SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOSSISTEMAS PARA TERAPIA FOTODINÂMICA VIA CONJUGAÇÃO DE PORFIRINAS DE CASCAS DE OVOS COM NANODIAMANTES

Jennifer Conceição da Silva[1], Breno Mirasol Hardt[1], Eduardo do Valle Ricardo[2,3], Patrícia Melo Alencar[1], Andrea Liu[1], Gabriela Ramos Hurtado[2,3], Carolina Ramos Hurtado[1].

[1]Laboratório de Nanomateriais Bioativos, Centro de Pesquisa e Inovação em Biotecnologia e Sensores, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP), 12223-201, São José dos Campos-SP, Brasil, jennifer.c@aluno.ifsp.edu.br, carolina.hurtado@ifsp.edu.br
[2]Laboratório de Nanomateriais e Nanotoxicologia, Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), 12231-280, São José dos Campos-SP, Brasil.
[3]Instituto de Estudos Avançados do Mar (IEAMar), Universidade Estadual Paulista (UNESP), 12247-004, São José dos Campos-SP, Brasil.

Resumo

A Terapia Fotodinâmica (TFD) utiliza fotossensibilizadores ativados por luz contra patógenos. As porfirinas de cascas de ovos constituem fontes naturais sustentáveis, embora sofram autoagregação em meio aquoso. Este trabalho realizou a extração ácida de porfirinas de cascas de diferentes aves (codorna, marreco, perua e galinhas: marrom, verde claro, verde escuro e primeiro vermelho) com etanol e ácido sulfúrico (3%), seguida de partição em clorofórmio. A espectroscopia UV-Vis (300 a 800 nm) confirmou a Protoporfirina IX íntegra pela banda Soret em 408 nm e bandas Q secundárias, destacando-se a casca de codorna com maior absorbância (2,09). A adsorção nos nanodiamantes foi comprovada pela análise espectroscópica do nanoconjugado nanodiamante-porfirina (ND-Porf) obtido de casca vermelha, evidenciando a retenção da banda óptica sobreposta ao espalhamento característico dos nanodiamantes e consolidando a viabilidade do nanossistema para TFD.
Palavras-chave: Porfirinas. Cascas de ovos. Espectroscopia UV-Vis. Nanodiamantes. Terapia fotodinâmica.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra (Química).

Introdução

A Terapia Fotodinâmica (TFD) tem se consolidado como uma alternativa promissora aos tratamentos antimicrobianos e antitumorais convencionais, sobretudo pelo combate a patógenos sem indução de resistência a medicamentos. O mecanismo de ação baseia-se na administração de um composto fotossensibilizador (FS) que, ao ser fotoativado por luz em comprimento de onda específico e na presença de oxigênio, gera espécies reativas de oxigênio capazes de inativar células-alvo por oxidação localizada (Hamblin, 2016; Liu et al., 2015).

Dentre os compostos com atividade fotossensibilizadora, as porfirinas se destacam por sua intensa absorção óptica. Na natureza, as porfirinas estão presentes nas cascas de ovos de diversas espécies de aves (como codornas, peruas, marrecos e galinhas), desempenhando funções biológicas de resistência mecânica, camuflagem e defesa antimicrobiana fotoinduzida (Ishikawa et al., 2010; Kennedy; Vevers, 1976). A extração desses pigmentos a partir de resíduos de cascas de ovos representa uma fonte sustentável e acessível para o isolamento deste fotossensibilizador.

Entretanto, porfirinas livres em solução aquosa tendem a sofrer autoagregação, diminuindo significativamente sua fotoatividade e rendimento de geração de espécies ativas (Yang et al., 2021). Para superar essa limitação, os nanodiamantes (NDs) surgem como carreadores biocompatíveis de grande interesse. Compostos por carbono sp^3, os NDs possuem elevada estabilidade química e superfície funcionalizada propícia à fixação de fotossensibilizadores (Wehling et al., 2014).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a extração e a caracterização espectroscópica comparativa por UV-Vis de porfirinas extraídas de cascas de ovos de diferentes

espécies e tonalidades, além de avaliar a ligação com os nanodiamantes por meio da análise do conjugado modelo obtido com o extrato de casca de ovo vermelho.

Metodologia

A matéria-prima compreendeu cascas de ovos de diferentes espécies e colorações: codorna, marreco, perua e galinha (cascas identificadas como marrom, verde claro, verde escuro e vermelho). As cascas foram previamente lavadas com água destilada, desprovidas de membranas internas, trituradas em liquidificador e passadas por peneira fina para a obtenção de um pó homogêneo.

Para o procedimento de extração, pesou-se 0,5 g do pó de cada tipo de casca em frascos individuais, adicionando-se 10 mL de etanol e solução aquosa de ácido sulfúrico a 3% (v/v). As misturas foram deixadas em repouso ao abrigo da luz para a dissolução do carbonato de cálcio e liberação do pigmento durante uma semana. Em seguida, os sobrenadantes foram recolhidos, transferidos para tubos do tipo Falcon e centrifugados para a remoção total de resíduos insolúveis das cascas.

O isolamento das porfirinas foi realizado por partição líquido-líquido, adicionando-se 5 mL de clorofórmio e 15 mL de água destilada a cada sobrenadante límpido. O sistema foi manipulado para promover a transferência da porfirina para a fase clorofórmica inferior. Realizaram-se etapas sucessivas de lavagem com água destilada e centrifugação, acompanhando-se a medição do pH até a neutralização completa do ácido residual, recuperando-se o extrato orgânico solubilizado em clorofórmio.

A caracterização óptica dos extratos puros foi efetuada por espectroscopia de absorção UV-Vis na faixa de 300 a 800 nm, utilizando cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico (b) e clorofórmio puro como branco analítico. Os dados espectrais foram processados no software Origin. A partir dos valores de absorbância máxima corrigida da banda Soret (λ = 408 nm), determinou-se a concentração molar (C) de porfirina em cada extrato aplicando-se a Lei de Beer-Lambert (A = ε x b x C), adotando-se o coeficiente de absortividade molar de referência da Protoporfirina IX em clorofórmio de ε = 171.000 L x mol^{-1} x cm^{-1}.

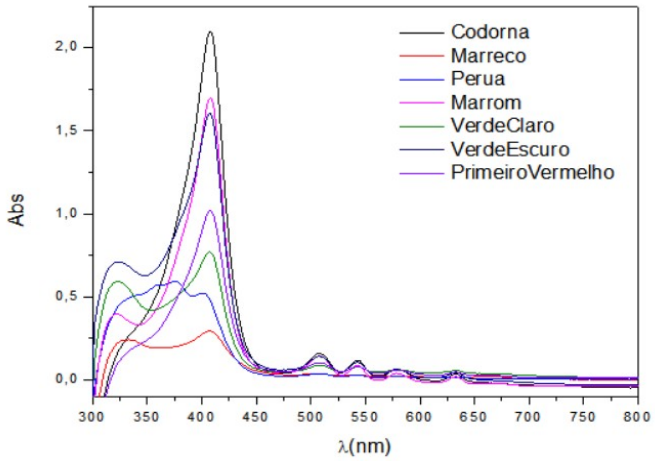
Para avaliar a conjugação com os nanodiamantes, realizou-se a adsorção da porfirina sobre a superfície de nanodiamantes carboxilados (NDs) em suspensão coloidal (100 µg/mL), utilizando como modelo representativo o extrato de casca de ovo vermelho. O nanoconjugado obtido (ND-Porfirina) foi caracterizado por espectroscopia UV-Vis para verificar a retenção do sinal óptico do fotossensibilizador sobreposto ao espalhamento das nanopartículas.

Resultados

A etapa de extração ácida seguida de partição com clorofórmio forneceu extratos límpidos com coloração característica de porfirinas em tons rosados e avermelhados.

A análise de varredura no UV-Vis (300 a 800 nm) confirmou a presença da Protoporfirina IX em todos os extratos avaliados (Figura 1), evidenciada pela banda Soret em aproximadamente 408 nm e pelas quatro bandas Q na região entre 508 nm e 635 nm.

Figura 1 - Espectros de absorção UV-Vis dos extratos de porfirinas obtidos a partir de diferentes tipos e colorações de cascas de ovos de aves (varredura de 300 a 800 nm).



Fonte: Dados experimentais obtidos pelos autores (2026).

A análise comparativa dos espectros (Figura 1) revelou que o extrato da casca de ovo de codorna apresentou a maior intensidade de absorbância de porfirina (absorbância superior a 2,0 em 408 nm), acompanhado pelas amostras vermelho e verde escuro. Os extratos de marreco e perua apresentaram teores menores sob o mesmo protocolo de preparo. Com os valores das absorbâncias dos picos de máxima absorção das porfirinas nos extratos, foi possível calcular as concentrações em cada amostra. Os resultados foram organizados na Tabela 1.

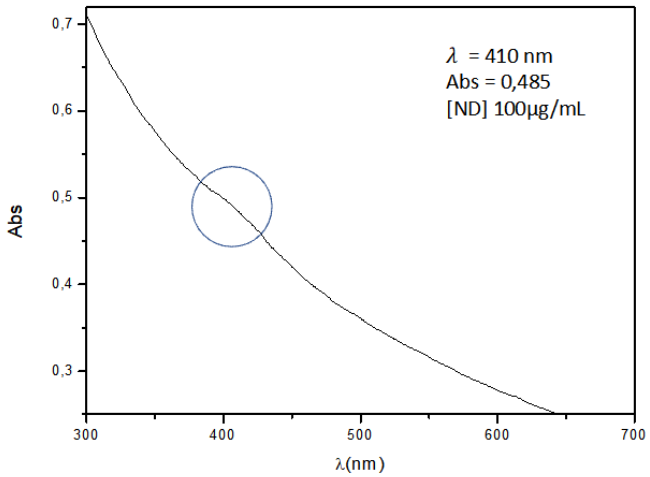
Tabela 1 - Comparativo de absorbância no pico da banda Soret (λ = 408 nm) para os diferentes tipos de cascas.

Tipo/Coloração da Casca	**Absorbância no Pico Soret (408 nm)**	**Concentração Molar Calculada (mol/L)**
Codorna	2,09	$1,22 \times 10^{-5}$
Primeiro Vermelho	1,02	$5,96 \times 10^{-6}$
Verde Escuro	1,60	$9,36 \times 10^{-6}$
Marrom	1,70	$9,94 \times 10^{-6}$
Verde Claro	0,77	$4,50 \times 10^{-6}$
Perua	0,52	$3,04 \times 10^{-6}$
Marreco	0,29	$1,70 \times 10^{-6}$

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A análise por UV-Vis do nanoconjugado (ND-Porfirina de casca de ovo vermelho (Figura 2) mostrou a elevação característica causada pelo espalhamento de luz dos nanodiamantes em suspensão (100 µg/mL), principalmente abaixo de 350 nm. Esse perfil decorre do espalhamento físico dos fótons nas partículas de diamante antes da transmissão óptica. Sobreposta a essa rampa de espalhamento, destacou-se com clareza a inflexão da banda Soret da porfirina na região de 410 nm, confirmando a adsorção superficial do fotossensibilizador e a integridade de sua estrutura química conjugada com os nanodiamantes.

Figura 2 - Espectro de absorção UV-Vis do nanoconjugado modelo nanodiamante-porfirina (ND-Porf) obtido a partir de casca de ovo vermelho.



Fonte: Dados experimentais obtidos pelos autores (2026).

Discussão

A metodologia prática de extração com etanol, ácido sulfúrico (3%) e partição clorofórmica com lavagens sucessivas com água destilada mostrou-se eficiente para romper a matriz inorgânica da casca e estabilizar as porfirinas em meio neutro, assegurando a integridade do cromóforo para a leitura espectrofotométrica.

A confirmação da banda Soret em 408 nm acompanhada pelas quatro bandas Q na região visível concorda com a literatura clássica de porfirinas Protoporfirina IX de base livre (Dolphin, 1978; Ishikawa et al., 2010). As diferenças de intensidade entre as espécies decorrem da variação na deposição de protoporfirinas na fase final de formação da casca, sendo especialmente concentrada nos ovos salpicados de codorna e nas colorações avermelhadas e escuras de galinha (Kennedy; Vevers, 1976; Miksík et al., 1996).

No nanoconjugado modelo (ND-Porf), a presença do sinal em torno de 410 nm junto ao espalhamento dos nanodiamantes está de acordo com o comportamento descrito na literatura para nanopartículas de carbono ligadas a fotossensibilizadores (Yang et al., 2021). O fato de a banda de absorção continuar visível indica que a fixação na superfície não danificou a estrutura química da porfirina, comprovando a viabilidade dessa plataforma para ser aplicada futuramente aos demais extratos (Mochalin et al., 2013; Wehling et al., 2014).

Conclusão

O estudo demonstrou a eficiência da extração ácida para obtenção de Protoporfirina IX a partir de resíduos de cascas de ovos de diversas aves. A espectroscopia de absorção UV-Vis atestou a pureza e a integridade estrutural da porfirina através da identificação clara da banda Soret em 408 nm e das bandas Q secundárias, com rendimento superior para as cascas de codorna. A caracterização do sistema modelo ND-Porfirina de casca vermelha comprovou a preservação óptica do fotossensibilizador ancorado aos nanodiamantes, estabelecendo uma plataforma consistente para futuras aplicações em Terapia Fotodinâmica e fornecendo a base para a expansão completa dos nanoconjugados.

Referências

DOLPHIN, D. The Porphyrins, Volumes 1–7; Academic Press: New York, NY, USA, 1978; pp. 740–810, ISBN 0-12-220107-8.

HAMBLIN, M.R. Antimicrobial photodynamic inactivation: A bright new technique to kill resistant microbes. Curr. Opin. Micro-biol., 2016, 33, 67–73.

ISHIKAWA, S.; SUZUKI, K.; FUKUDA, E.; ARIHARA, K.; YAMAMOTO, Y.; MUKAI, T.; ITOH, M. Photodynamic antimicrobial activity of avian eggshell pigments. FEBS Letters, 2010, 584: 770–774

KENNEDY, G.; VEVERS, H. A survey of avian eggshell pigments. Comp. Biochem. Physiol. B, 1976, 55: 117–123.

LIU, Y.; QIN, R.; ZAAT, S.A.J.; BREUKINK, E.; HEGER, M. Antibacterial photodynamic therapy: Overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. J. Clin. Trans. Res. 2015, 1, 140–167.

MIKSÍK, I.; HOLÁN, V.; DEYL, Z. Avian eggshell pigments and their variability. Comp. Biochem. Physiol. B. 1996, 113: 607–612.

MOCHALIN, V.N.; PENTECOST, A.; LI, X-M.; NEITZEL, I.; NELSON, M.; WEI, C.; HE, T.; GUO, F.; GOGOTSI, Y. Adsorption of Drugs on Nanodiamond: Toward Development of a Drug Delivery Platform. Molecular Pharmaceutics, 2013, 10 (10), 3728-3735.

WEHLING, J.; DRINGEN, R.; ZARE, R.N.; MAAS, M.; REZWAN, K. Bactericidal activity of partially oxidized nanodiamonds. ACS Nano, 2014, 8, 6475–6483.

YANG, H.; LIU, R.; XU, Y.; QIAN, L.; DAI, Z. Photosensitizer Nanoparticles Boost Photodynamic Therapy for Pancreatic Cancer Treatment. Nano-Micro Lett., 2021, 13:35.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP – Câmpus São José dos Campos), contando com a colaboração institucional e o suporte laboratorial da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e da Universidade Estadual Paulista (UNESP)