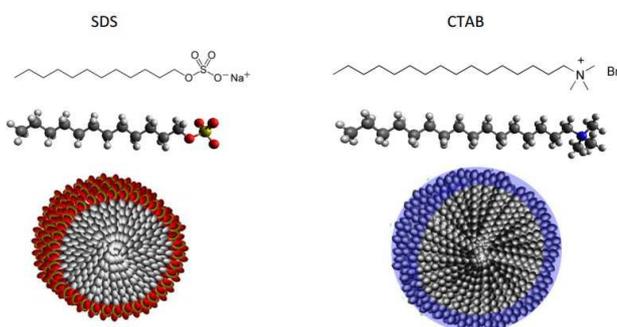


Figura 2: Estrutura do surfactante aniônico SDS e catiônico CTABr e representação das suas respectivas micelas.

Materiais e métodos

Materiais

Todos os solventes utilizados eram de grau analítico e foram usados sem purificação adicional. Os surfactantes SDS e CTAB todos Sigma-Aldrich e sendo secos. Utilizou também solução estoque da Protohip ($\sim 6,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), preparados semanalmente em etanol. Os equipamentos utilizados para o desenvolvimento desse trabalho foram: espectrofotômetro Varian Cary 50, espectrofluorímetro Cary Eclipse, ambos com controle peltier de temperatura, espectroradiômetro Ocean Optics USB 2000+ e o mini fotoreator de chip LED emitindo luz verde ($\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$).

Métodos

A Protohip foi sintetizada através de metodologia descrita na literatura e otimizada em nosso grupo de pesquisa. Foi realizado a determinação das características espectroscópicas dos compostos avaliados, afim de calibrar e padronizar as concentrações dos FS nos meios avaliados. Foi determinado a porcentagem de água agregacional crítica (PAAC) em misturas de acetona/água, sendo um parâmetro proporcional à hidrofobicidade da molécula. Foi construído o mini foto-reator, utilizando um chip LED de cor verde ($\lambda_{\text{max}} = 522 \text{ nm}$), um suporte de metal e um cooler. As constantes cinéticas de foto-conversão da Protohip em Hipericina foram estimadas nos diversos meios avaliados através do tratamento teórico dos dados cinéticos experimentais segundo um modelo de pseudo-primeira ordem.

Resultados e Discussão

Inicialmente foi construído o mini foto-reator e realizada a caracterização fotônica do mesmo. Foram avaliadas a irradiância luminosa e o tempo de estabilização do fluxo de luz sendo que o LED deve ficar cerca de 40 min ligado antes da realização dos experimentos, para que tenha uma fluência de luz constante.

Foi realizada a síntese da Protohip por meio da rota sintética utilizando o emodin como reagente de partida. A caracterização da molécula foi feita através de RMN de ^1H , bem como, por meio dos perfis espectrais da Protohip e da HIP.

Também foi determinado a porcentagem de água agregacional observando-se que em HIP 50% de água, enquanto para Protohip foi de 60% (Figura 3), indicando uma menor tendência à agregação, recomendam o uso da Protohip como pró-fármaco, pois ao armazenar a solução tenham menores taxas de auto-agregação para a Protohip do que para a HIP.

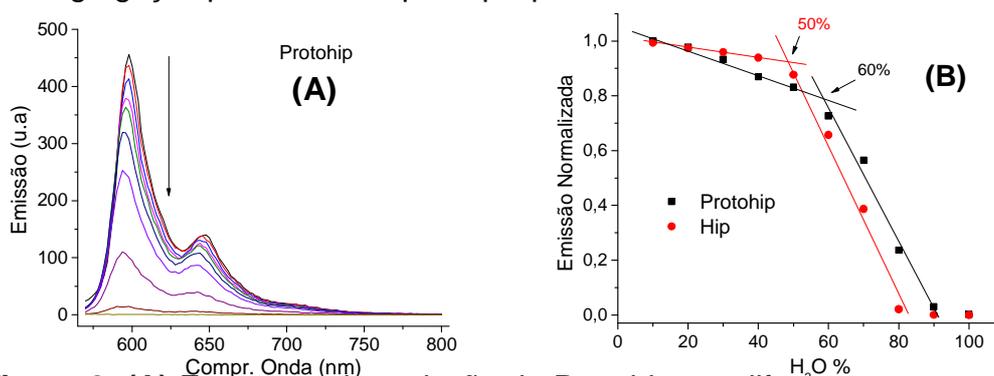


Figura 3: (A) Espectros de emissão da Protohip em diferentes porcentagens de água (v/v) na mistura acetona/água. (B) Intensidade de fluorescência nos máximos de emissão ($\lambda \approx 600 \text{ nm}$) como uma função da porcentagem de água (v/v) em misturas acetona/água, para os FS Protohip e HIP.

As avaliações cinéticas foram feitas por absorção eletrônica UV-Vis em acetona, etanol, SDS e CTAB afim de avaliar as taxas de foto-conversão da Protohip em Hipericina, obtendo as constantes de velocidade em cada meio.

De acordo com os resultados obtidos em meio homogêneo, o etanol apresenta uma maior constante de velocidade do que a acetona, deste modo a reação de foto-ciclização da Protohip é mais rápida em etanol. Em meio aquoso formado pelos surfactantes iônicos, a maior velocidade de foto-reação foi verificada em SDS, sendo a constante de velocidade aproximadamente quatro vezes maior do que em CTAB. Deste modo, comparando as constantes de velocidade dos solventes orgânicos e dos surfactantes iônicos, pode-se notar que em SDS a constante de velocidade é maior, favorecendo a foto-reação da Protohip (Tabela 1).

Tabela 1: Valores de constante de velocidade de foto-conversão (k) em solventes acetona e etanol e surfactantes iônicos SDS e CTAB, iluminados com luz verde a 30°C.

	k (ms ⁻¹)
Acetona	6,6 (± 0,1)
Etanol	7,8 (± 0,1)
SDS	21,9 (± 0,9)
CTAB	4,7 (± 0,3)

Conclusões

Os estudos de porcentagem de água agregacional crítica demonstram que a Protohipericina é menos hidrofóbica do que a Hipericina, ou seja, está menos sujeita a processo de auto-agregação, o que pode representar vantagens na etapa de formulação dos FS.

A foto-ciclização da Protohipericina para a obtenção de Hipericina foi realizada com sucesso em sistemas aquosos nano-estruturados, formados por micelas de surfactantes iônicos, sendo este um resultado importante do ponto de vista da química verde.

Agradecimentos

CNPQ, CAPES, Fundação Araucária (SETI/UGF-PR)

Referências

- KITANOV, G. M. “**Hypericin and pseudohypericin contents in some Hypericum species growing in Turkey**”. *Pharmaceutical Biology* 46: 288–91. doi:10.1080/13880200701741211. 2001.
- SALEM, L. “**Theory of Photochemical Reactions**”. *Science* 191 (August): 822–30. 1975.
- SIMPLICIO, F. I.; MAIONCHI, F.; e HIOKA, N. “**Terapia Fotodinâmica: Aspectos Farmacológicos: Aplicações e Avanços Recentes no Desenvolvimento de Medicamentos**”. *Quimica Nova* 25 (5): 801–7. 2002.
- YOKOYAMA, M. “**Polymeric micelles for the targeting of hydrophobic drugs**”. In *Polymeric Drug Delivery Systems*. Boca Raton: Taylor & Francis Group. 2005.