

### Rivalidade das cores fundamentais

O amarelo, o verde, o vermelho e o azul são as quatro categorias de cores que podemos perceber. Qualquer cor genérica pode ser perceptualmente interpretada como tendo uma componente de duas destas cores. Por exemplo, o cor-de-laranja pode ser interpretado como amarelo mais vermelho e o roxo como vermelho mais azul. No entanto, nenhuma cor pode ser interpretada como um verde mais um vermelho ou como um amarelo mais um azul. Estes pares são formados por cores exclusivas, rivais. Esta rivalidade resulta da codificação opONENTE explicada no ponto anterior.

### O cortex visual e a área da cor

As propriedades anatómicas e funcionais do cortex visual sugerem uma segregação de funções em áreas distintas. Assim, existem áreas especializadas no movimento, outras em cor, outras em visão espacial. A área da cor é designada por V4 e foi extensivamente estudada pelo famoso Semir Zeki [9]. Esta especialização do centro da cor no cérebro explica porque é que certas pessoas após acidentes cerebrais perdem a visão das cores mas mantêm os outros aspectos da visão intactos.

### As deficiências da visão das cores

As deficiências na visão das cores manifestam-se, em geral, numa redução do número de cores que se podem distinguir. Estas deficiências ocorrem porque há ausência de um ou mais tipos de cones, ou porque as ligações pós-receptorais não são normais ou ainda porque os pigmentos têm espectros de absorvância anómalos. A ocorrência das anomalias é mais frequente nos homens pois está associada ao cromossoma X.

## ALGUMAS CORES DA NATUREZA

As cores que ocorrem na natureza têm causas muito diversas desde a absorção da luz por moléculas orgânicas e não orgânicas, à dispersão, à difusão, à interferência, e outras [10]. A absorção selectiva da luz, em particular em moléculas orgânicas, determina a maioria das cores que conhecemos como, por exemplo, o verde das plantas.

### Cores de dispersão e o arco-íris

Newton foi o primeiro a estudar cuidadosamente a dispersão da luz branca por um prisma. As suas experiências mostraram claramente que a luz branca é constituída por muitas cores. Curiosamente, um prisma pode mostrar não só as cores do espectro mas também as suas complementares [11].

A dispersão da luz ocorre também numa gota de água, como ilustra a Figura 3, dando origem ao arco-íris. Para gotas esféricas o ângulo entre a radiação incidente e a radiação emergente da gota é de cerca de 42°. Reflexões sucessivas no interior da gota dão origem a arco-íris de ordem superior muito menos intensos e com as cores invertidas. A regularidade fascinante do arco-íris, que se traduz no arco quase perfeito que observamos, resulta do facto de só podermos ver as cores para

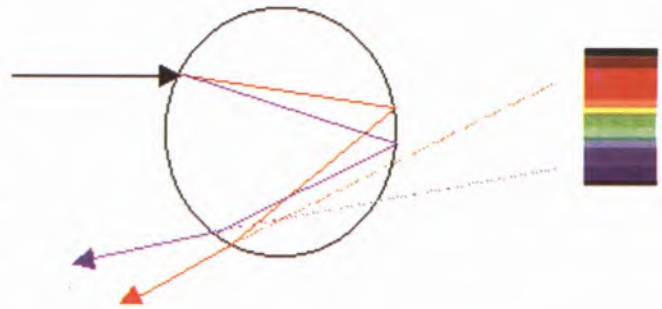


Fig. 3 – Dispersão da luz branca numa gota de água esférica.

um ângulo de 42°. Outras cores que resultam da dispersão da luz são as cores flamejantes dos diamantes.

### Cores de difusão e a cor do céu

Sem a atmosfera terrestre o céu durante o dia seria escuro como o espaço vazio. É o efeito de espalhamento ou difusão da luz pelas da atmosfera que é responsável pela cor azul do céu. A difusão para partículas menores do que o comprimento de onda da luz, difusão de Rayleigh, ocorre mais intensamente para radiação de menores comprimentos de acordo com a lei:

$$I_d = \kappa \frac{I_0}{\lambda^4}$$

em que  $I_0$  é a intensidade da luz incidente,  $I_d$  a intensidade da luz difundida,  $\lambda$  o comprimento de onda da luz e  $\kappa$  uma constante. Assim a radiação azul é a mais difundida dando origem ao azul do céu. Curiosamente, o céu também é azul à noite quando existe luz da lua. Esta cor não é visível pois a radiação difundida não é suficiente para estimular os nossos cones mas pode impressionar um rolo fotográfico [12].

De manhã e ao fim-da-tarde a luz do Sol percorre uma distância maior na atmosfera pelo que a radiação de menores comprimentos de onda é praticamente toda difundida no percurso, chegando aos nossos olhos apenas a radiação avermelhada, correspondendo a maiores comprimentos de onda, originando os efeitos espectaculares do nascer e pôr-do-sol. Uma interessante demonstração do pôr-do-sol pode ser feita com a ajuda de um retroprojector e de uma solução de tiosulfato de sódio [13].

Outras cores de difusão ocorrem nas penas azuladas de muitas aves onde existem estruturas minúsculas que produzem difusão Rayleigh e na íris humana onde a cor é uma combinação da luz difundida pelas fibras que a constituem e pela luz que é absorvida. Quando as partículas difusoras da luz são maiores do que o comprimento de onda da luz, ocorre uma difusão não selectiva, de Mie. A cor branca das nuvens e do nevoeiro são exemplos deste tipo de difusão. A cor do fumo do cigarro é azulada por difusão de Rayleigh mas branca por difusão de Mie depois de expirada devido à presença de água.

## Agradecimentos

Agradeço a Flávio Ferreira a produção das figuras e a Hermínia Alonso a leitura crítica do manuscrito.

## REFERÊNCIAS E NOTAS

1. J. C. Maxwell, On the Theory of Compound Colours, and the Relations of the Colours of the Spectrum, *Philosophical Transactions* (1860). In Classical Articles in Color, *Color Research and Application*, **18**, (1993) 270-287.
2. E. Schrödinger, Thresholds of Color Differences, Muller-Poulllets Lehrbuch der Physik: Lehre von der strahlenden Energie [Optik] 2nd Edition, Vol. 2, part 1 (1926). In D.L. MacAdam (Ed.), Selected Papers on Colorimetry – Fundamentals, SPIE milestone Series (1993) 106-111.
3. *daltonismo* designa genericamente as deficiências da visão das cores e é hoje um termo corrente em idiomas tão diversos como o Português, o Russo e o Inglês.
4. J. Dalton, Extraordinary Facts Relating to the Vision of Colours: with Observations by Mr John Dalton, *Memoirs of the Manchester Literary and Philosophical Society*, **5**, (1798) 28-45. In *John Dalton's Colour Vision Legacy*, C. M. Dickinson, I. J. Murray e D. Carden (1997). Taylor & Francis, London.
5. A. Byrne e D. R. Hilbert. *Readings on color. V. 2. The science of color*. Massachusetts Institute of Technology (1997).

6. M. R. Pointer e G. G. Attridge. The number of discernible colours. *Color Research and Application*, **23**, (1998) 52-54.
7. J. G. Martinho. Um olhar químico sobre a visão. Este volume
8. Não confundir mistura de luzes com mistura de tintas.
9. S. Zecki. *A vision of the brain*. Blackwell Scientific Publications (1993).
10. K. Nassau. *The Physics and Chemistry of Color*. John Wiley & Sons, Inc (1983).
11. M. J. Stanley. Viewing additive and subtractive spectra through a prism. *Optics & Photonics News*, Janeiro, (1997) 54-55.
12. J. A. Shaw. What color is the night sky? *Optics & Photonics News*, Novembro, (1996) 54-55.
13. E. Zhu e S. Mak (1994). Demonstrating colors of sky and sunset. *The Physics Teacher*, **32**, 420-421.



# Um Olhar Químico sobre a Visão\*

J. M. G. MARTINHO

Centro de Química-Física Molecular, Instituto Superior Técnico, 1049-001 Lisboa, E-mail: [jgmartinho@ist.utl.pt](mailto:jgmartinho@ist.utl.pt)

A visão é um processo muito interessante, mas complexo, onde a química desempenha um papel relevante. Este trabalho pretende dar uma panorâmica dos processos químicos que ocorrem nas várias fases do ciclo visual. Descreve-se o branqueamento das células fotorreceptoras da retina após absorção de um fóton de luz visível e o mecanismo de geração do sinal eléctrico a transmitir ao cérebro. Finalmente, é analisado o processo essencialmente químico de regeneração dos fotorreceptores que completa o ciclo visual.

## INTRODUÇÃO

A química do processo de visão estabelece a ligação entre o processo físico de absorção de luz e o acto biológico da percepção [1]. A luz entra no globo ocular (Fig. 1) através da córnea e é focada na retina. O cristalino funciona como uma lente flexível (pode alterar a distância focal) que permite criar imagens adaptadas de objectos a distâncias diferentes. No globo ocular a luz é filtrada da sua componente mais energética (radiação ultravioleta), que é absorvida essencialmente pelo triptofano e derivados presentes no percurso óptico. Na retina, a luz visível é absorvida pelas células fotorreceptoras: os bastonetes de forma cilíndrica (com 50  $\mu\text{m}$  de comprimento e 2  $\mu\text{m}$  de espessura) e os cones (com 7,5  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1,2  $\mu\text{m}$  de espessura). A retina tem, formando como que um mosaico, cerca de 125 milhões de células fotorreceptoras das quais ~80% são bastonetes e ~20% cones. Na região central, com aproximadamente 1 mm de diâmetro (fóvea), só existem cones, enquanto que nas regiões periféricas existem simultaneamente cones e bastonetes.

A figura 1 destaca um bastonete, cuja parte externa é constituída por uma série de discos membranares no interior dos quais se encontra o pigmento visual, a rodopsina. A rodopsina, representada esquematicamente na figura, é uma proteína fotosensível composta pelo cromóforo 11-*cis* retinal ligado covalentemente *via* uma base de Schiff protonada (ligação imínica) à lisina da proteína, opsina. Os pigmentos visuais dos bastonetes e dos cones diferem em especial no que se refere ao espectro de absorção. A banda de absorção no visível da rodopsina é larga (largura de banda ~150nm) com um máximo a 498 nm (azul-esverdeado) pelo que tem cor avermelhada. Os pigmentos visuais dos cones têm também bandas de absorção largas, mas

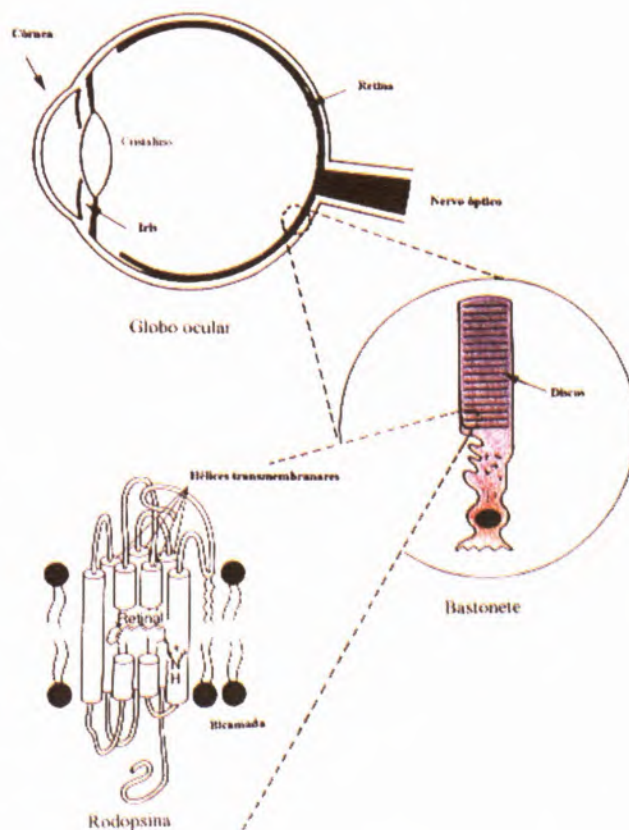


Fig. 1 – Esquema do globo ocular mostrando um bastonete e o pigmento visual, a proteína rodopsina (adaptado da ref. 7).



Licenciado em Eng. Química pelo IST em 1974 e doutorado em Química pelo IST em 1982. Professor Catedrático do IST e responsável científico do Grupo 1 “Fotoquímica e Fotofísica de Sistemas Moleculares e Supramoleculares” do CQFM. Secretário Geral da SPQ (1995-1998) e Presidente-Adjunto do IST para os Assuntos Pedagógicos (1990-1992). Interesses científicos em Fotofísica e Fotoquímica, Polímeros e Colóides. Publicou 84 artigos científicos em revistas internacionais e 2 capítulos em livros.

com máximos a diferentes comprimentos de onda. Os humanos têm 3 tipos de cones cujos pigmentos têm máximos de absorção no azul (419 nm), verde (531 nm) e vermelho (558 nm) [2]. Os bastonetes, muito sensíveis, são responsáveis pela visão nocturna (acromática) enquanto que os cones, menos sensíveis, respondem pela visão diurna (cromática).

As espécies animais com visão cromática têm entre 2 a 4 pigmentos visuais nos cones. O meio onde vivem condiciona o tipo de pigmentos, existindo espécies com cones sensíveis desde a região Ultravioleta até ao Infravermelho do espectro electromagnético [3]. O poder de discriminação entre cores é aumentado no caso dos pássaros e répteis que embora possuam 2 a 4 pigmentos, pode dizer-se que têm mais do que 4 cones devido à presença nestes de glóbulos coloridos, que seleccionam as gamas de comprimentos de onda a serem absorvidas pelos pigmentos [3,4].



A intensidades luminosas baixas (visão nocturna) os fotões são absorvidos pela rodopsina dos bastonetes. Como a absorção de fotões de diferente comprimento de onda produz o mesmo efeito nos pigmentos visuais (princípio da univariância), a visão nocturna é apenas devida a diferenças de luminosidades dos objectos. Para intensidades luminosas mais elevadas (visão diurna) os bastonetes ficam saturados (não respondem ao estímulo luminoso) e apenas os cones estão activos. O facto de existirem pelo menos dois cones com respostas diferentes a estímulos luminosos, permite a visão cromática. O modo como a codificação da cor se processa na retina, a sua transmissão ao cérebro e a interpretação pelo cérebro dos sinais recebidos através do nervo óptico, constituem fenómenos muito complexos e controversos que não serão aqui tratados [5].

### BRANQUEAMENTO DA RODOPSINA

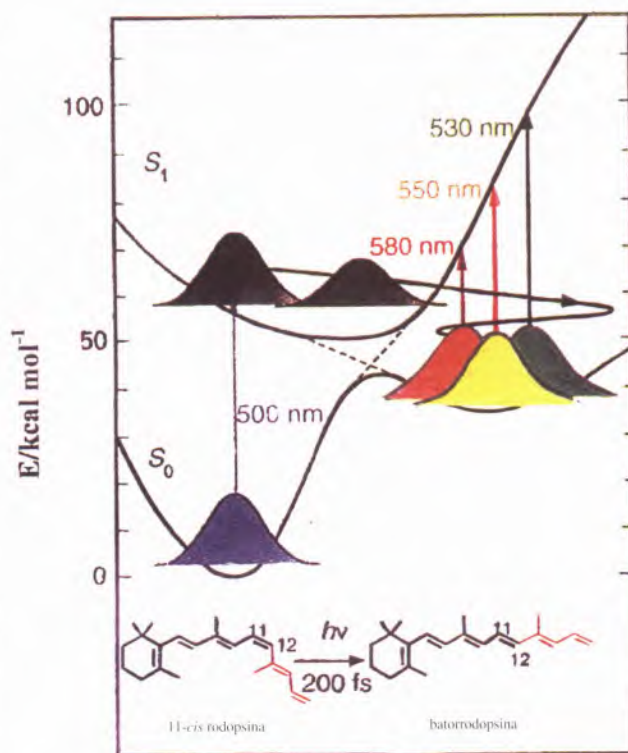
O 11-*cis* retinal covalentemente ligado à opsina, após absorção de um fotão de 500 nm (azul), sofre uma isomerização *cis*→*trans* muito eficiente (rendimento quântico 0.67) e rápida (duração de 200 fs,  $1\text{fs}=10^{-15}\text{ s}$ ) [6,7], conforme se esquematiza na figura 2. A isomerização é tão rápida que ocorre antes da desactivação vibracional, por um mecanismo de túnel do tipo Landau-Zener a partir de estados vibracionalmente excitados, produzindo a forma *trans*, torsionalmente excitada [8], designada de batorrodopsina. Este processo fotoquímico é um dos mais rápidos que se conhecem e só ficou definitivamente esclarecido no início dos anos 90, com o desenvolvimento de lasers pulsados no visível, com largura de impulsos de algumas dezenas de femtosegundos. Excitando a rodopsina com estes impulsos de luz e seguindo o aparecimento da batorrodopsina por absorção, foi possível seguir a cinética de formação da rodopsina a vários comprimentos de onda de análise (Figura 2). Verificou-se que a concentração máxima de batorrodopsina ocorre cerca de 200 fs após a excitação e decai com tempos muito superiores.

A batorrodopsina é cerca de 35 kcal mol<sup>-1</sup> mais energética do que a rodopsina. Esta energia é proveniente da energia de excitação (uma mole de fotões de 500 nm é equivalente a 57 kcal) e está armazenada sob a forma de energia torsional e energia electrostática proveniente da separação de cargas entre a base de Schiff protonada e o contra-íão.

A energia torsional é muito elevada (cerca de 50% da energia de excitação) o que leva à relaxação da proteína para acomodar a forma *trans* do retinal. Neste processo foram identificados vários intermediários, culminando o processo na formação do *trans*-retinal e da opsina por quebra da ligação imínica à lisina da opsina. O *trans*-retinal quando ligado covalentemente à opsina absorve no azul mas deixa de absorver na região visível do espectro electromagnético visível quando livre. Esta diferença no espectro de absorção electrónico é devida à perturbação provocada pela opsina nos níveis electrónicos do retinal. A absorção de luz pela rodopsina leva ao seu branqueamento pois conduz à formação da opsina e *trans*-retinal livre que são transparentes no visível.

### GERAÇÃO DO IMPULSO ELÉCTRICO

Um dos intermediários chave no branqueamento da



### Coordenada de Isomerização

Fig. 2 – Esquema das curvas de energia potencial da rodopsina e do fotoproduto batorrodopsina em função da coordenada de isomerização do 11-*cis*-retinal para o *trans*-retinal. A figura mostra ainda o processo como se pode seguir a formação da batorrodopsina após excitação com um impulso laser (500 nm) e com a duração de algumas dezenas de femtosegundos (adaptado da ref. 8).

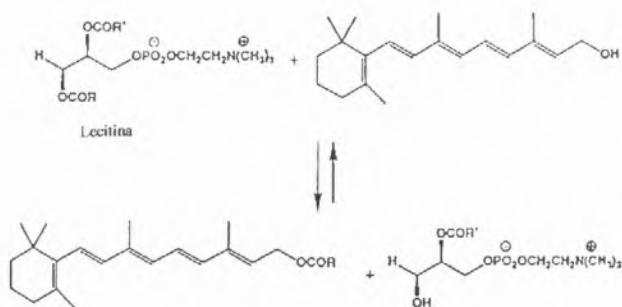
rodopsina é a metarrodopsina II (R\*), que tem um tempo de vida suficientemente elevado (>10 s à temperatura fisiológica) para permitir a sua ligação preferencial à transducina (T), enquanto se difunde no interior dos discos membranares das células fotorreceptoras. Este complexo, mensageiro de que um fotão foi absorvido, sofre uma transformação estrutural cuja energia é fornecida pela hidrólise de um grupo fosfato do trifosfato de guanosina (GTP) presente no meio. Neste processo o trifosfato de guanosina converte-se em difosfato de guanosina (GDP), libertando-se a metarrodopsina II (R\*). Este ciclo catalítico pode activar 100 moléculas de transducina (T\*) por cada fotão absorvido a uma velocidade de 10<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>. A transducina activada, e novamente por um processo difusional, pode ligar-se a uma enzima específica do monofosfato de guanosina cíclica (cGMP). Este complexo é capaz de hidrolisar a molécula de cGMP num número de ciclos próximo de 1000 antes da desactivação de T\*, a uma velocidade de 10<sup>4</sup> s<sup>-1</sup>. Assim, em cerca de 100 ms, um único fotão hidrolisa 100.000 moléculas de cGMP. É este processo fantástico de amplificação que explica o facto de os seres vivos serem capazes de detectar um sinal luminoso extremamente fraco (no caso dos humanos bastam menos de 10 fotões para o cérebro detectar uma sensação luminosa). A molécula de cGMP está envolvida na geração do sinal eléctrico a transmitir ao cérebro pelo facto

de, quando ligada (em grupos de três) aos poros da membrana das células fotorreceptoras, provocar a sua abertura. No escuro a concentração de cGMP é grande, o que facilita a circulação de iões sódio do segmento interno para o segmento externo do bastonete, sendo o potencial pouco elevado,  $\sim 40$  mV. Quando as células fotorreceptoras absorvem luz, desencadeia-se o processo de hidrólise da cGMP pelo esquema de amplificação descrito, levando ao “fecho” de muitos dos poros. Este fecho impede a circulação de iões sódio e conduz à hiperpolarização da membrana para um valor de potencial próximo de  $-70$  mV, gerando-se um sinal eléctrico que é transmitido ao cérebro. No caso de a retina ser sensibilizada por luz policromática, cada cone gera um sinal eléctrico diferente, dadas as diferentes sensibilidades espectrais destes. Estes sinais são codificados e comparados ainda na retina e posteriormente transmitidos ao cérebro onde se processa a sensação de cor [9].

## REGENERAÇÃO DOS FOTORRECEPTORES

Certamente, todos nós já verificamos que, ao entrarmos numa sala escura, vindos de um local fortemente iluminado, temos a sensação de cegueira durante um período limitado de tempo ( $\sim 5$  min). Tal deve-se à inexistência de rodopsina nos bastonetes que foi branqueada pela luz intensa, impedindo o olho humano de detectar a luz de fraca intensidade. Com o decorrer do tempo, a rodopsina vai-se regenerando e vamos adquirindo a visão. A regeneração da rodopsina é um processo complexo que envolve outros retinóis para além do *trans*-retinal resultante do branqueamento da rodopsina. Este, é reduzido enzimaticamente na retina para produzir o *trans*-retinol (vitamina A) que é transportado para o epitélio, onde sofre reacções de transesterificação, originando *trans*-ésteres retinílicos. A *trans*-esterificação é feita pela lecitinas (fosfolípidos) de acordo com o esquema 1.

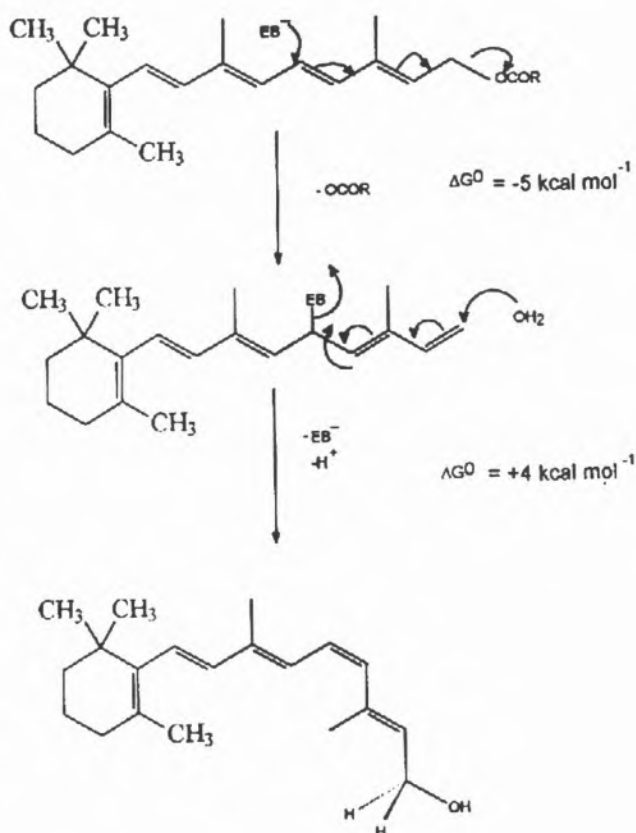
Esquema 1



Na Figura 3 estão representadas as várias espécies *trans* e os correspondentes isómeros *cis*. O equilíbrio entre isómeros está, à temperatura fisiológica, fortemente deslocado para as formas *trans*, contrariamente ao que sucede quando o cromóforo está ligado à opsinina (ver Fig. 1). A energia de Gibbs dos isómeros *trans* livres é cerca de  $4 \text{ kcal mol}^{-1}$  inferior à dos correspondentes isómeros *cis*. Esta diferença de energia resulta essencialmente do impedimento estereoquímico entre o hidrogénio do  $\text{C}_{10}$  e o grupo metilénico do  $\text{C}_{13}$  como foi brilhantemente explicado por Linus Pauling [10]. A velocidade das iso-

merizações *trans*→*cis* é baixa à temperatura fisiológica, dado que a energia de activação é elevada ( $\sim 25 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Para explicar esta isomerização vários estudos mecanísticos foram elaborados que apontam no sentido de que somente os ésteres retinílicos sofrem a isomerização [11]. Tal resulta do facto da hidrólise dos ésteres retinílicos ser um processo exotérmico (sendo  $\Delta G^0 \sim -5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) que fornece a energia necessária para a isomerização *trans*→*cis* do retinol ( $\Delta G^0 \sim -4 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). O processo é catalisado pela enzima EB que tem um centro nucleófilo, segundo o esquema 2

Esquema 2



Os fosfolípidos do epitélio têm uma importância fundamental pois são eles que ao participarem na formação dos ésteres *trans*-retinílicos, induzem a formação do *cis*-retinol pelo conjunto de reacções acopladas do esquema 2. Tanto o retinol como o retinal não possuem grupos que possam ser activados de uma forma satisfatória para vencer o *deficit* energético entre os isómeros, pelo que não contribuem significativamente para a produção dos compostos *cis* a partir dos análogos *trans*. O *cis*-retinol, uma vez formado, é convertido em retinal que reage através do grupo carbonilo com o grupo amina da lisina para regenerar a rodopsina.

A vitamina A (*trans*-retinol), é, pois, um composto importante no processo de visão. O organismo produz esta vitamina através da ingestão de alimentos ricos em compostos poliénicos (cenouras, tomates, etc.), que se degradam no aparelho diges-



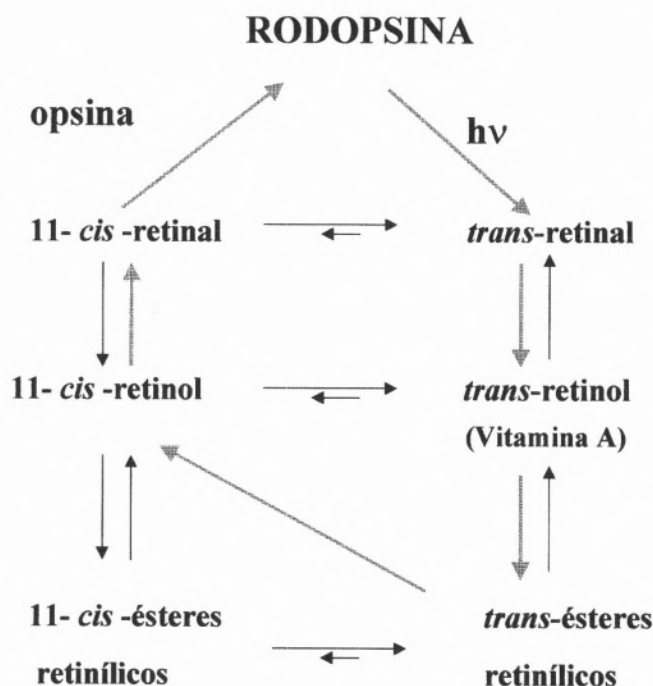


Fig. 3 – Química do branqueamento da rodopsina e da sua regeneração com indicação dos equilíbrios entre espécies. A azul cheio indica-se o ciclo visual.

tivo originando *trans*-retinal, o qual é reduzido e esterificado enzimaticamente para dar ésteres *trans*-retinílicos. O fígado consegue hidrolisar os ésteres produzindo a vitamina A que posteriormente é distribuída pelo organismo e pelo epitélio da retina. O epitélio funciona como um reservatório de compostos poliênicos necessários à regeneração dos pigmentos visuais. A separação do epitélio da retina (descolamento da retina) pode levar à cegueira pois impede a alimentação desta com retinóis necessários à regeneração dos pigmentos visuais. O processo de regeneração é meramente químico, pelo que pode ocorrer no escuro com a vantagem de não depender da intensidade e espectro da luz ambiente e ser eficientemente controlado por reacções enzimáticas.

Em conclusão, a visão é um processo muito interessante, que não está ainda completamente esclarecido, mas para o qual a química tem dado um contributo muito significativo.

#### Agradecimentos:

Um agradecimento especial ao Prof. Hernâni Maia por me ter convidado e convencido a a realizar este trabalho. Aos Profs. Mário Nuno Berberan e Santos, Laura Iharco e Miguel Castanho pela leitura crítica do manuscrito.

#### REFERENCIAS

1. Hubel, D. H. *Eye Brain and Vision*, Scientific American Library, New York, 1995.
2. P. K.Kaiser, R. M. Boynton, *Human Color Vision*, Optical Society of America, Wasington, DC, 1996.
3. Loew, E. R.; Lythgoe, J. N. *Endeavour* **1985**, 14, 170.
4. Yosizawa, T. *Biophys. Chem.* **1994**, 50, 17.
5. Masland, R. H. *Science* **1996**, 271, 616.
6. Schoenlein, R. W.; Peteanu, L. A.; Mathies, R. A.; Shank, C. V. *Science* **1991**, 254, 412.
7. Mathies, R. A. in *Ultrafast Processes in Chemistry and Biology*, A Chemistry for the 21st Century IUPAC Monograph, ed. by M. A. El-Sayed, I. Tanaka and Y. Molin, Blackwell Science, Berlin, 1995.
8. Wang, Q; Schoenlein, R. W.; Peteanu, L. A.; Mathies, R. A.; Shank, C. V. *Science* **1994**, 266, 422.
9. Nascimento, S. M. C. A cor: dos Fotões aos Neurónios, artigo neste volume.
10. Pauling, L. *Helv. Chim. Acta* **1949**, 32, 2241.
11. Rando, R. R. *Angew. Chem. Int Ed. Engl.* **1990**, 29, 461.

\* Texto baseado na Conferência Convidada proferida no XVI Encontro Nacional da SPQ (Guimarães, 22-25 Setembro de 1998)

# As Cores da Saúde

MADALENA M. M. PINTO

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto  
Rua Aníbal Cunha, 164 · 4050-047 Porto

Os compostos corados existentes na Natureza revelam muitas vezes actividades biológicas com interesse inegável para a manutenção da saúde, ou para a correcção de diversas patologias que afligem a Humanidade. Nesta comunicação é ressaltada a possível relação existente entre grupos cromóforos/auxocromos e o farmacóforo.

A relação da Química Farmacêutica com a cor transportada por moléculas talvez não pareça muito clara à primeira vista...

A relação destes compostos com o Homem tem sido enfatizada, principalmente no que se refere ao aproveitamento de pigmentos na indústria têxtil, na indústria alimentar e também na indústria farmacêutica, sendo nesta utilizados como meros adjuvantes de cor em diferentes formas farmacêuticas.

Ao longo dos tempos o Homem tem-se servido dos compostos corados de origem vegetal para os utilizar como agentes de defesa ou manutenção de um organismo saudável ou para corrigir certos estados patológicos

Assim, há moléculas de origem vegetal que transportam cor e concomitantemente transportam também actividades biológicas muito interessantes e úteis (Fig. 1).

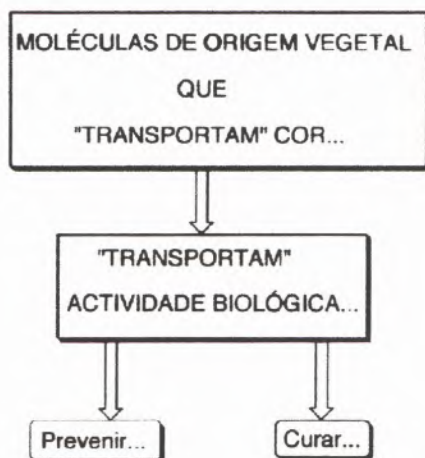


Fig. 1 - Utilização de compostos corados na área da saúde



Madalena M. M. Pinto é Professora Catedrática da Faculdade de Farmácia do Porto, Responsável pelo Laboratório de Química Orgânica e Coordenadora do Centro de Estudos de Química Orgânica, Fitoquímica e Farmacologia da Universidade do Porto.

As áreas de interesse centram-se no isolamento, síntese e determinação estrutural de compostos biologicamente activos, ensaios de bioactividade e relação estrutura-actividade.

Sabemos que as moléculas para exibirem cor deverão conter determinados conjuntos estereoelectrónicos que podemos, de uma forma relativamente simples, indicar como ligações duplas conjugadas em determinado número, certo tipo de núcleos aromáticos e núcleos heterocíclicos que definem o que se designa por grupos cromóforos. A intensificação de cor é fornecida por determinados grupos funcionais designados de auxocromos.

Esta porção molecular existente na estrutura de um determinado composto define uma forma, um tamanho molecular e uma densidade electrónica também característica (Fig. 2).

Não é raro que se encontre nos compostos com actividade biológica interessante, concretamente com actividade farmacológica, que esses cromóforos e auxocromos façam parte também de uma porção molecular responsável por essa mesma actividade biológica e que em Química Farmacêutica se designa de farmacóforo (Fig. 2).

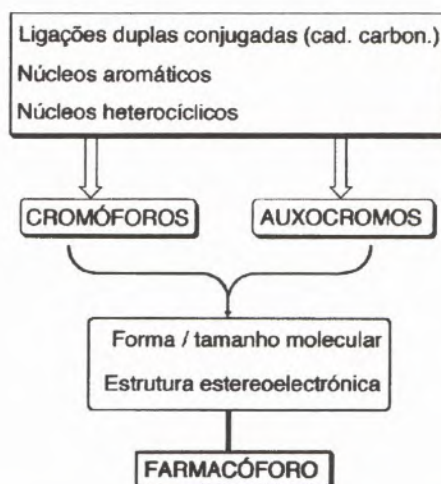


Fig. 2 - Relação de porções estruturais com actividade biológica.

Muitas vezes para uma determinada actividade não é necessário um grande palanque e estrutural mas apenas uma determinada zona molecular, com características adequadas para interagir com unidades estruturais biológicas designadas genericamente de receptores.

Esses receptores podem classificar-se de receptores não catalíticos, que correspondem à definição clássica de receptor e em que a molécula reconhecida não é alterada, e os receptores catalíticos que correspondem ao caso das enzimas, que provocam reacções químicas alterando a molécula que é reconhecida por elas, se estivermos a falar, por exemplo, de compostos alquilantes com actividade anticancerígena o receptor poderá ser considerado o próprio ADN.

Para que uma molécula exiba determinada actividade ela precisa de se ligar ao receptor através de reconhecimento molecular, formando um complexo, elicitando a resposta biológica adequada.

O fenómeno do reconhecimento molecular implica complementaridade de tamanho, forma e características electrónicas entre a molécula bioactiva e o local do receptor assim como interações variadas (hidrofóbicas, de hidrogénio, transferência de carga, etc.) que irão coadjuvar a formação do complexo.

Há compostos corados de origem vegetal que nos são mais caros pelas aplicações que podem exibir na área da saúde e que se encontram abundantemente no nosso dia-a-dia.

Um deles é o grupo dos CAROTENÓIDES.

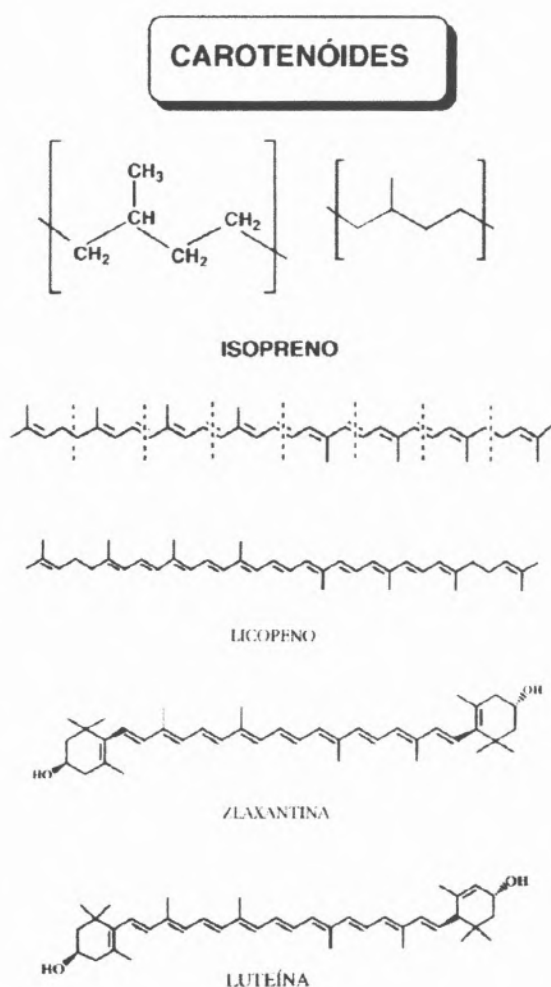


Fig. 3 - Estrutura geral e exemplos de carotenóides.

Estes são compostos que se podem considerar formados por unidades de isopreno (Fig. 3). Os carotenóides estão amplamente divulgados na Natureza e encontram-se em tecidos fotossintéticos como é o caso das folhas, ou não fotossintéticos, como flores, frutos, etc.

Estes carotenóides que são representados por uma estrutura química relativamente simples, com uma cadeia bastante longa, podem exibir - caso do licopeno no tomate, uma cor vermelha muito viva, bastante chamativa (Fig. 3).

Na família destes compostos podemos ter outro tipo de coloração que nos aparece, por exemplo, no caso da zeaxantina (Fig. 3) que contribui para cor a certas árvores no Outono, ou para a cor amarela aos grãos de milho. Esta molécula carotenóide já tem mais elaboração estrutural não contendo apenas uma cadeia mas também grupos apoiados em ciclos, fazendo parte de uma molécula com uma tridimensionalidade mais exuberante.

Os carotenóides podem aparecer, por exemplo, fazendo parte da cor alaranjada de flores chamadas de maravilhas (*Calendula officinalis* L.) como é o caso da luteína (Fig. 3). O pó das folhas contendo essa luteína é usado na indústria para colorir formas farmacêuticas.

É bastante comum termos misturas de compostos a contribuírem para uma cor final de um dado produto vegetal, como é o caso do pimento (*Capsicum annuum* L.) em que a cor resulta de três composto pertencentes à família dos carotenóides, capsantina, capsorrubina e  $\beta$ -caroteno (Fig. 4).

Um dos componentes importantes na cenoura (*Daucus carota* L.) é o  $\beta$ -caroteno que, nos últimos tempos, tem sido muito citado em literatura diversa como um composto essencial na designada "alimentação saudável".

Tem vindo a ser referido que o  $\beta$ -caroteno, considerado como um antioxidante poderoso a nível biológico, pode contribuir para a regeneração da vitamina E.

Devido a essa propriedade tem surgido uma incidência para o aconselhamento da utilização de suplementos de  $\beta$ -caroteno em certo tipo de dietas que tendem a ser utilizadas frequentemente.

Alguns grupos de trabalho no Canadá e na Itália encontraram que a regeneração da vitamina E pela actividade antioxidante

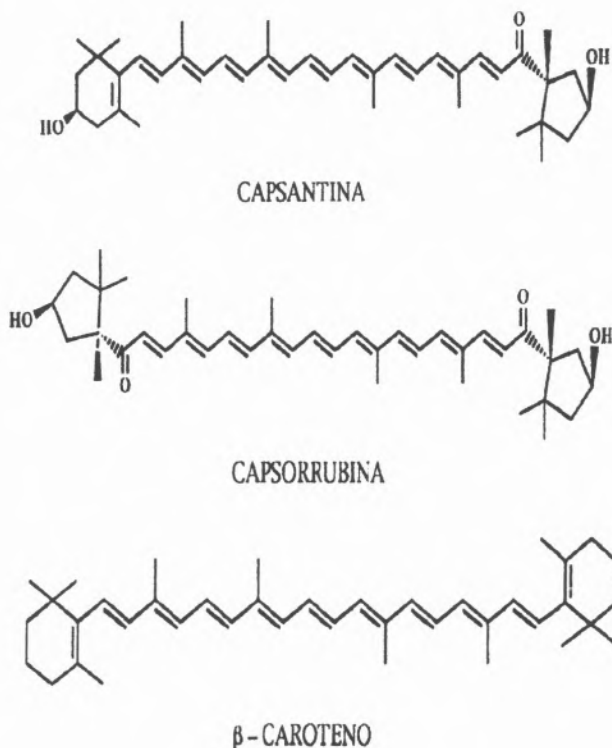


Fig. 4 - Carotenóides existentes no pimento (*Capsicum annuum* L.)



do  $\beta$ -caroteno não parece ser tal qual o que tinha sido descrito anteriormente (Fig. 5).

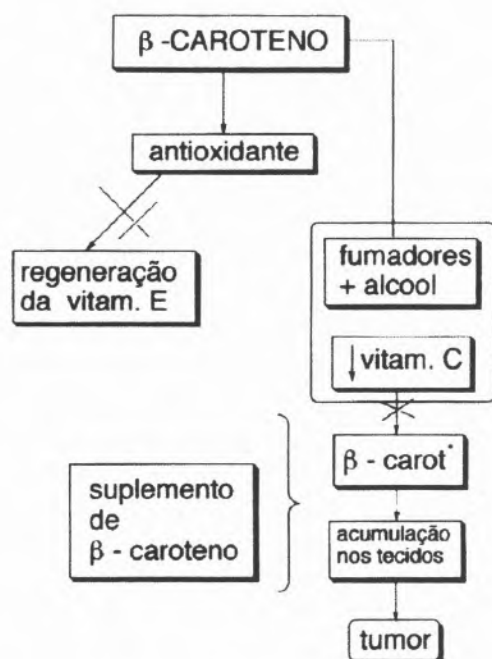


Fig. 5 - Relação de suplementos de  $\beta$ -caroteno com deficiência de vitamina C.

Além disso, como em Portugal existe um alto índice de fumadores, e principalmente se o fumador juntar álcool à sua alimentação, o que também é bastante comum, verifica-se um decréscimo de vitamina C nesses organismos. Se ao mesmo tempo se administrar um suplemento de  $\beta$ -caroteno, e é fácil verificar que as ligações duplas são locais ideais para perante certas situações se formarem radicais livres, haverá certamente nesse excesso de  $\beta$ -caroteno administrado a formação de radicais de  $\beta$ -caroteno.

Não havendo vitamina C suficiente para fazer a captação destes radicais eles acumulam-se nos tecidos. Este fenómeno está ser encarado como justificação para o aparecimento de vários tumores em fumadores, mesmo administrando suplementos de  $\beta$ -caroteno.

O açafrão (*Crocus sativus* L.), que dá um aspecto muito apetitoso aos alimentos devido ao amarelo que lhes confere, tem como pigmento principal um carotenóide, a crocina (Fig. 6). Por hidrólise da crocina forma-se outro composto corado, a crocetina e, recentemente, foi encontrado outro componente corado, a magicrocina que na sua composição, além de uma parte carotenóide, tem uma parte xantónica (Fig. 6).

O açafrão não serve apenas para melhorar o aspecto alimentar mas é usado em medicina, tanto ocidental como oriental, como sedativo e antidepressivo. Mais recentemente verificou-se que a crocetina exibe perspectivas muito interessantes de actuar a nível cardiovascular diminuindo o colesterol e o envelhecimento arterial.

Para uma vida activa o oxigénio tem que se difundir rapidamente na corrente sanguínea. Moléculas com uma estrutura grande e rígida promovem o aumento da difusibilidade do oxigénio o que parece justificar o que acontece com estes compostos existentes no açafrão.

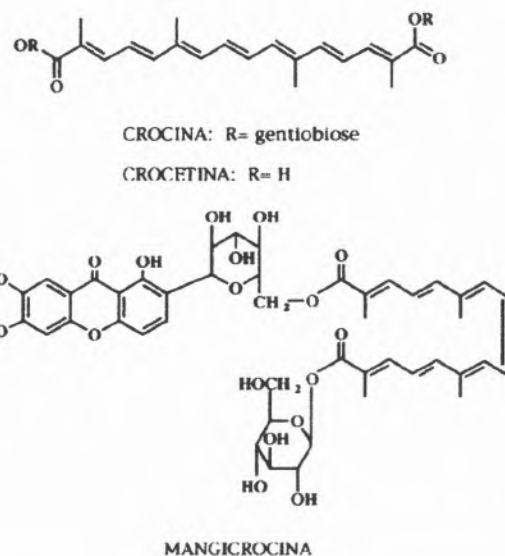


Fig. 6 - Pigmentos principais existentes no açafrão (*Crocus sativus* L.)

Outro grupo de compostos corados de grande interesse na área da saúde é o dos FLAVONÓIDES.

Os flavonóides são representados por variadas estruturas correspondentes a diferentes esqueletos carbonados, formados por unidades C6 - C3 - C6, com realce para flavonas, flavonóis e antocianidina (Fig. 7).

Estes compostos podem exibir colorações variadas, desde o branco vivo ao creme ou às cores cianicas, desde vermelho, laranja, azul; fazem parte de muitos alimentos e de muitas bebidas de origem vegetal sendo que os flavonóides constituem grande parte da dieta não calórica.

Estes compostos podem mostrar várias actividades, como seja podem intervir na circulação periférica, no controlo da pressão sanguínea, na diurese, como anti-inflamatórios, anti-alérgicos, sedativos, etc.

Isso resulta de actividades bioquímicas que estão directamente relacionadas com a estrutura estereoelectrónica que lhes dá cor e é também responsável pelas propriedades antioxidantes, captoras de radicais livres, quelantes de metais, etc. A sua forma e natureza estereoelectrónica exibem complementaridade espacial por forma a intervir em variados receptores e em biomembranas.

Um flavanolol interessante é a rutina, um glucosídeo de quercetina, (Fig. 8) existente na cebola (*Allium cepa*). Nos últimos anos têm sido efectuados estudos clínicos com a quercetina que mostra que ela pode ter intervenção benéfica a nível de cancro gastrointestinais e doenças cardiovasculares. Verificou-se que o consumo aumentado de quercetina leva a menor incidência das patologias referidas. Estão a decorrer estudos no sentido de apurar qual o mecanismo de acção pelo qual esta molécula actua.

Outro composto muito simples é a rutina, um glucosídeo da quercetina (Fig. 8) existente por exemplo nas laranjas. Foi verificado exibir actividades antitrombóticas, ligando-se às membranas das plaquetas e captando radicais livres existentes no meio, levando ao impedimento da peroxidação lipídica que muitas vezes causa dano em membranas celulares. A rutina é usada em patologias vasculares contra a fragilidade capilar da

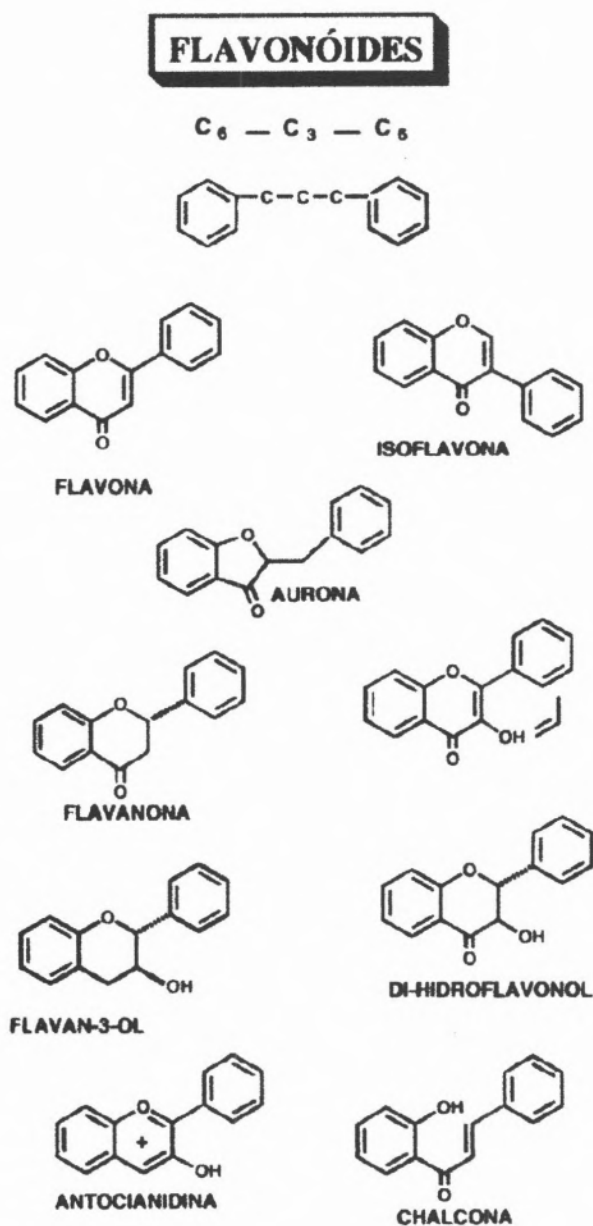


Fig. 7 - Vários grupos de estruturas de flavonóides.

parte venosa afectada; espera-se que brevemente surjam dados sobre a relação desta estrutura com a actividade referida.

Neste mundo actual em que a maioria da população, especialmente urbana, parece padecer de stress, muitas pessoas recorrem a chás calmantes como de tília e de camomila.

No caso da tília (*Tília cordata* MILL) as florinhas são muito simples e muito clarinhas, mas contêm dois compostos que pertencem à família dos flavonóides: a quercetina e o canferol (Fig. 8).

A camomila (*Matricaria chamomilla* L.) é usada como anti-inflamatório e também como ansiolítico. Um dos compostos isolados da camomila é uma flavona, a apigenina. (Fig. 8). Encontrou-se recentemente que a apigenina deve a sua actividade ansiolítica, com a vantagem de não ser miorelaxante nem sedativa, à sua capacidade de ser reconhecida por receptores do

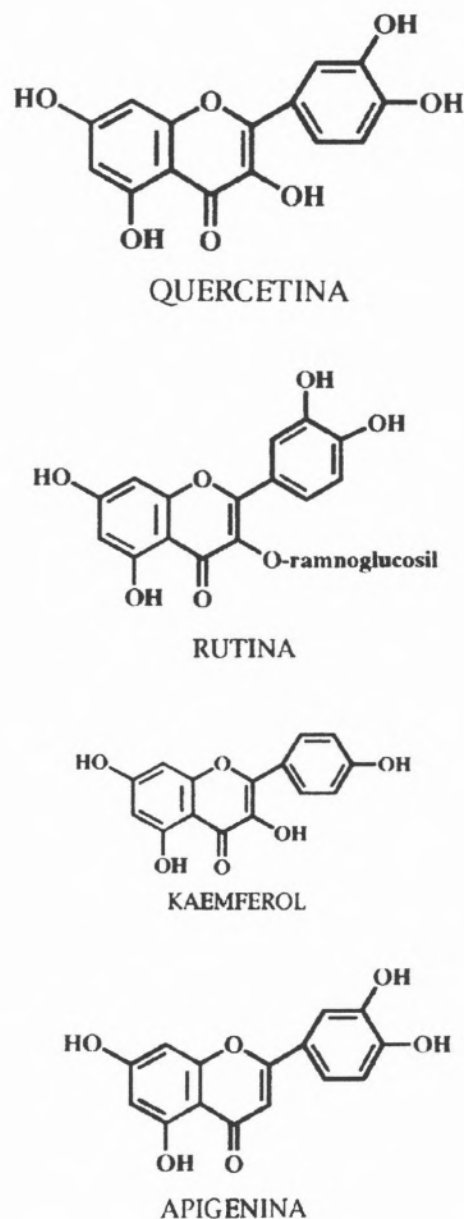


Fig. 8 - Vários flavonóides com interesse farmacológico.

sistema nervoso central, receptores esses que são os mesmos onde actuam as tão conhecidas benzodiazepinas.

Dentro do grupo dos flavonóides há ainda a referir actividades muito importantes como as que são exibidas pelos compostos isolados do cardo de Stª Maria (*Silbum marianum* Gaertn.) que tem uma parte flavonóide e uma parte de lignóide; estes compostos são utilizados na terapêutica, principalmente a silibina, como hepatoprotectores (Fig. 9).

Com toda a quantidade de xenobióticos que ingerimos, e sendo o fígado o principal órgão de destoxificação, é muitas vezes desejável ou exigida uma certa hepatoprotecção. que é exercida no caso destes flavonóides por captação de radicais livres lesivos para os hepatócitos.

Um grupo interessante de compostos pela sua divulgação na Natureza são as ANTOCIANINAS (Fig. 10) que existem em



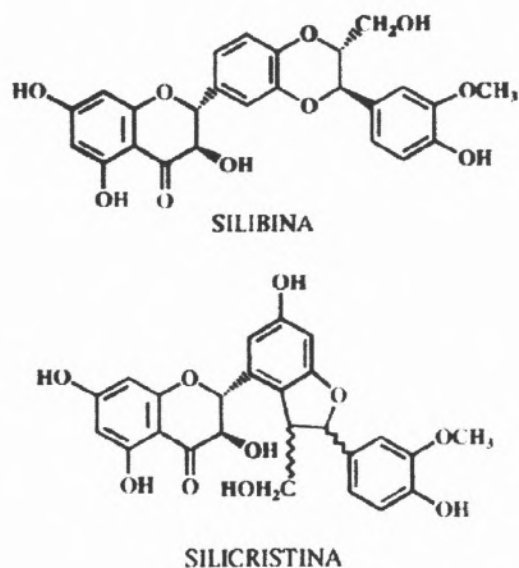


Fig. 9 - Flavanolignanos existentes no cardo de Sta. Maria (*Silybum marianum* Gaertn.)

vegetais consumidos no nosso dia a dia, como seja o repolho roxo, maçãs e certas uvas que dão origem ao vinho tinto. Estes compostos manifestam actividade antioxidante e poderão impedir principalmente a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade e inibir a agregação plaquetária, protegendo, quando administradas em doses adequadas, o sistema cardiovascular.

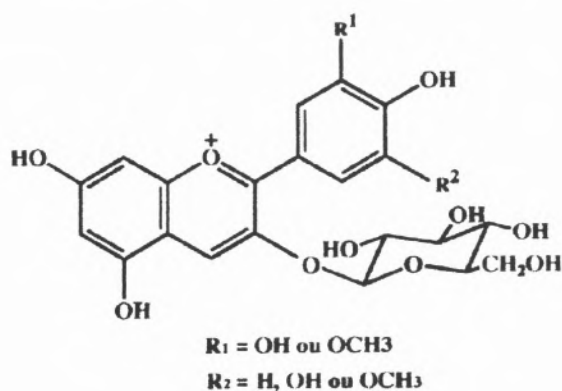


Fig. 10 - Estrutura geral de antocianinas.

Menos representadas do que estes na Natureza são as QUINONAS.

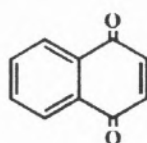
As naftoquinonas e antraquinonas correspondem aos esqueletos básicos desta categoria de compostos (Fig. 11).

A hipericina, (Fig. 11), um pigmento amarelo do *Hypericum perforatum* tem uma estrutura quinonóide muito particular que lhe confere a cor amarela e a sua aplicação como agente antidepressivo e anti-HIV é objecto de grande debate actualmente.

Outros pigmentos amarelos da Natureza são as XANTONAS.

## QUINONAS

### Naftoquinonas



### Antraquinonas

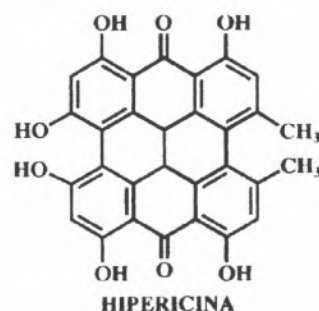
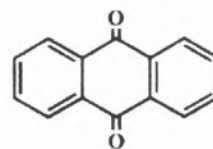


Fig. 11 - Estruturas de quinonas.

Apresentam-se fundamentalmente em Gentianaceae e Guttiferae e os grupos R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> podem ser bastante variados: hidroxilos, metoxilos, isoprenilos, etc. (Fig. 12).

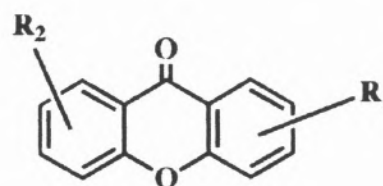


Fig. 12 - Estrutura geral de derivados xantónicos.

O caso das xantonas corresponde à aplicação directa de algo com cor que a Natureza nos dá e que serve de modelo a modificações moleculares variadas na procura de um fármaco útil. O núcleo xantónico pode manifestar actividades muito variadas dependendo da natureza dos substituintes e dos diferentes locais onde estão inseridos (Fig. 13).

Um dos aspectos relevantes e actuais dos derivados xantónicos é a sua aplicação como agentes antimaláricos e que se admite em breve enriquecerem o arsenal terapêutico. O mecanismo de acção parece ser o impedimento do aproveitamento do ferro através do heme, efectuado pelo parasita da malária, impedindo assim o seu desenvolvimento.

Em conclusão, gostaria de salientar que actualmente ainda não se pode inferir directamente que um determinado composto que tem cor tem uma actividade biológica interessante mas, sem dúvida que o que se tem vindo a verificar é que a incidência dessas situações é cada vez maior.

É nossa convicção que no futuro, recorrendo eventualmente a técnicas computacionais e com a evolução dos biensaíes se

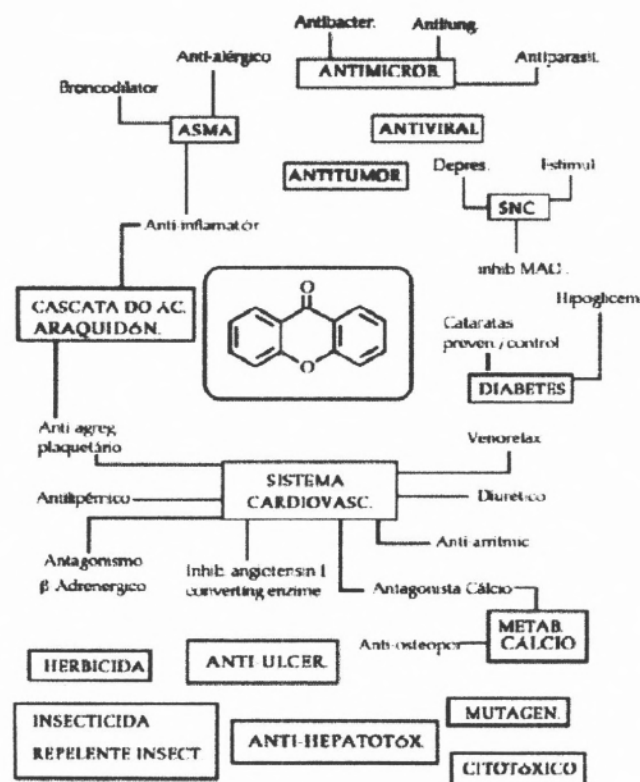


Fig. 13 - Atividades biológicas mais relevantes de derivados xantônicos.

possa vir a estabelecer, de uma forma inequívoca, uma relação cromóforos/auxocromos - atividade biológica.

## REFERÊNCIAS

1. Flavonoids in Health and Disease, ed. Catherine Rice-Evans and Lester Packer, Marcel Dekker, Inc, 1988.

2. Colorantes Naturales, Olga Lock Sing de Ugaz, Pontificia Universidade Católica del Perú, Fondo Editorial, 1997

3. C. A. Rice -Evans, N. J. Miller and G. Paganga, *Free Rad. Biol. Med.*, **20** (1996) 933.

4. H. Sies, W. Stahl and A. R. Sundquist, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **669** (1992) 7.

5. D. M. Barry, *J. Chem. Educ.*, **74** (1997) 1175.

6. M. Séquin-Frey, *J. Chem. Educ.*, **58** (1981) 301.

7. M.-P. Miguez, I. Anundi, L.A Sainz-Pardo, K. O Lindros, *Chem. Biol. Interact.*, **91** (1994) 51.

8. J. Kanner, E. Frankel, R. Granit, B. German and J. E. Kinsella, *J. Agric. Food Chem.*, **42** (1994) 64.

9. X. Ji, N. Melman and K. A Jacobson, *J. Med. Chem.*, **39** (1996) 781.

10. S. R. Husain, J. Cillard and P. Cillard, *Phytochemistry*, **26** (1987) 2489.

11. H. Viola, C. Wasoowski, M. L. Stein, C. Wolfman, R. Silveira, F. Dajas, J.H. Medina and A. C. Paladini, *Planta Med.*, **61** (1995) 213.

12. D. Bradley, *Chem. Br.*, (1997) 15.

13. A Butler, J. Moffet, *Chem. Br.*, (1997) 37.

14. M. V. Ignatushchenko, R. W. Winter, H. P. Bachinger, D. J. Hinrichs, M. K. Riscoe, *FEBS Letters.*, **409** (1997) 67..

15. J. V. Formica and W. Regelson, *Fd. Chem. Toxic.*, **33** (1995) 1061.



# Sistemas Fotocrómicos para Escrever-Ler-Apagar. Um futuro colorido para a Memória?

MARIA JOÃO MELO, ANA ROQUE, FERNANDO PINA

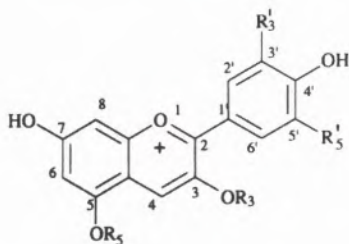
Departamento de Química, Centro de Química-Fina e Biotecnologia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Quinta da Torre 2825 Monte de Caparica

As antocianinas são pigmentos naturais responsáveis pela maioria dos azuis e vermelhos das flores e frutos. Soluções destes compostos *in vitro* a valores de pH existentes nos vacúolos são geralmente incolores. Neste trabalho são discutidas algumas estratégias usadas pela natureza na obtenção da cor. Os flavílios sintéticos são moléculas com a mesma estrutura base das antocianinas. Certos derivados dão origem a sistemas fotocrómicos que podem ser usados como modelo de memórias ópticas.

## Sobre os vermelhos e azuis das flores e frutos.

As antocianinas,<sup>1</sup> cujo nome deriva do grego *Anthos* (flor) e *Kyanos* (azul) são corantes naturais que se extraem da maioria das flores e frutos de cor vermelha e azul, incluindo todas as tonalidades intermédias.

A estrutura básica destas moléculas é aparentemente muito simples, esquema 1. Os grupos substituintes  $R'_3$  e  $R'_5$  podem ser H, OH ou  $OCH_3$ , enquanto que  $R_3$  e  $R_5$  são açúcares, tais como a glucose ou outros de estrutura bastante mais complexa.



Esquema 1 - Estrutura das antocianinas mais comuns. Em alguns derivados os açúcares podem estar igualmente noutras posições, tais como 7 ou 4'.

Richard Willstätter introduziu o termo antocianidinas para designar os compostos em que as posições 3 e 5 estão ocupadas por grupos hidroxilo (*zuckerfrei* - sem açúcar). No esquema 2 apresentam-se as antocianidinas mais comuns.

## Antocianinas. Dos primórdios à actualidade.

Se quisermos saber algo mais sobre a evolução bioquímica das antocianinas teremos de recuar muitos milénios, ao tempo de plantas tão primitivas quanto os musgos e fetos. Com efeito é nessas plantas que se encontram as denominadas desoxiantocianidinas<sup>2</sup> ver esquema 3. [1]

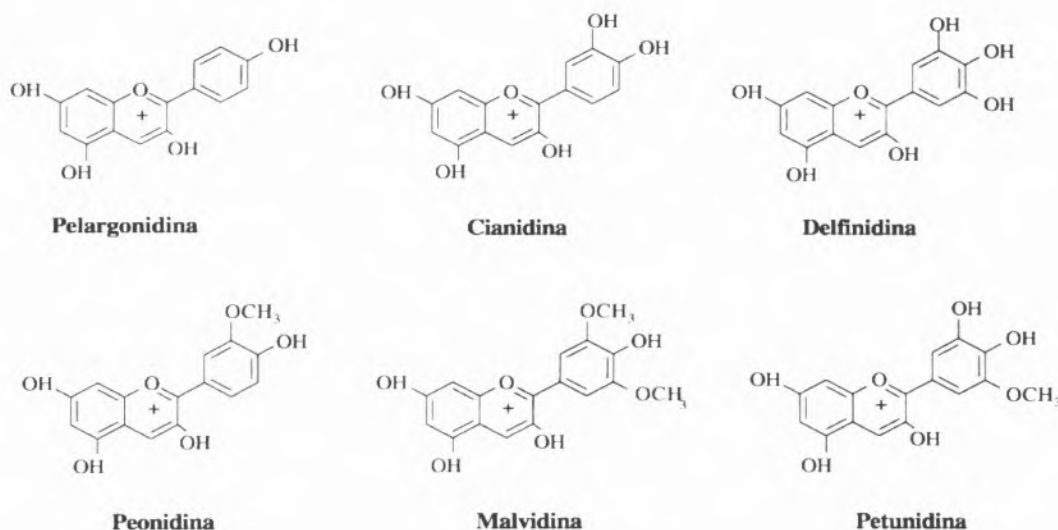
Enquanto nas moléculas representadas no esquema 2 as cores dominantes do catião flavílio são o vermelho, nas do esquema 3 são o amarelo. E ainda mais interessante, a cor azul pode ser obtida das antocianidinas e antocianinas (mais adiante veremos como), mas não das desoxiantocianidinas. Sabendo-se da importância da cor, nomeadamente para atrair os insectos, pode-se considerar que a hidroxilação da posição 3 foi uma etapa crucial na evolução bioquímica das plantas. [2]

No que respeita ao uso das antocianinas pelos humanos, além de sempre terem feito parte da nossa dieta alimentar, já eram utilizadas no Império Romano, na preparação de pigmentos púrpura, tal como nos conta *Vitrúvio* [3] e também em mu-



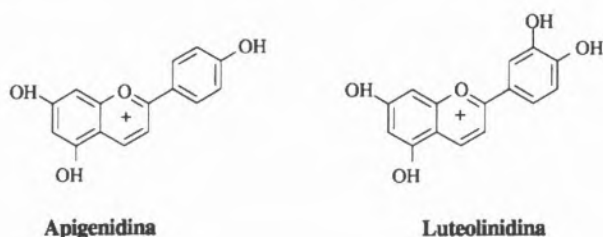
*Fernando Pina*, licenciou-se em Engenharia Química e doutorou-se em Fotoquímica no IST, sendo actualmente Prof. Associado no Departamento de Química da FCT/UNL. É autor de cerca de setenta trabalhos de investigação publicados em revistas internacionais de prestígio. Obteve o Prémio Gulbenkian de Ciência em 1998. *Maria João Melo* licenciou-se em Química Aplicada e doutorou-se em Fotoquímica (FCT/UNL). Integra actualmente o Departamento de Conservação e Restauro da FCT/UNL.

*Ana Roque* licenciou-se em Química Aplicada e está a concluir o seu doutoramento em Fotoquímica (FCT/UNL).



Esquema 2 - Antocianidinas mais comuns.

rais na civilização Maia [4]. O seu isolamento e caracterização começa com *Richard Willstätter*<sup>3</sup> um dos grandes químicos orgânicos deste século: brilhante é o adjectivo mais utilizado na literatura para citar o seu trabalho, desde a elucidação da estrutura da clorofila à das antocianinas, até aos seus últimos trabalhos com enzimas. Em 1915 *R. Willstätter* recebe o prémio



Esquema 3 - Estrutura das desoxiantocianidinas

Nobel pelos seus trabalhos de investigação “*of plant pigments, particularly of chlorophyll*”.

É no seguimento da sua investigação sobre a clorofila, que *Willstätter* inicia o estudo das antocianinas, os pigmentos responsáveis pelos azuis, roxos e púrpuras que a Natureza usa para colorir flores e frutos. De forma semelhante ao efectuado para a clorofila, *Willstätter* consegue logo no primeiro trabalho [5] fazer o ponto da situação na literatura confusa (quando não contraditória) que caracteriza a área, aproveita a informação útil e traça o rumo. Neste seu primeiro trabalho de 1913 “*Untersuchungen über die Anthocyane; I. Über den Farbstoff der Kornblume*”,<sup>4</sup> que ele conclui ser uma contribuição modesta, uma vez que não lhe permite ainda propor uma estrutura, *Willstätter* cria uma nova área de investigação, moldando-a nas suas linhas directrizes. Uma área que floresceu a partir dos seus trabalhos [6], e que terá como outro grande contribuidor *R. Robinson*, a quem será atribuído o prémio Nobel em 1945. Arriscamos mesmo a afirmar que desde o trabalho pioneiro de *Willstätter*, pouco se avançou em termos de conceitos, sem desmerecer outras valiosas contribuições: além do já

mentado *Robinson, Dubois e Brouillard* na elucidação dos mecanismos cinéticos dos equilíbrios em solução [7], e as belíssimas estruturas que a escola japonesa nos trouxe através de *GoTo, T. Kondo* e colaboradores, que foram tema de capa das revistas *Angewandte Chemie* (1992) e *Nature* (1994). [8, 9]

*Willstätter* inicia a sua série com o estudo da cor na *Kornblumen*,<sup>5</sup> numa variedade cujas flores apresentam tonalidades diversas: violeta, violeta azulado e violeta avermelhado. Desta variedade de *Kornblumen* ele extraiu e purificou uma só antocianina, a cianina, pelo que concluiu que uma mesma antocianina pode ser responsável por todos os matizes do vermelho ao puro azul. Com evidência experimental pôde afirmar que a cor vermelha corresponde à forma ácida do composto, com o oxigénio carregado positivamente. É neste artigo que *Willstätter* baptiza de antocianidinas as antocianinas que sofreram hidrólise dos grupos glucósidos.

As estruturas das três principais antocianidinas, a cianidina, a pelargonidina e a delfinidina, são oferecidas no terceiro artigo desta série, em 1915, numa brilhante e clara dedução. Neste artigo *Willstätter* apresenta também experiências preliminares sobre o poder corante destes compostos naturais em materiais como a lã e o algodão, e demonstrou que o número de grupos OH no anel B é responsável pelo deslocar da cor para o azul.

No conclusivo número X, de 1915, “*Über Variationen der Blütenfarben*”<sup>6</sup>, *Willstätter* já se sente com evidência experimental suficiente para poder escrever, “*A maravilhosa diversidade de composições que, na Natureza e sob mão do Criador, as flores constroem, depende de vários factores, nomeadamente o aparecimento de diversas antocianinas numa mesma planta e numa mesma flôr, para além disso (depende) das grandes modificações na estrutura do corante, das diversas reacções com o meio intracelular, e da mistura com pigmentos amarelos, que por sua vez podem apresentar uma grande variedade*”. Temas que desenvolve exemplificando, nos seguintes sub-títulos **i)** *Vorkommen mehrerer Anthocyanine in einer Pflanzenart*,<sup>7</sup> em algumas variedades de plantas observa que existem 2 antocianinas, por exemplo, cianina e pelargonidina; **ii)** *Schwankungen im Anthocyangehalt*,<sup>8</sup> uma mesma antocianina pode, em plantas diferentes, apresentar variações na concentração de 0,7% a 14%; **iii)** *Abhängigkeit von der Reaktion des Zellsaftes*,<sup>9</sup> as três formas



possíveis que podem tomar as antocianinas no meio intracelular: ligadas a ácidos existentes na planta em flores vermelhas, como forma neutra em flores violetas, em sais com metais alcalinos ou outros, nas flores azuis; **iv) Abhängigkeit der Farbe vom Vorkommen gelber Pigmente**<sup>10</sup> uma paleta que vai de um delicado salmão a um castanho carregado pode ser obtida por combinação com os pigmentos amarelos. Ou seja, para além dos consensuais i) e ii), Willstätter dá-nos em iii) o que em conceitos modernos poderíamos traduzir como: o pigmento antocianina varre uma gama de cores do vermelho ao azul; essas formas podem ser observadas *in vitro* por variação do pH e serão capturadas nas plantas através de associações com constituintes do meio intracelular. Em iv) a importância da copigmentação com outros flavonóides, como por exemplo, as flavonas, ainda hoje consideradas uma das peças-chave na explicação da cor.

#### Síntese de sais de benzopirílio (flavílio) e de antocianinas

A estrutura central de uma antocianina é o seu anel de benzopirílio. A partir dele podem-se reproduzir todas as variedades e tonalidades de vermelhos, violetas, roxos e azuis existentes na Natureza, mas não de um modo permanente. As antocianinas, *in vivo*, apresentam estruturas muito complexas, como adiante se verá. Os açúcares que entram na sua composição são normalmente muito mais complexos que a simples glucose, ou galactose, como se pode constatar na estrutura representada no

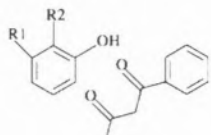
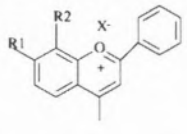
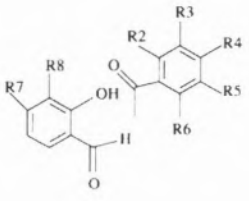
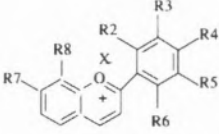
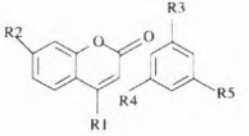
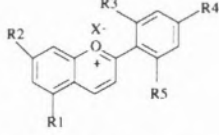
esquema 6. Esta é uma complexidade necessária para manter a cor, tal como sucede por exemplo nas metaloproteínas, responsáveis por muitas funções vitais, que por sua vez dependem das reacções processadas no centro activo, o complexo metálico constituído por uma mão-cheia de moléculas. Nessas estruturas, para que o pequeno núcleo (que é o centro activo) funcione é necessário o manto envolvente constituído por dezenas e dezenas de amino-ácidos.

Na cronologia química a estrutura flavílio sintético precede a sua congénere natural, a antocianina. A primeira síntese de um flavílio sintético<sup>11</sup> é descrita em 1901 por Bülow, no primeiro de uma extensa série de artigos [10], numa época em que o coração da indústria alemã eram os corantes e suas aplicações. As sínteses de Bülow, condensação de fenóis com  $\beta$ -dicetonas na presença de HCl gasoso, são muito eficientes, simples e de elevado rendimento.

A elucidação da estrutura básica das antocianinas feita por Willstätter, em 1916, abre caminho aos trabalhos de R. Robinson e colaboradores, que inicialmente os justifica, como vias de obtenção de corantes. R. Robinson propõe estratégias de síntese para flavílios, antocianidinas e antocianinas, numa longa série de trabalhos. [11,12]

Desde estes trabalhos pioneiros muitos têm sido os métodos apresentados em literatura para a síntese de antocianinas, antocianidinas ou flavílios sintéticos. [13] Para informação do leitor são representados na tabela 1, os principais métodos utilizados no nosso grupo para a obtenção de flavílios sintéticos.

Tabela 1

Tipo de Síntese	Reagentes	Alguns Sais de Flavílio Sintetizados
Condensação de Fenóis com $\beta$ -dicetonas na presença de HCl (g) [10]		 R1=OH; R2=H; X=Cl R1=R2=OH; X=Cl
Condensação de Salicilaldeídos com Acetofenonas na presença de HCl (g) ou H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> [14,15]		 R2=R3=R4=R5=R6=H; R7=R8=OH; X=Cl R2=R3=R5=R6=R7=R8=H; R4=Me; X=ClO <sub>4</sub> R2=R5=R6=R7=R8=H; R3=R4=OMe; X=ClO <sub>4</sub> R2=R3=R5=R6=R7=R8=H; R4=OH; X=Cl R2=R3=R5=R6=R8=H; R4=R7=OH; X=Cl R2=R3=R5=R6=R7=R8=H; R4=Br; X=ClO <sub>4</sub>
Condensação de Cumarinas com Anéis Benzénicos activados. [14]		 R1=Me; R2=R3=R4=R5=OH; X=ClO <sub>4</sub>

## Comportamento das antocianinas“ in vitro”.

Como foi referido nos parágrafos precedentes a formação de azuis e vermelhos nas flores e frutos tem sido atribuída às antocianinas. Até certo ponto esta afirmação traduz o entendimento que de momento temos do fenómeno da cor nas plantas. No entanto, como veremos mais adiante, o problema é algo mais complexo.

Ao olharmos a estrutura química de uma antocianina (por exemplo a Malvina), a primeira impressão que se tem é uma certa perplexidade pelo facto de uma função biológica tão importante estar atribuída a uma molécula tão simples. Esta simplicidade é no entanto aparente. Não só as antocianinas se multiplicam em variados equilíbrios, mas também estão envolvidas em fenómenos de complexação com outros compostos naturais e/ou metais.

## Transformações estruturais em solução aquosa

Quando se dissolve uma antocianina em água a pH=1, a solução é de cor vermelha e mantém-se estável por largos períodos de tempo. Se adicionarmos base a essa mesma solução, de modo a obtermos um pH final na gama de  $3 < \text{pH} < 6$ , (**salto de pH**), verificamos que se forma imediatamente uma cor azul. Foi este facto que levou à teoria de que o pH era a (única) chave da cor. Tal explicação é ainda hoje muito comum em livros de texto de Química Orgânica, Botânica e até de Química de Produtos Naturais. Que a variação de pH não pode explicar cabalmente este fenómeno é evidente: alguns minutos após o salto de pH a cor azul desaparece. Por outras palavras soluções aquosas das antocianinas mais vulgares na gama de pH 3 a 6 são praticamente incolores. Nas plantas as antocianinas estão inseridas nos vacúolos cujo pH varia, grosso modo, entre 3 e 7. Por conseguinte o fenómeno da cor é complexo e a natureza teve de encontrar modos de estabilizar não só os azuis mas também os vermelhos.

## Transformações estruturais das antocianinas

Na figura 1 estão representadas as transformações estruturais que ocorrem nas antocianinas mais comuns, a valores de pH na zona ácida.

A forma *vermelha*, o catião flavílio, é estável a valores de pH muito ácidos, como se verá mais adiante. Esta forma está relacionada com outras mais (4 na zona  $0 < \text{pH} < 6$ ) do seguinte modo: **i**) a base quinoidal *azul* é obtida por uma simples perda de protão, **ii**) o hemiacetal (ou pseudo-base) *incolor* resulta de uma reacção de hidratação na posição 2, **iii**) a *cis*-chalcona *amarelo pálido* está em equilíbrio muito rápido com o hemiacetal, do qual se pode obter através de uma reacção de tautomerização, **iv**) a *trans*-chalcona, também de cor *amarelo pálido* resulta de uma isomerização *cis-trans* da espécie anterior.

Conforme foi referido na introdução histórica, uma contribuição muito importante para a compreensão desta química foi dada por Dubois e Brouillard na década de setenta. [7] Estes autores provaram que em meio ácido (mesmo moderadamente ácido) a formação do hemiacetal se dá por hidratação do catião flavílio, e não por exemplo através da base quinoidal. Este aspecto tem importantes implicações na cinética de interconversão destas formas conforme veremos mais adiante.

## Equilíbrio termodinâmico e sua cinética

O tipo de representação que a seguir se apresenta foi por nós introduzida recentemente [16], sendo muito útil na visualização não só do equilíbrio como da cinética das antocianinas e flavílios sintéticos. Conforme se pode verificar na Figura 2, a valores de pH muito ácidos a forma mais estável é o catião flavílio de cor vermelha. Quando se dá um salto de pH para um valor menos ácido (por exemplo pH=5) o catião flavílio deixa de ser a forma mais estável, para dar lugar à forma incolor hemiacetal.

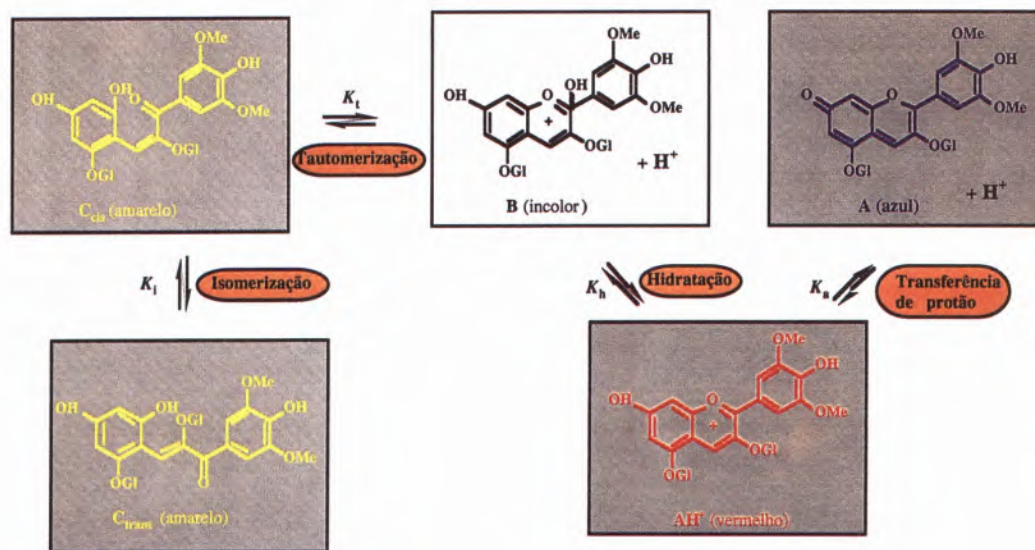


Fig. 1 - Transformações estruturais de uma antocianina comum (Malvina) na zona de pH ácida



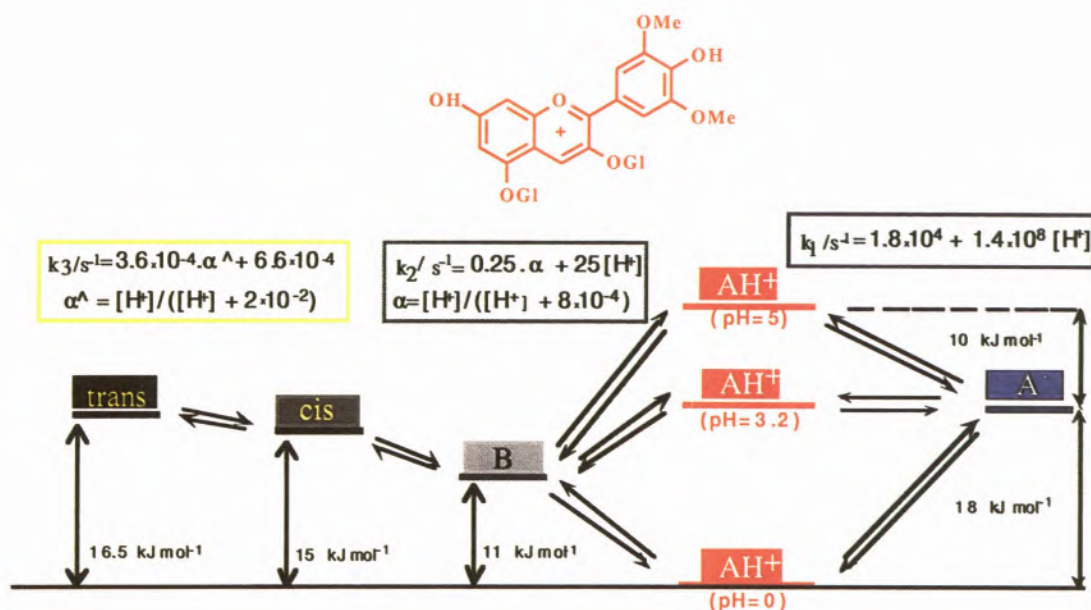


Fig. 2 - Esquema termodinâmico e cinético da Malvina.

Neste ponto “entra” a cinética. Com efeito é mais rápido para o catião flavílio transferir um próton do que ser hidratado, isto é forma-se muito mais depressa a base quinoidal (cor azul) do que o hemiacetal incolor. Podemos verificar esta afirmação comparando as constantes cinéticas dos dois processos, dentro do rectângulo da direita e do centro, respectivamente. Trata-se no entanto de um produto cinético. De referir que nesta fase do processo existe sempre uma pequena concentração de flavílio mesmo a pH=5 ou 6, (50% a pH=3.2). Nessas condições o flavílio ainda em (pseudo) equilíbrio (mesmo que seja em diminuta concentração) vai sendo hidratado dando o hemiacetal mais estável. Como o flavílio está em equilíbrio muito rápido com a base quinoidal, não é somente ele a consumir-se mas também esta. E assim se vai perdendo a cor azul. Esta reacção demora alguns minutos e depende do pH. Sabe-se que nas antocianinas (e também nos flavílios sintéticos) o hemiacetal e a *cis*-chalcona estão geralmente envolvidos num equilíbrio muito rápido, sendo a quantidade de *cis*-chalcona da ordem dos 10% do total. Finalmente no espaço de horas ocorre uma reacção de isomerização *cis-trans* dando origem a uma pequena percentagem de *trans*-chalcona. Nas antocianinas mais comuns a concentração desta espécie é muito pequena, mas em alguns flavílios sintéticos é não só maioritária mas também, a chave das aplicações dos sistemas ópticos baseados nestes compostos.

#### Analogia hidráulica

Uma melhor compreensão do modo como as diversas cores se vão obtendo após um salto de pH pode ser feita através de uma analogia hidráulica como aquela apresentada no esquema 4. Nesta analogia os reservatórios representam as diversas formas da Malvina e contêm um fluido que assume as cores da respectiva forma.

A pH=1.0 a espécie estável é o catião flavílio de cor vermelha, *fase I*. Logo a seguir ao salto de pH para, por exemplo, 3.2 ( $pK_a$  do equilíbrio ácido base  $AH^+ \leftrightarrow A$ ) verifica-se que o fluido pode transitar facilmente para o recipiente da base quinoidal, *fase II*. A este pH obtemos uma cor roxa que corresponde a uma mistura de 50% de vermelho e 50% de azul. Se o pH final for mais baixo a solução será mais vermelha e se for mais alto será o azul a predominar. Na *fase III* verificamos que o fluido começa a escorrer para o reservatório do hemiacetal e da *cis*-chalcona. Como o orifício de comunicação é menor neste caso do que no anterior, o processo é mais lento. À medida que o fluido transita para o recipiente  $Cc+B$  a cor vai desaparecendo porque a espécie maioritária, o hemiacetal, é incolor. Finalmente na *fase IV* as cinco espécies entram no seu equilíbrio termodinâmico, com a formação lenta de uma pequena quantidade de *trans*-chalcona.

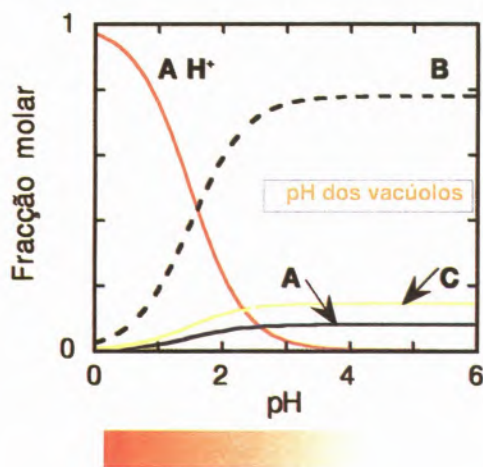


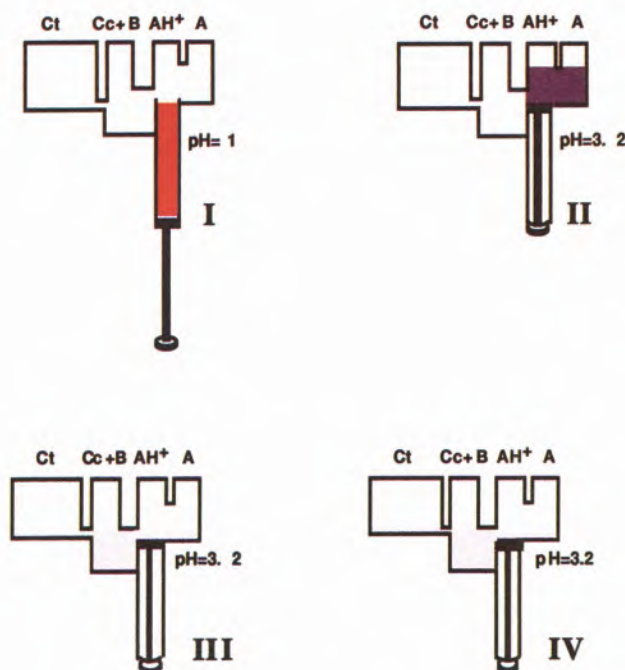
Fig. 3 - Distribuição das fracções molares na Malvina



### Distribuição molar das diversas espécies

Um outro modo de visualizar as espécies em solução é a utilização de um diagrama de distribuição das fracções molares em função do pH. Na figura seguinte apresentamos o diagrama da Malvina no equilíbrio final.

Claramente se verifica que ao pH dos vacúolos a percentagem de espécies coradas é mínima, que o vermelho só é estável a valores de pH muito ácidos, e que a cor azul é praticamente inexistente.

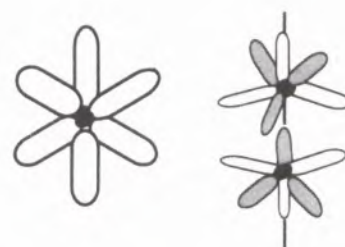


Esquema 4 - Analogia hidráulica para a cinética da Malvina, (após um salto de pH 1.0 para 3.2).

### Copigmentação, complexação com metais e auto-associação

Como vimos anteriormente para obter cor é necessário estabilizar pelo menos uma das formas, catião flavílio e/ou base quinoidal. Um dos meios mais comuns para atingir esse objectivo é a co-pigmentação. Este processo consiste na associação de uma das formas da antocianina com outros flavonóides, nomeadamente as flavonas. Na co-pigmentação de antocianinas com flavonas foi demonstrado que os dois compostos estão empacotados (hydrophobic stacking) um por cima do outro. [8] A cor azul pode também ser estabilizada nos casos em que a antocianina contém dois grupos hidroxilo adjacentes (catecol) por complexação com metais, por exemplo magnésio e ferro. [17] A auto-associação é um outro factor que permite estabilizar a cor, tanto mais que a concentração de antocianina nas células chega a valores de  $2 \times 10^{-2}$  M. [8]

De seguida descrevemos dois exemplos que dão conta de estratégias da natureza para obter cor. Uma baseada na co-pigmentação externa, complexação com metais e auto-associação e a outra no efeito da co-pigmentação interna. Curiosamente os dois



Esquema 5 - Na figura da esquerda mostra-se uma planta da estrutura apresentando os iões magnésio ligados às antocianinas (em branco). Na da direita uma perspectiva já com os co-pigmentos da flavona (em cinzento).

exemplos ilustram uma polémica científica entre a escola alemã e japonesa. No interessante artigo da *Angew Chem.* [8] GoTo e Kondo referem que enquanto Willstätter afirmava que a cor azul era devida a uma variação de pH das células das flores, Shibata. [18] contestava esta teoria e afirmava que o azul era devido à complexação com metais, tais como o magnésio. Na realidade e conforme foi referido na breve introdução histórica, os autores Japoneses deram uma interpretação redutora do pensamento de Willstätter. Este já havia intuído o efeito dos metais, embora tivesse feito referência ao potássio e não ao magnésio.

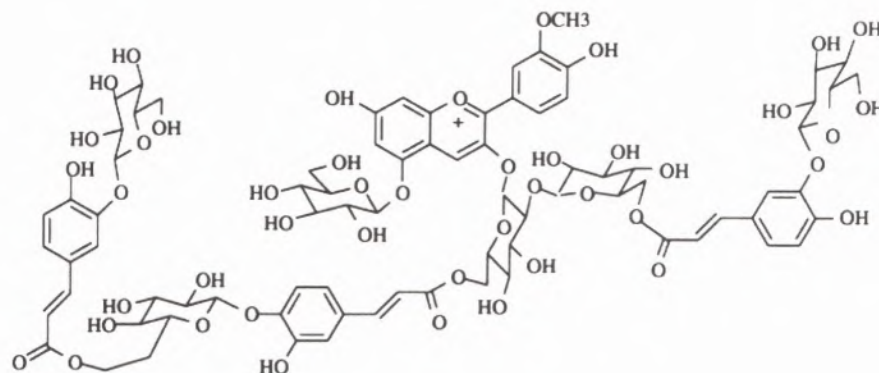
### *Commelina communis* e *Ipomoea tricolor*

Em 1991 e 1992 os investigadores Japoneses GoTo e Kondo propõem a estrutura do pigmento azul da *Commelina Communis*. [8,9a] Trata-se de uma supramolécula constituída por 6 unidades de uma antocianina (malonylawobanin, um derivado da delphinidina), outras 6 unidades de uma flavona (Flavocommelin) e 2 átomos de  $Mg^{2+}$ . Na estrutura desta molécula os dois átomos de magnésio estão sobre um eixo de simetria ternária. A cada um dos metais ligam-se três antocianinas em dois planos conforme se indica grosso modo no esquema 5.

Neste artigo os autores japoneses fazem uma homenagem ao seu compatriota Shibata provando que este havia previsto correctamente o papel dos metais na formação da cor. Curiosamente, em 1995 ainda na revista Nature [9b] o mesmo Kondo e colaboradores (GoTo entretanto havia falecido) referem o caso da flor da planta *Ipomoea tricolor*. Nesta planta a flor em botão é vermelha e desabrochada é azul. No entanto foi provado por HPLC que o pigmento (HBA do inglês Heavenly Blue Anthocyanin) é o mesmo, esquema 6. De acordo com as medições de pH a cor vermelha ocorre nas pétalas a pH=6.9 e a azul em pétalas a pH=7.7. Quando as flores azuis são sujeitas a uma atmosfera de elevada concentração de  $CO_2$  o pH altera-se para 6.9 e a cor vermelha aparece. Esta modificação é reversível quando se volta a colocar as flores ao ar. Neste caso a molécula é um derivado da peonidina tendo um açúcar substituído na posição 3. Este açúcar é muito complexo e contém resíduos de ácido cafeico que permitem uma co-pigmentação intramolecular tipo sandwich.

Como se pode verificar destes dois exemplos, a natureza não usa uma só estratégia para conseguir a cor. A futura investigação nesta área poderá trazer ainda mais algumas belas surpresas!





Esquema 6 - Pigmento HBA responsável pelos vermelhos e azuis das flores da planta *Ipomoea tricolor*.

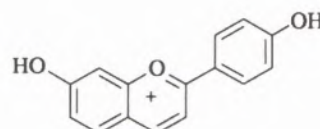
#### Distribuição das fracções molares na co-pigmentação e cor

A co-pigmentação limita-se a deslocar os equilíbrios das duas formas coradas, e aparentemente não dá origem a novos aductos com bandas de absorção intensas do tipo transferência de carga. Quando muito temos verificado que os espectros de absorção seja do flavílio, seja da base quinoidal, se desviam ligeiramente para o vermelho. Nestas condições podemos prever em que gama de valores de pH se distribuem as diversas cores que se obtêm por co-pigmentação. Tal pode ser feito através do estudo da distribuição molar das formas coradas, catião flavílio e seus complexos (de cor vermelha) e base quinoidal e seus complexos (de cor azul). Na figura seguinte apresentam-se as distribuições das fracções molares das diversas espécies no caso de co-pigmentação com o catião flavílio (esquerda) e no caso de co-pigmentação com a base quinoidal (direita). Esta Figura pode ser comparada com a distribuição molar da Malvina na ausência de co-pigmentação (figura 3). No primeiro caso o domínio de pH da forma vermelha é alargado até pH=5, enquanto que no segundo é possível obter azul ou roxo a valores de pH a partir de 3.

#### Flavílios sintéticos

Conforme se viu, a história dos flavílios sintéticos tem estado sempre ligada à das antocianinas. As transformações estruturais destas moléculas sintéticas seguem o mesmo esquema base das antocianinas com algumas variantes que dependem dos substituintes.

No esquema 8 apresentamos a analogia hidráulica para o 4',7 - dihidroxiflavílio que tem sido muito estudado no nosso grupo porque possui um "esqueleto base" análogo às antocianinas e às desoxiantocianidinas. [16,19,20]



Esquema 7 - 4',7-dihidroxiflavílio

A diferença básica deste composto em relação às antocianinas é o facto da reacção de hidratação ser menos eficiente do que a reacção de isomerização. Além disso a espécie maioritária a pH=4 é a *trans*-chalcona e não o hemiacetal como por exemplo na Malvina. A pH=1.0 a forma termodinamicamente estável é o catião flavílio de cor amarela. Logo após o salto de pH forma-se uma mistura de base quinoidal e catião flavílio cuja concentração relativa depende do pH final do salto. O sistema equilibra através da formação de *trans*-chalcona. As espécies *cis*-chalcona e hemiacetal são formadas de um modo transiente. Numa linguagem simples, logo que se formam, desaparecem não sendo detectáveis por  $^1\text{H}$  RMN.

#### Fotoquímica dos flavílios sintéticos.

A existência da espécie maioritária *trans*-chalcona a valores de pH moderadamente ácidos abre novas perspectivas no uso desta família de compostos. Com efeito, tal como muitas outras moléculas possuindo uma dupla ligação C=C (das quais a mais

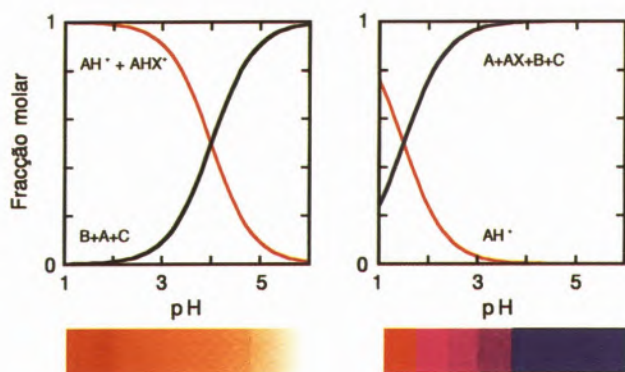
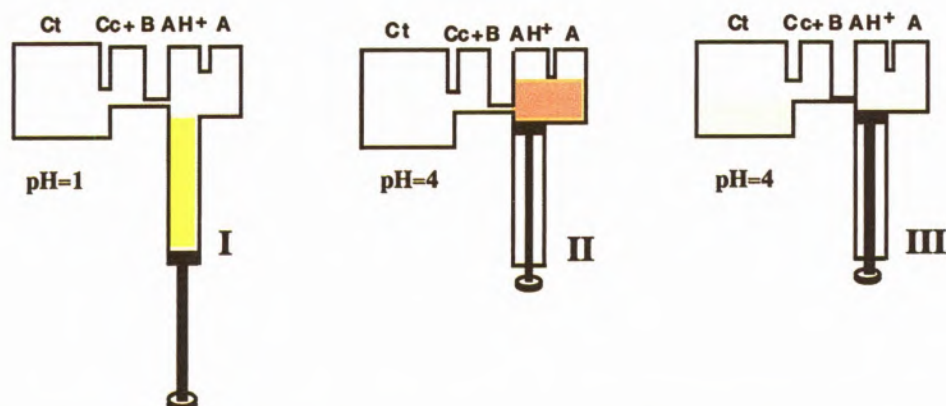


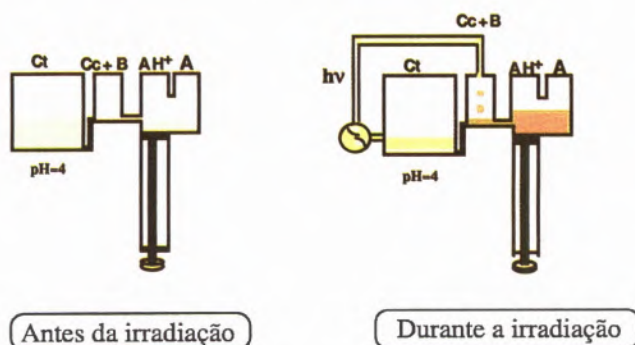
Fig. 4 - Distribuição das fracções molares das formas dominantes no caso da co-pigmentação com o catião flavílio (esquerda) e com a base quinoidal (direita)





Esquema 8 - Analogia hidráulica para o 4',7-dihidroxi-flavílio.

célebre será porventura o *cis*-retinal interveniente no processo da visão) as chalconas são inter-convertíveis por absorção de luz. Usando uma vez mais a nossa analogia hidráulica podemos perceber qual o efeito da irradiação da *trans*-chalcona, esquema 9.



Esquema 9 - Analogia hidráulica para o efeito da irradiação da *trans*-chalcona.

A questão que agora se coloca é a seguinte. O que é que acontece após a irradiação da *trans*-chalcona? No caso do composto 4',7-dihidroxi-flavílio o sistema volta para trás termicamente. [20,21] Existem no entanto outros compostos onde a isomerização *cis-trans* tem uma enorme barreira cinética. Como veremos mais adiante são esses os compostos utilizados nos ciclos para escrever-ler-apagar.

### Memórias ópticas.

Os computadores actuais são baseados em memórias que funcionam num sistema do tipo interruptor com os valores 1 ou 0.

Uma foto-isomerização por exemplo *trans-cis* pode ser considerada um sistema alternativo onde a formação da espécie *cis* corresponde ao sinal 1 e a sua ausência ao sinal 0. Neste caso escrever significa irradiar a um comprimento de onda adequado (onde a forma *trans* absorva). A fase seguinte é indagar se algo foi escrito, isto é ler. Para este efeito a espécie *cis* terá de ser medida, o que se pode fazer usando de novo luz de um comprimento de onda onde a forma *cis* absorva. Finalmente o ciclo acaba quando se

apaga, ou seja se faz reverter toda a forma *cis* de novo à forma *trans*.

Existem no entanto alguns problemas com os sistemas fotocromicos porque a espécie formada, neste caso a *cis*, tenderá a reverter termicamente para o isómero *trans* porque esta é a espécie mais estável termodinamicamente, primeiro exemplo do esquema 11. Nestas circunstâncias teremos uma instabilidade térmica do sinal escrito.

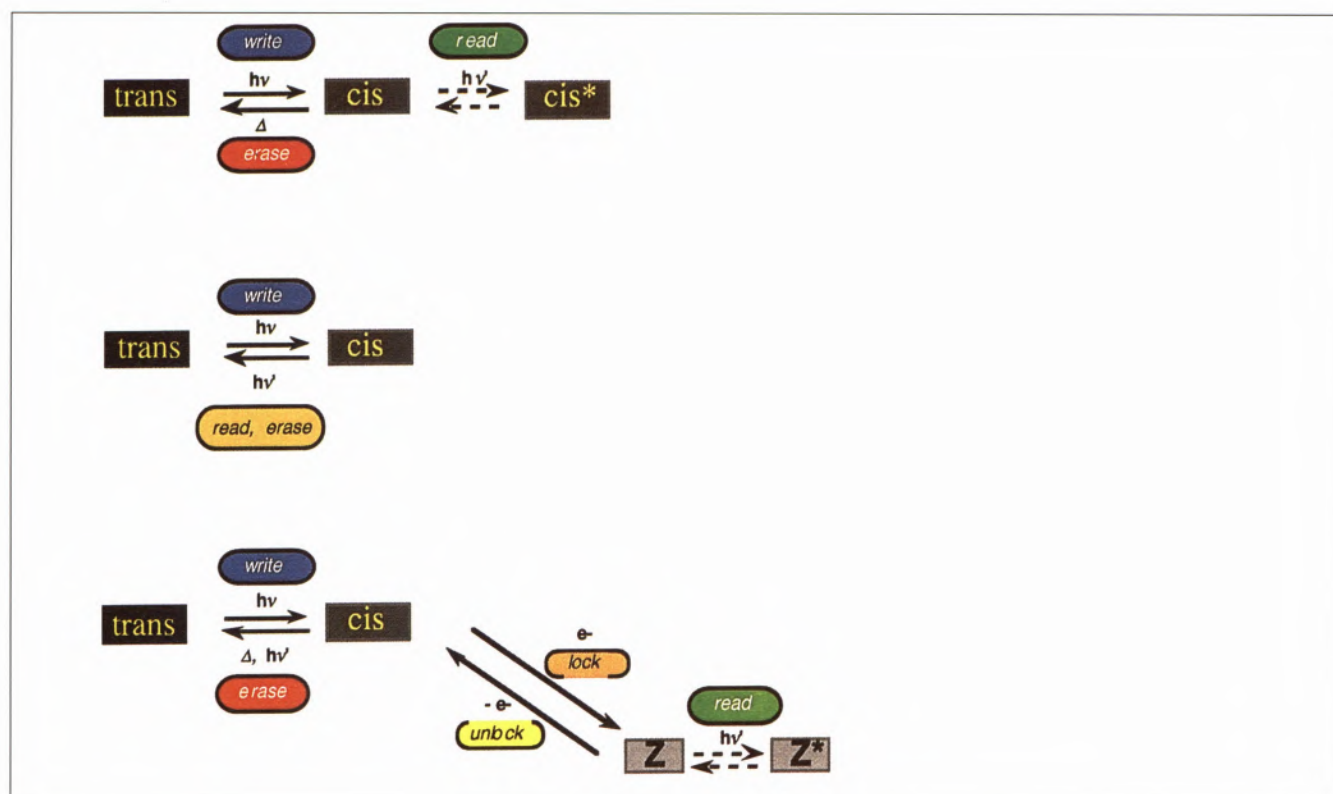
Em certos sistemas fotocromicos existe uma barreira cinética que dificulta a isomerização, segundo exemplo do esquema 11. Todavia o problema não fica resolvido porque a leitura óptica da forma *cis* implica a sua irradiação. E nestes casos é comum observar-se uma fotoreactividade da espécie *cis* para dar *trans*. Por outras palavras o sinal apaga-se enquanto é lido. Para evitar estes problemas é necessário introduzir um passo designado trancar (lock). Este passo pode ser constituído por uma transferência de electrões ou de protões envolvendo a forma *cis*, de modo a dar uma nova espécie Z, que terá de ser estável termicamente e fotoquimicamente. Para apagar basta levar a cabo a reacção inversa de trancar (unlock) permitindo retornar à espécie *cis* e deste modo apagá-la por aquecimento ou com o auxílio de luz, último caso do esquema 11.

Conforme o leitor poderá verificar, os flavílios sintéticos são sistemas que verificam precisamente este tipo de química. A questão é encontrar flavílios sintéticos que possuam a barreira cinética na isomerização.



Impulso (hv)	State
No	0
Yes	1

Esquema 10 - Sistema fotocromico como base binária.



Esquema 11

### Flavílios sintéticos substituídos na posição 4'.

Alguns flavílios sintéticos contendo exclusivamente um substituinte na posição 4', possuem a barreira cinética acima mencionada e por isso podem ser usados como modelo para memórias ópticas [22].

No 4'-metoxiflavílio, esquema 12, a *trans*-chalcona pode ser obtida a um pH neutro. Quando se acidifica uma solução dessa espécie (às escuras) por exemplo para pH=3, esta mantém-se nessa forma por um longo período devido à elevada barreira cinética. Por irradiação a *trans*-chalcona dá origem à *cis*-chalcona, sendo este o processo de escrita. Nesta fase o sistema não pode ser lido porque a irradiação da *cis*-chalcona dá origem à formação da *trans*-chalcona pelo que o sistema apagaria durante a leitura. Mudando o pH para (por exemplo) 7, a *cis*-chalcona é convertida em catião flavílio que é muito estável termicamente e fotoquimicamente, podendo ser lido sem apagar. Para fazer reverter o sistema ao estado inicial basta agora tornar a pH=7.0 (destrancar) de modo a formar *cis*-chalcona e por aquecimento ou usando luz obter de novo a *trans*-chalcona (apagar), esquema 12.

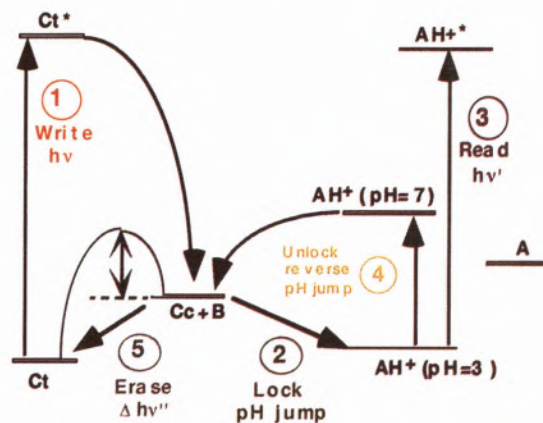
Com base neste tipo de comportamento podemos conceber modelos de redes neuronais, memórias permanentes e temporárias, etc, temas que o leitor interessado poderá encontrar na referência 22a,b,c.

### Futuras aplicações

Quando se pensa nas aplicações práticas deste sistema surge uma série de problemas dos quais mencionaremos dois dos

mais importantes: i) melhorar a estabilidade dos compostos que se degradam lentamente ao fim de dezenas de ciclos, ii) pensar em dispositivos de estado sólido.

Nesta fase o objectivo da nossa investigação é introduzir novos conceitos, ideias e mesmo uma linguagem nova. Um pouco por todo o mundo surgem grupos de Químicos interessados nas máquinas moleculares, e até nos motores moleculares. Sistemas moleculares capazes de levar a cabo funções. Quem sabe se, conforme perguntava uma jornalista da revista New Scientist [23], não iremos criar um futuro colorido para as memórias artificiais.



Esquema 12



## NOTAS

- <sup>1</sup> Do inglês anthocyanin. Em Português temos deparado igualmente com a tradução antociana. Tendo em conta a etimologia da palavra, os elementos que entram na sua composição são *anto+ciani+-ina* (ver Dicionário Etimológico da Língua Portuguesa de José Pedro Machado). O termo antocianina que se tem vindo a generalizar é pois, cremos, o mais correcto.
- <sup>2</sup> Tradução da palavra inglesa *deoxyanthocyanindins*.
- <sup>3</sup> Willstätter nasce em 1872 em Karlsruhe, na Alemanha. Finaliza os seus estudos na Universidade de Munique. À frente do Departamento de Química, encontra-se nessa época Adolf von Bayer, que tinha sucedido a Justus von Liebig. Neste departamento R. Willstätter trabalhará por um período de 10 anos, antes do seu regresso em 1916, como sucessor de A. Bayer. O Nobel é-lhe atribuído precisamente nesse ano, pelas suas investigações na clorofila, iniciadas em Zurique e completadas em Berlim, e pelo seus estudos nas Antocianinas, desenvolvidos em Berlim. R. Willstätter é judeu, um dos mais considerados químicos da época, com uma vida académica e científica brilhante, frutuosa e plenamente reconhecida pela comunidade científica. No entanto em 1924 anuncia a sua demissão como um gesto de protesto contra o antisemitismo violento que se instala na Alemanha. Retira-se e nos anos vindouros recusará as mais variadas e deslumbrantes ofertas vindas quer do seu próprio país, como do estrangeiro. Em 1938 tem a Gestapo à sua porta, conseguindo escapar com o auxílio de um seu discípulo, A. Stoll. Emigra para a Suíça, onde morre em 1942.
- <sup>4</sup> Investigações em antocianinas; I. Acerca da cor da Kornblume".
- <sup>5</sup> *Centaurea cyanus*, de seu nome científico e Fidalguinhos ou Lóios-dos-jardins de nome comum.
- <sup>6</sup> Acerca das variações da cor em flores.
- <sup>7</sup> Presença de várias antocianinas numa mesma planta
- <sup>8</sup> Variação na concentração de antocianinas.
- <sup>9</sup> Dependência das reacções do meio intracelular.
- <sup>10</sup> Dependência da cor da presença de pigmentos amarelos.
- <sup>11</sup> O uso de flavílio sintético é um hábito que se adquire das leituras na vasta literatura científica sobre o tema; flavílio sintético como oposição não explícita, à antocianina natural. Uma oposição que nem R. Willstätter, nem R. Robinson criaram, mas que mais tarde foi utilizada por uma comunidade científica criada em torno dos flavonóides, e polifenóis.

## REFERÊNCIAS

1. J.G.Sweeny, G.A. Iacobucci, *Tetrahedron*, **33** (1977) 2927 e referências aí contidas.
2. J. B. Harborne, *Functions of Flavonoids in Plants*, ed. W. Goodwin, vol.I Academic Press, London (1976).
3. A. Picon, *Les dix livres d'architecture de Vitruve*, Bibliothèque de l'Image (1995),

Livre VII Cap. XIV.

4. L. Colombo, *I Colori degli Antichi*, Nardini Editore (1995), pag.171-173.
5. R. Willstätter, A. E. Everest, *Justus liebigs Ann. Chem.*, **401** (1913) 189.
6. R. Willstätter, et al, *Justus liebigs Ann. Chem.*, **408** (1915) 1-162.
7. J. R. Brouillard, J. E. Dubois, *J. Am. Chem. Soc.*, **99** (1977) 1359.
8. T. Goto, T. Kondo, *Angewandte Chemie Int. Ed. Engl.*, **30** (1991) 17-33.
9. a) T. Kondo, K. Yoshida, A. Nakagawa, T. Kawai, H. Tamura, T. Goto, *Nature*, **358** (1992) 255. b) K. Yoshida, T. Kondo, Y. Okazaki, K. Katou, *Nature*, **373** (1995) 291.
10. C. Bullock, H. Wagner, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **34** (1901) 1782.
11. R. Robinson, D. D. Pratt, *J. Chem. Soc.*, (1922) 1577.
12. R. Robinson, A. Robertson, *J. Chem. Soc.*, (1927) 1710.
13. J.G.Sweeny, G.A. Iacobucci, *Tetrahedron*, **39** (1983) 3005-3038.
14. Ch. Michaelis, R. Wizinger, *Helv. Chim. Acta*, **34** (1951) 1761-1776.
15. A. W. Johnson, R. R. Melhuish, *J. Chem. Soc.*, (1947) 346.
16. F. Pina, M. J. Melo, R. Ballardini, L. Flamigni, M. Maestri, *New J. Chem.*, **21** (1997) 969-976.
17. R. Brouillard, In *The Flavonoids, advances in research*, ed. J. B. Harborne, Chapman and Hall, London (1988).
18. K. Shibata, Y. Shibata, I. Kasiwagi, *J. Am. Chem. Soc.*, (1918) 208-220.
19. F. Pina, M. J. Melo, H. Santos, J. C. Lima, I. Abreu, R. Ballardini, M. Maestri, *New J. Chem.*, (1998) 1093-1098.
20. F. Pina, M. J. Melo, A. J. Parola, M. Maestri, V. Balzani, *Chem. Eur.J.*, **4** (1998) 2001-2007.
21. M. Maestri, R. Ballardini, F. Pina, M. J. Melo, *J. Chem. Education.*, **74** (1997) 1314.
22. a) F. Pina, M. J. Melo, M. Maestri, R. Ballardini, V. Balzani, *J. Am. Chem. Soc.*, **119** (1997), 5556. b) F. Pina, A. Roque, M. J. Melo, M. Maestri, L. Belladelli, V. Balzani, *Chem. Eur. J.*, **4** (1998) 1182. c) F. Pina, M. Maestri, V. Balzani, *Chem. Commun.*, (1999) 107.
23. *New Scientist*, 19 Jul 1997.

# Novas Perspectivas de Tratamento do Cancro: Terapia Fotodinâmica

JOÃO C.V.P. MOURA

Departamento de Química, Universidade do Minho, Largo do Paço, 4700-320 Braga

Nas últimas duas décadas tem sido dada especial atenção a uma técnica inovadora para tratamento do cancro: a terapia fotodinâmica (PDT). A ideia de que as células cancerosas podem ser destruídas por um fármaco não tóxico que apenas precise de ser activado pela luz visível, a nível celular, para produzir o efeito fotodinâmico desejado, atraiu a atenção de muitos cientistas, tendo sido observado um progresso enorme nos últimos anos. Comparativamente à radioterapia e à quimioterapia, a PDT apresenta a vantagem de destruir selectivamente os tecidos cancerosos, deixando intactos os tecidos normais. Para além disso, não apresenta os efeitos secundários perigosos e altamente indesejáveis que estão associados às terapias clássicas.

## PERSPECTIVA HISTÓRICA

Embora a cura para o cancro ainda não tenha sido encontrada, os cientistas continuam a perseguir este objectivo tendo sido observado algum avanço nos últimos anos. As técnicas clássicas - cirurgia, radioterapia e quimioterapia - continuam a ser os métodos mais utilizados não obstante os efeitos secundários altamente indesejáveis: diarreia, perda de paladar, queda do cabelo, astenia e fragilização do sistema imunitário, entre outros. Para além disso, o tratamento nem sempre é eficaz.

A Terapia Fotodinâmica (PDT) é uma técnica recente que abre novas perspectivas para o tratamento do cancro [1,2]. Envolve o uso da luz em combinação com um determinado tipo de fármaco (que se designa como fotossensibilizador) cuja acção visa a destruição selectiva das células tumorais. É necessária a presença do oxigénio molecular e, se um destes três componentes falha, não há efeito biológico.

De um modo muito geral, a PDT consiste na utilização da luz para tratar a doença e já há muito tempo que se conhece este efeito. As experiências de Raab com eosina e acridina tendo em vista a fotodestruição da paramécia datam do início do século [3].

Em 1903, foi ensaiada pela primeira vez a aplicação clínica da PDT, com eosina, para o cancro de pele [4] e, já em 1924, Policard tinha observado a acumulação de porfirinas em tumores malignos [5]. Em 1960, Lipson introduziu uma técnica, usando derivados porfirínicos, para detecção e tratamento de tumores malignos [6].



J.C.V.P. Moura licenciou-se em Farmácia em 1982 (U.C.) e ingressou na U. Minho (Dep. Química) em 1984. Doutorou-se em 1994 pela U. Minho. Em 1995, foi "Research Fellow" no "Department of Colour Chemistry", U. Leeds (U.K.). É investigador no Instituto de Biotecnologia e Química Fina da

U. Minho (I.B.Q.F.-UM) desde a sua fundação, onde desenvolve actividade de investigação na área dos corantes para aplicação têxtil. Em 1995, iniciou colaboração científica com a U. Leeds na pesquisa de novos compostos para aplicação na Terapia Fotodinâmica do Cancro. Desde Março de 1999 é Professor Associado da U. Minho.

## PRINCÍPIOS DA PDT

Os princípios da PDT são muito simples: injecta-se o paciente com um fármaco fotossensibilizador (Fig.1a) o qual se distribui rapidamente pelo corpo do doente (Fig.1b). Após dois dias, o fotossensibilizador é eliminado através de processos naturais pelas células normais e é retido pelas células tumorais (Fig.1c). Nesta fase, o fármaco é inactivo, mas torna-se activo por exposição à luz. O doente volta ao hospital e o tumor é irradiado com luz vermelha, geralmente laser, por um período curto de tempo (Fig.1d). O fotossensibilizador torna-se activo e destrói as células cancerosas onde se encontra instalado. Finalmente, o tecido sã que circunda a zona tumoral acaba por regenerar toda a zona afectada (Fig.1e).



Fig. 1 - Princípios da PDT.

Esta técnica é particularmente importante para tratamento de tumores que se localizam em zonas acessíveis à luz, por isso é muito usada para tumores da pele, ou pouco profundos, ou para zonas de fácil acesso, tais como a garganta ou a parte respiratória superior (árvore brônquica) onde é fácil o acesso através de fibras ópticas.

A PDT pode ser vista como uma forma especializada da quimioterapia, na qual o fármaco por si só é inócuo, mas pode ser activado onde e quando o pretendermos, através da exposição à luz. A PDT é uma forma localizada de tratamento onde os efeitos secundários sistémicos provocados pela quimioterapia são eliminados. Nesta técnica, as doses administradas são consideravelmente mais baixas (0.5 mg/Kg) do que na técnica tradicional (500 mg/Kg). Alternativamente, pode-se considerar a PDT como uma extensão da radioterapia onde, devido à prévia sensibilização do tecido, o efeito



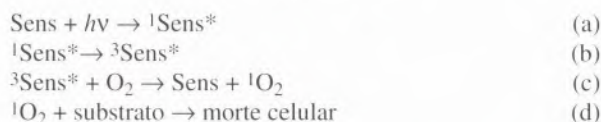


Fig. 2 - Tratamento por PDT. A luz laser (530 nm) é dirigida directamente ao interior do tumor através de fibras ópticas.

citotóxico pode ser induzido a energias muito mais baixas da radiação electromagnética comparativamente à radioterapia convencional.

### FOTOQUÍMICA DO PROCESSO

O processo primário está relacionado com a activação do oxigénio através da sua interacção com a luz.



A absorção de luz promove a formação do estado singlete excitado (a) do fotossensibilizador (Sens) que pode voltar ao estado fundamental através de um processo de emissão (fluorescência ou conversão interna), ou pode mudar para o estado tripleto excitado (b) através de cruzamento entre sistemas. Nesta fase poderá ocorrer transferência electrónica de energia para o oxigénio tripleto (estado fundamental) com formação de oxigénio singlete,  ${}^1\text{O}_2$  (estado excitado) (c), que pode reagir quimicamente com o substrato biológico ocorrendo a morte da célula (d).

O oxigénio é assim necessário para a PDT sendo geralmente aceite que é o oxigénio singlete a espécie activa responsável pelos eventos críticos que levam à morte da célula. A alta reactividade e consequentemente, o tempo de vida curto do  ${}^1\text{O}_2$ , significa que a probabilidade de escapar da célula onde é produzido, é muito baixa. Assim, o efeito citotóxico está restrito apenas à região tumoral que absorve luz. No entanto, isto é difícil de provar em sistemas biológicos admitindo-se que outras espécies reactivas (radicais superóxido, hidroxilo e hidroperoxilo) possam também estar envolvidos.

### FONTE DE LUZ E SISTEMAS DE TRANSPORTE

A prática clínica desta técnica recorre ao uso de lasers como fonte de luz, embora possam ser utilizadas outras fontes. A grande vantagem do laser é que produz um feixe de luz que



Fig. 3 - Laser de díodo.

pode ser facilmente difundido através de fibras ópticas, sem perda de energia. Embora o campo de acção clínica da PDT se situe maioritariamente no cancro de pele, com o surgimento das fibras ópticas e com o acesso fácil a este tipo de tecnologia, já é possível o tratamento de tumores endógenos.

Exemplos de sistemas utilizados incluem lasers de cobre, argon e Nd:YAG7. Recentemente, foi proposto o uso de lasers de díodo. Este sistema, apresentando vantagens em relação aos anteriores (mais económicos e mais pequenos, podendo ser facilmente transportados), abre boas perspectivas para o sucesso futuro da PDT.

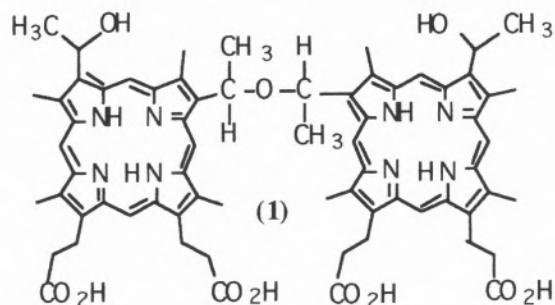
### FOTOSSENSIBILIZADORES

O fotossensibilizador deve ter a particularidade de se acumular selectivamente nas células tumorais, relativamente ao tecido normal, proporcionando uma boa razão terapêutica. Possui uma acção catalítica, já que a sua função não é reagir directamente com a célula, mas sim absorver luz/energia e transferi-la para o oxigénio molecular, regenerando-se de seguida ao voltar ao estado fundamental. Assim, deve possuir estados tripletos de longa duração ( $\tau_T > 100\text{ms}$ ;  $\phi_T > 0.4$ ) de modo a produzir  ${}^1\text{O}_2$  com bons rendimentos ( $\phi_\Delta > 0.2$ ).

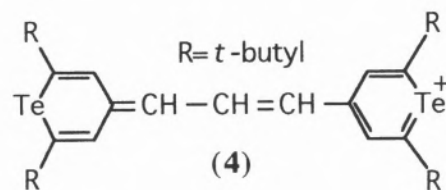
Para além disso, deve ser desprovido de toxicidade no escuro, deve ser solúvel em água, apresentar um máximo de absorção a um comprimento de onda superior a 650 nm ( $\epsilon > 30.000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) e ser eliminado rapidamente pelo organismo.

A classe de compostos que mais tem sido estudada para aplicação em PDT, são as porfirinas, destacando-se o derivado porfirínico com nome comercial Photofrin® que requer luz de 630 nm para a fotossensibilização e que possui como um dos componentes activos o dímero (1) [8]. Este fármaco é hoje usado em clínica oncológica no Canadá (desde 1993), nos E.U.A., Holanda, Japão e França para tratamento de tumores gástricos, da bexiga, do pulmão e do esófago.

Os fármacos de primeira geração (porfirinas) apresentam alguns inconvenientes nomeadamente, baixa absorção de luz acima de 600 nm e fotossensibilização da pele por tempo excessivo (três meses). Os fármacos de segunda geração procuraram ultrapassar estes problemas. São exemplos os derivados porfirínicos Foscan® (2) [9] e Lu-Tex (3) [10], cujos  $\lambda_{\text{max}}$  de absorção

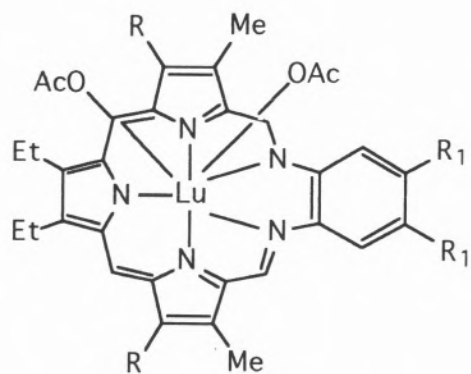
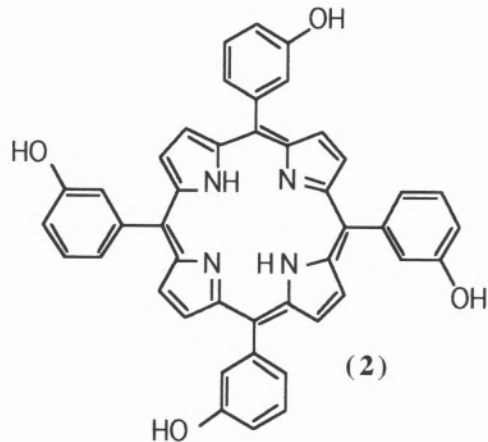
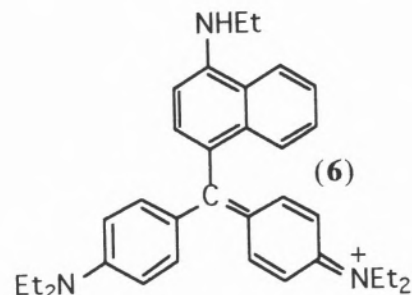
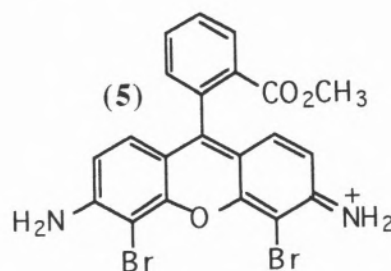


exemplos incluem compostos derivados de cianinas (4) [14], rodaminas (5) [15], triarilmetano (6) [16], fenotiazinas (7a) [17] e fenoxazinas (7b) [18].

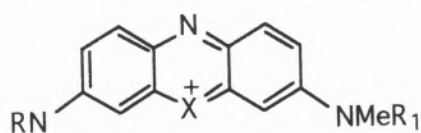


são 652 e 732 nm, respectivamente. O primeiro foi recentemente introduzido na prática clínica nos E.U.A. para tratamento de tumores no pescoço e o segundo foi sugerido para o tratamento de tumores de grandes dimensões. Outros exemplos de fármacos que têm sido estudados para aplicação em PDT incluem ftalocianinas [11], naftalocianinas [12] e porfirazinas [13].

Outro grupo de compostos, catiónicos, tem merecido a atenção nos últimos anos em virtude de apresentarem inúmeras vantagens em relação a alguns fármacos já existentes. Assim, são solúveis em água, apresentam rendimentos quânticos de produção de  $^1\text{O}_2$  elevados e são absorvidos selectivamente pelas células tumorais (as membranas das mitocôndrias e das células plasmáticas são carregadas negativamente). Alguns



(3)  $\text{R} = (\text{CH}_2)_3\text{OH}$   
 $\text{R}_1 = (\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OMe}$



	X	R	R <sub>1</sub>
(7) a)	S	Me <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H
b)	O	Et <sub>2</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H

## CONCLUSÃO

A PDT tem vindo lentamente a ser aceite como meio de tratamento de determinados tipos de cancro. Às vantagens inegáveis que a PDT hoje oferece - poder ser aplicada em casos em que a cirurgia não é praticável, aumentar a qualidade de vida de doentes terminais removendo tumores secundários sem dor ou stress, tratamento rápido sem dor, sem efeitos secundários indesejáveis (comparativamente às técnicas tradicionais) e sem necessidade de internamento - contrapõe-se o facto de esta técnica ser relativamente recente. Espera-se uma implantação rápida da PDT e isso vai depender, de entre outros factores, do desenvolvimento de novos tipos de fotossensibilizadores (com absorção a maiores comprimentos de onda do que os actuais de



modo a proporcionar uma maior penetração da luz na pele atingindo-se assim tumores mais internos), e à introdução no mercado de lasers de diodo relativamente económicos. A facilidade de uso e os custos reduzidos na aplicação desta técnica são também factores que contribuirão, num futuro próximo, para o sucesso da PDT.

**Agradecimento:** ao Prof. S.B. Brown, Director do Centro de Fotobiologia e Terapia Fotodinâmica, Universidade de Leeds, por ter autorizado a reprodução da Figura 2.

## REFERÊNCIAS

1. B.W. Henderson and T.J. Dougherty, *Photodynamic Therapy, Basic Principles and Clinical Applications*, ed. Marcel Dekker, Inc., New York (1992).
2. J.C.V.P. Moura, "Photoactive Dyes as Anticancer Agents", in *Non-Antibiotics*, ed. A.N. Chakrabarty, J. Molnár, S.G. Dastidar e N. Motohashi, NISCOM, New Delhi (1998) 327.
3. O. Raab, *Z. Biol.*, **39** (1900) 524.
4. A. Jesionek and V.H. Tappeiner, *Muench. Med. Wochschr.*, **47** (1903) 2042.
5. A. Policard, C.R. *Soc. Biol. Paris*, **91** (1924) 1423.
6. R.L. Lipson, E.J. Baldes and A.M. Olsen, *J. Natl. Cancer Inst.*, **26** (1961) 1.
7. B.C. Wilson, *Photodynamics News*, **1**(3) (1998) 6.
8. T.J. Dougherty, W.R. Potter and K.R. Weishaupt, *Porphyrins in Tumour Phototherapy*, ed. A. Andreoni and R. Cubeddu, Plenum Press, New York, (1984) 23.
9. S.A. Blant, A. Woodtli, G. Wagnières, C. Fontollet, H. van der Bergh and P. Monnier, *Photochem. Photobiol.*, **64** (1996) 963.
10. S.W. Young, K.W. Woodburn, M. Wright, T.D. Mody, Q. Fan, J.L. Sessler, W.C. Dow and R.A. Miller, *Photochem. Photobiol.*, **63** (1996) 892.
11. N.L. Oleinick, A.R. Antunez, M.E. Clay, B.D. Rihter and M.E. Kenney, *Photochem. Photobiol.*, **57** (1993) 242.
12. M.M. Zuk, B.D. Rihter, M.E. Kenney, M.A.J. Rodgers and B. Kreimer, *Photochem. Photobiol.*, **63** (1996) 132.
13. U. Michelsen, H. Kliesch, G. Schnurpfeil, A.K. Sobbi and D. Wöhrle, *Photochem. Photobiol.*, **64** (1996) 694.
14. D. Kessel, *Photochem. Photobiol.*, **53** (1991) 73.
15. M. Wainwright, *Chem. Soc. Rev.*, (1996) 351.
16. M. Fiedorowicz, A.P. Noworolska and M. Zembala, *Photochem. Photobiol.*, **65** (1997) 855.
17. J.C.V.P. Moura, A.M.F. Oliveira-Campos and J. Griffiths, *Phosphorus, Sulfur, Silicon and Related Elements*, **120&121** (1997) 459.
18. J.C.V.P. Moura, A.M.F. Oliveira-Campos and J. Griffiths, *XVII<sup>th</sup> European Colloquium on Heterocyclic Chemistry*, Regensburg, Germany (1996) abstract PkH 20.

# Rochas Ornamentais e “Minerais Sintéticos” Bricando com a Cor

CLEMENTINA TEIXEIRA

Centro de Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Av. Rovisco Pais, 1049-001, Lisboa, Portugal.  
Email: pcclementina@alfa.ist.utl.pt

Quando nos referimos à cristalização em diálogo com um químico, este pensará de imediato numa das operações unitárias comuns para a purificação de substâncias. Se o fizermos junto de um geólogo, o seu pensamento dirigir-se-á, provavelmente, para a génese dos minerais e para a caracterização de cristais. Se o nosso interlocutor for das áreas da Física ou dos Materiais, irá pensar nas propriedades ópticas, nos deslocamentos e defeitos das redes cristalinas que conferem às substâncias determinadas propriedades... O que pensará o comum dos cidadãos? Que os cristais são bonitos, têm formas simétricas, muito brilho e diferentes cores e que se podem adquirir para fazer colecções e decorar a estante lá de casa...

Ninguém, porém, ficará indiferente e todos terão uma palavra a dizer e isto porque?

Porque os cristais interessam a toda a gente, com ou sem formação científica: valem pela sua beleza, pela motivação que podem induzir em quem os observa e pela sua indiscutível utilidade. Os químicos não têm explorado devidamente o tema dos cristais, nas suas diversas vertentes, ao nível do ensino. Têm descurado a motivação que nos podem trazer quando brincamos com a diversidade das suas cores e formas. Ao trazer de volta a cristalização para a química inorgânica, brincando com os conceitos de sais duplos, isomorfismo, soluções sólidas, diagramas de solubilidade e dopagem com corantes, poderemos obter uma infinidade de diferentes cores e formas e explorar de uma forma extremamente cativante uma infinidade de conceitos científicos.

No limiar do século XXI e da tão falada passagem do milénio, propor um retrocesso ao passado da Química Inorgânica e da cristalização constituirá talvez um passo arriscado. Quem o fizer, porém, não se arrepende. De facto os cristais, pela sua beleza fascinante, têm sido objecto de estudo contínuo, não só em diversas áreas científicas mas também no domínio das artes e de outros ramos bem mais esotéricos. Durante muitos anos, o seu crescimento foi considerado uma arte, sedimentada no empirismo e intuição de quem está mais interessado na sua obtenção imediata, do que no seu estudo sistemático, obedecendo a um método científico. Talvez por isso mesmo os verdadeiros especialistas tiveram uma grande

preocupação em melhorar esta situação. O resultado foi o desenvolvimento duma ciência complexa e hermética, assente num formalismo matemático impenetrável para o comum dos leigos que se interesse pelo tema.

Foi-se assim deixando para trás e por explorar, um valioso espólio de experiências muito simples mas ricas, quer pela sua interdisciplinaridade, quer pelo aspecto lúdico que, bem introduzido no ensino, pode entusiasmar mesmo os alunos mais desinteressados, contribuindo de forma significativa para a tão desejada massificação da cultura científica.

O projecto que no IST se tem vindo a desenvolver desde 1994 sobre este tema [1, 2] ou seja, a cristalização de compostos comuns sobre suportes rugosos tais como rochas, minerais e conchas (Quadros 1 e 2), explora eficazmente esta vertente. Numa primeira abordagem e inspirando-se no passado, simplifica os processos de crescimento de cristais, impondo o repouso absoluto do meio nutriente. Dispensam-se assim equipamentos sofisticados de controlo de temperatura, agitação e fluxo de nutrientes. Garante-se o sucesso das experiências, colocando a ênfase nas substâncias a utilizar, ou seja, escolhendo aquelas que são conhecidas por facilmente desenvolverem monocristais gigantes. A técnica torna-se assim acessível a todo o público de “Maiores de Oito”, ou menos até, desde que acompanhados por adultos que possam supervisionar a fase mais perigosa da preparação: o aquecimento das soluções aquosas até à sua saturação [1c]. Desta forma estimula-se a compreensão do fenómeno em si, reduzindo o número de factores a controlar. Por outro lado, reforça-se a componente de química ao seleccionar os solutos e os suportes, e ao tentar interpretar as reacções que entre eles se estabelecem. Este último aspecto confere ao tema um carácter inovador e de projecto de investigação muito diversificado, pois o número de combinações que se podem fazer é muito vasto e encontra-se ainda por explorar [1a, 2].



Licenciada em 1974 pela Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, aí permaneceu como Assistente até 1980, ano em que ingressou no Departamento de Eng. Química do Instituto Superior Técnico, doutorando-se em 1986 em Termoquímica. Fez pós-doutoramento na mesma área na Universidade de Lund, Suécia, em

1988. Exerce actualmente as funções de Professora Auxiliar do mesmo Departamento. Os seus interesses científicos centram-se na Química Inorgânica, Termoquímica e desde 1994, nas áreas da cristalização e da divulgação científica.



**I-Técnica: cristalização com a solução em repouso, (arrefecimento lento/ evaporação moderada do solvente)**  
solventes: água, com mais frequência e outros

**II - Substâncias: elementos** ( $S_8$  e metais); **compostos orgânicos e inorgânicos** (sais iónicos, complexos, etc.)

↑  
**IV- REACÇÕES:** ácido-base, precipitação, redox, etc.  
↓

**III - Materiais de Suporte: rochas hospedeiras ou de formação, conchas rugosas, vidro, tecidos e metais**

### I - TÉCNICA:

- Preparação de uma solução saturada, a quente.
- Introdução da rocha ou concha na solução, bem lavada e limpa, de forma a ficar totalmente imersa.
- Arrefecimento muito lento da solução, sobressaturação e cristalização lenta do soluto sobre a rocha. Usar um banho maria para aumentar a inércia térmica. Numa primeira fase reduzir a evaporação do solvente, tapando o recipiente. Em seguida, destapar e controlar a evaporação, mantendo a rocha imersa.
- Separação da rocha com cristais da solução (águas-mães), lavagem dos cristais formados para remoção de resíduos.
- Recuperação da solução (águas-mães) por filtração e sua eventual reutilização para formar soluções sólidas, etc..
- Secagem dos cristais, envernizamento, colagem numa caixa.

### II - SUBSTÂNCIAS

**Metais** ("árvores" metálicas): Cu, Ag, Pb, Sn

**Cristais moleculares:** glicina,  $S_8$ , salicilato de fenilo, etc.

**Sais iónicos simples anidros:**  $KH_2PO_4$  (KDP),  $NaNO_3$ ,  $(NH_4)_2SO_4$

**Sais iónicos simples hidratados:**  $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , etc.

**Sais iónicos duplos hidratados:**

**alúmenes**  $M^I M^{III}(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ; **schönites**  $M_2^I M^{III}(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  ( $M^I$  metal alcalino, amónio, ou ião monovalente;  $M^{II}$  e  $M^{III}$ , metais em estados de oxidação +2 e +3); **outros:**  $KNa(C_4H_4O_6) \cdot 4H_2O$ ,  $CaCu(CH_3COO)_4 \cdot 6H_2O$ ,  $(NH_4)_2CuCl_4 \cdot 2H_2O$ ,  $LiNa_3(CrO_4)_2 \cdot 6H_2O$ , etc.

**Soluções sólidas** (misturas que apresentam co-cristalização): alúmenes e schönites,  $(NH_4)_2Zn_xCo_{1-x}(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ ,  $K_2Mg_xNi_{1-x}(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ , etc.

**Sistemas heterogêneos** (misturas sem co-cristalização)

**Complexos:**  $K_3[Fe(C_2O_4)_3] \cdot 3H_2O$ ,  $K_3[Fe(CN)_6]$ , etc...

### III - MATERIAIS DE SUPORTE

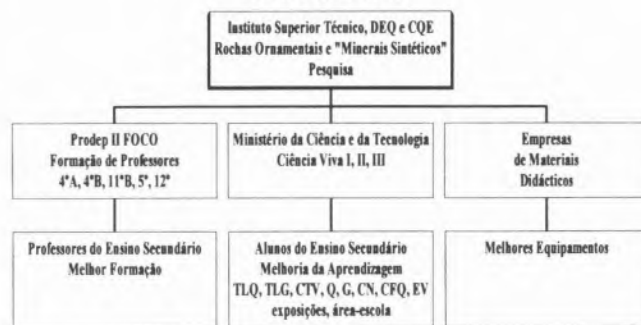
<b>Rochas Magmáticas ou Ígneas</b>	<b>Vulcânicas, efusivas ou extrusivas:</b>
<b>Plutónicas ou intrusivas:</b>	Basalto, pedra-pomes ou pomito, rochas piroclásticas, vulcanitos.
Rochas ricas em sílica e em quartzo, granitos.	<b>Rochas Metamórficas</b>
<b>Rochas Sedimentares</b>	Quartzitos, gneisses, mármore.
Arenitos, conglomerados, calcário.	
<b>Rochas e outros suportes artificiais</b>	
Cimento, tijolo, materiais cerâmicos à base de gesso; vidro com arestas vivas; tecidos rugosos (lã, flanela, estopa); metais (rede, arame, limpa-cachimbos); madeira rugosa, pequenos troncos, etc..	
<b>Conchas Rugosas:</b>	
Múrcies, ostras, búzios canilha, pente-de-Vénus, buzinas, etc..	

**Quadro 1.** Síntese dos aspectos mais relevantes da cristalização sobre suportes rugosos: o resumo da técnica, a classificação das substâncias e dos suportes [1a, 2, 3].

### I - OBJECTIVOS

- Implementar a prática da Química experimental.
- Salientar o carácter multidisciplinar da cristalização e a sua ligação a outras áreas: Mineralogia e Geologia, Física, Materiais, Medicina, Arte e Educação Visual (estimular a criação de um novo ramo de artesanato com fundamentos de Química).
- Explorar o aspecto lúdico ("edutainment") estimulando a participação da própria família, para além dos tempos lectivos.
- Promover a divulgação científica junto do público em geral desmascarando, também, a falsificação de minerais.
- Optimizar a formação contínua de professores proporcionando-lhes, nas escolas, os meios necessários para porem em prática, junto dos seus alunos, aquilo que aprenderam.
- Dinamizar e estimular os professores do ensino básico e secundário a elaborarem os seus próprios projectos e a procurarem meios para além dos que lhes são normalmente concedidos.
- Melhorar a articulação dos diversos graus de ensino, estudando o mesmo tema com grau de profundidade crescente. Tornar mais harmoniosa a ligação do ensino secundário ao ensino universitário. Ligar o ensino básico e secundário ao desenvolvimento científico e tecnológico.
- Aumentar a interacção da Universidade com a sociedade.
- Desenvolver material didáctico em colaboração com empresas do sector.
- Aprofundar o tema da cristalização, desenvolvendo a componente de investigação científica nesta área.

### II-ESTRATÉGIA



### III - CAMPOS MAIS IMPORTANTES DA CRISTALIZAÇÃO

- **Cristalização:** a) Técnica laboratorial clássica de purificação b) Técnica de produção industrial de cristais (ureia,  $NaCl$ , zeólitos, etc.)
- **Crescimento de cristais:** a) Monocristais de pequena dimensão (inferior a um milímetro) para determinações de estruturas, "os retratos das moléculas". b) Monocristais de grande ou média dimensão de elementos e de compostos para aplicações tecnológicas específicas.
- **Caracterização de cristais:** estudos clássicos de cristais naturais nas disciplinas de Geologia e de Mineralogia/Química. Métodos experimentais de determinação de estruturas (difracção de raios X).

**Quadro 2.** Síntese dos objectivos e estratégia do projecto "Rochas Ornamentais e Minerais Sintéticos". As aplicações mais importantes da cristalização [2, 4].



Embora frequentemente se comente que o crescimento de cristais estimulado pela presença de rochas rugosas é uma invenção antiga, o facto é que tais afirmações nunca vêm acompanhadas de referências que apresentem dados científicos e quantitativos, comprovativos de tal facto. As falsificações de minerais estiveram na origem deste projecto, como já várias vezes se referiu e são muitas, todas baseadas na semelhança de cores e de hábitos [2, 5]. O enxofre natural S<sub>8</sub> apresenta-se frequentemente na sua variedade alotrópica do sistema ortorrômbico formando cristais amarelos, os quais foram ingenuamente imitados utilizando alúmen de potássio de hábito octaédrico truncado com faces cúbicas e dopado com tartrazina, Fig. 1A [2, 6, 7].

Uma imitação mais refinada e difícil de identificar, Fig. 1B, é feita com a própria substância química. Enxofre sublimado em linha de vácuo é dissolvido a cerca de 32 °C em dissulfeto de carbono até à saturação; é em seguida recristalizado sobre uma rocha vulcânica por evaporação lenta feita em hotte. Esta preparação é muito perigosa, devido à elevada toxicidade do solvente e só um perito poderá distinguir a falsificação, se for feita uma escolha cuidadosa da rocha hospedeira. No primeiro caso, um simples teste de solubilidade em água bastará para detectar a fraude. Se a estas amostras forem acrescentadas outras ou mesmo cristais da mesma cor, uma aplicação pedagógica interessante será a procura de métodos experimentais que permitam a identificação das várias substâncias, **tendo em conta as regras de segurança para cada caso específico.**

Brinquedos didácticos explorando este método de cristalização e usando exclusivamente o alúmen de potássio, o dihidro- genofosfato de amónio (ADP, Fig. 1C) e grande variedade de corantes alimentares [6, 8] começaram a ser comercializados no nosso país nos finais de 1996. Ao mesmo tempo, os kits clássicos de crescimento de cristais americanos passaram a incluir sugestões ou mesmo amostras de granitos para serem usados como suporte. Apesar de ter sido feita uma pesquisa bibliográfica, procurando as origens do método, os únicos trabalhos científicos encontrados, utilizando a *nucleação heterogénea* (nucleação estimulada por superfícies de minerais) aparecem em 1987 no campo da biocristalização [9, 10]. Cristais de mais de setenta proteínas foram obtidos por este método, conduzindo a exemplares mais perfeitos e maiores, tendo sido também referidas alterações do hábito característico e até do sistema de cristalização. Nestes trabalhos comprova-se que a superfície rugosa dos minerais utilizados estimula a fase da nucleação e do crescimento. De facto, os graus de sobressaturação [11] necessários para o crescimento são sempre inferiores aos que se utilizam em ensaios de controlo sem o mineral. Nesta pesquisa nunca é referida a utilização de rochas, provavelmente devido à complexidade da sua composição química e à dificuldade em caracterizar a sua superfície de forma reprodutível.

Pelo que atrás se disse, parece poder-se concluir que a nucleação heterogénea utilizando rochas não tem sido estudada cientificamente e apenas aparece ligada à imitação de minerais nos brinquedos didácticos e nas falsificações. Em ambos os casos é compreensível que por razões comerciais as receitas e os truques do método não sejam divulgados, embora não sejam patenteáveis, pois normalmente exploram dados há muito tempo publicados e esquecidos. Quanto à exploração pedagógica deste tema, desconhece-se que tenha sido anteriormente feita de forma independente por outros grupos, mesmo a nível internacional.

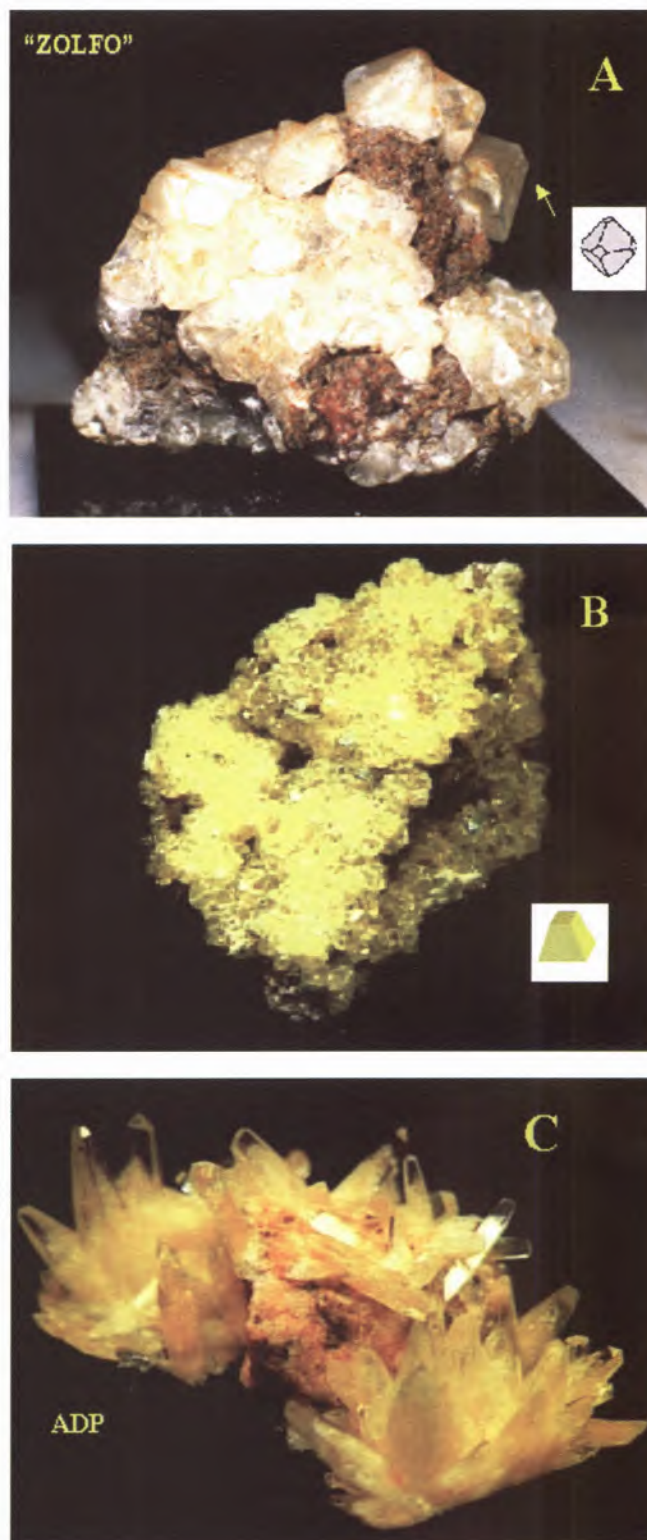


Fig. 1 - As falsificações do enxofre: alúmen de potássio (A) e enxofre recristalizado (B). Reparar no hábito dos cristais. C - Dopagem do ADP.

São muitos os exemplos da diversidade de cores e formas exploradas em grande número de aplicações didácticas nos cursos FOCO e projectos de investigação do programa Ciência Viva. Algumas das vertentes mais interessantes, para além da



utilização de corantes são o estudo das alterações de hábito induzidas pelas rochas, conchas e outras impurezas, Fig. 2; as soluções sólidas de compostos isomorfos, alúmenes [1] e schönites, Fig. 3, cuja optimização assenta na realização de balanços de massa cuidadosos durante as preparações e na comparação das curvas de solubilidade dos vários componentes [2c]; idem, para a precipitação simultânea de sais simples e duplos; as reacções ácido-base anteriormente referidas[1], etc..

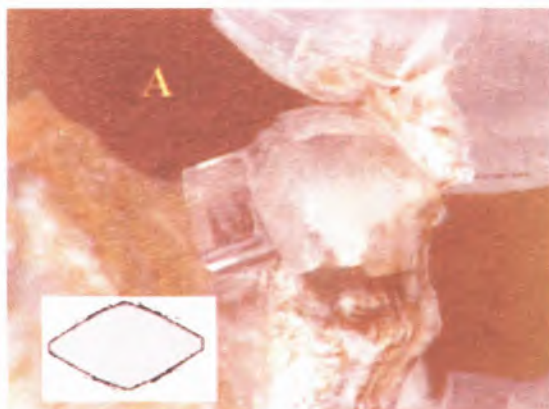


Fig. 2 - O sal de Rochelle  $\text{KNa}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . A - puro, preparado pelo método geral (139 g/100 ml de água). B- Adsorção superficial de iões  $\text{Cu}(\text{II})$ , "águas-marinhas", com alteração do hábito cristalino mais frequente (A) para colunar(B) [2, 3, 7].

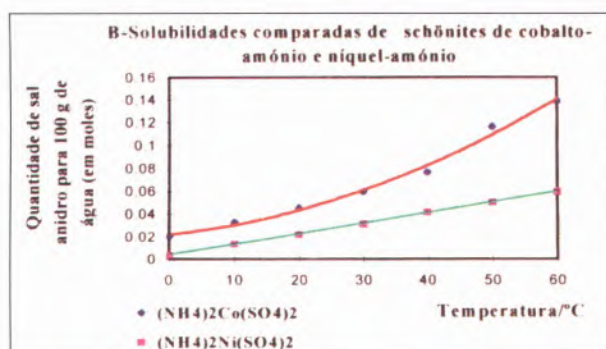
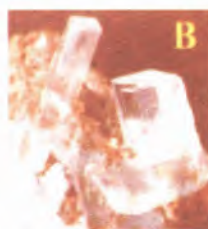
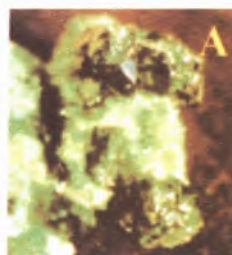


Fig. 3 - A - Solução sólida de schônites de cobalto e níquel, preparada a partir dos dois sais componentes na proporção molar de 1:1. Nos cristais predomina a cor verde do sal menos solúvel (Ni); na solução a cor castanha, proveniente da espécie de cobalto, mais solúvel e de cor vermelha. B- Curvas de solubilidade para os dois componentes [2c].



## Agradecimentos

Programas Ciência Viva, Projs. P046, PII-147, PIII-189C e PRODEP II-FOCO, 96/97/98.

## REFERÊNCIAS E NOTAS DE ADITAMENTO AO TEXTO

1. a) C. Mesquita, A. Santana, C. Teixeira, *Quím., Bol. Soc. Port. Quím.*, **53** (1994) 50; b) C. Teixeira, A. Sousa, I. Trigueiros, *ibid.*, **66** (1997) 25; c) M.F. Carvalho, C. Teixeira, *ibid.*, **69** (1998) 14.
2. a) C. Teixeira, On The Rocks...Crystallisation on Rough Surfaces, Video nº2, Núcleo de Audiovisuais do Instituto Superior Técnico, 1997, em publicação e referências aí citadas; b) *ibid.*, em *Rochas Ornamentais e Minerais Sintéticos - Aplicações no Ensino, Metodologia do Ensino das Ciências - Investigação e Prática dos Professores*, V.M. Trindade (Coord.), Secção de Educação, Departamento de Pedagogia e Educação, Universidade de Évora, 1999, 237-245; c) *ibid.*, O livro das pedras. Partes I e II, SITAF e Instituto Superior Técnico, Lisboa, 1996.
3. A. Holden, P. Morrison, *Crystals and Crystal Growing*, The Massachusetts Institute of Technology, MIT Press, Cambridge, Massachusetts, 1982.
4. J. Hulliger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33** (1994) 143.
5. Colecção "Minerais e Pedras Preciosas", RBA Editores, Lisboa, 1993.
6. M.F. N. Carvalho, C. Teixeira, S. Matos, resultados não publicados.
7. Todas as fotografias incluídas neste texto foram reproduzidas por impressão de imagens vídeo feitas a partir das referências 2 e outras, da mesma autora, com permissão que se limita a este artigo.
8. É muito provável a inclusão de aditivos modificadores de hábito nestas formulações, mesmo que em quantidades muito pequenas [6].
9. a) A. McPherson, P.J. Shlichta, *J. Crystal Growth*, **85** (1987) 206; b) *ibid.*, *Science*, **239** (1988) 385.
10. Há três fases principais no crescimento de cristais: a) **Nucleação**: formam-se em solução agregados de 3, 4 partículas ou pares iónicos num ponto onde se criam condições termodinamicamente favoráveis. Este agregado cresce e dá origem ao núcleo, que deverá ter dimensões tais que permitam a sua detecção *in situ*, por observação ao microscópio. A presença de impurezas propicia a sua formação. b) **Crescimento** propriamente dito, controlado por fenómenos de transferência de massa (do soluto para dentro e do solvente para fora da rede) e de calor, associada à passagem para o estado sólido, etc.. Em solução estagnada as correntes de difusão, se demasiado lentas, podem ser o factor limitativo da cinética de crescimento dos cristais. Esta fase é favorecida pela presença de defeitos, deslocamentos, etc. c) **Interrupção do crescimento** por esgotamento dos nutrientes ou, de forma precoce, pela criação de gradientes de concentração persistentes, quando a difusão é muito lenta. Hoje em dia faz-se muitas vezes o crescimento impondo o fluxo da solução em torno do cristal ou alternativamente, colocando-o numa mesa rotativa [2a, 4, 12].
11. O grau de sobressaturação, GS, é definido como  $GS = (S' - S)/S$ , onde  $S'$  é a concentração total de soluto e  $S$ , a concentração de uma solução saturada em equilíbrio, a cada temperatura. Quanto maior é o GS menor é o tempo necessário à observação da formação dos núcleos. Vai afectar, à medida que aumenta, e em simultâneo, embora de modo diferente, a velocidade de nucleação e a velocidade de crescimento. Para cada substância, mesmo que de uma forma empírica, devem ser encontradas as condições ideais que correspondem a uma velocidade de crescimento máxima e superior à velocidade de nucleação [12]. Se não for feita essa optimização, ou seja, sempre que a velocidade de nucleação seja mantida superior à velocidade de crescimento, poderão formar-se muitos cristais e pequenos.
12. A. J. L. O. Pombeiro, "Técnicas e Operações Unitárias Em Química Laboratorial", 2ª ed., Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1991.



## MEDIDORES DE pH DE ALTA TECNOLOGIA FÁCEIS DE USAR E ECONÓMICOS

**pH 300**

Medidor de pH/mV/°C de bancada

**pH 301**

Medidor de pH/mV/iões/°C de bancada

**pH 302**

Medidor de pH/mV/°C de bancada  
com impressora

De acordo com as GLP

**From**

**HANNA**  
instruments  
ISO 9000 CERTIFIED

**... of course**

Dos 700 funcionários do grupo Hanna,  
130 estão ao seu serviço em Portugal.

**PARA MAIS INFORMAÇÕES CONTACTE O NOSSO REVENDEDOR HANNA OU  
HANNAPRO EM VILA DO CONDE ATRAVÉS DO TEL. 052 637 184 / FAX 052 637 185**



# Sodium and Potassium Hydroxide High Purity Pellets

**EKA PELLETS**

**EKA CHEMICALS**

  
**AKZO NOBEL**

Agentes exclusivos:

SOCIEDADE IMBRASEX LDA, Calçada do Carmo, N° 6 – 4° Dto., 1200 LISBOA

Telefone: 342.06.58/342.48.61 • Telefax: 346.48.50