

Estudos espectroscópicos e fototóxicos de derivados de Zinco Ftalocianina para Terapia Fotodinâmica

Tania Toyomi Tominaga^{1,2*} (PQ), Claudia Bernal²(TC), Anderson Orzari Ribeiro³(PQ), Janice Rodrigues Perussi²(PQ), Hidetake Imasato²(PQ)

¹Universidade Estadual do Centro Oeste - Guarapuava-PR (ttominaga@unicentro.br); ²Universidade de São Paulo – IQSC, São Carlos-SP; ³Universidade Federal do ABC – Santo André – SP

Palavras Chave: Terapia fotodinâmica, fotossensibilizadores, ftalocianinas

Introdução

As ftalocianinas e derivados têm sido alvo de intensos estudos como fotossensibilizadores (FS) de segunda geração no tratamento de câncer por Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês Photodynamic Therapy). O FS ideal deve apresentar baixa toxicidade na ausência de luz, ser um composto puro, hidrossolúvel, ser biologicamente estável, fotoquimicamente seletivo e apresentar intensa absorção na região espectral entre 600 a 700 nm. Neste sentido foram sintetizados novos compostos que possuíssem tais características, a Zinco-tetracarboxi-ftalocianina (Zn-Pc-4) e dois sais de Zinco-tetracarboxi-ftalocianina-N-metilglucamina, obtidos através de diferentes proporções de Zinco-tetracarboxi-ftalocianina com N-methyl glucamina: Zn-Pc4b (1:4) and Zn-Pc4d (1:16). A potencialidade destes novos fotossensibilizadores para atuar na terapia fotodinâmica foram investigados através da comparação da velocidade de fotoxidação (k) da albumina de soro bovino (BSA), atividade fotodinâmica utilizando-se o ácido úrico como dosímetro químico e comparação dos valores de concentração inibitória média (IC₅₀) em células tumorais HEp-2.

Resultados e Discussão

Para a determinação da eficiência fotodinâmica, utilizou-se a fotoxidação do BSA. Neste método a fotodegradação doBSA pode ser acompanhada pela supressão da fluorescência do triptofano na presença do FS após a irradiação. A eficiência fotodinâmica dos FSs pode ser estimada com base na determinação dos valores das constantes de velocidade de fotoxidação da molécula de BSA. Foram preparadas soluções contendo BSA (100 µg/mL) e FS (5 µg/mL) em tampão fosfato, pH 7.2, e irradiadas com LED ($\lambda=630$), em um período máximo de 60 min. O decréscimo na fluorescência do BSA em 340 nm foi utilizado para calcular a constante da velocidade de fotoxidação (k, min⁻¹). Os valores encontrados foram 14±3, (Zn-Pc4), 3.0±0.1 (Zn-Pc4b) e 2.4±0.2 (Zn-Pc4d). Estes resultados mostram que a Zn-Pc4 foi em média 80% mais eficiente em fotoxidar o BSA, quando comparado com os derivados.

Para uma avaliação da atividade fotodinâmica (AF) dos FSs, utilizou-se ácido úrico (AU), um conhecido capturador de oxigênio singlete, como um dosímetro químico. Nesta metodologia, o coeficiente de atividade fotodinâmica pode ser determinado acompanhando-se a banda de absorção característico do AU em 290 nm na presença do FS após a irradiação com luz em comprimento de onda adequado. Os valores encontrados foram 1.30±0.10, (Zn-Pc4), 1.20±0.05 (Zn-Pc4b) and 1.15±0.04 (Zn-Pc4d). Quando se compara estes resultados, verifica-se que os compostos apresentam uma atividade fotodinâmica comparáveis.

Para os ensaios de fototoxicidade foram utilizados células tumorais de laringe humana (HEp-2, ATCC-CCL-23). Utilizou-se uma concentração de 1x10⁵ células/mL em placas de 96 poços. Estas células foram incubadas com diferentes faixas de concentração de cada corante por 2h a 37^o C em uma atmosfera 5% de CO₂. Foram então irradiadas e com dose de irradiação de 16.2 J/cm² em 630nm. Para avaliar a viabilidade celular e então calcular a porcentagem de toxicidade foi realizado o ensaio com 3-(4,5-dimetil) tiazol-2-il-2,5 difenil brometo de tetrazólio (MTT). A concentração inibitória média (IC₅₀, µg/mL) foi de 7.5 (Zn-Pc4), 42 (Zn-Pc4b) and 33 (Zn-Pc4d).

O resultados mostram que a conjugação de ligantes extensos aos fotossensibilizadores acarretam uma diminuição da eficiência fotodinâmica em geral espécies tóxicas de oxigênios, provavelmente, devido ao aumento da dissipação de energia vibracional.

Os resultados mostram que a Zn-Pc4 apresenta a maior atividade fotodinâmica e consequente maior tototoxicidade para esta linhagem celular.

Conclusões

Os resultados mostraram que para os fotossensibilizadores investigados neste trabalho, o Zn-Pc4 é o mais eficiente e tem o melhor potencial para ser aplicado na PDT.

Agradecimentos

Fundação Araucária, UNICENTRO, FAPESP, CNPq