

## DERIVADOS PORFIRÍNICOS ATIVOS EM TERAPIA FOTODINÂMICA

S. Giansante\*, M. S. Baptista\*\*, R. D. Rossoni\*\*\*, J. C. Junqueira\*\*\* e A. F. Uchoa\*

\*Unicastelo, São José dos Campos, Brasil

\*\*USP, São Paulo, Brasil

\*\*\*UNESP, São José dos Campos, Brasil

e-mail: adjaci@hotmail.com

**Resumo:** O desenvolvimento de novos fotossensibilizadores tem sido uma das linhas de pesquisa fundamentais para a evolução da terapia fotodinâmica (TFD). A busca por novos compostos se baseia na obtenção de fotossensibilizadores que proporcionem melhoria no efeito fotodinâmico aliado a um menor custo, favorecendo assim a popularização da Terapia Fotodinâmica. Este trabalho objetivou a síntese de fotossensibilizadores derivados de Protoporfirina IX e o estudo da correlação entre a estrutura e as propriedades fotofísicas dos pró-fármacos sintetizados.

**Palavras-chave:** Terapia Fotodinâmica, fotossensibilizador, síntese.

**Abstract:** The development of new photosensitizers has been one of the main lines of research for the development of photodynamic therapy. The search for new compounds is based on obtaining photosensitizers that provide improved photodynamic effect combined with a lower cost, thus promoting the popularization of Photodynamic Therapy. This work aimed at the synthesis of photosensitizers derived from Protoporphyrin IX and study the correlation between the structure and photophysical properties of the synthesized prodrugs.

**Keywords:** Photodynamic Therapy, photosensitizer, synthesis.

### Introdução

Inovações tecnológicas têm permitido um grande avanço científico sendo que a busca por novos medicamentos e a interpretação dos mecanismos fisiopatológicos têm sido um grande desafio, sendo uma grande contribuição para a evolução e desenvolvimento dos processos terapêuticos. A terapia fotodinâmica (TFD) teve suas primeiras aplicações em civilizações antigas [1,2], no entanto o desenvolvimento desta modalidade terapêutica demanda estudos a respeito dos no processo de fotossensibilização.

A TFD tem seu mecanismo de ação dependente da utilização de um fotossensibilizador (FS), fonte de luz de comprimento de onda adequado e oxigênio molecular. Este processo conduz a formação de espécies reativas de oxigênio que provocam alterações em biomoléculas, podendo resultar em dano irreversível ou morte celular (Figura 1) [3]. A eficiência deste processo

está relacionada com o pró-fármaco, oxigênio molecular, o que impede o desenvolvimento de resistência dos microrganismos [4, 5]. A eficácia deste processo depende, dentre outros fatores, da seleção e obtenção do fotossensibilizador com características favoráveis, tais como composição definida, processos fotofísicos favoráveis, permeabilidade em membrana e incorporação em tecido biológico [6, 7]. Com isto, o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores tem sido uma das linhas de pesquisa fundamentais para a evolução da terapia fotodinâmica. A busca por novos compostos se baseia na obtenção de FS que proporcionem melhoria no efeito fotodinâmico aliado a um menor custo [6, 8, 9].

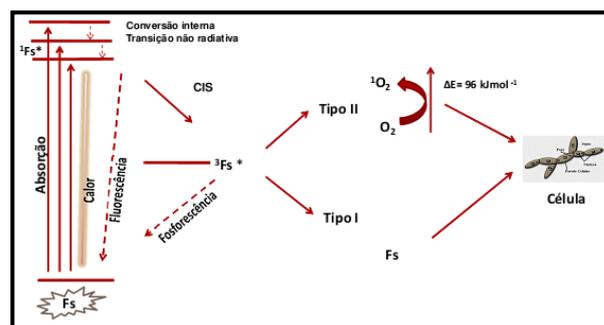


Figura 1: Esquema da rota para a obtenção dos fotossensibilizadores: (1) Protoporfirina IX, (2) PpNetPO<sub>3</sub>, (3) PpNetNA, (4) PpNetNI e (5) PpNetN [10].

As modificações estruturais ou derivatização de estruturas químicas são alternativas para o desenvolvimento de FS, onde relacionar a estrutura e atividade é uma efetiva ferramenta no desenvolvimento de fármacos e fotofármacos. Entre os fotofármacos, as porfirinas de origem natural se destacam por não apresentarem toxicidade na ausência de irradiação.

As porfirinas são macrociclos aromáticos formados por quatro anéis pirrólicos que apresentam espectro de absorção típico, com banda intensidade em torno de 400 nm, denominada banda de Soret e por um conjunto de quatro bandas de menor intensidade localizadas entre 500 e 650 nm, designadas bandas Q [7]. Como apresentam baixa solubilidade em solução fisiológica, é conveniente que sejam utilizadas estratégias que melhorem a biocompatibilidade destes compostos,

através da funcionalização do macrociclo com grupos periféricos de elevada polaridade, o que proporciona a obtenção de compostos anfifílicos [11].

Este trabalho teve como objetivo relacionar a estrutura e as propriedades fotofísicas de fotossensibilizadores derivados de Protoporfirina IX, sendo para isto realizada a síntese e caracterização dos fotossensibilizadores.

## Materiais e métodos

Os derivados de protoporfirina IX (Pp IX) foram obtidos por funcionalização nos grupos carboxilatos 13<sup>3</sup> e 17<sup>3</sup>. Os passos para obtenção dos compostos estão representados na Figura 2.

Este processo resultou na síntese de quatro fotossensibilizadores: **PpNetNA**: Dimetil-8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-bis[-N[-2-(dimetilamina)etil]propanamida], **PpNetPO<sub>3</sub>**: Dimetil-8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-bis[-N[-2-(propanoilamino)etil]fosfônico ácido], **PpNetN**: Dimetil-8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-bis[-N[-2-(dimetilamina)]] e **PpNetNI** (Dimetil-8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-bis[-N,N,N-trimetil-2-(propanoilamino) etanoaminium].

Após purificação estes compostos foram caracterizados por espectroscopia de massa e ressonância magnética nuclear conforme descrito na literatura [12]. A caracterização foi realizada em clorofórmio e água, obtendo-se espectro característico do macrocíclico porfirínico, evidenciando que não houve alteração do cromóforo e que os FS apresentaram solubilidade em ambos os solventes, conferindo a eles caráter anfifílico.

## Resultados

Através da funcionalização dos grupos carboxílicos da Pp IX foram obtidos quatro compostos, sendo um deles inédito (PpNetN). O esquema apresentado na Figura 2 representa a rota de obtenção dos mesmos.

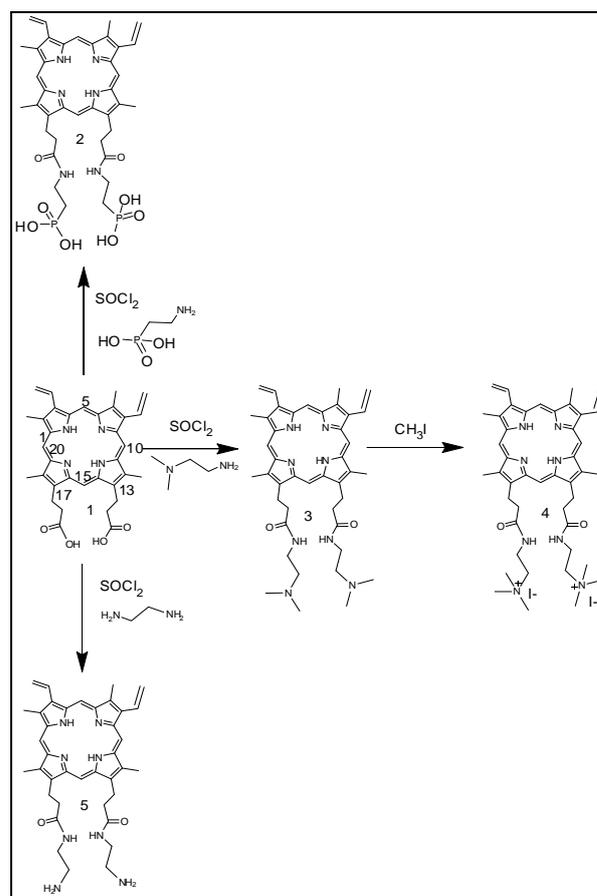
Os espectros Uv-Vis dos compostos foram obtidos em clorofórmio e em água (Figura 3). A produção de oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) foi determinada por método direto, através do espectro de emissão com máximo em 1270 nm.

## Discussão:

A funcionalização da protoporfirina IX nas posições 13<sup>3</sup> e 17<sup>3</sup> levou a compostos assimétricos e anfifílicos, sendo estes desenhados para cruzarem membranas e serem inseridos no citoplasma e organelas específicas.

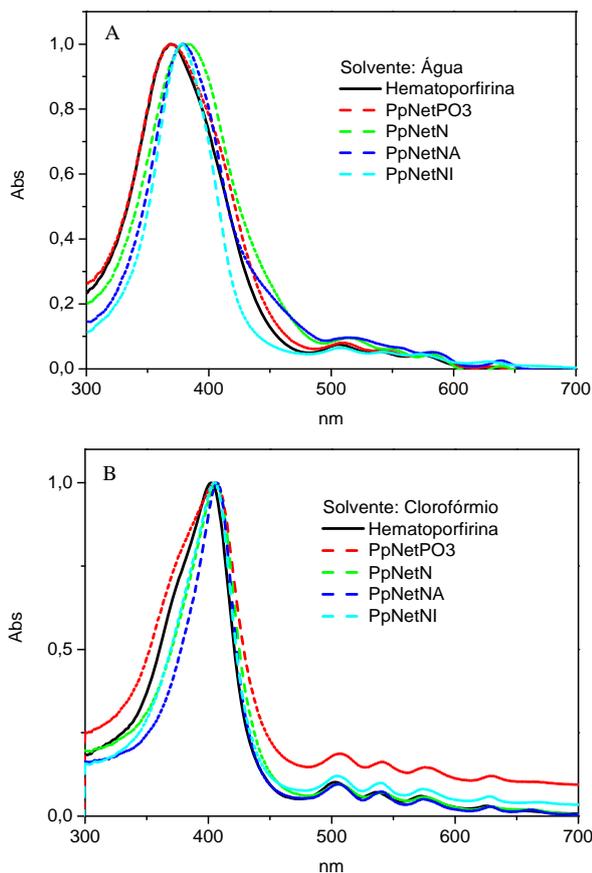
A Figura 2 ilustra a funcionalização do macrocíclico para a obtenção dos derivados PpNetPO<sub>3</sub>, PpNetNA, PpNetNI e PpNetN, por funcionalização nos grupos carboxílicos das posições 13<sup>3</sup> e 17<sup>3</sup>. A fotofísica destes compostos (Figura 3) foi ligeiramente afetada pela funcionalização. As curvas espectrais foram obtidas em

clorofórmio e água, sendo estes resultados apresentadas na forma normalizada evidenciando a manutenção do perfil espectral com a banda solet centrada em 400 nm para o espectro em clorofórmio e ligeiramente alargado e deslocado para o ultravioleta em água. Os deslocamentos em solução aquosa evidenciam a formação de estado agregado, dados já conhecidos da literatura [13] sendo também conhecido que a agregação altera as propriedades fotofísicas da matéria. Algumas bandas Q foram ligeiramente deslocadas e ocorreu espalhamento de luz para alguns compostos, sendo bem evidente no caso do PpNetPO<sub>3</sub> em clorofórmio, onde foi detectada uma "absorção" fictícia no início do espectro (700 nm). Estes resultados convergem para a caracterização da formação de estado agregado.



**Figura 2:** Rota para a obtenção dos fotossensibilizadores: (1) Protoporfirina IX, (2) PpNetPO<sub>3</sub>, (3) PpNetNA, (4) PpNetNI e (5) PpNetN.

Nos demais o espectro é característico daquele esperado para uma porfirina. Apresenta uma banda intensa por volta dos 400 nm (banda de Soret) e quatro bandas de menor intensidade localizadas entre 500 e 650 nm, denominadas bandas Q. Estes resultados evidenciam que as alterações não afetaram o anel porfirínico, e, portanto não é esperado alterações nas propriedades fotofísicas, uma vez que as alterações foram efetuadas nos grupos periféricos. No entanto, os grupos funcionais inseridos alteraram as propriedades físico-químicas e estas alterações são importantes na interação dos compostos com o meio.



**Figura 3:** Espectro Uv-visível de Hematoporfirina, PpNetPO<sub>3</sub>, PpNetN, PpNetNA e PpNetNI em água (A) e clorofórmio (B).

### Conclusão:

A funcionalização da protoporfirina IX nas posições 13<sup>3</sup> e 17<sup>3</sup> resultou em estruturas assimétricas e anfífilas, viabilizando a obtenção de compostos que são capazes de cruzarem membranas e se internalizarem em micro-organismos; Estudos fotofísicos confirmaram o potencial fotodinâmico dos fotossensibilizadores sintetizados.

### Agradecimentos:

À Unesp (laboratório de Biopatologia Bucal. Ao instituto de Química (USP). À Fapesp, projeto Fotossensibilização nas Ciências da Vida, número do processo 12/50680-5 e Processo 2013/07937-8, REDOXOME – Center for Research on Redox Processes in Biomedicine.

### Referências:

- [1] McCaughan JSJ. Photodynamic therapy - a review. *Drugs Aging*. 15: 49-68, 1999.
- [2] Roberts, DJ., Cairnduff, F. Photodynamic therapy of primary skin cancer: a review. *Br. J. Plast. Surg.* 48: 360-370, 1995.
- [3] Holick MF, MacLaughlin JA, Parrish JA et al. The photochemistry and photobiology of vitamin D<sub>3</sub>. Em:

J.D. Regan; J.A. Parrish. *The Science of photomedicine*. New York: Plenum Press, 1982. p 195 – 218.

[4] Huang, L, Wang, M, Sharma, SK, *et al.* Decationic [70 ] Fullerene Approach for Efficient Photokilling of Infectious Bacteria and Cancer Cells. *ECS Trans.* 2013; 45:20.

[5] Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic Therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sc.* 2004; 3 (5): 436 – 450.

[6] Sternberg ED, Dolphin D, Brückner C. Porphyrin-based photosensitizers for use in photodynamic therapy. *Tetrahedron.* 1998; 54:4151-4202.

[7] Bonnett R. Chemical aspects of photodynamic therapy. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 324 p, 2000.

[8] McCaughan JSJ. Photodynamic therapy – A review. *Drugs & Aging.* 1999; 15:49-68.

[9] Tardivo JP, Giglio AD, Oliveira CS. *et al.* Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* 2005; 2:175-191.

[10] Giansante, S. Determinação da Atividade Fotodinâmica Antimicrobiana de Derivados Porfirínicos. 2014. 100 p. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Universidade Camilo Castelo Branco, São José dos Campos, SP.

[11] Deda DK, Uchoa AF, Caritá E. *et al.* A new micro/nanoencapsulated porphyrin formulation for PDT treatment. *International Journal of Pharmaceutics.* 2009; 376:76–83.

[12] Uchoa AF, Oliveira CS, Baptista, MS. Relationship between structure and photoactivity of porphyrins derived from protoporphyrin IX. *Journal of Porphyrins and Phtalocyanines.* 2010; 14:832-845.

[13] Uchoa, AF.; Oliveira, K.T.; Baptista, M. *et al.* Chlorin photosensitizers sterically designed to prevent self-aggregation. *J. Org. Chem.* 76: 8824-8832, 2011.