

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS TERMORRESPONSIVOS PARA A SOLUBILIZAÇÃO DE FTALOCIANINAS VISANDO APLICAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA.

Luana de Oliveira Peres (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Bruno Henrique Vilsinski, Wilker Caetano (Orientador), e-mail: wcaetano@uem.br.

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

Ciências Exatas e da Terra/Química

Palavras-chave: ftalocianinas, terapia fotodinâmica, hidrogéis termorresponsivos.

Resumo

A necessidade de novos tratamentos que melhorem a qualidade de vida do paciente aumenta a cada dia. Com isso, a terapia fotodinâmica (TFD) ganha destaque por se tratar de uma técnica não invasiva e que tem se mostrado efetiva no tratamento de doenças entre elas o câncer. Ftalocianinas são moléculas fotoativas que apresentam características promissoras para aplicação na TFD. No entanto torna-se necessário a solubilização destas em um sistema. Neste trabalho escolheu-se os polímeros micelares Pluronic[®], que aliados as propriedades adesivas do Carbopol[®], formam matrizes nanomoleculares denominadas de hidrogéis termorresponsivos para a incorporação do fármaco. Foram estudados métodos que otimizem a etapa de produção do material, sempre realizando medidas espectrofotométricas. Com isso procurou-se estabelecer as condições para a melhor formulação que mantenha a ftalocianina nas melhores condições de estruturação molecular.

Introdução

A terapia fotodinâmica é uma modalidade clínica que utiliza como base de mecanismo de ação a presença de um composto fotossensibilizador (FS), luz de comprimento de onda adequado e oxigênio molecular. Quando irradiado com luz ($\lambda_{\text{específico}}$) o FS na presença de oxigênio molecular gera espécies citotóxicas, como por exemplo, o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e espécies reativas de oxigênio (EROS) que causam a morte do tecido doente por apoptose ou necrose. A TFD vem sendo amplamente difundida no tratamento de várias doenças, como por exemplo, o câncer, degeneração macular da retina, infecções fúngicas e bacterianas, etc. Inclusive a TFD trata-se de uma modalidade médica menos invasiva, ocasionando menor efeito colateral e maior seletividade quanto ao tecido doente (HUANG, 2005). Neste trabalho estudou-se a ftalocianina de alumínio-cloro (AlPcCl) como composto fotossensibilizador. Esta apresenta absorvidade intensa na região de comprimento de onda de máxima penetração da luz nos tecidos (700-800 nm), bem como bons valores de tempo de vida do estado tripleto e de rendimento quântico de oxigênio singlete (VILSINSKI, 2015). O F-127 trata-se de um copolímero da classe dos Pluronic[®] amplamente estudado em diversas formulações como sistemas carreadores de fármacos. Inclusive a mistura do F-127 com outros plurônicos têm

formado micelas mistas com características mais interessantes para atuarem como sistema de liberação. Alguns copolímeros da classe do Pluronic® apresentam a característica de acima de uma porcentagem mínima, de se apresentar na forma de gel (SCHMOLKA, 1972). Essa propriedade permite o uso desses copolímeros aliados a outros polímeros para o desenvolvimento de hidrogéis termorresponsivos e que também poderão fazer a solubilização/biotransporte de fármacos hidrofóbicos com propriedades/características específicas.

Materiais e métodos

Reagentes e equipamentos

A ftalocianina (AIPcCl) utilizada foi sintetizada pelo grupo de pesquisa NUPESF, os copolímeros denominados P1 e P2, e C1 foram adquiridos respectivamente da Sigma Aldrich e Lubrizol Advanced Materials; etanol utilizado da marca Anidrol. Os equipamentos utilizados foram Espectrofotômetro Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies), Espectrofluorímetro de fluorescência Cary eclipse (Varian), Banho ultrassônico (Cristófoli) e Banho termostatizado (Quimis Aparelhos Científicos).

Procedimentos

Preparou-se formulados contendo AIPcCl incorporada na mistura F-127, P-123 e carboxipol. Para isto utilizou-se das composições apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Amostras de hidrogéis com composição percentual de F-127, P-123 e C934P e concentração em mol/L da Ftalocianina Alumínio-cloro.

Hidrogel	%P2 (m/V)	%P1 (m/V)	%C1 (m/V)	AIPcCl (mol/L)
F1	5	1	0,05	$3,90 \times 10^{-6}$
F2	5	2	0,05	$3,90 \times 10^{-6}$

Os hidrogéis foram preparados segundo o método de dispersão sólida, que consiste na solubilização da ftalocianina junto com os copolímeros P2 e P1 em etanol com auxílio de banho ultrassônico, sendo essa mistura rota evaporada a seguir e deixada no dessecador por 24h. Paralelamente, pesou-se o copolímero C1 na porcentagem de 0,05% e adicionou-se 50% de água destilada sobre o mesmo, essa mistura foi deixada em repouso por 48h para que ocorresse sua dispersão. Após 24h, o filme fino formado foi hidratado com 50% de água destilada, e essa mistura foi mantida em banho termostatizado com agitação a 80°C e monitorada por 180 minutos. Em cada intervalo de 60 minutos foram obtidos espectros de absorção eletrônica e de emissão de fluorescência a fim de se analisar o efeito da temperatura na mistura dos copolímeros juntamente com a AIPcCl comparando-o com os espectros da AIPcCl em meio de etanol. Posterior ao acompanhamento de 180 minutos dividiram-se os formulados em quatro amostras, onde em duas amostras adicionou-se a mistura C1 + 50% de H₂O em temperatura ambiente (25°C) e em outras duas, adicionou-se a mistura C1 + 50% de H₂O em baixa temperatura (15°C). Tendo isto, foram obtidos os espectros de absorção eletrônica e espectros de emissão de fluorescência para novamente analisar o efeito de diferentes temperaturas nos formulados. Para obtenção do espectro de fluorescência, as amostras foram excitadas em 604 nm e para os espectros de excitação a emissão foi fixada em 750 nm.

Resultados e Discussão

Primeiramente, são apresentados os espectros de absorção dos diferentes formulados (tabela 1), juntamente com o espectro de absorção da AlPcCl em etanol (meio homogêneo).

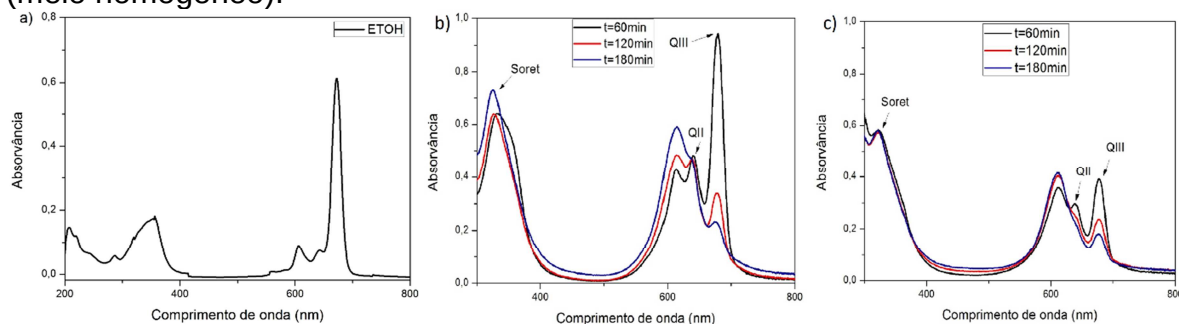


Figura 1 – a) Espectro de absorção UV-Vis da AlPcCl em etanol ($3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) monitorado a $25,0^\circ$. Espectros de absorção eletrônica da AlPcCl $C_{\text{AlPcCl}} = 3,90 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ com b) sendo 5% P1 e 1% P2 e c) sendo 5% P1 e 2% P2 ; monitorado em diferentes tempos na temperatura de -80°C .

No que se refere ao espectro de absorção da AlPcCl em meio de etanol, solvente no qual a mesma encontra-se totalmente monomerizada, verifica-se a presença de uma banda denominada banda Q_{III} (λ 671 nm), que é atribuída à transição ($S_0 \rightarrow S_1$). As outras bandas menos intensas, Q_I e Q_{II} , referem-se a transições vibracionais. A banda Soret, em torno de 350 nm, é referente à transição do estado fundamental S_0 para o segundo estado excitado S_2 ($S_0 \rightarrow S_2$) (VILSINSKI, 2015). Conforme pode ser observado para os dois formulados, no tempo de 60 minutos observou-se que a AlPcCl solubilizou-se nos plurônicos P2 e P1 na forma parcialmente monomérica. Com o decorrer tempo, verificou-se uma considerável diminuição da absorvância na banda Q_{III} , principalmente para a formulação contendo 1% de P2. Ao mesmo tempo, um aumento na intensidade de absorção de uma banda com comprimento de onda máximo de 610 nm, esta referente à presença de auto-agregados do tipo H da ftalocianina (Vilsinski, 2015).

Esta compilação de resultados indica um processo auto-agregacional da ftalocianina, reforçado com o decorrer do tempo, principalmente para a mistura constituída de 1% de P2. No entanto, apesar do processo de auto-agregação ser mais rápido, esta condição conseguiu manter a ftalocianina com uma maior intensidade de absorção, indicando maior monomerização.

Para complementar os estudos, foram obtidos espectros de emissão de fluorescência da AlPcCl em meio de etanol e na mistura de Plurônicos P2 e P1.

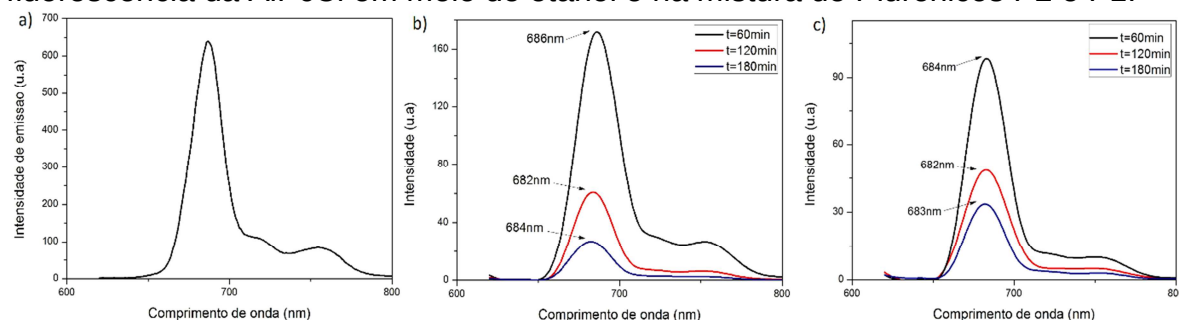


Figura 2 — a) Espectro de emissão da AlPcCl em etanol $[AlPcCl]$ de $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ monitorado a $25,0^\circ$. Espectros de emissão da AlPcCl $C_{AlPcCl} = 3,90 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ com b) sendo 5% P2 e 1% P1 e c) sendo 5% P2 e 2% P1 ; monitorado em diferentes tempos na temperatura de $\sim 80^\circ\text{C}$.

O espectro de emissão em etanol é caracterizado pela presença de uma banda mais intensa em 680 nm, referente à transição ($S_1 \rightarrow S_0$). Outras duas bandas de menor intensidade são observadas referentes às transições a partir de níveis vibracionais. Verifica-se para ambos formulados a presença da banda de emissão com comprimento de onda máximo de 686 nm no tempo de 60 minutos, já discutida como referente à monômeros da molécula. A maior desagregação da ftalocianina na mistura constituída de 1% de P-123 (figura 2-b) também é confirmada pela maior intensidade de emissão da banda de monômeros desta molécula.

Ademais, estudos envolvendo o preparo das formulações nas temperaturas de 15 e $25,0^\circ\text{C}$ evidenciaram um melhor estado espectroscópico na forma monomérica da ftalocianina quando o formulado foi preparado na temperatura ambiente (resultados não mostrados).

Conclusões

Os estudos de estabilidade da AlPcCl nos hidrogéis compostos da mistura entre os copolímeros P1 e P2 quando submetidos na temperatura de $80,0^\circ\text{C}$ mostraram que a ftalocianina perde sua estrutura monomerizada com o passar do tempo, evidenciando que não é interessante para este FS ser submetido à esta temperatura por mais do que 60 minutos. Na obtenção do hidrogel, o mesmo se mostrou eficiente no preparo em temperatura ambiente (25°C) com a concentração de 1% de P2 comparado com o hidrogel contendo 2% de P2, pois nota-se a presença de uma pequena banda de monômeros. Estes resultados foram interessantes, uma vez que se encontrou uma condição otimizada para a obtenção do melhor hidrogel termorresponsivo de P1 e P2 com carbopol para encapsulamento da ftalocianina.

Agradecimentos

CNPq pela bolsa IC-PIBIC, CAPES, Fundação Araucária/PR e COMCAP(UEM).

Referências

HUANG, Z. **A review of progress in clinical photodynamic therapy. Technology in cancer research e treatment**, 4 (3), 283-293, 2005.

SCHMOLKA, I.R. **Artificial skin I. Preparation and properties of Pluronic F-127 gels for treatment of burns. J. Biomed. Mater. Res.**, v. 6, 571-582, 1972.

VILSINSKI, B.H.; GEROLA, A.P.; LEMOS, E.O.; BARBOSA, P.M.; CAMPANHOLI, K.S.S.; CÉSAR, G.B.; TESSARO, A.L.; HIOKA, N.; CAETANO, W. **Spectroscopic study of aluminum phthalocyanine chloride (AlPcCl) in homogeneous and micro-heterogeneous media consisting of P-123 and F-127 polymeric micelles. Química Nova**, 38 (5), 631-639, 2015.