

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS A BASE DE NANOESFERAS DE COPOLÍMEROS PLURÔNICOS E DOS FÁRMACOS FOTO-ATIVOS PORFIRÍNICOS TPYP E ZN-TPYP VISANDO APLICAÇÕES EM TERAPIA FOTODINÂMICA.

Mariana Alves Zampar (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Wilker Caetano (Orientador),
e-mail: mariana.zampar@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas /
Departamento de Química / Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra/Química

Palavras-chave: Porfirinas; Plurônicos; Terapia Fotodinâmica (TFD)

Resumo

O projeto teve como foco compreender o desenvolvimento de estudos dos fármacos fotossensibilizadores: a tetra(4-piridil)porfirina (TPyP) e seu complexo de zinco (ZnTPyP) analisando suas propriedades físico-químicas, fotofísicas e de encapsulamento em formulações à base de sistemas copoliméricos micelares, os Plurônicos® (P-123, F-127 e P-84), aplicados na terapia fotodinâmica (TFD) e na inativação fotodinâmica de microrganismos (IFDMO). Foram determinadas para todas as porfirinas estudadas: o grau de hidrofobicidade, auto agregação, rendimento quântico de fluorescência, rendimento quântico de oxigênio singleto, rendimento quântico de fotobranqueamento, organização molecular, localização relativa, estabilidade térmica, estabilidade temporal e estabilidade frente à luz. Também foi testada a atividade fotodinâmica das porfirinas sobre artêmia salina, fungos *C. Albicans* e bactérias *S. aureus*, utilizando luz azul e vermelha oriundas de dispositivos emissores de luz -LEDs como fonte de irradiação.

Introdução

A TFD é uma modalidade médica que se utiliza de luz e um composto fotossensibilizador (FS) para gerar espécies reativas, como oxigênio singleto 1O_2 , que destroem as células alvos. A fotossensibilização ou foto-oxidação de matéria biológica por moléculas fotoativas, levando à inativação de vírus, bactérias e células tumorais, têm despertado grande interesse devido à possibilidade do uso em terapia de câncer, viroses e esterilização de sangue e de plasma (Trindade et al., 2000).

O fotossensibilizador da classe das porfirinas, TPyP e seu complexo de zinco foram utilizados neste estudo (Figura 1). As porfirinas e seus derivados, são compostos formados pela união de quatro anéis pirrólicos

através de ligações alílicas. Estes compostos podem ter origem natural ou sintética, e estão envolvidos em importantes funções bioquímicas, como a captação de luz para fotossíntese, transporte de oxigênio nos organismos, e tem sido aplicados em diversas áreas do conhecimento, na medicina e até geração alternativa de energia (Milgrom et al.,1997).

As porfirinas são moléculas altamente hidrofóbicas, por isso foram utilizados carreadores coloidais para fazer o seu transporte, dentre as diferentes classes de transportadores, podemos citar as micelas anfifílicas constituídas por copolímeros em blocos, as quais são carreadores efetivos para a solubilização de drogas hidrofóbicas (Kataoka et al.,1993). As micelas poliméricas vêm sendo utilizadas no encapsulamento de drogas hidrofóbicas, as quais são encapsuladas fisicamente e/ou covalentemente ligados no interior hidrofóbico. Usualmente, o encapsulamento físico é atingido por interação eletrostática/hidrofóbica entre a droga e o polímero, por dispersão sólida, diálise de um solvente orgânico, ou através de procedimentos de emulsificação (Van Nostrum et al.,2004). Neste estudo foram utilizados os Plurônicos® P-123, F-127 e P-84 para o encapsulamento do fármaco (Figura 1).

Além disso, foram apresentados nos resultados a seguir, o rendimento quântico de fluorescência (Φ_F) e oxigênio singlete (Φ_Δ), e testado a eficiência dos fármacos na inativação fotodinâmica de microrganismos como a artêmias salinas.

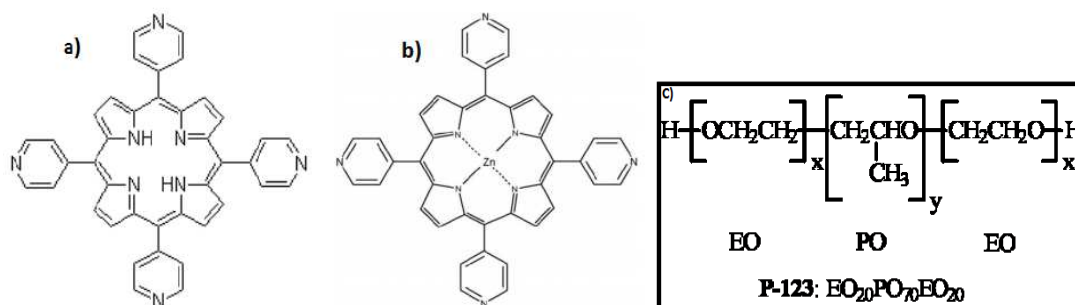


Figura 1: a) TPyP , b) Zn-TPyP e c) Plurônicos® P-123

Materiais e métodos

Materiais

Utilizou-se o fotossensibilizador 5,10,15,20-tetra (4-pyridil)-21H.23H porphine, MM: 618,71 g/mol 97% e os copolímeros poliméricos da classe dos Pluronicos® P-123 (MM= 5800 g mol⁻¹), F-127 (MM= 12600 g mol⁻¹) e P-84(MM=4200 g mol⁻¹),a porfirina metalada Zn-TPyP foi sintetizada a partir da TPyP (Wenceslau et al., 2016). Os equipamentos utilizados para o desenvolvimento desse trabalho foram: espectrofotômetro UV-Vis, espectrofluorímetro, liofilizador, sistemas de LED para irradiação.

Métodos

As porfirinas são insolúveis em meio aquoso sendo necessário seu encapsulamento em nanoesferas de Plurônicos® para melhoria na

propriedades de biodisponibilidade/biotransporte e propriedades fotoativas. Determinou-se o rendimento quântico de fluorescência e o rendimento quântico de formação de oxigênio singlete das porfirinas, formuladas em micelas copoliméricas. Foi analisada a localização molecular nos sistema-modelo, através de estudos de supressão de fluorescência dos fotossensibilizadores, bem como foram realizados estudos in vitro da influência de efeitos de irradiação luminosa.

Resultados e Discussão

Foi feito o encapsulamento da porfirina nas micelas, verificando a solubilidade (forma monomérica) similar em P-123 e P-84, porém em menor grau em F-127, devido à sua estrutura volumétrica relativamente mais hidrofílica.

Os valores de Φ_{Δ} e Φ_F para os sistemas nanoestruturados de P-123 e P-84 contendo porfirinas, estão apresentados na tabela 1. O P-123 apresentou melhores propriedades de encapsulamento com menor índice de polidispersão, conseqüentemente possuindo melhores propriedades fotofísicas. Não foi possível obter valores de Φ_{Δ} em F-127 devido à instabilidade das porfirinas nesse meio carreador.

Tabela 1: Valores de Φ_{Δ} e Φ_F obtidos para as porfirinas encapsuladas em P-123 e P-84.

Porfirina	Φ_F P-123	Φ_{Δ} P-123	Φ_F P-84	Φ_{Δ} P-84
TPyP	0,06	0,74	0,07	0,37
Zn-TPyP	0,07	0,50	0,09	0,25

Os estudos de inativação de microrganismos utilizando microcrustáceo artêmia salina são apresentados na figura 2. As porfirinas encapsuladas em P-123 apresentaram atividade fotodinâmica significativa sobre artêmias (~80%). Adicionalmente foi verificado que a TPyP apresentou atividade no escuro (~30%), apresentando no geral uma % de artêmias vivas menor para as porfirinas zincadas do que para não zincadas.

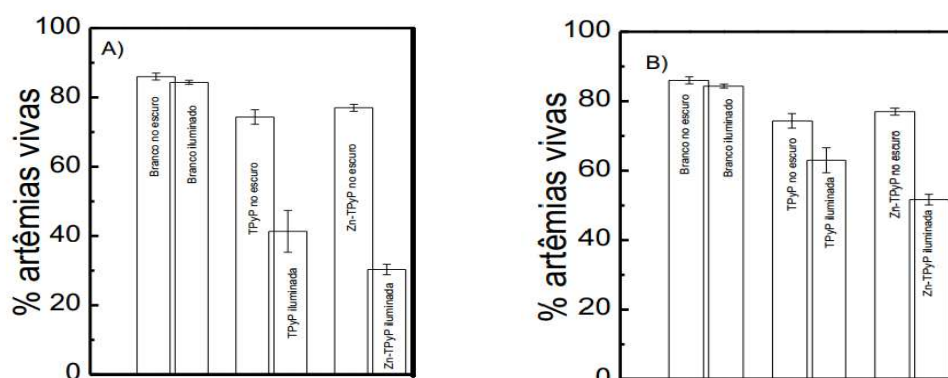


Figura 2: Porcentagem de artêmias vivas nas porfirinas TPyP, Zn-TPyP 1,0 µmol/L. A) Copolímero P-123 0.5%. B) Copolímero P-84 0.5%. Tempo de iluminação 30 minutos, com luz azul de 5 mW/cm².

Conclusões

As porfirinas estudadas apresentaram um perfil cinético de ligação com os Pluronic® P-123, P-84 e F-127 dependente de propriedades do copolímero como: concentração, estrutura, tamanho relativo dos blocos, número de agregação, balanço hidrofílico–hidrofóbico.

Após a liofilização/reidratação das formulações em P-123 e em P-84 verificou-se a recuperação do perfil espectral. Deste modo a liofilização torna-se uma importante ferramenta visando-se o aumento da estabilidade do formulado em relação ao mesmo em solução.

A porfirina apresentou uma efetiva atividade na inativação da artêmia salina, além do fungo *Cândida albicans* e da bactéria *S. aureus*, mas a porfirina zincada apresentou uma melhor atividade fotodinâmica devido sua localização mais externa nas nanoesferas de poloxâmeros. Neste estudo foi evidenciado que tanto a porfirina quanto seu complexo de zinco pode ser utilizados na (TFD) e na (IFDMO).

Agradecimentos

CNPQ, CAPES, Fundação Araucária (SETI/UGF-PR)

Referências

KATAOKA, K.; KWON, G.S.; YOKOYAMA, M.; OKANO T.; e SAKURAI, Y. **Control Release** 24 (1993) p.119-132.

MILGROM, L.R. **The Colours of Life. An Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related compounds**, Oxford University Press, New York, 1997.

TRINDADE. G. S.; FARIAS, S. L. A.; RUMJANEK, V. M.; e CAPELLA, M. A. M. **Cancer Letters** 151 (2000), p.161-167.

VAN NOSTRUM, C. F. **Advanced Drug Delivery Reviews** 56 2004, p.9-16.

WENCESLAU, A. C. **Propriedades físico-químicas em meio homogêneo e encapsulamento em nanoesferas de poloxâmeros P-123, P-84 e F-127 de fármacos fotoativos porfirínicos: TPyP, TMPP, Zn-TPyP e Zn-TMPP aplicados em IFDMO.** (2016)