

INVESTIGAÇÃO DO EFEITO FOTODINÂMICO DE PORFIRAZINAS DE MAGNÉSIO SUBSTITUÍDAS COM FLÚOR E GRUPOS TRIFLUOROMETILA

Otávio Augusto de Oliveira Reis ¹

Camila Fontes Neves da Silva ¹, Thiago Teixeira Tasso ²

Maurício da Silva Baptista ¹

¹ Instituto de Química / Universidade de São Paulo; ² Instituto de Ciências Exatas / Universidade Federal de Minas Gerais

otavioaugusto-100@usp.br

Objetivos

Neste projeto, estudamos a interação de octafenil-porfirazinas de magnésio substituídas com flúor e grupos trifluorometila (FMgPz e CF₃MgPz) com modelos de membranas celulares, além de termos analisado os danos fotoinduzidos nessas membranas após irradiação das porfirazinas.

Pretendemos correlacionar as propriedades fotofísicas das porfirazinas com os danos fotoinduzidos em membranas após irradiação desses compostos na presença dos modelos de membranas, enquanto hipotetizamos acerca dos mecanismos envolvidos nos danos fotoinduzidos às membranas causados pelas porfirazinas.

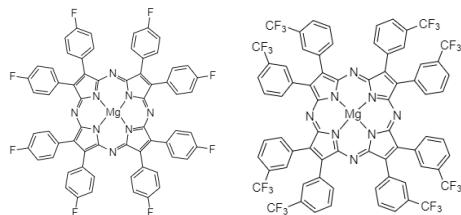


Figura 1: Estruturas de FMgPz e CF₃MgPz, respectivamente

Métodos e Procedimentos

Os compostos FMgPz e CF₃MgPz foram sintetizados pelo laboratório do prof. Dr. Thiago Teixeira Tasso, da Universidade Federal de

Minas Gerais (UFMG). Caracterizações espectroscópicas foram realizadas antes desse projeto para investigação das propriedades fotofísicas das porfirazinas, junto com análises de rendimento quântico de oxigênio singuleto (¹O₂) e ensaios de fotodegradação de ambos os compostos ¹.

Para avaliar os danos fotoinduzidos em modelos de membranas celulares, foram preparadas vesículas unilamelares pequenas (SUVs) compostas por 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC). 5(6)-carboxifluoresceína (CF), um corante verde fluorescente, foi encapsulado pelas SUVs, e ensaios de vazamento de membrana foram realizados após irradiação das microplacas contendo as SUVs com as porfirazinas permeabilizadas nas membranas. Todas as microplacas foram irradiadas com LED ($\lambda = 630$ nm). Fluorescência da CF, com liberação em 515 nm, foi monitorada em função do tempo de irradiação, com excitação em 480 nm. Um leitor de placas SpectraMax i3 foi utilizado para registrar a fluorescência em 515 nm a cada 2 minutos de irradiação, por um período de 30 minutos. Ao final do experimento, Triton X-100 foi adicionado em cada poço, para gerar a fluorescência máxima que será utilizada para normalização dos valores de liberação de CF. A liberação foi calculada a cada 2 minutos utilizando a Equação 1:

$$CF_{Liberada}(\%) = \left(\frac{F_t - F_0}{F_{max} - F_0} \right) \cdot 100$$

Equação 1: CF liberada (%), com F_t = fluorescência a cada tempo; F_0 = fluorescência inicial, a $t = 0$ minutos; F_{max} = fluorescência máxima, obtida após adição de Triton X-100 em cada poço da microplaca.

Resultados

Os experimentos de danos em membranas mostraram que a CF_3MgPz causou uma maior liberação de CF comparada a $FMgPz$, após 30 minutos de irradiação. A Figura 1 mostra uma liberação de CF, após 30 minutos de irradiação, cerca de 5.9 vezes maior para a CF_3MgPz comparada a $FMgPz$. Nenhuma mudança significativa foi observada para as porfirazinas no escuro, o que reforça o efeito fotoinduzido para geração de danos em membranas pelas porfirazinas.

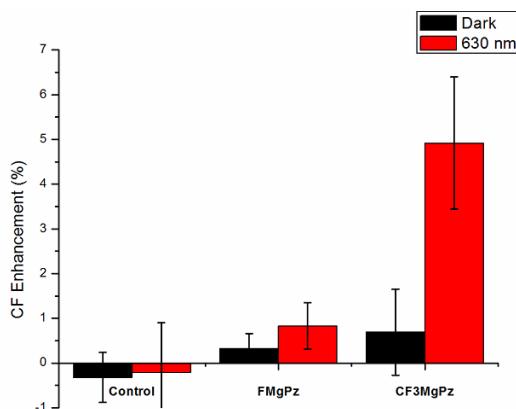


Figura 2: %CF_{Liberada} em função do tempo de irradiação ($\lambda = 630$ nm), usando lipossomos de POPC e 0.25 mol% de CF_3MgPz e $FMgPz$, em meio contendo solução tampão 10 mM Tris (pH = 8), 0,3 M de cloreto de sódio.

A intensidade de fluorescência devida a CF aumenta com o tempo de irradiação das porfirazinas, o que pode ser causado pela produção de 1O_2 que leva a oxidação dos lipídios insaturados das membranas, ou formação de radicais e/ou reações diretas com os lipídios das membranas, acarretando na geração de poros na estrutura das membranas, acompanhada pela liberação de CF².

Conclusões

Recentemente, Tasso et al. estudaram a taxa de fotodegradação de ambas as porfirazinas e a capacidade das mesmas de gerar danos fotoinduzidos em SUVs compostas por dioleolfosfatidilcolina (DOPC). Nossos achados nesse projeto corroboram com os dados obtidos por esse estudo realizado anteriormente. Ainda que as duas porfirazinas tenham rendimentos quânticos de 1O_2 iguais ($\phi_A = 0.34$, para ambos os compostos)¹, que é a principal espécie reativa de oxigênio (ERO) gerada após fotoexcitação de uma molécula fotossensibilizadora (FS) que causa danos às membranas³, a CF_3MgPz causou mais danos às SUVs de DOPC após irradiação (ca. 4 vezes mais danos). Um resultado muito similar foi obtido em nosso projeto, com SUVs de POPC ao invés de SUVs de DOPC.

Tais dados auxiliam no desenvolvimento de hipóteses acerca dos mecanismos envolvidos nos danos fotoinduzidos em membranas após irradiação das porfirazinas. Tendo em vista que a taxa de fotodegradação foi muito maior para a CF_3MgPz comparada a $FMgPz$ ¹, e que ambos os compostos têm rendimentos quânticos de 1O_2 iguais, reações do tipo contato-dependente podem ser o principal caminho pelo qual as porfirazinas geram danos às membranas, uma vez que a fotodegradação se correlaciona muito bem com reações contato-dependente entre o FS fotoexcitado e as membranas^{1,4}.

Referências Bibliográficas

- [1] Tasso, Thiago T., et al. "Photobleaching efficiency parallels the enhancement of membrane damage for porphyrazine photosensitizers." *Journal of the American Chemical Society* 141.39 (2019): 15547-15556.
- [2] Zhang, Daxian., Yasuda, Tatsushi., and Okada, Shigeru., "A carboxyfluorescein-enveloping liposome as a physicochemical damage model of the biomembrane for the study of lipid peroxidation." *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 14.2 (1993): 83-90.
- [3] Bacellar, Isabel OL, and Mauricio S. Baptista. "Mechanisms of photosensitized lipid oxidation and membrane permeabilization." *Acs Omega* 4.26 (2019): 21636-21646.
- [4] Bacellar, Isabel OL, et al. "Photosensitized membrane permeabilization requires contact-dependent reactions between photosensitizer and lipids." *Journal of the American Chemical Society* 140.30 (2018): 9606-9615.