

# ANÁLISE DAS PROPRIEDADES ANTICANCERÍGENAS DE MESO-TETRAMESITILPORFIRINA EMPREGANDO MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

## Resumo

A terapia fotodinâmica é um tratamento clínico, contra o câncer, que emprega um composto fotossensibilizador, oxigênio e luz visível, para produzir espécies reativas de oxigênio que, por sua vez, atacam e destroem o tecido tumoral. Até o presente momento, o único fotossensibilizador aprovado para uso clínico é o Photofrin®. No entanto, este medicamento apresenta alguns inconvenientes como: baixa seletividade para o tecido tumoral e baixo coeficiente de extinção molar. Isto acarreta o emprego de altas dosagens para se obter uma resposta terapêutica satisfatória. Além disso, o alto acúmulo de Photofrin® na pele, obriga o paciente a ficar, por semanas, ao abrigo da luz solar para evitar queimaduras. Estes problemas têm estimulado as buscas por novos e mais eficientes fotossensibilizadores. Neste estudo nós empregamos métodos espectroscópicos para investigar a capacidade de *meso*-tetramesitilporfirina (*m*-TMP) de fotoxidar biomoléculas e causar a destruição de células vermelhas de sangue, em presença de luz e oxigênio. Estes procedimentos permitiram avaliar a possibilidade de utilização de *m*-TMP, como um fotossensibilizador, em terapia fotodinâmica.

**Palavras-chave:** câncer, terapia fotodinâmica, fotossensibilizadores, fotoxidação

## Summary

Photodynamic therapy (PDT), a clinical treatment for cancer, utilizes a photosensitizer and light to produce reactive oxygen species (ROS) that attack and destroy tumor cells. At present only one photosensitizer, namely Photofrin®, has been approved for clinical use. However this drug suffer from some drawbacks. Firstly, Photofrin® show a poor selectivity in terms of target tissue / healthy tissue ratios. Secondly, your low extinction coefficients require the administration of relatively large amounts of drug to obtain a satisfactory phototherapeutic response. Furthermore, it present a high accumulation rate in skin, which induces a prolonged cutaneous light ultrasensibility leasting for up to 6-8 weeks after PDT treatment. During this post-treatment period, patients have to stay out of sunlight to avoid a severe sunburn reaction. These problems have led to an intensive research aimed at the identification of news and more efficient photosensitizes. In this work it was used spectroscopic methods to investigate the capacity of *meso*-tetramesitylporphyrin (*m*-TMP) to oxidate biomolecules and red blood cells in presence of light and oxygen. These procedures allowed evaluate the possibility of the use of *m*-TMP as a photosensitizer in PDT.

**Keywords:** cancer, photodynamic therapy, photosensitizes, photooxidation

## Introdução

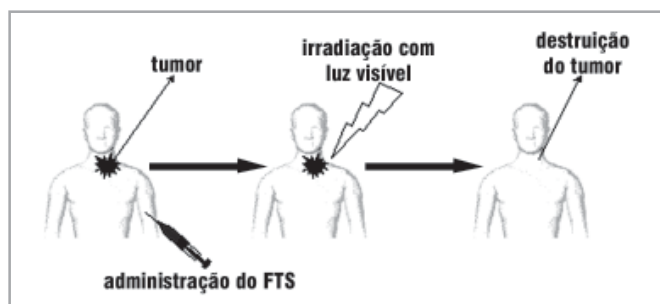
A Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês photodynamic therapy) é um tratamento clínico, que emprega a combinação de luz visível, oxigênio ( $^3O_2$ ) e um composto fotossensibilizador (FTS) para tratar diversos tipos de câncer. Esta técnica se baseia na administração, no paciente, de um FTS e posterior irradiação, do tecido tumoral, com luz visível. O FTS, excitado pela luz,

reage com o oxigênio, presente no meio, produzindo espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês reactive oxygen species). Tais espécies danificam vários componentes das células cancerígenas como, por exemplo, ácidos nucleicos e proteínas. Isto resulta numa cascata de eventos oxidativos que ocasionam a morte das células tumorais por apoptose e/ou necrose (Figura.1) (1-5).

*Joselito Nardy Ribeiro\* e  
Renato Atilio Jorge*

Departamento de Físico-  
Química, Instituto de Química,  
UNICAMP

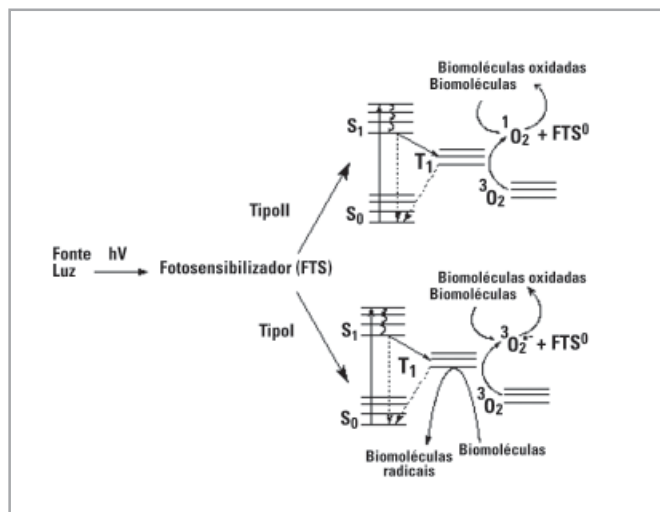
\*Autor para correspondência:  
UNICAMP  
Instituto de Química  
Departamento de  
Físico-química  
Laboratório B200-2004,  
Caixa Postal 6154  
Barão Geraldo  
13083-970. Campinas. SP  
E-mail: nariber@ig.com.br



**Figura 1.** Esquema de tratamento de um tumor com PDT

Os mecanismos de produção de ROS, durante PDT, podem ser do Tipo I e/ou Tipo II. O superóxido ( $^3O_2^{\cdot-}$ ) e outras espécies de radicais são gerados no mecanismo Tipo I, pela transferência de elétrons do estado triplete excitado ( $T_1$ ) do FTS para estado fundamental do oxigênio ( $^3O_2$ ). O oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), por sua vez, é gerado no mecanismo Tipo II pela transferência de energia de FTS no estado excitado  $T_1$  para  $^3O_2$  (6) (Figura.2).

Até o presente momento, o único FTS aprovado para uso clínico, em pacientes com câncer, é o Photofrin<sup>®</sup>. Este medicamento tem sido utilizado para tratar casos de câncer de bexiga no Canadá, bem como tumores de pulmão, trato digestivo e urinário na França, Alemanha e Japão. Nos Estados Unidos o Photofrin<sup>®</sup> foi aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para ser usado no combate ao câncer de esôfago e pulmão (8-10). No Brasil, este medicamento ainda não foi liberado para



**Figura 2.** Mecanismos (Tipo I e II) de geração de ROS pela combinação de luz, fotossensibilizador (FTS) e oxigênio no estado fundamental ( $^3O_2$ ). O fotossensibilizador no estado singlete fundamental ( $S_0$ ) é irradiado com luz visível gerando fotossensibilizador no estado singlete excitado ( $S_1$ ).  $S_1$  pode decair para um estado triplete excitado ( $T_1$ ) gerando radical superóxido ( $^3O_2^{\cdot-}$ ) (mecanismo Tipo I) e/ou oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (mecanismo Tipo II). Estas ROS reagem com biomoléculas formando biomoléculas oxidadas (fonte: modificado de referência 7)

ser utilizado em tratamento clínico.

Apesar de se mostrar um medicamento bastante eficiente no combate ao câncer, o Photofrin<sup>®</sup> apresenta alguns inconvenientes. Ele é pouco seletivo para o tecido tumoral e seu baixo coeficiente de extinção molar faz com que sejam necessárias altas dosagens do medicamento para se obter uma resposta terapêutica satisfatória. Além disso, seu acúmulo em grande quantidade na pele, faz com que o paciente tenha que ficar ao abrigo da luz por várias semanas, após o tratamento, para evitar fotossensibilidade (1, 11-13). Estes e outros inconvenientes têm feito com que vários laboratórios, em diversas partes do mundo, busquem novos e mais eficientes fotossensibilizadores para uso em PDT (14-16). Neste trabalho, nós empregamos métodos espectroscópicos para avaliar o potencial fotossensibilizador de meso-tetramesitilporfirina (*m*-TMP) (Fig.3) através da sua capacidade de oxidar biomoléculas e causar a destruição (hemólise) de células vermelhas de sangue humano (eritrócitos) (utilizadas como modelo de células) em presença de luz e  $^3O_2$ . Tais procedimentos permitiram avaliar a possibilidade de uma futura aplicação de *m*-TMP em PDT.

## Materiais e Métodos

### Materiais

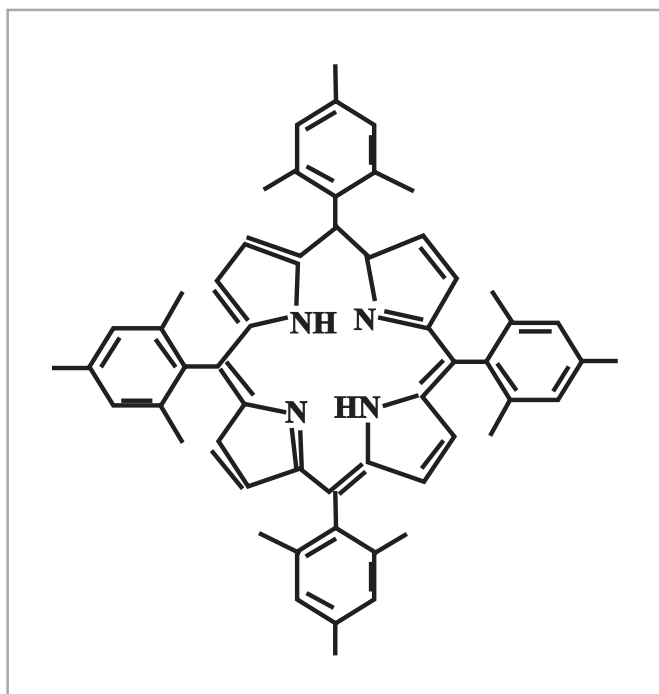
O composto *m*-TMP foi obtido da Porphyrin Product, Inc. (Logan Utah, USA). A proteína albumina bovina (BSA), o aminoácido triptofano L (Trp), o surfactante polioxietilenosorbitan monolaurato (tween 20) e o solvente acetato de etila, foram obtidos da Sigma Chemical Company (St. Louis, USA). O cloreto de sódio, cloreto de potássio, sódio fosfato bibásico e potássio fosfato bibásico foram obtidos da Merck (Darmstald, Alemanha). O sangue humano foi doado pelo Hemocentro do Hospital das Clínicas da UNICAMP. A lâmpada de mercúrio, utilizada, foi da marca Philips e o espectrofotômetro UV/Vis foi da marca Hewlett Packard modelo 8453. Utilizou-se, também, um espectrofluorímetro da marca Perkin Elmer modelo LS55.

### Espectros de absorção e fluorescência

Foi obtido o espectro de absorção de *m*-TMP 10  $\mu$ M presente em uma solução aquosa contendo: tampão fosfato (PBS) pH 7,4, acetato de etila 2% (v/v) e tween 20 0,1% (m/v). A partir deste espectro foi possível obter o espectro de fluorescência de *m*-TMP no mesmo meio.

### Análise de fotobranqueamento

Soluções aquosas contendo 10 mM de *m*-TMP, tampão PBS pH 7,4, acetato de etila 2% (v/v) e tween 20 0,1% (m/v) foram saturadas com  $^3O_2$  e irradiadas com lâmpada de mercúrio (filtro de 400-600 nm) durante 60 minutos. A fluorescência de *m*-



**Figura 3.** Estrutura da *meso*-tetramesitilporfirina

TMP foi monitorada (em 654 nm) em intervalos de 10 minutos com o objetivo de se verificar seu fotobranqueamento

### Fotoxidação de biomoléculas

Soluções aquosas contendo 50  $\mu\text{M}$  do aminoácido Trp ou 10  $\mu\text{M}$  da proteína BSA, foram preparadas em tampão PBS pH 7,4 contendo tween 20 0,1% (m/v), acetato de etila 2% (v/v) e 10  $\mu\text{M}$  de *m*-TMP. Estas soluções foram saturadas com  $^3\text{O}_2$  e irradiadas com lâmpada de mercúrio (filtro de 400-600 nm) durante 30 minutos. A fluorescência das biomoléculas foi monitorada em intervalos de 5 minutos para se verificar sua oxidação na presença de oxigênio, luz e *m*-TMP.

### Fotodestruição de eritrócitos

Para verificar a fotodestruição ou hemólise de eritrócitos, foram preparadas amostras contendo 0,7% de eritrócitos (v/v), tampão PBS pH 7,4, tween 20 0,1% (m/v), acetato de etila 0,25% (v/v) e diferentes concentrações de *m*-TMP. Tais amostras foram saturadas com  $^3\text{O}_2$  e irradiadas com lâmpada de mercúrio (filtro de 400-600 nm) durante 60 minutos. A quantificação da hemólise foi realizada a cada 10 minutos, através da leitura de absorbância (em 542 nm) da hemoglobina liberada, por células hemolisadas, no meio de reação. Para o cálculo da porcentagem de hemólise das células, foi utilizada a seguinte equação:

$$A_{\text{Hemólise}} = A_{\text{Amostra}} - A_{\text{Branco}} - A_{m\text{-TMP}}$$

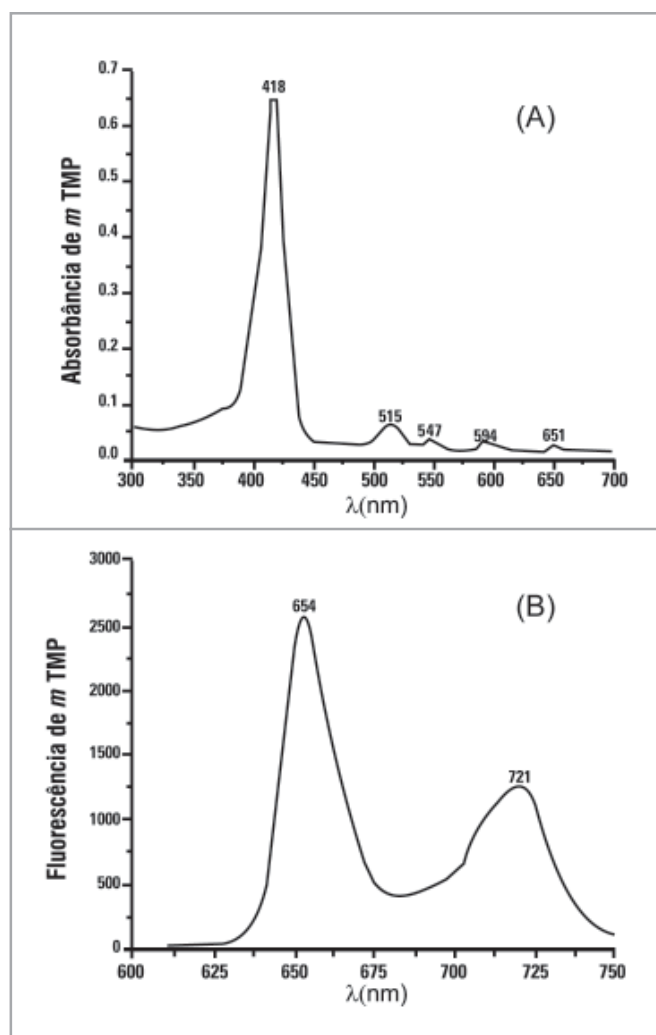
onde  $A_{\text{Hemólise}}$  é a absorbância da hemoglobina,  $A_{\text{Amostra}}$  é a absorbância total da amostra,  $A_{\text{Branco}}$  é a absorbância do branco e  $A_{m\text{-TMP}}$  é a absorbância de *m*-TMP. O branco continha todos os componentes da amostra, com exceção de *m*-TMP. A solução onde se obteve a absorbância de *m*-TMP ( $A_{m\text{-TMP}}$ ) continha todos os componentes da amostra, com exceção dos eritrócitos.

A concentração de eritrócitos hemolisados foi obtida através da Lei de Beer (17):

$$A_{\text{Hemólise}} = \epsilon \cdot b \cdot c$$

onde:  $A_{\text{Hemólise}}$  = absorbância da hemoglobina,  $\epsilon$  = coeficiente de hemólise [ $(\text{cm}\%)^{-1}$ ],  $b$  = caminho ótico (0,5 cm) e  $c$  = concentração de eritrócitos hemolisados [% (v/v)].

O coeficiente de hemólise [ $(2,6 \pm 0,2)/(\text{cm}\%)^{-1}$ ] foi obtido utilizando-se a Lei de Beer, medindo-se a absorbância da hemoglobina de uma solução contendo 0,7% (v/v) de eritrócitos em PBS pH 7,4, Tween® 20 0,1% (m/v) e *m*-TMP (1, 5 e 10



**Figura 4.** Espectros de absorbância (A) e fluorescência (B) de *m*-TMP. O espectro de fluorescência foi obtido através da excitação de *m*-TMP em 418nm

$\mu\text{M}$ ). Esta solução foi previamente submetida a um banho de ultra-som durante 10 minutos com o objetivo de se obter 100% de hemólise dos eritrócitos.

Conhecendo-se a concentração de 100% de eritrócitos hemolisados foi possível a determinação da porcentagem de eritrócitos hemolisados, nas amostras, conforme equação abaixo:

$$\% \text{ Hemólise} = (c \times 100) / 0,7$$

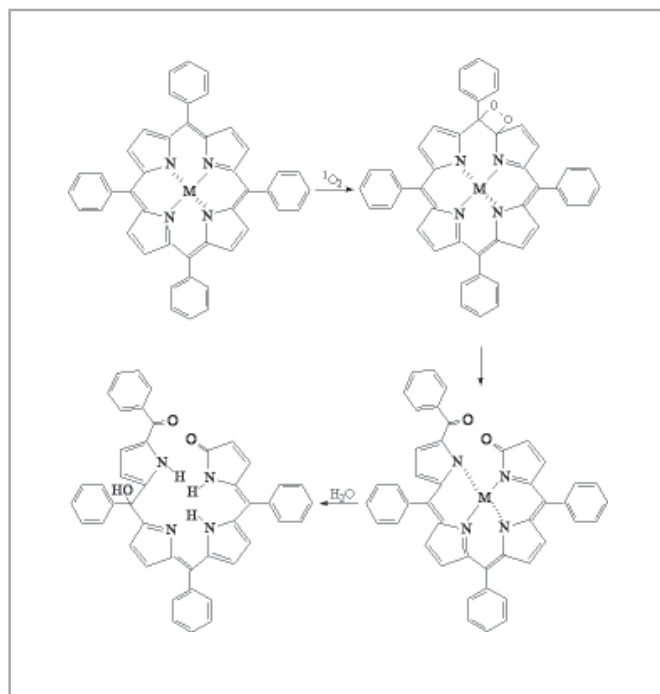
onde  $c$  = concentração de eritrócitos hemolisados, nas amostras, dada em % e  $0,7$  = concentração inicial de eritrócitos em % (v/v).

Foi realizado, também, um ensaio toxicológico, para verificar se  $m$ -TMP induzia hemólise na ausência de luz.

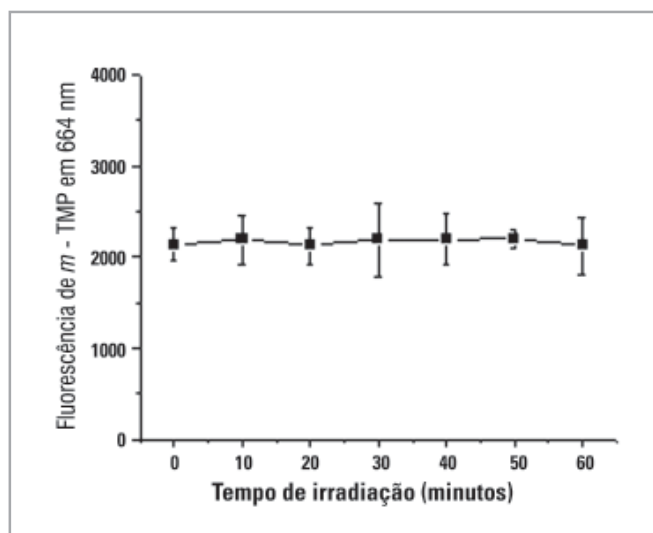
## Resultados e Discussão

### Espectros de absorção e fluorescência

As porfirinas apresentam uma forte deslocalização de elétrons  $\pi$ , a qual é responsável pelo caráter aromático do núcleo porfirínico, resultando numa pequena diferença de energia entre o HOMO (orbital preenchido de maior energia) e o LUMO (orbital vazio de menor energia) e, conseqüentemente, no aumento das intensidades das bandas de absorção do visível e do ultravioleta. As bandas do visível, em geral, são oriundas de transições do tipo  $\pi$ - $\pi^*$  (18,19).



**Figura 5. Fotobranqueamento de um composto porfirínico metalado, na presença de oxigênio singlete. (fonte: referência 7)**



**Figura 6. Monitoramento do fotobranqueamento de  $m$ -TMP, através da sua fluorescência, medida em 654 nm, em função do tempo de irradiação com lâmpada de mercúrio**

O espectro de absorção de  $m$ -TMP (Fig.4) revelou uma banda de grande intensidade em 418 nm. Este tipo é uma característica comum de porfirinas (20). Além desta banda, observou-se também a presença de outras quatro bandas (515, 547, 594 e 651 nm) de intensidades e energia menores. A banda, de maior intensidade e energia, foi utilizada para excitar o  $m$ -TMP, a fim de se obter seu espectro de fluorescência (Fig.4), provocar a fotoxidação de biomoléculas e hemólise de eritrócitos. O espectro de fluorescência, por sua vez, foi utilizado para medir a fotodegradação de  $m$ -TMP.

### Análise de fotobranqueamento

O fotobranqueamento ou fotodegradação de um FTS, é a modificação da sua estrutura ocasionada, em geral, por ROS (principalmente  $^1\text{O}_2$ ) geradas durante o tratamento com PDT (Fig.5). Tal modificação reduz a quantidade de FTS intacto no meio de reação, provocando uma diminuição na produção de ROS. Este evento provoca perda na eficiência do tratamento, tornando a destruição do tumor incompleta. Para solucionar tal problema, costuma-se administrar altas dosagens do FTS a fim de compensar a sua perda por fotodegradação. Este procedimento, no entanto, pode ocasionar aumento dos efeitos colaterais provocados pela alta concentração do FTS, além de aumentar o custo do tratamento (21-23).

Uma maneira de medir o fotobranqueamento de um FTS é irradiá-lo com luz visível, num meio saturado com  $^3\text{O}_2$ , e monitorar sua fluorescência. Caso ocorra fotobranqueamento, o mesmo será detectado através da queda na intensidade de fluorescência do FTS (21). A Figura 6 revela que durante 60 minutos de irradiação do  $m$ -TMP, o mesmo não apresentou queda significativa na sua intensidade de fluorescência. Isto demonstra que a estrutura de

*m*-TMP não é degradada nestas condições experimentais. Tal resultado é importante, pois a não ocorrência de fotobranqueamento, demonstra que *m*-TMP não terá sua produção de ROS afetada por este fator.

### Fotoxidação de biomoléculas

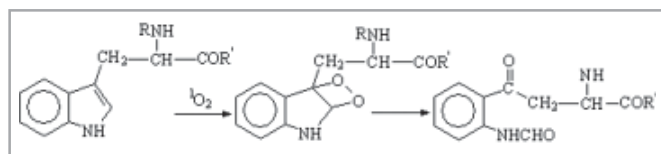
O  $^3\text{O}_2^{\bullet-}$ , produzido em tratamentos com PDT, tem sido implicado na oxidação de muitas biomoléculas. O  $^3\text{O}_2^{\bullet-}$ , pode reagir com peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), em presença de íons ferro, e gerar radical hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ). Este radical é extremamente reativo e pode danificar seriamente o material genético de uma célula (DNA). A Reação de  $^3\text{O}_2^{\bullet-}$ , com óxido nítrico ( $\text{NO}$ ), pode levar a formação de peroxinitrito ( $\text{ONOO}^\bullet$ ), o qual é mais reativo e danoso do que seus precursores (24). O  $\text{ONOO}^\bullet$  pode danificar muitas moléculas biológicas, incluindo proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (25-27).

O  $^1\text{O}_2$ , outra espécie reativa gerada em PDT, pode reagir com lipídeos insaturados e resíduos de aminoácidos, especialmente Trp (Fig.7). Lipídeos insaturados e proteínas são constituintes essenciais de membranas biológicas. Portanto, o  $^1\text{O}_2$ , pode danificar e provocar o rompimento das membranas de células cancerígenas levando-as à morte (1).

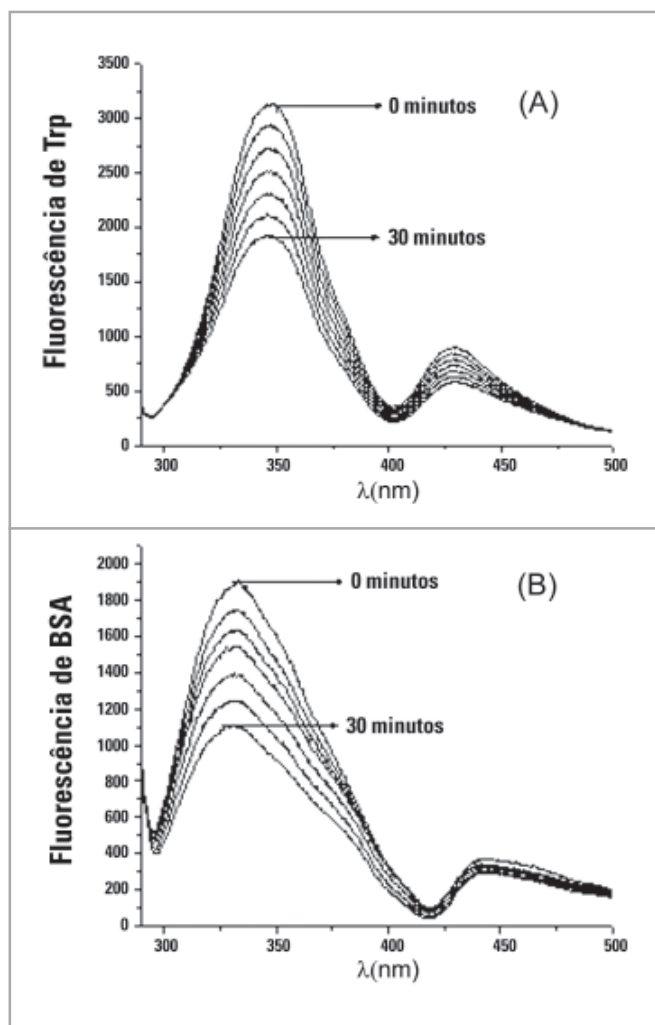
Neste trabalho, a combinação de *m*-TMP, oxigênio e luz visível, resultou na oxidação do aminoácido Trp e da proteína BSA. Isto pôde ser comprovado através do monitoramento da fluorescência destas biomoléculas durante 30 minutos com leitura a cada 5 minutos. Os espectros de fluorescência tanto de Trp quanto de BSA (Fig. 8) apresentaram considerável decaimento durante o tratamento. No entanto, na ausência de luz ou de *m*-TMP este decaimento não ocorreu.

A fotoxidação de proteínas na presença de FTS geralmente envolve o ataque de  $^1\text{O}_2$  a resíduos de histidina (28). No caso de BSA, esta fotoxidação pode ocorrer no aminoácido cisteína na posição 34 (Cys-34) levando a formação de radical til e em Trp nas posições 134 e 214, ocasionando a destruição do anel deste aminoácido (Fig.7) (29).

A capacidade de ocasionar a oxidação de uma biomolécula, na presença de luz, como ocorreu com *m*-TMP, é muito importante, uma vez que esta fotoxidação pode provocar uma seqüência de eventos oxidativos que podem resultar na morte de células cancerígenas por apoptose e/ou necrose (4). Neste experimento utilizou-se a proteína BSA como modelo. Recentemente foi demonstrado que o FTS, conhecido como ftalocianina 4, foi capaz de oxidar uma outra proteína, conhecida



**Figura 7.** Reação de oxigênio singlete, gerado em PDT, com triptofano.



**Figura 8.** Monitoramento, a cada 5 minutos, das fluorescências de Trp (A) e BSA (B) irradiados com lâmpada de mercúrio, durante 30 minutos, em presença de oxigênio e *m*-TMP 10  $\mu\text{M}$ .

como BcL-2, na presença de luz e  $^3\text{O}_2$  (30). Este foi um trabalho marcante pois tal proteína protege as células tumorais da morte induzida pelo organismo (31).

É importante ressaltar, que o  $^1\text{O}_2$  não reage com qualquer proteína de uma célula cancerígena. Esta interação vai depender da conformação da proteína e da presença de grupos bloqueadores que impedem o  $^1\text{O}_2$  de atingir locais específicos que, quando danificados, levam à desestabilização da estrutura protéica (29). A proteína Bax, por exemplo, não é afetada por  $^1\text{O}_2$  (32). Isto é muito relevante, já que Bax é um dos fatores que ajuda a destruir células tumorais (31).

### Fotodestruição de eritrócitos

A capacidade de fotooxidar biomoléculas, demonstrada por *m*-TMP, estimulou a realização de experimentos com estruturas

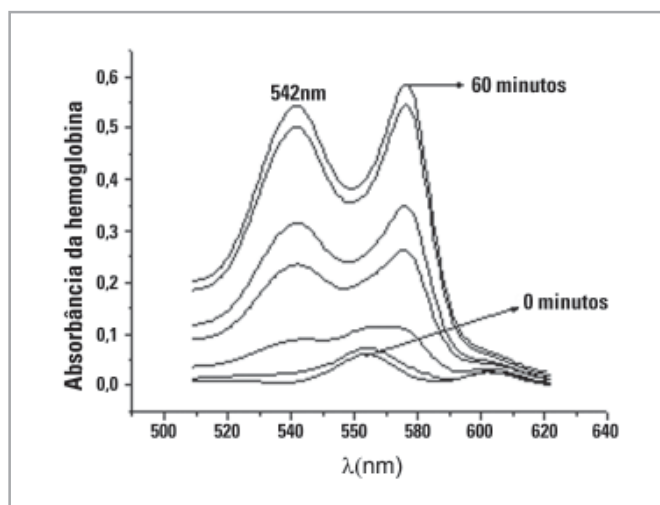
mais complexas. Para isso foram utilizados eritrócitos (como modelo de células) com a finalidade de se avaliar a capacidade de *m*-TMP em destruir estas células, na presença de luz e  $^3\text{O}_2$ . A facilidade e o baixo custo dos ensaios são dois fatores importantes que justificam a utilização de eritrócitos em testes biológicos (33-35).

A irradiação de eritrócitos com luz visível, na presença de *m*-TMP e  $^3\text{O}_2$ , provocou a liberação de hemoglobina no meio de reação. Este evento pôde ser monitorado através do aumento de intensidade no espectro de absorvância da hemoglobina em função do tempo de irradiação (Fig.9). Esta hemoglobina é liberada, devido ao rompimento (hemólise) da membrana celular, ocorrido durante o tratamento. A ocorrência da hemólise deve-se a fotoxidação de proteínas e fosfolipídios presentes na membrana do eritrócito. Esta fotoxidação, ocasionada por ROS, resulta na formação de poros e no aumento da mobilidade dos fosfolipídios, o que provoca a ruptura da membrana e liberação de hemoglobina para o meio extracelular (33,34).

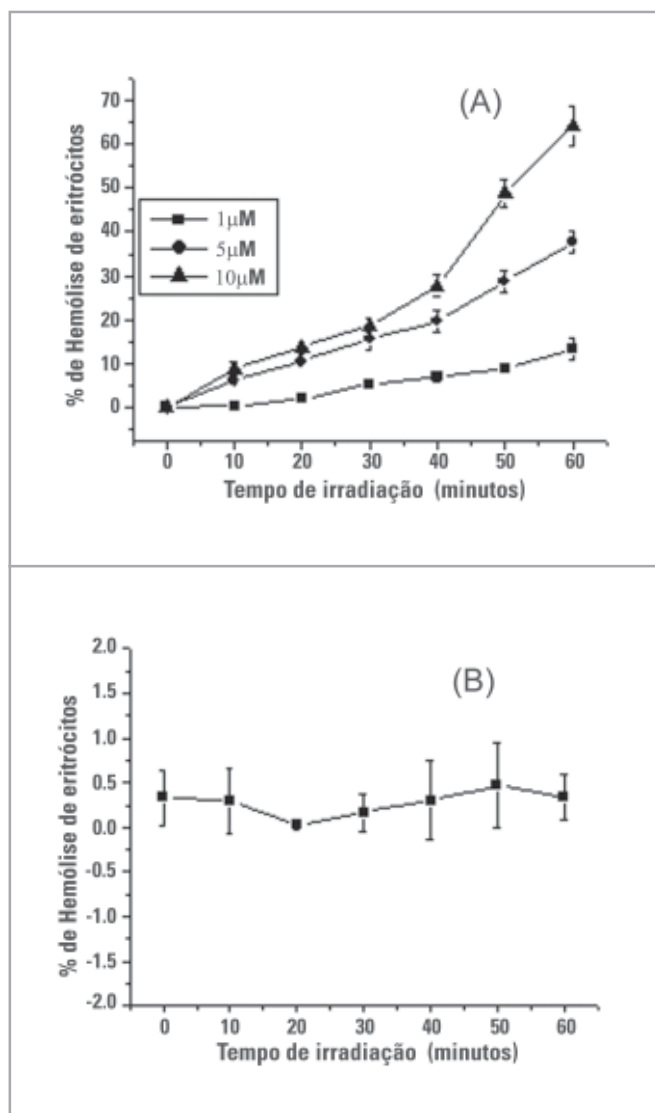
Foi observado, também, que o aumento da concentração de *m*-TMP acarretou um aumento na porcentagem de hemólise de eritrócitos. Além disso, esta hemólise não foi observada no escuro (Fig.10). Isto é muito importante, já que um dos pré-requisitos, para que uma substância possa ser usada em PDT, é não apresentar toxicidade na ausência de luz.

## Conclusão

A realização de estudos, mais avançados e de custos elevados, com o objetivo de se verificar o potencial anticancerígeno de uma substância requer, primeiro, a realização de ensaios mais simples que selecione, dentre muitas, uma substância promissora. O emprego de métodos espectroscópicos simples nos permitiu avaliar o potencial anticancerígeno de *m*-TMP através da sua capacidade de oxidar biomoléculas, causar a



**Figura 9.** Absorvância da hemoglobina em função do tempo de irradiação dos eritrócitos com lâmpada de mercúrio em um meio saturado com oxigênio.



**Figura 10.** Porcentagem de hemólise de eritrócitos em função da concentração de *m*-TMP e do tempo de irradiação com lâmpada de mercúrio, em ambiente saturado com oxigênio (A). Porcentagem de hemólise na ausência de luz e presença de 10 mM de *m*-TMP em ambiente saturado com oxigênio (B).

hemólise de eritrócitos e não sofrer fotobranqueamento, em presença de luz e oxigênio. Os resultados, aqui obtidos, estimulam a realização de estudos mais avançados com a finalidade de se introduzir esta substância em tratamentos que utilizem a terapia fotodinâmica como recurso para tratar alguns tipos de câncer.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro e ao Hemocentro do Hospital das Clínicas da UNICAMP pela doação de sangue.

## Referências

1. Via DL, Magno SM. **Curr. Méd. Chem.**, v.8, p.1405-1418, 2001.
2. Levy JG, Obochi M. **Photochem. Photobiol.**, v.64, p.737-739, 1996.
3. Dougherty TJ. *Photodynamic therapy: basic principles and clinical application*. New York: Marcel dekker, 1992.
4. MacDonald IJ. & Dougherty TJ. **J. Porphy. Phthalocya.**, v.5, p.105-129, 2001.
5. Li R. *et al.* **Apoptosis**, v.8, n.3, p.269-275, 2003.
6. Foote CS. **Photochem. Photobiol.**, v.54, n.5, p.659-659, 1991.
7. Silva AR. *Análise das propriedades fotossensibilizantes do In (III)-mesotetrafenilporfirina para uso em terapia fotodinâmica*. Campinas-SP, 2003. Tese (mestrado)- Instituto de Química-UNICAMP
8. Dougherty TJ. *et al.* **J. Nat. Cancer Inst.**, v.90, p.889-905, 1998.
9. Laser Medical Research Foundation. [<http://209.41.253.5:80/pdt@lmrf>]. Data de acesso: 10 de janeiro de 2004.
10. National Cancer Institute. [<http://cancernet.nci.nih.gov>]. Data de acesso: 14 de janeiro de 2004.
11. Razum N. *et al.* **Photochem. Photobiol.**, v.46, p.925-928, 1987.
12. Machado AEH. **Quim. Nova**, v.23, n.2, p.237-243, 2000.
13. Bagnato VS. *et al.* **Guia Prático de Terapia Fotodinâmica para o Tratamento de Tumores**; 1ª Edição; Instituto de Física de São Carlos, 2002.
14. Nancy L. *et al.* **Photochem. Photobiol. Sci.**, v.1, p.1-21, 2002.
15. Ribeiro JN. *et al.* *Photooxidation of Biomolecules in presence of Octaethylporphyrin and Vanadyl Octaethylporphyrin*. XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, Caxambu-MG, 2003.
16. Silva AR, Jorge RA. *Interactions studies of In (III)-mesotetraphenylporphyrin with unilamellar lipidic vesicles and photoxidation mechanism of human erythrocytes*. XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, Caxambu-MG, 2003.
17. Atkins PW. **Physical Chemistry**, 5<sup>th</sup> Edition, Oxford University Press, 1995.
18. Sconfienza C. *et al.* **Photochem. Photobiol.**, v.31, p.351-357, 1979.
19. Maman N. *et al.* **BBA-Biomembranes**, v.1420, p.168-178, 1999.
20. Spikes JD. *Photobiology of porphyrins. In porphyrin localization and treatment of tumors*. Doiron D.R., Gomer C.J. (eds). Alan R. Liss: New York, 1984.
21. Mang TS *et al.* **Photochem. Photobiol.**, v.45, p.501-506, 1987.
22. Geirgakoudi I, Foster TH. **Photochem. Photobiol.**, v.67, p.612-625, 1988.
23. Spikes JD, Bommer JC. **Photochem. Photobiol.**, v.58, p.346-350, 1993.
24. Beckman JS. *et al.* **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. v.87, p.1620-1624, 1990.
25. Beckman JS, Koppenol WH. **Am. J. Physiol.**, v.271, p.1424-1437, 1996.
26. Beckman JS. **Ann. NY Acad. Sci.**, v.738, p.69-75, 1994.
27. Beckman JS, Chen H. **Methods Enzymol.**, v.233, p.229-240, 1994.
28. Westhead EW. **Methods Enzymol.**, v.25B, p.401-409, 1972.
29. SilvesterJA. *et al.* **Free Rad. Biol. Med.**, v.24, n.5, p.754-766, 1998.
30. Xue L. *et al.* **Oncogene**, v.20, p.3420-3427, 1999.
31. Hockenbergy DM. *et al.* **Nature**, v.348, p.334-336, 1990.
32. Kessel D, Castelli M. **Photochem. Photobiol.**, v.74, n.2, p.318-322, 2001.
33. Zavodnik IB. *et al.* **J. Photochem. Photobiol B.**, v.67, p.1-10, 2002.
34. Ali IA. *et al.* **Biochim. Biophys. Acta**, v.1523, p.225-229, 2000.
35. Guidi G. *et al.* **Gazzet. Chim. Italiana**, v.126, n.11, p.719-724, 1996.

DESCUBRA O QUE O NOVO  
SPECTRO CIROS VISION<sup>®</sup>  
PODE OFERECER !



## O QUE VOCÊ PODE ESPERAR DO NOVO SPECTRO CIROS VISION<sup>®</sup> :

- Insuperável velocidade de análise.
- Análise de Halogênios (Cl, Br, I) na faixa de ppb.
- Alta sensibilidade, robustez e precisão analítica cobrindo faixa espectral de 120 a 770nm.
- Econômico, não requer purga no sistema óptico.
- Software Smart Analyzer Vision, intuitivo, inteligente e poderoso.



Av. Moema, 477/485  
04077-022 - São Paulo (SP)  
Fone: (11) 5055-4466  
Fax: (11) 5055-6008  
[www.spectrosul.com.br](http://www.spectrosul.com.br)  
E-mail: [info@spectrosul.com.br](mailto:info@spectrosul.com.br)  
[vendas@spectrosul.com.br](mailto:vendas@spectrosul.com.br)

 **SPECTRO**  
Sul Americana