



**María Paulina Romero Obando**

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE FOTOSSENSIBILIZANTES  
DERIVADOS DE FTALOCIANINAS COM  
SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO DE FÁRMACOS  
PARA TERAPIA FOTODINÂMICA**

**Tese de Doutorado**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Física pelo Programa de Pós-Graduação em Física do Departamento de Física da PUC-Rio.

Orientadora: Sônia Renaux Wanderley Louro

Rio de Janeiro

Abril de 2012



**María Paulina Romero Obando**

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DE FOTOSSENSIBILIZANTES  
DERIVADOS DE FTALOCIANINAS COM  
SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO DE FÁRMACOS  
PARA TERAPIA FOTODINÂMICA**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Física do Departamento de Física do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

**Profa. Sônia Renaux Wanderley Louro**  
Orientadora  
Departamento de Física – PUC-Rio

**Profa. Aurora Pérez-Gramatges**  
UFRJ

**Profa. Eliane Wajnberg**  
CBPF

**Prof. Marco Cremona**  
Departamento de Física – PUC-Rio

**Prof. Osvaldo Antonio Serra**  
FFCLRP – USP

**Prof. José Eugênio Leal**  
Coordenador Setorial de Pós-Graduação  
Centro Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 20 de abril de 2012

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e da orientadora.

### **María Paulina Romero Obando**

Graduou-se em Física na EPN (Escuela Politécnica Nacional- Equador) em 2007.

#### Ficha Catalográfica

Romero Obando, María Paulina

Estudo da interação de fotossensibilizantes derivados de ftalocianinas com sistemas de distribuição de fármacos para terapia fotodinâmica / María Paulina Romero Obando ; orientador: Sônia Renaux Wanderley Louro. – 2012.

149 f. : il.(color.) ; 30 cm

Tese (doutorado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Física, 2012.

Inclui bibliografia

CDD: 530

*Só temos consciência do belo  
Quando conhecemos o feio,  
Só temos consciência do bom  
Quando conhecemos o mau.  
Porquanto o Ser e o Existir  
Se engendram mutuamente.  
O fácil e o difícil se completam.  
O grande e o pequeno são complementares.  
O alto e o baixo formam um todo.  
O som e o silêncio formam a harmonia.  
O passado e o futuro geram o tempo.  
Eis por que o sábio age  
Pelo não-agir.  
E ensina sem falar.  
Aceita tudo que lhe acontece.  
Produz tudo e não fica com nada.  
O sábio tudo realiza – e nada considera seu.  
Tudo faz – e não se apega à sua obra.  
Não se prende aos frutos da sua atividade.  
Termina sua obra  
E está sempre no princípio.  
E por isto a sua obra prospera.*

**Poema 2. Tao Te Ching. Lao-Tsé**

**Dedico a:**

Minha filha Cristina Cecibel,  
que tem sido a fonte de minha inspiração,  
de meu amor e minha felicidade.

A minha família  
Angel, Yolanda, Silvana, Milton, Monica,  
por estar sempre comigo, incondicionalmente,  
me apoiando e acreditando sempre em mim.

## **Agradecimentos**

Como sempre, a Deus, pelas graças recebidas e por estar sempre comigo me guiando.

A minha orientadora a Professora Sonia Louro, por sua dedicação, ensinamentos e paciência infinita.

A meus grandes amigos Mary y Fernando, sem cuja amizade incondicional a vida teria sido complicada. Levarei no meu coração os grandes momentos vividos.

A meus amigos e colegas da Física da PUC-Rio, pelo ótimo convívio e grande amizade. Ao pessoal do antigo “sexto andar” Kelly, Vanessa, Thiago, Fabio, Johanna, Alexandre, Jefferson pela amizade, carinho e ajuda enorme recebida.

A todos os professores da Física pelos conhecimentos recebidos e pela acolhida, aos moradores da Estrada da Gávea 6, pelo ótimo convívio, simpatia e amizade.

A Giza, secretária da Física PUC-Rio, Graça, secretária do CLAF pela enorme ajuda e amplo sorriso recebido em todo este tempo.

Ao CLAF, CNPq, INAMI pelo apoio financeiro.

Ao povo Brasileiro, pela qualidade de pessoas, sua amabilidade e carinho com que receberam a mim, minha filha e minha família. Obrigada!

## Resumo

Romero Obando, María Paulina. **Estudo da interação de fotossensibilizantes derivados de ftalocianinas com sistemas de distribuição de fármacos para terapia fotodinâmica.** Rio de Janeiro, 2012. 149p. Tese de Doutorado – Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

A Terapia Fotodinâmica (PDT) consiste na irradiação com luz visível de um tecido após a aplicação de um fotossensibilizante. São produzidas diferentes espécies reativas, em especial oxigênio singlete, que desencadeiam uma série de eventos que resultam na inativação ou morte celular. O desenvolvimento de fotossensibilizantes e o estudo de sua distribuição aos locais das lesões são importantes para ampliar as aplicações de PDT. O objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades de ftalocianinas associadas a surfactantes que facilitassem a distribuição e atividade fotocatalítica desse tipo de fotossensibilizante. Foram utilizadas as propriedades espectroscópicas de absorção e fluorescência dos fotossensibilizantes. Numa primeira etapa, foi avaliada a ftalocianina de zinco (ZnPc) em formulações com diferentes surfactantes iônicos (SDS, CTAB, HPS) e não iônicos (Tween 20, Tween 80, Pluronic F-68, PF-127, Triton X-100). Encontrou-se que soluções concentradas de ZnPc e surfactante em DMF ou DMSO formam nanoemulsões instáveis em solução aquosa. No início, ZnPc apresenta-se monomérica nessas nanoemulsões, mas sofre agregação com o passar do tempo, diminuindo sua eficiência como sensibilizante. A cinética de agregação mostrou que HPS e CTAB formam as nanoemulsões mais estáveis, com tempos característicos de formação de agregados superiores a dois dias. Em seguida foi avaliado um novo derivado mentolado de ftalocianina, MentaZnPc, sintetizado por K. Oliveira e colaboradores, em micelas dos surfactantes acima, além dos polioxietilenos C12E9 e Brij 30, 35, 97 e 98. A presença dos grupos mentol como substituintes diminuiu a tendência de empilhamento e produziu maior solubilidade no compartimento hidrofóbico das micelas. Foram avaliados rendimentos quânticos de fluorescência, de produção de oxigênio singlete, usando DPBF como sonda, e fotobranqueamento dos fotossensibilizantes nos meios microheterogêneos. As melhores condições para a geração de  $^1\text{O}_2$  por ZnPc foram encontradas em nanoemulsões de HPS. Por outro lado, MentaZnPc apresentou

ótimo rendimento quântico de oxigênio singleto em micelas não iônicas, especialmente em PF-127, já utilizado amplamente na indústria farmacêutica.

### **Palavras-chaves**

Biofísica, ftalocianina, surfactantes, fotossensibilizante, terapia fotodinâmica, espectrofotometria, fluorescência.



## Abstract

Romero Obando, María Paulina. **Study of the interaction of phthalocyanine-derived photosensitizers with drug delivery systems for photodynamic therapy.** Rio de Janeiro, 2012. 149p. Tese de Doutorado – Departamento de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Photodynamic Therapy (PDT) involves irradiation of a tissue with visible light after application of a photosensitizer. Different reactive species are produced, which initiate events that result in inactivation or cell death. The development of photosensitizers and the study of their delivery to sites of the lesions are important to broaden the applications of PDT. The objective of this study was to evaluate the properties of phthalocyanines associated with surfactants that facilitate the distribution and photocatalytic activity of this type of photosensitizer. The spectroscopic properties of absorption and fluorescence were used. In a first step, zinc phthalocyanine (ZnPc) was evaluated in formulations with different ionic (SDS, CTAB, HPS) and nonionic surfactants (Tween 20, Tween 80, Pluronic F-127 and F-127, Triton X-100). It was found that concentrated solutions of the surfactants with ZnPc in DMF or DMSO form unstable nanoemulsions in aqueous solution. At first, ZnPc is monomeric in the nanoemulsions, but aggregates in the course of time, reducing its efficiency as a sensitizer. The kinetics of aggregation showed that HPS and CTAB form the more stable nanoemulsions with aggregation lifetimes greater than two days. Then, a new menthol phthalocyanine derivative, MentaZnPc, synthesized by K. Oliveira et al., was evaluated in micelles of the surfactants above, and of several polyoxyethylenes. The presence of menthol groups as substituents decreased the stacking tendency and produced a greater solubility in the hydrophobic compartment of the micelles. Fluorescence, singlet oxygen quantum yields and photobleaching of the photosensitizers were evaluated in the microheterogeneous media. The best conditions for  $^1\text{O}_2$  generation by ZnPc were found in HPS nanoemulsions. MintZnPc presented an excellent singlet oxygen quantum yield in non-ionic micelles, especially in Pluronic F-127, which has been widely used in the pharmaceutical industry.

## Keywords

Biophysics, phthalocyanines, surfactants, spectrophotometry, fluorescence, photosensitizer, photodynamic therapy.

## Sumário

1	Introdução	13
1.1	Objetivos	15
1.2	Estrutura dos capítulos	16
2	Princípios gerais	17
2.1	Processos fotofísicos em moléculas	17
2.2	Absorção óptica UV-Visível (eletrônica)	19
2.2.1	Lei de Beer- Lambert	20
2.3	Processos de desexcitação	21
2.4	Interações intermoleculares e formação de agregados	24
2.5	Efeito da interação entre cromóforos na absorção	27
2.5.1	Formação de dímeros	27
2.5.2	Hipocromismo	29
2.6	Terapia Fotodinâmica	31
2.6.1	Mecanismo de ação	32
2.6.2	Oxigênio singleto	34
2.7	Fotossensibilizantes	37
2.7.1	Histórico	37
2.7.2	Ftalocianinas	39
2.8	Sistema de transporte de drogas	43
2.8.1	Classificação dos transportadores de droga	43
2.9	Interação de surfactantes com fotossensibilizantes	48
3	Técnicas Experimentais	51
3.1	Instrumentação para medição da absorbância	51
3.1.1	Fatores que afetam as propriedades de absorção de um cromóforo.	52
3.2	Instrumentação para Medição da Fluorescência	52
4	Materiais e Métodos	54
4.1	Materiais	54
4.2	Métodos	56
4.2.1	Preparação de ZnPc em nanoemulsões de surfactantes	56
4.2.2	Preparação de MentaZnPc em micelas	58
4.2.3	Processo de fotodegradação	58
4.2.4	Taxas de fotoxidação	60
4.2.5	Eficiência quântica	61
5	ZnPc em micelas de diferentes surfactantes: absorção e fluorescência	67
5.1	ZnPc em DMSO, em DMF e adição de surfactantes	67
5.2	ZnPc em nanoemulsões de surfactante-DMSO ou -DMF	69

5.3	ZnPc em diferentes concentrações de micelas de HPS E CTAB	82
5.4	Discussão e conclusões	83
6	Propriedades fotossensibilizantes de ZnPc em micelas	85
6.1	Atividade fotodinâmica avaliada por fotobranqueamento de ZnPc	86
6.2	Atividade fotodinâmica avaliada por fotoxidação de Trp	90
6.3	Atividade fotodinâmica avaliada com DPBF	95
6.4	Eficiência quântica de fluorescência $\Phi_f$	100
6.5	Eficiência quântica de oxigênio singleto $\Phi_\Delta$	102
6.6	Conclusões	105
7	Estudos espectroscópicos de derivado mentolado de ftalocianina (MentaZnPc) em diferentes meios	109
7.1	MentaZnPc em dimetilformamida (DMF) e acetato de etila (EtAc)	110
7.2	MentaZnPc em diferentes soluções micelares	119
7.3	Atividade Fotodinâmica	124
7.4	Conclusões	134
8	Conclusão	137
	Referências Bibliográficas	141

## Abreviações

<b>Brij 30</b>	Polioxietileno (4) lauril éter
<b>Brij 35</b>	Polioxietileno (23) lauril éter
<b>Brij 97</b>	Polioxietileno (10) oleil éter
<b>Brij 98</b>	Polioxietileno (20) oleil éter
<b>CMC</b>	Concentração micelar crítica
<b>CTAB</b>	Brometo de hexadecil trimetilamônio
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DPBF</b>	1,3- difenil isobenzofurano
<b>EtOAc</b>	Acetato de etila
$\phi_{\Delta}$	Eficiência quântica de oxigênio singleto
$\phi_f$	Eficiência quântica de fluorescência
$\phi_{p\text{ZnPc}}$	Eficiência quântica de fotobranqueamento da ZnPc
$\phi_{p\text{DPBF}}$	Eficiência quântica de fotobranqueamento do DPBF
$\phi_{p\text{Trp}}$	Eficiência quântica de fotobranqueamento do Trp
<b>HPS</b>	3[ <i>N,N</i> -dimetil(3-palmitoilaminopropil)amônio]-propanosulfonato
<b><i>k</i></b>	Taxa de fotobranqueamento
<b><i>k<sub>p</sub></i></b>	Taxa de fotooxidação
$^1O_2$	Oxigênio singleto
<b>PB</b>	Tampão fosfato (do inglês, phosphate buffer)
<b>PDT</b>	Terapia Fotodinâmica
<b>PF-127</b>	PF-127
<b>PF-68</b>	Pluronic F-68
<b>SDS</b>	dodecil sulfato de sódio
<b>Trp</b>	L-Triptofano
<b>Tween 80</b>	Polissorbato 80
<b>Tween 20</b>	Polissorbato 20
<b>ZnPc</b>	Ftalocianina de Zinco
<b>MentaZnPc</b>	ZnPc com 4 grupos mentoxi como $\beta$ -substituintes