

1

Introdução

A Terapia Fotodinâmica PDT é uma modalidade de tratamento contra alguns tipos de câncer baseada na administração de um fotossensibilizante, o qual é preferencialmente absorvido e retido pelo tecido tumoral, seguida pela irradiação local da lesão com luz visível em um apropriado comprimento de onda. O estado tripleto do fotossensibilizante, formado após absorção da luz num comprimento de onda apropriado, pode interagir com o estado fundamental do oxigênio (3O_1) e promovê-lo a um estado citotóxico singlete (1O_2) (mecanismo tipo II) (Gorman et al., 1992). Também pode acontecer que o estado tripleto do fotossensibilizante, ou de radicais formados por ele, pode reagir com oxigênio produzindo espécies citotóxicas de oxigênio, tal como superóxido, ou mesmo pode prover caminhos alternativos para provocar a morte da célula fotossensibilizada (mecanismo tipo I). A supressão do estado tripleto das ftalocianinas por oxigênio em solução aquosa é muito rápido, ($2-6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Como consequência, a transferência de energia a outros supressores tripletos, além do oxigênio, é menos importante e, portanto, predomina o mecanismo tipo II (Ostler et al., 2000). A PDT, comparada com tratamentos padrões, tais como cirurgia, radioterapia e quimioterapia, oferece vantagens tais como uma destruição eficiente e seletiva do tecido tumoral sem afetar o tecido saudável.

O interesse no emprego de metalo ftalocianinas, MPc para tratamentos de doenças neoplásicas por meio de Terapia Fotodinâmica (PDT, da sigla em inglês) deve-se à habilidade de algumas dessas ftalocianinas em serem eficientes fotossensibilizantes. Isso acontece porque absorvem luz na região entre 650 e 700 nm (janela fototerapêutica), apresentando um coeficiente de absorvidade molar alto $\epsilon_{670} \approx 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Por outro lado, as ftalocianinas sem metal não são fotoativas. A característica mais importante é que as ftalocianinas são estáveis, não-tóxicas, apresentam elevada seletividade e boa penetrabilidade nas

membranas celulares, tendendo a se localizar na região interna do tumor (Marques, 2002), além de baixa toxicidade *in vitro* (Gomer, 1991).

As propriedades fotofísicas das ftalocianinas são fortemente dependentes do íon metálico central (Rodrigues, 2008). A complexação das ftalocianinas com íons metálicos diamagnéticos, tais como Zn^{2+} , Al^{3+} , Ga^{3+} , dá origem a compostos com alto rendimento quântico do estado excitado tripleto ($\Phi_T > 0,40$) e com tempos de vida longos (Idowu et al., 2007 e 2008, Nunes et al., 2004). Entre as ftalocianinas, as de zinco e cloro-alumínio são as que apresentam as propriedades fotofísicas mais favoráveis para aplicações em PDT. Por exemplo, os estados singletos com tempo de vida relativamente longo (3-8 ns) e os estados tripletos são produzidos com alto rendimento quântico (Nunes et al., 2004).

A forte absorção da ZnPc na região do vermelho do espectro eletromagnético (675 nm) onde a profundidade da penetração da luz é duas vezes maior que a obtida com Photofrin (PII, um fármaco usado correntemente em PDT) a 630 nm, por exemplo, juntamente com sua homogeneidade química e baixo potencial para induzir fotossensibilidade na pele, são as maiores vantagens sobre PII. Mas a ZnPc não é solúvel em solventes fisiológicos e sua administração *in vivo* precisa ser facilitada pela incorporação em transportadores ou por conversão química, sendo convertidos em fotossensibilizantes solúveis em água devido à incorporação de substituintes seletivos (Tralau et al., 1989).

Sistemas de liberação têm sido desenvolvidos com o objetivo de promover uma entrega seletiva da droga. Estes sistemas visam promover, além de baixos efeitos secundários, fácil dosagem e administração, a redução da frequência de administração e a diminuição das complicações para os pacientes (Konam et al., 2003). O uso de sistemas micelares para o transporte de ZnPc tem sido estudado nas últimas décadas. Por exemplo, Sibata et al. (2004) estudaram as propriedades fotofísicas e fotoquímicas de ZnPc em micelas de circulação de longa duração, LTCM (PEG-5000-DSPE, polietilenoglicol-5000-distearoil-fosfatidiletanolamina) e SDS, para serem usadas em PDT, onde, por meio da espectroscopia UV-VIS, encontraram que a ZnPc ficou completamente dentro do LTCM apresentando, pelo tanto, adequadas condições para serem utilizados em PDT.

Sendo a ZnPc uma das ftalocianinas mais hidrofóbicas, que apresentam mudanças espectrais críticas quando o processo de agregação toma lugar (Sibata

et al., 2004), é preciso encontrar um sistema de transporte que permita que permaneça em forma monomérica e possa ser distribuída em solução aquosa. No nosso trabalho, foi usada espectroscopia de absorção UV-VIS e fluorescência para estudar a dispersão da ZnPc em micelas de diferentes surfactantes, iônicos e não iônicos, tais como SDS, CTAB, Triton X-100, HPS, Tween 80, Tween 20, PF-127 and PF-127.

As propriedades das ftalocianinas podem ser modificadas por substituintes (Stillman, 1989; Seotsanyana-Mokhosi et al., 2001). Por exemplo, a anfifilicidade (de la Torre et al., 1999) pode ser obtida por substituições no anel com grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, onde estas substituições podem eliminar agregação entre ftalocianinas (Maree et al., 2002). Substituições axiais e no anel criam impedimento estérico, portanto, quanto mais volumosos os ligantes, mais pronunciado o efeito.

Na presente tese, são estudados os vários processos fotofísicos da ZnPc e MentaZnPc (ZnPc com grupos derivados da menta substituídos em 4 posições β dos anéis externos), sintetizada por Oliveira et al. (2009), na presença de vários solventes e em micelas de vários surfactantes.

1.1

Objetivos

O objetivo geral do trabalho é avaliar os fotossensibilizantes ZnPc e MentaZnPc em veículos micelares para encontrar os que são apropriados para distribuição desses fotossensibilizantes.

Nossa abordagem envolve a utilização das propriedades espectroscópicas de absorção e fluorescência de fotossensibilizantes e da sensibilidade dessas propriedades à micro-vizinhança molecular. Com isso é possível avaliar as propriedades importantes associadas à distribuição e à atividade fotocatalítica.

Temos como objetivos específicos:

Estudar a associação dos fotossensibilizantes com surfactantes que formam nanocompartimentos micelares. Utilizam-se ftalocianinas hidrofóbicas como a ftalocianina de zinco, ZnPc, e a MentaZnPc, nova ZnPc tetrasubstituída com grupos derivados da menta (mentoxi), sintetizada pelo grupo do Prof. Kleber Oliveira (Dep. Química, UFSCar).

Avaliar os parâmetros fotofísicos, tais como os rendimentos quânticos de fluorescência, de oxigênio singlete e de fotodegradação (Φ_{Δ} , Φ_f , Φ_p), em meios homogêneos (vários solventes) e microheterogêneos (micelas de vários surfactantes).

Dentre os surfactantes que investigamos estão os copolímeros tribloco PEO-PPO-PEO (Pluronic[®] F-68 e F-127) que, devido aos diferentes tamanhos da região hidrofóbica e das duas cadeias hidrofílicas, permitem avaliar consistentemente a influência dessas variáveis na associação das diversas ftalocianinas. Também foram utilizados os surfactantes iônicos SDS (aniônico), CTAB (catiônico) e HPS (zwitteriônico), e os não iônicos como Tween 80, Tween 20, Brij 30, Brij 35, Brij 97, Brij 98.

1.2

Estrutura dos capítulos

No capítulo 2 se apresenta uma descrição dos fundamentos teóricos das técnicas de espectroscopia de absorção e de fluorescência estacionária no tempo, assim como vários fenômenos observados na interação de ZnPc com micelas como agregação, hipocromismo e uma breve descrição dos transportadores de drogas. Também se descreve as estruturas moleculares e caracterização da ZnPc e sua aplicação na Terapia Fotodinâmica .

No capítulo 3 se realiza uma descrição experimental das técnicas usadas para caracterizar a interação da ZnPc com os sistemas micelares, assim como a descrição do equipamento utilizado como o espectrofotômetro e espectrofluorímetro.

No capítulo 4 identificam-se os materiais e métodos e se descreve os métodos empregados nas medidas experimentais.

Os capítulos 5, 6 e 7 contêm os resultados dos seguintes itens: (5) Estudo da ZnPc em micelas de diferentes surfactantes: absorção e fluorescência; (6) Estudo das propriedades fotossensibilizantes de ZnPc em micelas; (7) Estudos espectroscópicos de derivado mentolado de ftalocianina (Menta ZnPc) em diferentes meios.

No capítulo 8 se apresentam as conclusões do trabalho e perspectivas para o trabalho futuro.