



# Porfirinas e Terapia Fotodinâmica

## em Neoplasias

Jorge Filipe Soares Alves

Jorge Filipe Soares Alves

Porfirinas e Terapia Fotodinâmica  
em Neoplasias

---

*Jorge Filipe Soares Alves*

Projeto de Pós Graduação apresentado à  
Universidade Fernando Pessoa como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas.

**Orientador:**

Professora Doutora Carla Matos

# Resumo

---

As porfirinas demonstraram já as suas potencialidades em vários campos científicos, com principal destaque para aplicações medicinais como a Terapia Fotodinâmica (TFD).

Esta terapia emprega a combinação de oxigénio e substâncias ativadas pela luz (fotossensibilizadores) na geração de radicais livres. Estes, por sua vez, provocam uma cascata de eventos oxidativos que resultam na morte das células neoplásicas por processos de morte celular conhecidos como apoptose e/ou necrose.

Nos últimos anos vários têm sido os esforços para o desenvolvimento de novos métodos para converter porfirinas em derivados com características estruturais e espectroscópicas adequadas para a sua potencial aplicação em TFD.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo a realização de uma revisão bibliográfica relativamente aos fundamentos teóricos e à importância das porfirinas nas várias áreas, dando especial ênfase a aplicação das porfirinas no tratamento de neoplasias.

# Abstract

---

Porphyrins have shown their potential in various scientific fields, with main emphasis on medicinal applications such as photodynamic therapy (TFD).

This therapy employs a combination of oxygen and light activated substances (photosensitizers) for the generation of toxic free radicals.

In turn, these cause an oxidative cascade of events that result in the death of neoplastic cells by processes of cell death known as apoptosis and / or necrosis.

In recent years many efforts have been developed and new methods for the synthesis and study of porphyrin derivatives with structural and spectroscopic characteristics suitable for its potential application in TFD.

So, the present study aims to conduct a literature review in relation to the theoretical foundations and the importance of porphyrins in several areas, with special emphasis on application of porphyrins in the treatment of malignancies.

# Agradecimentos

---

À *Doutora* Carla Matos , com quem tive o orgulho e privilégio de colaborar, agradeço todos os estímulos e desafios para a realização deste Projeto. Agradeço também pela amabilidade, amizade e boa disposição em todos os momentos. A sua sabedoria foi essencial para que chegasse ao fim deste trabalho com um enorme sentimento de satisfação.

Agradeço ao Engenheiro Bartolomeu Pereira, Diretor da Unicam pela inestimável paciência, amizade, ajuda, carinho e dedicação, desde sempre demonstrado. Agradeço, também, à Unicam, Sistemas Anal íticos.

À Filipa Ferreira, um agradecimento especial pelo apoio, amor e carinho diários, pelas palavras doces e pela transmissão de confiança e de força, em todos os momentos.

A todos os amigos mas em especial ao Miguel Menezes Nogueira, Ana Isabel Carneiro, Miguel Jesus Chivarria, André Penha, Inês Pereira, Andreia Rodrigues, Daniel Moutinho, Vítor Machado, Catarina Silva, Margarida Ferreira e Carlos Ferreira, que acompanharam todo o meu percurso académico e pela partilha dos bons (e menos bons) momentos.

À *Minha Família*, em especial à minha *Mãe* um muito obrigada por acreditarem sempre em mim e naquilo que faço e por todos os ensinamentos de vida. Espero agora que termino, possa, de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que, constantemente, me oferecem. A ti *Mãe* dedico todo este trabalho.

# Índice Geral

---

<b>Resumo</b>	I
<b>Abstract</b>	II
<b>Agradecimentos</b>	III
<b>Índice de Figuras</b>	IV
<b>Índice de Tabelas</b>	V
<b>Lista de Abreviaturas</b>	VI
<b>1 Introdução</b>	1
1.1 Definição e nomenclatura das porfirinas	2
1.2 Propriedades e reatividade do macrociclo porfirínico	7
1.3 Síntese	9
1.4 Aromaticidade do anel macrociclo porfirínico	14
<b>2 Terapia Fotodinâmica</b>	19
2.1 Aspectos históricos da terapia fotodinâmica	20
2.2 Princípios Básicos da terapia fotodinâmica	21
2.2.1 Mecanismos fotofísico e fotoquímico	24
2.2.2 Resposta Biológica	26

2.2.3 Fotossensibilizadores	27
<b>3 Porfirinas como Agentes da Terapia Fotodinâmica</b>	<b>31</b>
3.1 Derivados porfirínicos	32
3.2 Agregação	33
3.3 Reações de fotobranqueamento	37
3.4 Interação das porfirinas com os tecidos biológicos e as células	39
3.5 Encapsulamento da porfirinas	42
3.6 Porfirinas modificadas	46
3.7 Casos Clínicos	51
3.8 Considerações finais	55
<b>4 Bibliografia</b>	<b>56</b>

# Índice de Figuras

---

<b>Figura 1.1</b> Estrutura geral do núcleo porfirínico	2
<b>Figura 1.2</b> Sistema de numeração do anel porfirínico	3
<b>Figura 1.3</b> Esquema das porfirinas e seus substituintes	4
<b>Figura 1.4</b> Exemplo de uma porfirina <i>tetrakis</i> , sal de sódio da 5,10,15,20- <i>tetrakis</i> (4-sulfonatofenil) porfirina	5
<b>Figura 1.5</b> Exemplo de uma porfirina de primeira geração, estrutura da (H <sub>2</sub> (TPP) (tetrafenilporfirina)	5
<b>Figura 1.6</b> Exemplo de uma porfirina de segunda geração, estrutura da H <sub>2</sub> (TDFPP) (tetra-2,6-difluorfenilporfirina)	6
<b>Figura 1.7</b> Exemplo de uma porfirina de terceira geração estrutura da H <sub>2</sub> (TDFPF <sub>8</sub> P) (tetra-2,6-difluorfenil-octafluorporfirina)	6
<b>Figura 1.8</b> Sistema de numeração proposto pela IUPAC	7
<b>Figura 1.9</b> Estrutura de uma metaloproteína com grupo heme, hemoglobina e clorofila a	8

<b>Figura 1.10</b> Metodologias de síntese das porfirinas	11
<b>Figura 1.11</b> Exemplo de síntese pelo Método de Adler	12
<b>Figura 1.12</b> Método proposto por Lindsey para a síntese de porfirinas	12
<b>Figura 1.13</b> Estruturas de ressonância do anel porfirínico	14
<b>Figura 1.14</b> Estruturas do macrociclo porfirínico e seus derivados reduzidos, clorina (a), bacterioclorina (b) e isobacterioclorina (c)	15
<b>Figura 1.15</b> Estrutura e deslocamento químico dos diferentes prótons para a TTP	15
<b>Figura 1.16</b> Exemplo de compostos porfirínicos e da sua cor	16
<b>Figura 1.17</b> Espectro eletrônico (UV-Vis) típico da porfirina	17
<b>Figura 1.18</b> Espectro eletrônico (UV-Vis) para derivados porfirínicos, Por-porfirina, MPor-metaloporfirina	18
<b>Figura 1.19</b> Espectro eletrônico (UV-Vis) para porfirinaH <sub>2</sub> TTP(---) e a metaloporfirina ZnTTP(---)	18
<b>Figura 2.1</b> Cronograma da história da terapia fotodinâmica	22
<b>Figura 2.2</b> Desenho esquemático das quatro fases da terapia fotodinâmica	23
<b>Figura 2.3</b> Mecanismos da terapia fotodinâmica associados á regressão tumoral-Diagrama de Jablonski modificado	25
<b>Figura 2.4</b> Tempo de vida, a reatividade e a distância de difusão entre os citotóxicos e as biomoléculas biológicas	26

<b>Figura 3.1</b> Representação das formas de auto agregação: face a face(a), entre laterais (b), face-lateral (c) e entre faces paralelas deslocadas (d)	34
<b>Figura 3.2</b> Agregados de porfirinas entre faces paralelas deslocadas e face a face	34
<b>Figura 3.3</b> Fatores que afetam o equilíbrio entre agregado e o monómero	35
<b>Figura 3.4</b> Forma desprotonada e protonadas da porfirina	36
<b>Figura 3.5</b> Relação entre as energias de transição do monómero (a), o dímero linear (b), e o dímero paralelo (c)	37
<b>Figura 3.6</b> Fotobranqueamento de um composto porfirínico, na presença de oxigénio singleto (Ribeiro, 2005)	38
<b>Figura 3.7</b> Constituintes de uma célula animal (a) mitocôndria humana (b)	41
<b>Figura 3.8</b> Estrutura, em cone, de uma ciclodextrina. A parte exterior é hidrofílica e a cavidade é hidrofóbica	42
<b>Figura 3.9</b> Representação de uma molécula de temoporfirina com dois dos seus grupos fenilos inclusos nas cavidades apolares de duas moléculas de ciclodextrinas formando um complexo 2:1	43
<b>Figura 3.10</b> Representação geral de um lipossoma	44
<b>Figura 3.11</b> Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas	45

---

<b>Figura 3.12</b> Estrutura, da quitina e do quitosano	46
<b>Figura 3.13</b> Conjugado de <i>m</i> -THPC com ácido fólico	47
<b>Figura 3.14</b> Alguns derivados glicoporfirínicos	48
<b>Figura 3.15</b> Exemplos de aril-porfirinas com substituinte em <i>meta</i> e <i>orto</i> (figura montada a partir de imagens disponíveis na internet)	49
<b>Figura 3.17.</b> Estruturas das porfirina <i>meso</i> -dimetilpirazólio (H <sub>2</sub> -TDMPzP), <i>meso</i> -dimetilimidazólio (H <sub>2</sub> -TDImP) e <i>meso</i> -tetra(N-4-metilpirídínio) (4P <sub>4</sub> Me) (figura montada a partir de imagens disponíveis na internet)	50
<b>Figura 3.16.</b> Estruturas moleculares das porfirinas a) N-confusa e b) <i>cis</i> duplamente N- confusa e da c) hexafirina e d) hexafirina duplamente N-confusa nas formas metalo-complexadas (Engelmann, 2005)	51
<b>Figura 3.18.</b> Estrutura da Photofrin	52
<b>Figura 3.19.</b> Estrutura da Temoporfin	53
<b>Figura 3.20.</b> Esquema de conversão do ALA e a PpIX (Simplício <i>et al.</i> , 2002)	53
<b>Figura 3.21.</b> Estrutura da Verteporfina	54
<b>Figura 3.22.</b> Estrutura da Npe <sub>6</sub>	55

# Índice de Tabelas

---

<b>Tabela 1.1</b> Vantagens e desvantagens dos métodos sintéticos de porfirinas	13
<b>Tabela 2.1</b> Propriedades que um fotossensibilizador ideal	28
<b>Tabela 2.2</b> Classificação dos fotossensibilizadores	28
<b>Tabela 2.3</b> Principais fotossensibilizadores já aprovados para o uso na TFD, e respectivas neoplasias	30

# Lista de Abreviaturas

---

ALA	Ácido 5-aminolevulínico
BPD-MA	Verteoporfina
CD's	Ciclodextrinas
DDQ	5,6-diciano-2,3-diclorobenzoquinona
FDA	Food and Drug Administration
FTS	Fotossensibilizador
H <sub>2</sub> (TDFPF <sub>8</sub> P)	Tetra-2,6-difluorfenil-octafluorporfirina
H <sub>2</sub> (TDFPP)	Tetra-2,6-difluorfenilporfirina
H <sub>2</sub> -TDImP	<i>meso</i> -dimetilimidazólio
H <sub>2</sub> -TDMPzP	<i>meso</i> -dimetilpirazólio
H <sub>2</sub> (TPP)	Tetrafenilporfirina
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
KDa	KiloDalton
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
<i>m</i> -THPC	<i>tetrakis(m</i> -hidroxifenil) clorina
Npe <sub>6</sub>	LS11, de mono-L-aspartilclorina, talaporfin sódica e laserphyrin
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxigénio singlete

$^3\text{O}_2$	Oxigénio molecular
pH	Grau de acidez
pK <sub>a</sub>	Indicador da Constante de acidez
PpIX	Protoporfirina endógeno IX
4P <sub>4</sub> Me	<i>meso</i> -tetra(N-4-metilpirídínio)
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN $^1\text{H}$	Ressonância magnética de hidrogénio
ROS	Espécies reativas de oxigénio
S <sub>0</sub>	Estado fundamental
T <sub>1</sub>	Estado tripleto excitado
TFA	Ácido trifluoroacético
TFD	Terapia fotodinâmica
TMP	5,10,15,20-tetrametilporfirina
TMPyP	<i>tetra</i> -(N-metil-4-piridil)porfirina
$\lambda$	Comprimentos de onda

# 1

---

## Introdução

A designação de porfirina deriva do grego πορφύρα, *porphura*, que significa “pigmento púrpura”; são compostos macrociclos tetrapirrólicos cuja existência é fundamental para a vida (Milgron, 1997).

Dos seus derivados naturais mais importantes destacam-se o grupo heme e as clorofilas. O grupo heme consiste numa estrutura tetrapirrólica constituída por quatro anéis pirrólicos ligados por pontes de metano com quatro radicais metilo, dois radicais vinilo e dois radicais propionilo em arranjos diferentes, dos quais a protoporfirina IX é um dos isómeros. O Fe (II) encontra-se no centro da protoporfirina IX coordenado por quatro ligações ao azoto de cada anel pirrólico (Berg *et al.*, 2006). Ao grupo heme podem-se associar estruturas, tais como, as da hemoglobina e mioglobina, responsáveis pelo transporte e armazenamento de oxigénio molecular nos animais. A clorofila é uma clorina quelatada com magnésio (Smith, 1975) e está relacionada com os processos fotossintéticos das plantas.

Existem ainda outros compostos macrociclos tetrapirrólicos de elevada importância, tais como, os citocromos, responsáveis pelo transporte de eletrões, biossíntese de esteroides e destoxificação em vários organismos vivos (Cavaleiro e Smith, 1989).

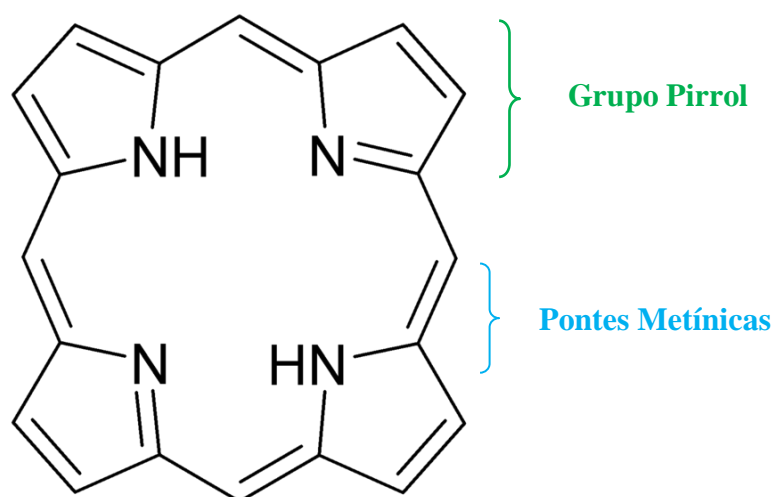
O grande interesse destes compostos deve-se às suas potencialidades biológicas associadas à versatilidade estrutural, possibilitando estudos interdisciplinares que visam a sua utilização em fontes de energia alternativas, dispositivos eletrónicos, catalisadores,

sensores químicos, supercondutores, ou ainda em medicina, com uma particular atenção na área do diagnóstico e tratamento de carcinomas (Purrello *et al.*, 1999; Tian *et al.*, 1998; Carre, 1999; Bem *et al.*, 1998). Esta é uma das áreas mais promissoras para estes compostos, nomeadamente no diagnóstico e tratamento do cancro (Machado, 2000).

As porfirinas são moléculas fotossensibilizadoras que quando irradiadas com luz absorvem radiação da região do visível. A terapia fotodinâmica (TFD) é uma metodologia aplicado a muitas outras áreas, nomeadamente na eliminação de microrganismos (Carvalho *et al.*, 2007), vírus (Tome *et al.*, 2007) em fluídos, materiais contaminados e em infeções (Bonnet, 2000).

### 1.1 Definição e nomenclatura das porfirinas

As porfirinas são compostos macrocíclicos conjugados cujo núcleo base é constituído por quatro anéis pirrólicos unidos entre si por pontes metínicas (figura 1.1).

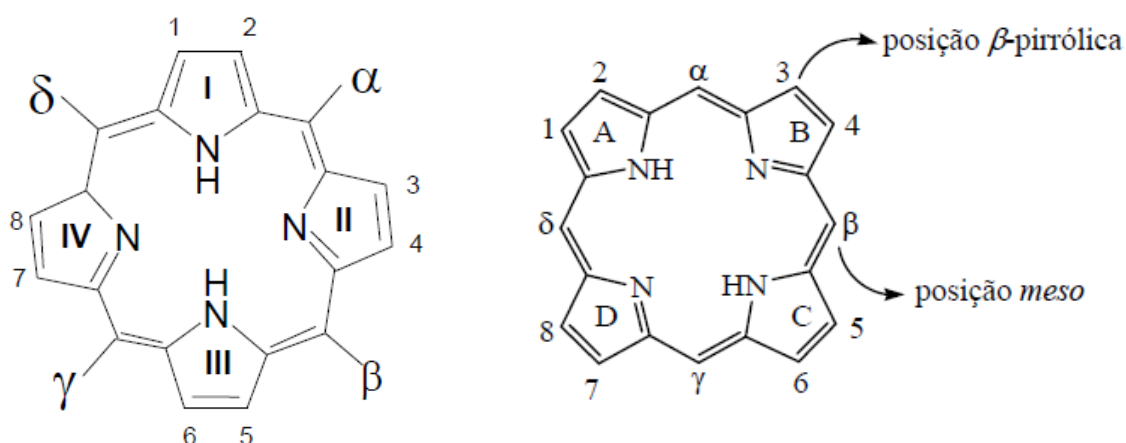


**Figura 1.1** Estrutura geral do núcleo porfirínico (adaptado da internet <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/59/Porphin.png>).

O estudo das porfirinas teve início com Kuster em 1912. Porém, foi Hans Fischer em 1929 quem realmente teve sucesso na síntese da porfirina a partir do pirrol (Milgrom, 1997).

Foi este cientista alemão premiado com o Prémio Nobel da Química no ano de 1930 pelas suas pesquisas na composição do grupo heme e da clorofila, especialmente pela síntese do grupo heme, quem propôs a primeira nomenclatura para o macrociclo porfirínico.

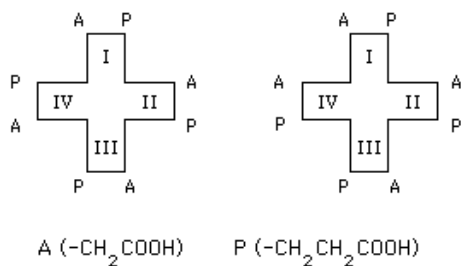
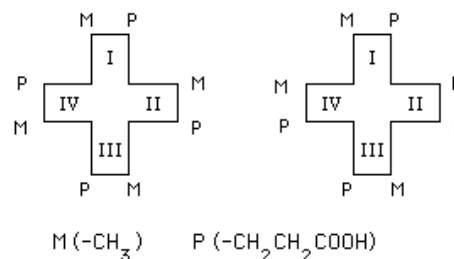
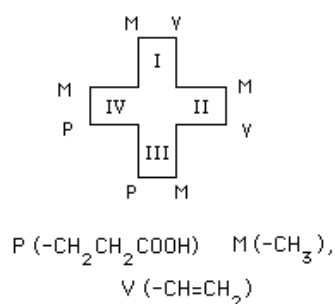
Na nomenclatura proposta por Fisher os quatro anéis pirrólicos devem ser designados pelas letras A, B, C e D, também designados pelos números romanos I, II, III, e IV, e as posições dos substituintes numeradas de 1 a 8 (figura 1.2). As pontes metínicas, também conhecidas como posições *meso*, são identificadas pelas letras gregas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  (Milgrom, 1997; Smith, 1975).



**Figura 1.2** Sistema de numeração do anel porfirínico.

Os substituintes mais comuns para as posições 1 a 8 são muitas vezes designadas com as letras A, P, M e V. Assim sendo, A é o ácido acético ( $-\text{CH}_2\text{COOH}$ ); P é o ácido propanoico ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ); M o radical metilo ( $-\text{CH}_3$ ); e V o radical vinilo ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), respetivamente.

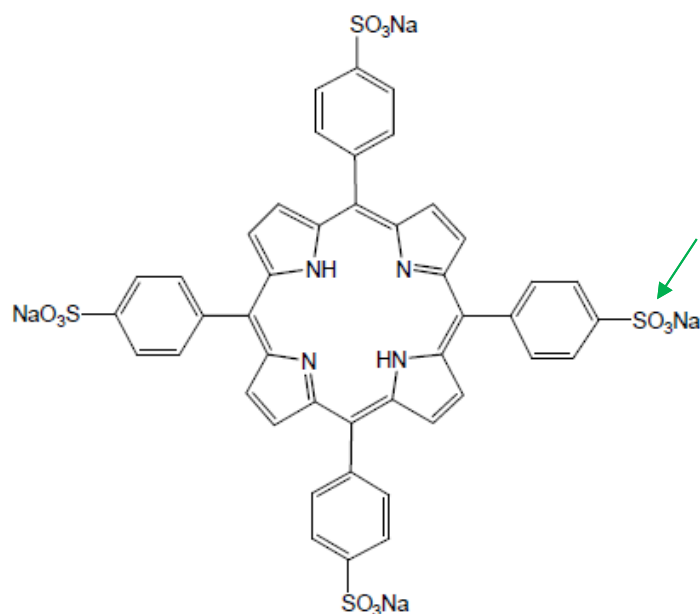
Dependendo do tipo, posição e ordem dos substituintes, as estruturas derivadas podem ser classificadas de uroporfirina, quando contêm somente os substituintes A e P, coproporfirina quando contêm M e P, podendo o substituinte M ser trocado por A, e protoporfirina quando contêm como substituintes M, P e V (figura 1.3).

**Uroporfirina****Coproporfirina****Protoporfirina**

**Figura 1.3** Esquema das porfirinas e seus substituintes (<http://www-medlib.med.utah.edu/NetBiochem/hi2.htm> consultado de 06/06/2013)

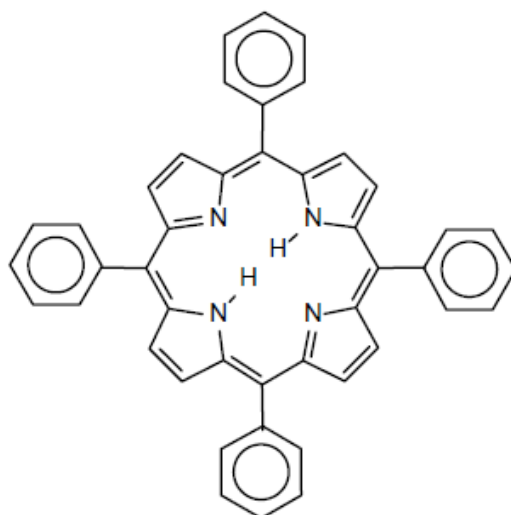
Além disso, quando os substituintes se encontram nas posições *meso* e são alifáticos, as porfirinas são denominadas alquilporfirinas e quando são aromáticos, são denominadas arilporfirinas.

O prefixo *tetrakis* é usado para arilporfirinas, nas quais os grupos aromáticos presentes nas posições *meso* do anel porfirínico contêm heteroátomos ou são substituídos nas posições *orto*, *meta* e/ou *para*, segundo a figura 1.4.



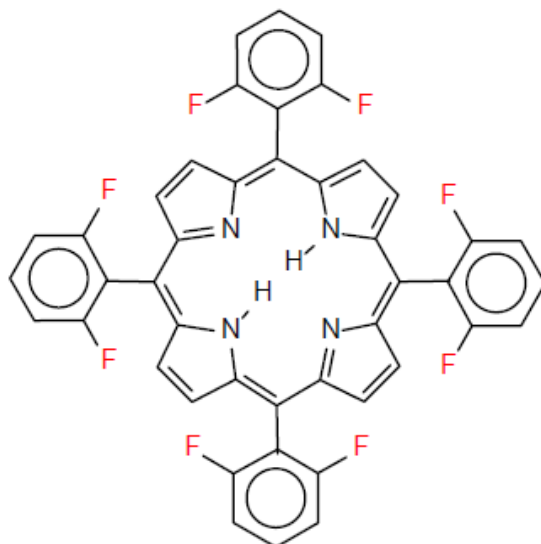
**Figura 1.4** Exemplo de uma porfirina *tetrakis*, sal de sódio da 5,10,15,20- *tetrakis*(4-sulfonatofenil) porfirina (Dolphin, 1997).

As porfirinas também podem ser classificadas por gerações: quando substituídas nas posições *meso* do anel, 5, 10, 15 e 20, com grupos fenilo, representam a classe das porfirinas de primeira geração ou *meso* substituídas (figura 1.5).



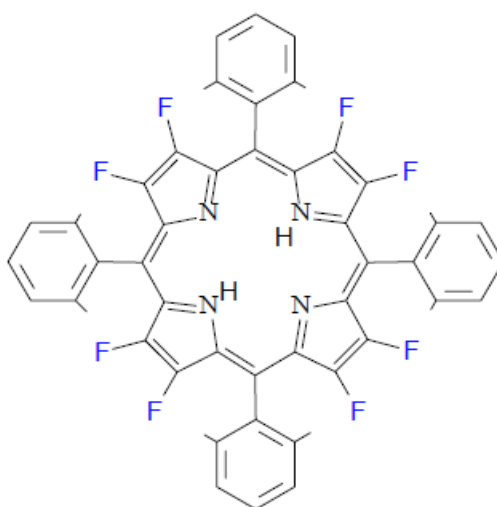
**Figura 1.5** Exemplo de uma porfirina de primeira geração, estrutura da (H<sub>2</sub>(TPP) (tetrafenilporfirina) (Dolphin, 1997).

Se os grupos fenílicos em *meso* apresentarem substituintes halogénios ou outros grupos volumosos, as porfirinas passam a ser de segunda geração (figura 1.6).



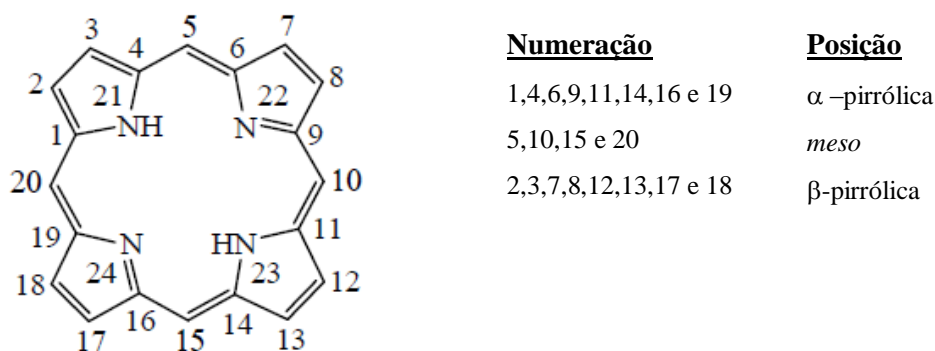
**Figura 1.6** Exemplo de uma porfirina de segunda geração, estrutura da  $H_2(TDFPP)$  (tetra-2,6-difluorfenilporfirina) (Dolphin, 1997).

As porfirinas de terceira geração correspondem a protoporfirinas que apresentam halogênios ou outro tipo de substituintes nas posições  $\beta$ -pirrólicas, 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 e 18 (figura 1.7).



**Figura 1.7** Exemplo de uma porfirina de terceira geração estrutura da  $H_2(TDFPF_8P)$  (tetra-2,6-difluorfenil-octafluorporfirina) (Dolphin, 1997).

Com a síntese de novas porfirinas, cada vez mais complexas, e o desenvolvimento de novas técnicas de caracterização estrutural, tais como a ressonância magnética nuclear (RMN) e a difração de raios-X, a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) teve a necessidade de complementar o sistema anteriormente proposto por Ficher com uma nova numeração. Deste modo, os vinte e quatro átomos pertencentes ao macrociclo foram numerados de 1 a 24 e os hidrogénios ligados aos átomos de azoto numerados de N-21 e N-23, por convenção, de acordo com a figura 1.8 (Milgrom, 1997).



**Figura 1.8** Sistema de numeração proposto pela IUPAC.

## 1.2 Propriedades e reatividade do macrociclo porfirínico

O macrociclo porfirínico pode sofrer reações no interior da cavidade ou na periferia do anel.

As reações internas são promovidas pelos átomos de azoto das unidades pirrólicas. Estes átomos participam em reações de ácido-base, em meio ácido funcionam como bases formando espécies mono ou dicatiónicas e, em meio alcalino funcionam como ácidos, formando espécies mono e dianiónicas (Smith, 1997).

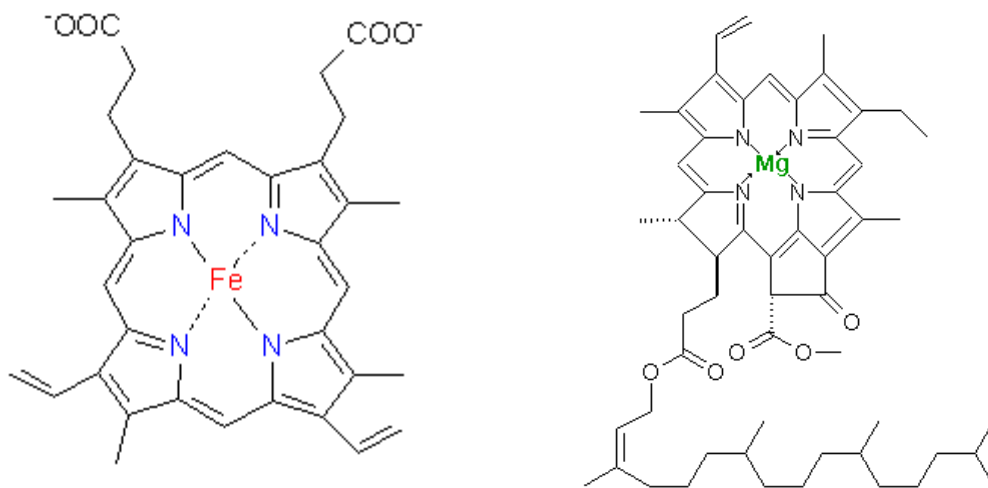
Mais relevante é, ainda, o facto de possuir a sua capacidade de coordenar com iões metálicos, não só por ser nesta forma que os macrociclos tetrapirrólicos exercem as suas atividades biológicas mais significativas, mas também devido às suas aplicabilidades de que falaremos posteriormente.

As porfirinas têm a capacidade de se combinarem com metais, usando os azotos pirrólicos como átomos coordenadores, formando, assim, quelatos ou complexos muito estáveis, as metaloporfirinas (Smith, 1975; Lacelles, 1964).

Como já foi referido, é na forma de quelatos que os compostos pirrólicos exercem as suas funções mais importantes nos organismos vivos.

Os complexos de ferro são conhecidos por hemes (figura 1.9). A mudança do estado de valência do ferro para o férrico e vice-versa, estabelece um sistema de transporte de eletrões, que põe em contacto as desidrogenases intracelulares com o oxigénio exterior (Rimington, 1962).

Encontram-se na natureza outros complexos de porfirinas e metais; por exemplo, temos complexos de vanádio, cobre, zinco, manganésio (Lacelles, 1964).



**Figura 1.9** Estrutura de uma metaloproteína com grupo heme, hemoglobina e clorofila a (<http://www.scientificpsychic.com/health/vitaminas-y-minerales.html>).

Praticamente todos os metais têm possibilidade de se combinarem, *in vitro*, com os quatro átomos de azoto centrais das porfirinas, num espaço com cerca de 3,7 Å de diâmetro (Smith, 197; Rimington, 1962).

Os iões metálicos divalentes substituem os dois átomos de hidrogénios dissociáveis do núcleo porfirínico, através de ligações iónicas e coordenadas, dentro do mesmo plano, com os quatro átomos de azoto (Phillips, 1960).

Quando os metais são monovalentes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{L}^+$ ,  $\text{Ag}^+$ ), a estabilidade termodinâmica própria das metaloporfirinas fica diminuída (Smith, 1975).

A incorporação dum átomo de metal no centro do núcleo porfirínico altera as propriedades de absorção, fluorescência e solubilidade das porfirinas e respectivos complexos metálicos (Milgrom, 1997).

Como compostos aromáticos que são, as porfirinas sofrem reações típicas de substituição eletrófila aromática, nomeadamente, nitração, halogenação, sulfonação, alquilação e acilação (Milgrom, 1997).

Existem duas posições passíveis de sofrer este tipo de reações, as posições  $\beta$ -pirrólicas e as posições *meso*. A ativação de uma posição em detrimento da outra, é conseguida através da modelação da eletronegatividade do macrociclo, ou seja, iões metálicos divalentes como o  $\text{Mg(II)}$ ,  $\text{Zn(II)}$ ,  $\text{Cu(II)}$ ,  $\text{Ni(II)}$  e  $\text{Pd(II)}$  induzem uma eletronegatividade crescente no anel, tornando-o mais suscetível a substituições elurofílicas nas posições *meso*. Já metais com estado de oxidação mais elevado como o  $\text{Sn(IV)}$ , ou as porfirinas livres, tendem a desativar estas posições e a ativar as posições  $\beta$ -pirrólicas (Milgrom, 1997; Kimura, 2003).

Nestes macrociclos tetrapirrólicos as substituição aromáticas eletrofílicas não são o único tipo de reações a que estão sujeitos; podem também sofrer reações de substituição nucleofílica, redução, oxidação e cicloadição (Smith, 1975), nomeadamente nos grupos substituintes periféricos das porfirinas, capazes de lhes produzir alterações estruturais significativas, o que constitui uma forma de alterar e otimizar as suas propriedades.

O conjunto destas reações permite obter um grande número de derivados porfirínicos, com uma enorme diversidade de aplicações.

### 1.3 Síntese

As porfirinas, com várias estruturas químicas e características, podem ser isoladas da natureza ou sintetizadas em laboratório.

A síntese das porfirinas pode ocorrer segundo duas vias gerais: a partir de intermediários pirrólicos, ou por modificação molecular de pigmentos naturais ou de porfirinas sintéticas.

Devido à enorme aplicabilidade dos derivados porfíricos, existe um grande número de processos sintéticos e uma vasta bibliografia sobre a síntese dos mesmos, pelo que, apresentaremos uma breve resenha das vias sintéticas, nomeadamente das *meso* substituídas por constituírem a base das estruturas mais complexas.

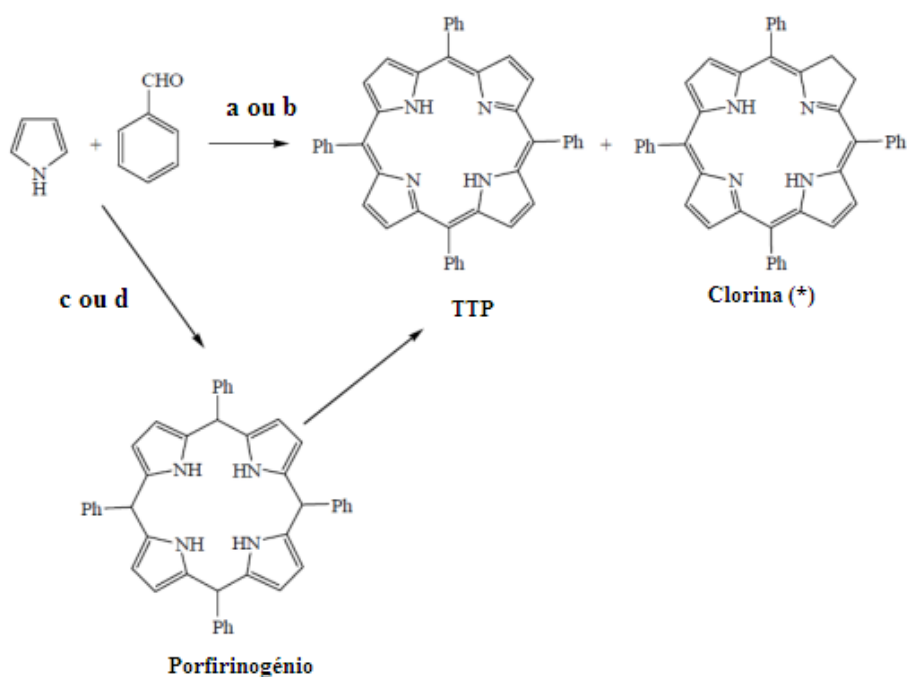
Entre 1929 e 1940, em Munique, o bioquímico alemão Hans Fischer desenvolveu e compilou uma série de trabalhos relativos a técnicas para a síntese de um grande número de pigmentos tetrapirrólicos. Com este trabalho, a academia das ciências atribuiu a Hans Fischer o Prémio Nobel da Química de 1930. A partir dessa época e até aos nossos dias, têm vindo a ser desenvolvidas variadíssimas vias sintéticas para obter macrociclos porfirínicos (Smith, 2000).

No entanto, as metodologias possuem, de um modo geral, o mesmo princípio básico: uma reação de condensação entre aldeídos e pirróis ou dipirrometanos em condições acídicas, seguida da oxidação do porfirinogénio, resultando na correspondente porfirina, de acordo com a figura 1.10.

Em 1935, Paul Rothmund sintetizou a 5,10,15, 20-tetrametilporfirina (TMP) através da reação de condensação, entre o acetaldeído e o pirrol, a 220°C, durante 48 horas, num recipiente fechado em atmosfera de azoto, em meio metanólico, dando início à síntese de porfirinas *meso*-tetrassubstituídas (Rothmund, 1935).

Utilizando outros aldeídos, Rothmund conseguiu preparar mais de trinta porfirinas. Contudo, como os rendimentos eram inferiores a 5%, e limitado a porfirinas alifáticas, que normalmente vinham contaminadas com a correspondente clorina, o método foi pouco utilizado.

Já no decorrer dos anos 60, Alan Adler, Frederik Longo e os seus colaboradores (Adler, 1967), apresentaram melhorias no método proposto por Rothmund, ao realizarem a reação de condensação em meio ácido e em condições aeróbias.



a - **Condições de Rothemund:** piridina, 220 °C, 48 horas, ausência de O<sub>2</sub>

b - **Condições de Adler e Longo:** CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, refluxo, 30 min, O<sub>2</sub>

c - **Condições de Lindsey:** 1. TFA ou BF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Ar, temp. amb., 30-60 min  
2. DDQ ou p-cloranil, 45 °C, 1 h

d - **Condições de Rocha Gonsalves:** C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>/AcOH, 120 °C, 1 h

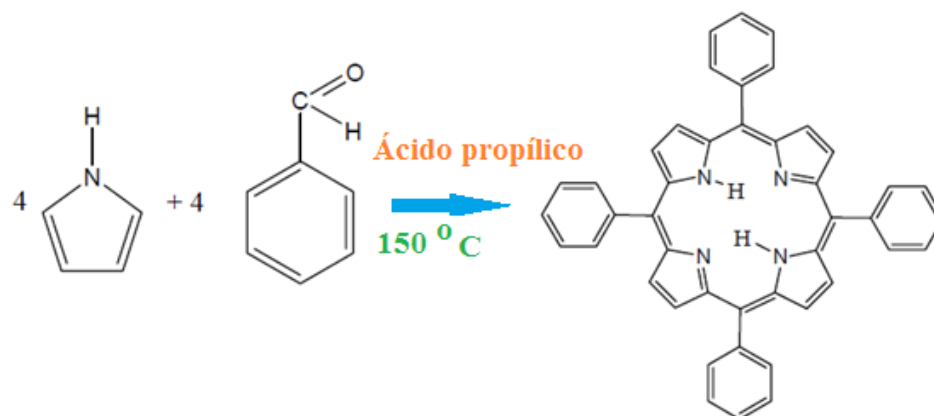
(\*) - este composto só se forma nas vias sintéticas a e b

**Figura 1.10** Metodologias de síntese das porfirinas (Rothemund, 1941).

Este novo método foi amplamente utilizado, sendo as porfirinas obtidas com um rendimento satisfatório (Berg, 2006; Adler, 1967; Adler, 1964; Adler, 1968) em relação ao método de Rothemund.

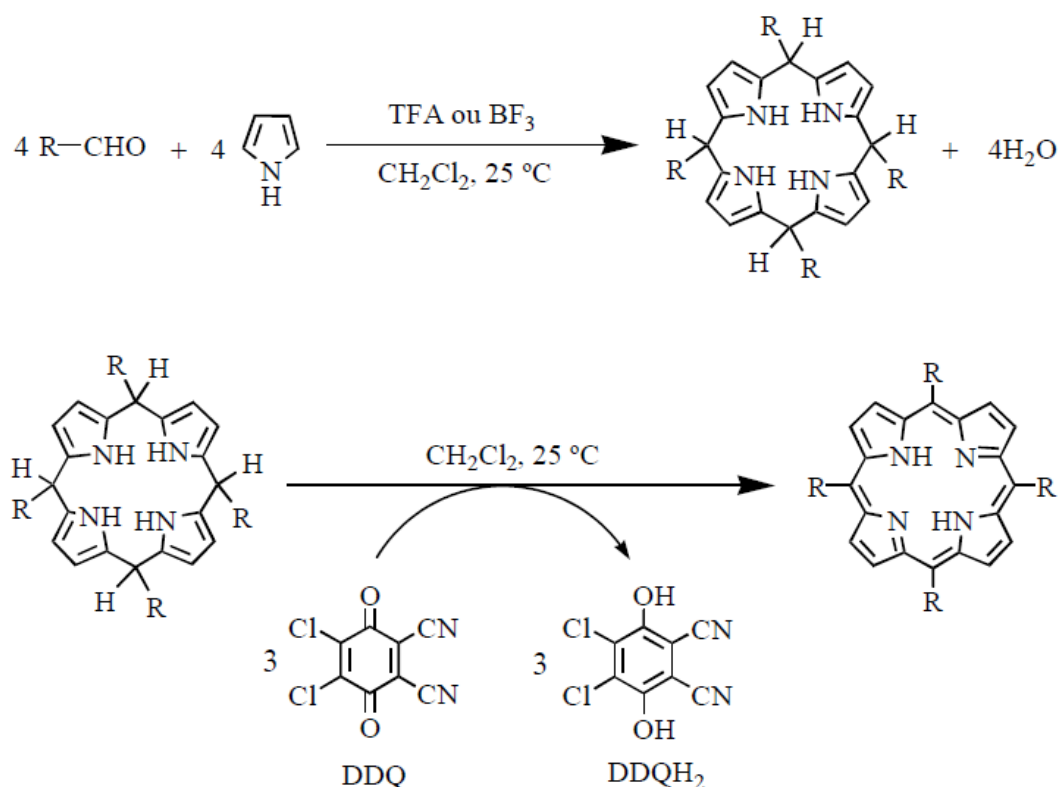
As porfirinas que tiveram maior interesse sintético foram as derivadas de aldeídos aromáticos, nomeadamente, com do benzaldeído e seus derivados, como é o caso da 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (TPP) obtida com um rendimento de 20%, quando se procedeu à condensação em refluxo, e na presença de ar de uma mistura equimolar de pirrol e benzaldeído em ácido propílico (figura 1.11).

O método ficou conhecido por “Método de Adler-Longo-Finarelli”, ou simplesmente por “Método de Adler”.



**Figura 1.11** Exemplo de síntese pelo Método de Adler (adaptado de figura da internet).

Entre 1979 e 1987, Lindsey (Lindsey, 1987) desenvolveu uma nova metodologia em duas etapas sintéticas, sendo o porfirinogênio o intermediário estável da reação de condensação realizada à temperatura ambiente durante 30 a 60 minutos, catalisada com ácido trifluoroacético (TFA) ou trifluoreto de boro, seguida da oxidação com o agente oxidante, 5,6-diciano-2,3-diclorobenzoquinona (DDQ) ou p-cloranil dando origem à porfirina correspondente (figura 1.12).



**Figura 1.12** Método proposto por Lindsey para a síntese de porfirinas.

Este método, apesar de não aumentar significativamente o rendimento das porfirinas relativamente ao Método de Adler, permitiu o uso de um maior número de aldeídos na preparação de porfirinas.

Contudo, o uso de elevadas quantidades de quinonas, assim como, o recurso a técnicas cromatográficas para isolar a porfirina, tornaram-no de elevado custo apenas sendo usado quando se pretende preparar uma pequena quantidade de porfirina.

Na tabela 1.1 estão resumidos alguns parâmetros sintéticos dos três métodos.

**Tabela 1. 1** Vantagens e desvantagens dos métodos sintéticos de porfirinas (Moss, 1995).

	<b>MÉTODO DE ROTHERMUND</b>	<b>MÉTODO DE ADLER</b>	<b>MÉTODO DE LINDSEY</b>
<b>SOLVENTE</b>	Piridina	Ácido propílico ou ácido acético	Ácido acético
<b>TEMPERATURA</b>	220 °C	141°C 120°C	25 °C
<b>CATALISADOR</b>		Solvente	TFA BF <sub>3</sub> .eterato BF <sub>3</sub> .eterato/etanol
<b>OXIDANTE</b>		O <sub>2</sub>	DDQ ou <i>p</i> -cloranilo
<b>CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES</b>	3,6 mol dm <sup>-3</sup>	0,3 – 1,0 mol dm <sup>-3</sup>	0,1 – 0,001 mol dm <sup>-3</sup>
<b>TEMPO DE REAÇÃO</b>	48 h	0,5 – 1,0 h	1h
<b>PROCEDIMENTO</b>	Uma só etapa	Uma só etapa	Duas etapas
<b>PROCESSO DE PURIFICAÇÃO</b>	Separar os cristais	Filtração	Cromatografia
<b>RENDIMENTO</b>	< 10%	~ 20%	> 40%
<b>APLICABILIDADE</b>	Muito restrita	Moderada	Ampla

Em 1991, Rocha Gonsalves e seus colaboradores (Gonsalves, 1991) na Universidade de Coimbra propuseram preparar *meso*-tetraarilporfirinas, nomeadamente a TPP, num só passo, utilizando uma mistura de ácido acético ou ácido propílico com 30% nitrobenzeno como solvente, segundo a figura 1.10.

O nitrobenzeno atua como agente oxidante forte, o que permite a oxidação do porfirinogénio à respetiva porfirina, evitando a formação da clorina como produto secundário.

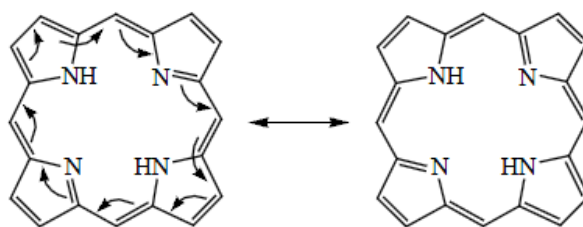
Rocha Gonsalves (Nascimento, 2007) e Cavaleiro (De Paula, 2008), aliaram o benefício do uso do nitrobenzeno às vantagens que advêm da utilização do micro-ondas como fonte de energia radiante.

Esta metodologia é bastante útil, pois, além de manter as vantagens anteriormente referidas, permite reduzir significativamente a quantidade de solventes necessários e encurtar o tempo de reação.

Recentemente, foi desenvolvido um novo método sintético que, tendo como base as condições de Adler, usa somente a radiação do micro-ondas na síntese da porfirina 5,10,15,20-*meso*-tetrafenilporfirina (H<sub>2</sub>TPP). O uso de radiação do micro-ondas apresenta várias vantagens, nomeadamente, reações muito rápidas, com possível aplicação de pressão aquando da realização em recipientes fechados, bom rendimento, boa reprodutibilidade e facilidade na purificação dos produtos de síntese (De Paula, 2008).

#### 1.4 Aromaticidade do anel macrociclo porfirínico

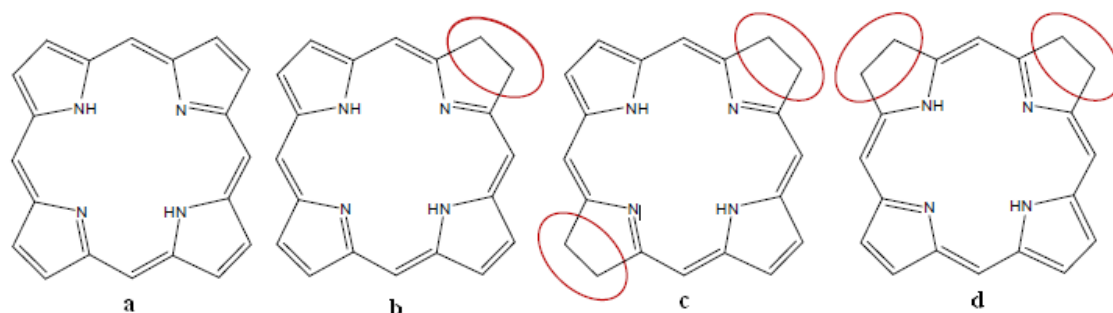
O macrociclo porfirínico é um sistema altamente conjugado, podendo ser representado pelas duas estruturas de ressonância expostas na figura 1.13. Apesar dos vinte e dois elétrons, apenas dezoito deles se deslocalizam pelo anel.



**Figura 1.13** Estruturas de ressonância do anel porfirínico.

Estes dezoito elétrons respeitam a regra de Hückel para a aromaticidade ( $4n+2=\pi$ elétrons, com  $n = 4$  e planaridade), o que permite que a porfirina possa

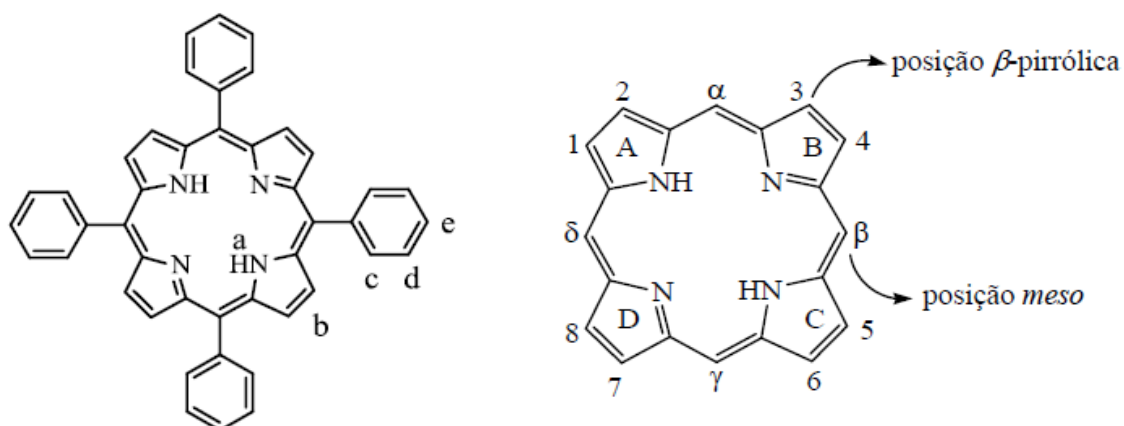
apresentar formas reduzidas, clorinas, bacterioclorinas, que continuam a manter o carácter aromático, segundo a figura 1.14.



**Figura 1.14** Estruturas do macrociclo porfirínico e seus derivados reduzidos(a), clorina (b), bacterioclorina (c) e isobacterioclorina (d) (Adaptado de figuras da internet).

No anel porfirínico todos os átomos de carbono apresentam hibridação  $sp^2$ ; a clorina possui uma das ligações  $\beta$ -pirrólicas reduzida, o que faz com que os dois carbonos desse anel apresentem hibridação  $sp^3$ ; a bacterioclorina e a isobacterioclorina possuem duas ligações  $\beta$ -pirrólicas reduzidas  $sp^3$  em posições opostas e adjacentes, respetivamente (Milgrom, 1997; Smith, 1975).

A aromaticidade do macrociclo tetrapirrólico pode ser comprovada por ressonância magnética de hidrogénio, RMN  $^1H$  (figura 1.17) (Milgrom, 1997; Smith, 1975).



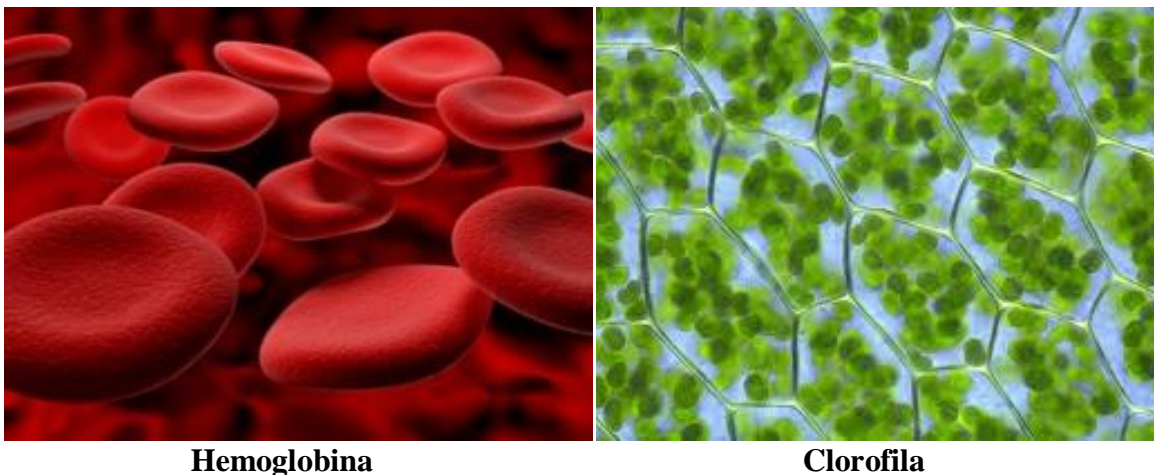
a) -2,78 ppm, b) 8,85 ppm, c) 8,23 ppm d) 7,78 ppm, e) 7,78 ppm

**Figura 1.15** Estrutura e deslocamento químico dos diferentes prótons para a TPP.

Os sinais dos prótons internos pirrólicos NH surgem a campos muito altos,  $\delta$  entre -2 ppm e -4 ppm, e os sinais dos prótons periféricos *meso* e  $\beta$ -pirrólicos a campos significativamente baixos ( $\delta$  10-11 ppm e 8-9 ppm, respetivamente). Esta diferença significativa nos valores dos desvios químicos, advém da proteção gerada pelos eletrões  $\pi$  no interior do anel e desproteção no exterior deste (Milgrom, 1997; Smith, 1975).

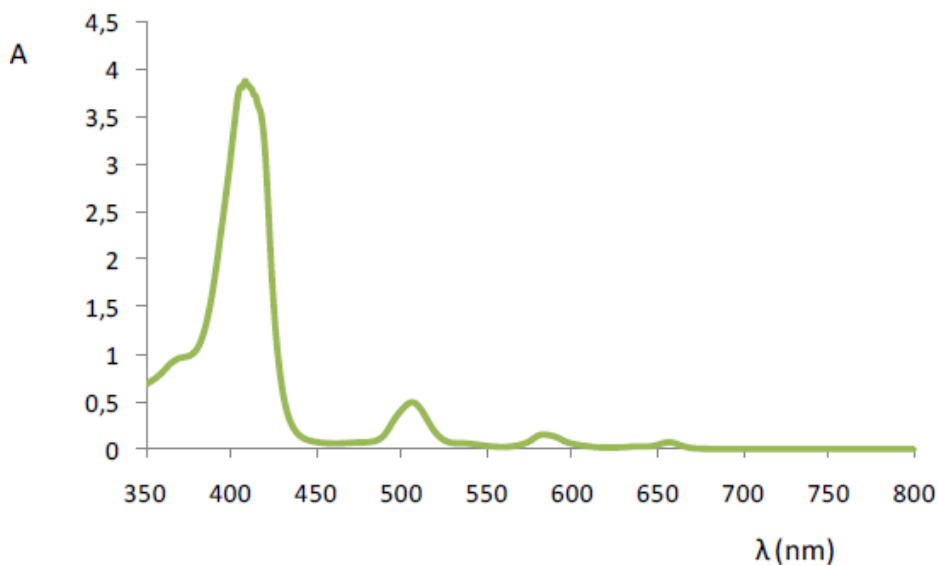
Os estudos de raios-X demonstraram a planaridade do núcleo da porfirina reforçando o carácter aromático do anel porfirínico (Milgrom, 1997; Smith, 1975).

O facto do anel macrociclo possuir uma série de ligações duplas conjugadas, confere-lhe a capacidade de absorver na região do visível (figura 1.17), apresentando cores características, tais como as observadas (figura 1.16).



**Figura 1.16** Exemplo de compostos porfirínicos e da sua cor (<http://www.medicina.ufmg.br/inct/?p=2165>; [www.tudosobreplantas.net](http://www.tudosobreplantas.net)).

O espectro eletrónico é constituído por uma banda de absorção de intensidade forte por volta dos 400 nm, denominada banda Soret, e, ainda, por um conjunto de quatro bandas de menor intensidade localizadas entre os 500-650 nm, designadas por bandas Q, segundo a figura 1.17 (Milgrom, 1997; Smith, 1975).



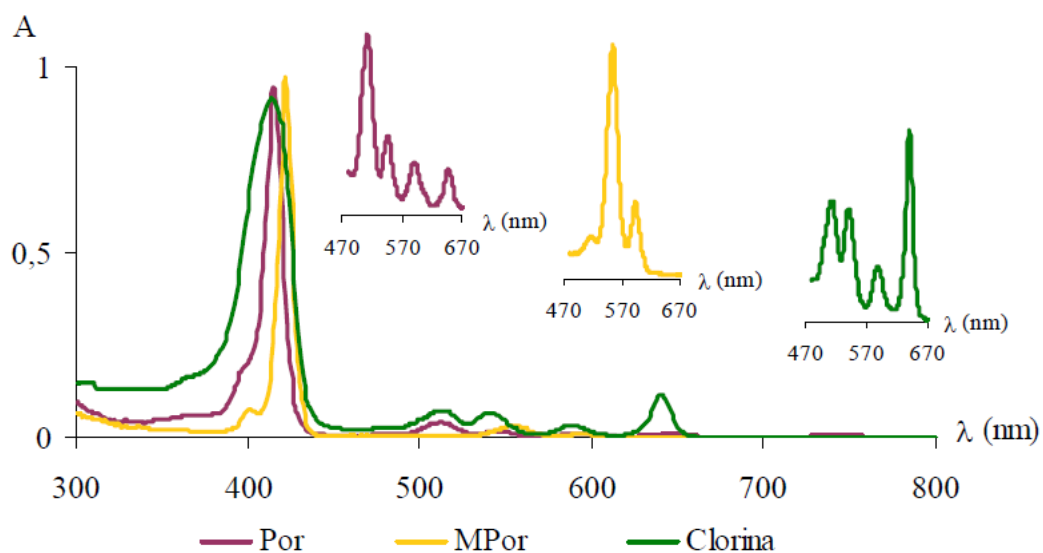
**Figura 1.17** Espectro eletrônico (UV-Vis) típico da porfirina (Milgrom, 1997).

A banda Soret deve-se à deslocalização dos 18 elétrons  $\pi$  do macrociclo tetrapirrólico. Esta mantém-se presente nos espectros eletrônicos das clorinas, bacterioclorinas e isobacterioclorinas, sendo a banda que indica a aromaticidade do macrocíclico. No entanto, a posição e a intensidade das bandas desta, permite identificar o tipo de derivado reduzido (Milgrom, 1997; Smith, 1975).

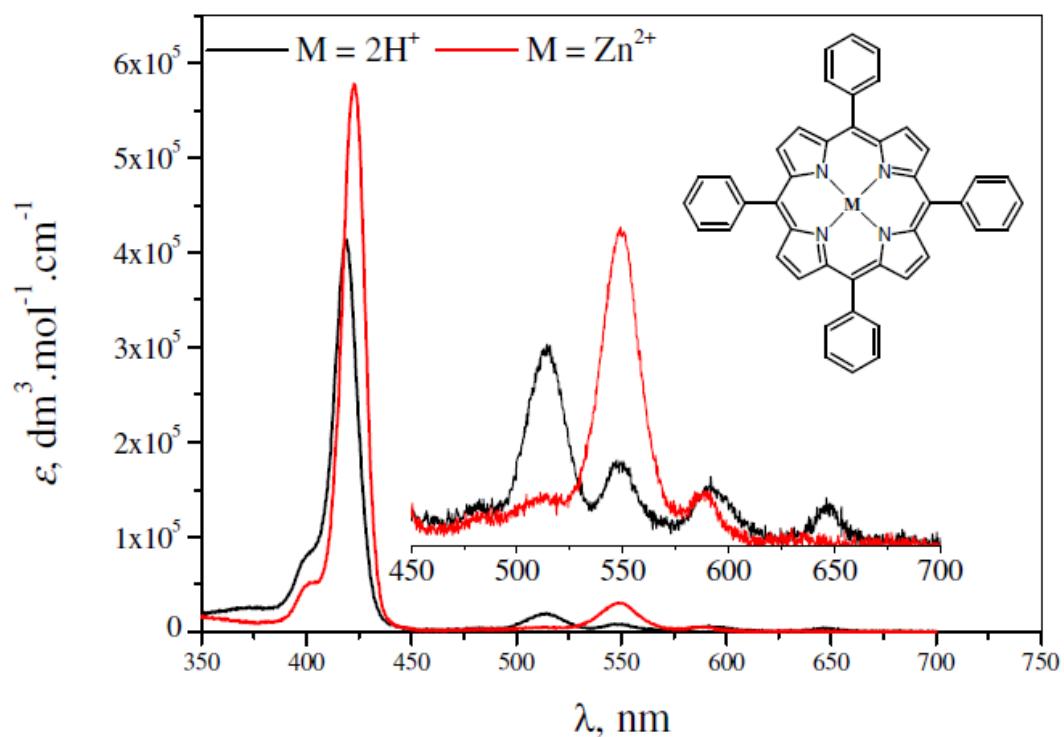
As bacterioclorinas apresentam uma banda de forte absorção na zona dos 700-750 nm, seguidas das clorinas que apresentam uma banda Q na região dos 650 nm, muito mais intensa do que a das porfirinas, e entre 500nm as isobacterioclorinas apresentam três bandas Q de intensidade crescente (figura 1.18). Estas quatro bandas de menor energia correspondentes a transições proibidas por simetria, são as responsáveis por conferir as diferentes cores aos diferentes derivados porfirínicos (Milgrom, 1997; Smith, 1975).

A quelatação de porfirinas com iões metálicos, metaloporfirinas, também pode ser identificada por espectroscopia eletrónica onde ocorre uma simplificação do espectro eletrônico. Neste caso, apresenta apenas duas bandas Q, denominadas de  $\alpha$  e  $\beta$ , que estão associadas ao aumento da simetria do macrociclo, como se pode verificar na figura 1.19 (Milgrom, 1997; Smith, 1975).

A classificação de porfirinas de acordo com o espectro eletrônico encontra-se bem descrita em livros destacando-se a obra descrita por Martin Gouterman (Gouterman, 1978).



**Figura 1.18** Espectro eletrônico (UV-Vis) para derivados porfirínicos, Por-porfirina, MPor-metaloporfirina (Milgrom, 1997).



**Figura 1.19** Espectro eletrônico (UV-Vis) para porfirina $H_2TTP$ (---) e a metaloporfirina  $ZnTTP$ (---) (Milgrom, 1997).

---

## Terapia Fotodinâmica

A terapia fotodinâmica, TFD, tem como base a combinação de um composto fotossensível a um dado comprimento de onda com a capacidade de ativa-lo, produzindo espécies reativas, capazes de induzir a apoptose das células (Machado, 2000; Simplício *et al.*, 2002).

A TFD tem como objetivo a destruição localizada do tecido anormal, sendo um tratamento alternativo, quer para tumores de natureza benigna, quer para tumores de natureza maligna (Charlesworth, P. *et al.*, 1994), apresentando efeitos secundários menos agressivos que os tratamentos tradicionais, tais como a radioterapia e a quimioterapia, permitindo que o paciente tenha uma melhor qualidade de vida durante o tratamento, assim como, uma melhor recuperação.

A fototerapia tem vindo a ser utilizada em tumores, onde a penetração da luz é facilitada por exposição direta ou pela utilização de fibras óticas com a ajuda da endoscopia, como é o caso do cancro do pulmão, pele, bexiga, intestino e trato gástrico.

Contudo, a TFD não se restringe somente ao tratamento de tumores, possui um grande número de outras aplicações, como é o caso do diagnóstico, à profilaxia antes e após remoção cirúrgica do tumor (Machado, 2000; Bega, 2008), à degeneração macular da retina, à psoríase, a verrugas, à arteriosclerose, a infeções bacterianas, entre outras patologias (Perrissi, 2007; Simplício *et al.*, 2002).

## 2.1 Aspetos históricos da terapia fotodinâmica

O uso da luz como terapia na medicina, teve sua origem nas antigas civilizações da Grécia, Egito e Índia, onde utilizavam a luz para tratar diversas doenças. Estes povos ancestrais, combinavam a luz com as sementes de *Psoralea corylifolia* para o tratamento de psoríase e vitiligo, mas estes conhecimentos foram perdidos durante séculos (Eldeson, 1988; Bonnett, 2001). Já decorria o século XX, quando o efeito fototóxico sobre as células tumorais levou ao desenvolvimento da terapia fotodinâmica redescoberta pela civilização ocidental no início do século XX por Niels Finsen, Oscar Raab e Herman von Tappeiner (Daniell e Hill, 1991; Stables e Ash, 1995; Dolmans, Fukumura e Jain, 2003).

Em 1900, na Alemanha, Oscar Raab, estudante de doutoramento sob a orientação de Von Tappeiner, observou que a combinação da luz solar com o corante acridina resultava na morte de alguns microrganismos, nomeadamente algumas espécies de *Paramecium* (Raab, 1900).

No final do século XIX e inícios do XX, na Dinamarca, Niels Finsen, galardoado com o prémio Nobel da Medicina em 1903, desenvolveu a fototerapia no tratamento de doenças da pele.

Nesse mesmo ano, foi realizada a primeira aplicação clínica da terapia fotodinâmica com o uso tópico de eosina e luz no tratamento da neoplasia cutânea basocelular (Tappeiner e Jesionek, 1903). Já no ano 1907, a terapia fotodinâmica foi definida como sendo a interação entre luz, uma substância fotossensibilizadora e moléculas de oxigénio (O<sub>2</sub>) (Tappeiner, 1907). Esta tripla combinação poderia resultar no *stress* oxidativo do tecido tumoral, levando-o à morte. Em 1924, observou-se que moléculas de porfirinas, na presença de luz, podiam tornar-se tóxicas para os tecidos humanos (Policard, 1924).

Quase no fim dos anos 60, Lipson relatou um caso de tratamento bem-sucedido de neoplasias de mama utilizando, como agentes fotossensibilizadores, derivados de porfirina, conhecidos como hematoporfirinas, e irradiação com luz visível (Lipson *et al.*, 1966). Nos finais dos anos 70, Thomas Weishaupt e seus colaboradores postularam

que o oxigénio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) era o principal agente tóxico produzido através da combinação entre luz, fotossensibilizadores e a molécula de  $\text{O}_2$  (Weishaupt *et al.*, 1976).

Thomas Dougherty foi um dos principais fundadores do mais avançado centro de terapia fotodinâmica, vinculado ao Roswell Park Cancer Institute em Búffalo, E.U.A.. Com ele a TFD passou a ser reconhecida como mais um tratamento para as neoplasias, tendo sido utilizado com sucesso no tratamento de vários tipos de tumores. (Doughert e Mc Donald, 2001).

Na Figura 2.1, encontram-se resumidos os principais eventos do desenvolvimento da TFD.

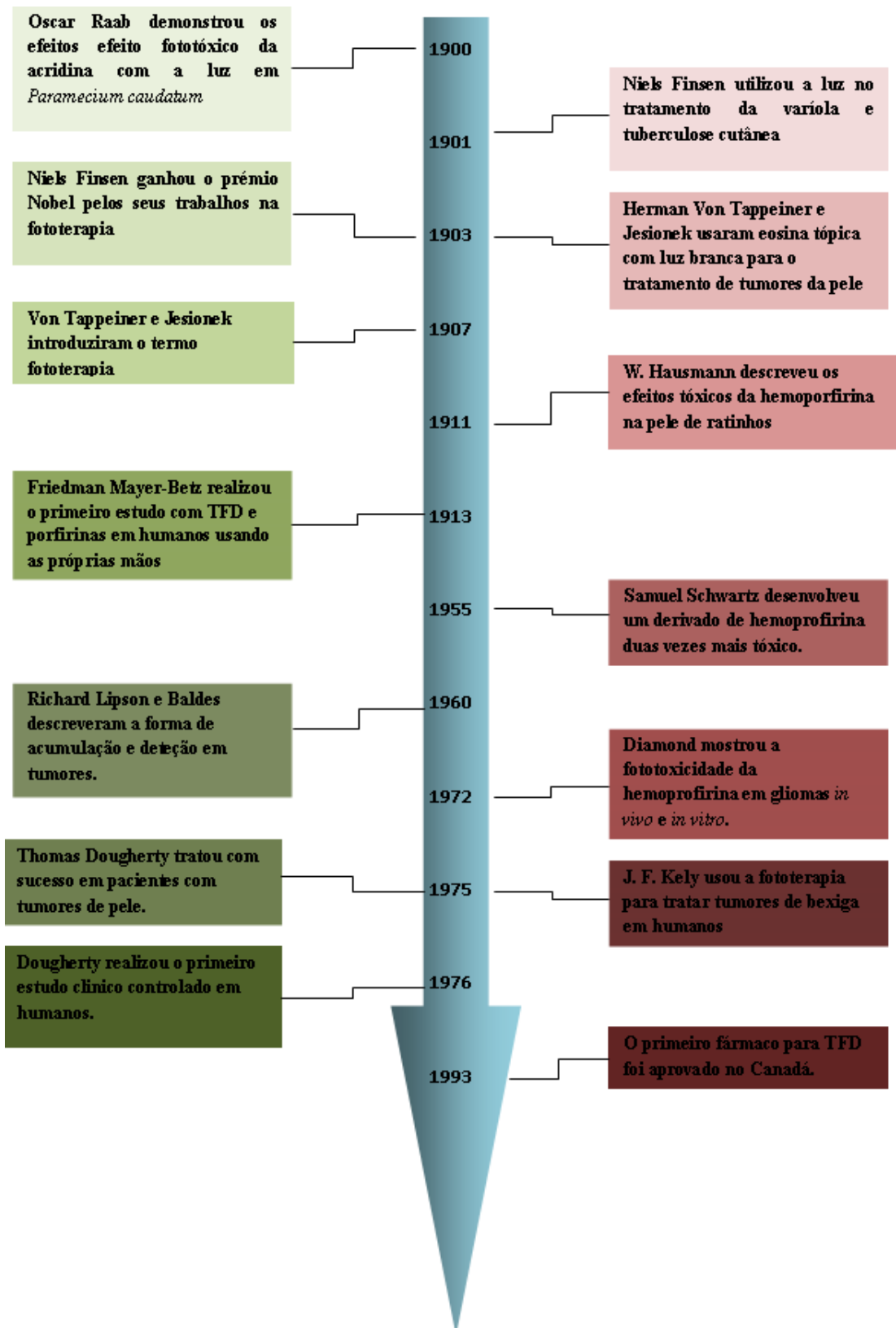
## 2.2 Princípios Básicos da terapia fotodinâmica

A TFD envolve dois componentes individualmente não tóxicos, o fotossensibilizador e o oxigénio molecular. O tratamento fotodinâmico consiste na administração do fotossensibilizador, o qual, após um certo intervalo de tempo suficiente para a sua acumulação no tecido tumoral, é irradiado para o excitar o fotossensibilizador (Bechet *et al.*, 2008).

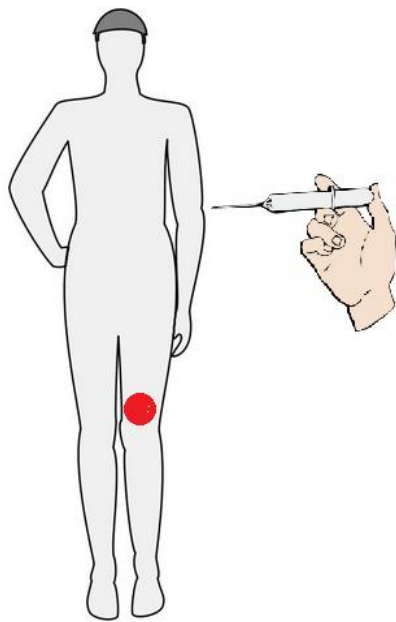
A combinação da luz visível com o fotossensibilizador, na presença de oxigénio molecular, produz agentes citotóxicos letais, podendo os mesmos inativar as células tumorais (Sharman *et al.*, 1999; Dolmans *et al.*, 2003).

O fotossensibilizador pode ser administrado por diversas vias, entre as quais, injeção endovenosa ou aplicação tópica na pele (Dolman *et al.*, 2003).

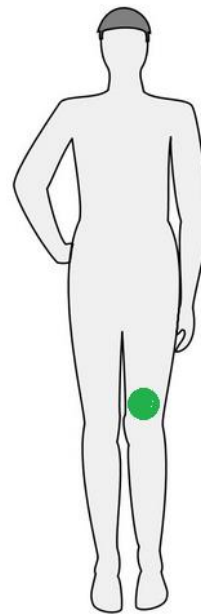
A luz visível é aplicada a um comprimento de onda específico, que coincide com o comprimento de onda de absorção máxima do fotossensibilizador (Chatterjee, Fong & Zhahg, 2008), o qual é ativado, excitado, e transfere energia da luz para o oxigénio molecular, resultando, dessa interação, a formação de espécies reativas do oxigénio que destroem as células tumorais (figura 2.2).



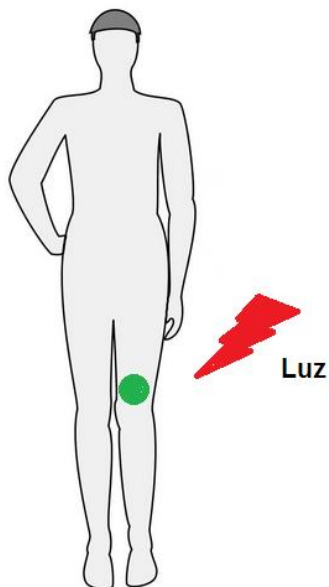
**Figura 2.1** Cronograma da história da terapia fotodinâmica (Dolmans *et al.*, 2003).



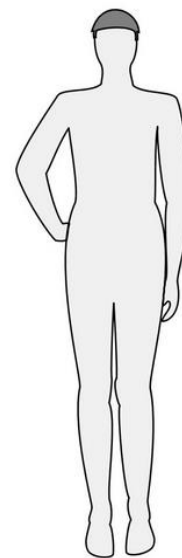
**Injeção intravenosa do fotossensibilizador**



**Acumulação do fotossensibilizador nas células malignas**



**Ativação do fotossensibilizador com luz**



**As células malignas são destruídas seletivamente**

**Figura 2.2** Desenho esquemático das quatro fases da terapia fotodinâmica (Bastos *et al*, 2012).

As reações ocorrem no local restrito em que o fotossensibilizador absorve luz. Desta feita, as respostas biológicas ao fotossensibilizador dão-se apenas nas áreas às quais o tecido foi exposto à luz (Dolmans *et al.*, 2003).

A supra mencionada técnica confere maior seletividade ao tecido neoplásico, uma vez que apenas essas células que são expostas ao fotossensibilizador, à luz e ao oxigénio e, conseqüentemente, ao efeito citotóxico. A seletividade da TFD é produzida, quer pela seletividade do fotossensibilizador para o tecido tumoral, quer pela capacidade de se conseguir ativar o fotossensibilizador apenas no tecido tumoral, característica esta atribuída ao comprimento de onda da luz. Dessa forma, a TFD permite a destruição seletiva dos tumores, enquanto mantém intacto o tecido normal (Sharman *et al.*, 1999).

### 2.2.1 Mecanismos fotofísico e fotoquímico

O processo fotodinâmico inicia-se quando o fotossensibilizador (FTS) absorve um fóton do comprimento de onda apropriado e, de seguida, sofre decaimentos simultâneos ou sequenciais que resultam em reações de transferência de energia intramolecular.

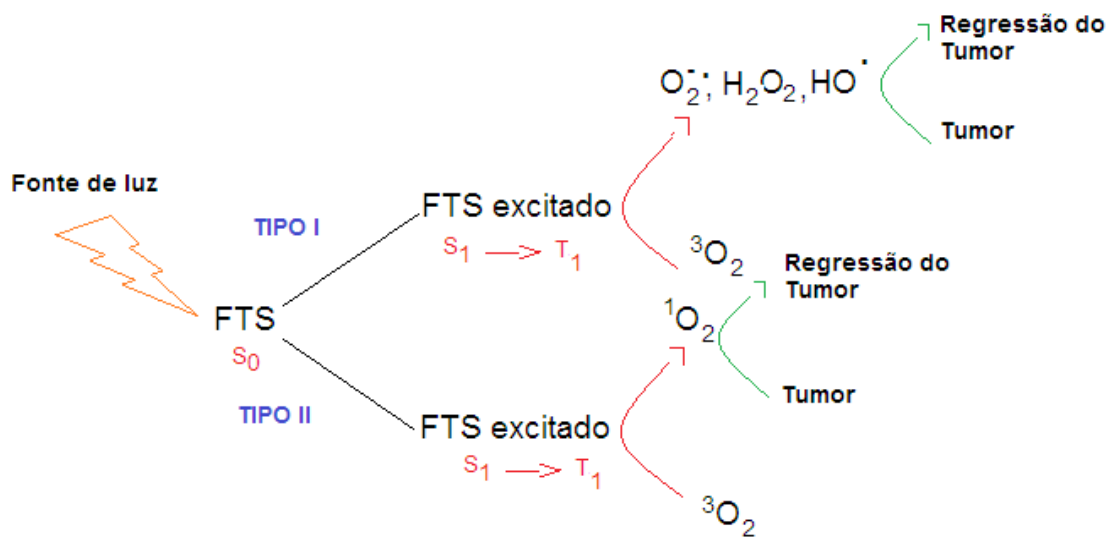
Os dois tipos de processos fotodinâmicos são: a foto-oxidação por radicais (Tipo I) e a foto-oxidação das moléculas de oxigénio a oxigénio singleto (Tipo II) (Shibata *et al.*, 2000), tal como se ilustra na figura 2.3.

Nas principais reações o fotossensibilizador (FTS) é ativado para um estado singleto excitado ( $S_1$ ). As moléculas nesse estado decaem rapidamente de volta ao estado fundamental ( $S_0$ ), com a emissão de luz (fluorescência) ou calor, ou para o estado tripleto ( $T_1$ ). O fotossensibilizador, no estado tripleto excitado ( $T_1$ ), pode decair para o estado fundamental por fosforescência ou reagir de três formas:

Reação de Tipo I: O FTS excitado no estado tripleto ( $T_1$ ) reage diretamente com o substrato ( $^3O_2$ ), formando espécies reativas de oxigénio, tais como os aniões superóxido, radicais hidroxilo e peróxido de hidrogénio, causando danos biológicos irreparáveis.

Reação de Tipo II: o FTS, excitado no estado tripleto ( $T_1$ ), transfere energia diretamente para o oxigénio molecular ( $^3O_2$ ), originando oxigénio singleto ( $^1O_2$ ). O

oxigénio singlete é extremamente reativo podendo interagir com um largo número de substratos biológicos, induzindo assim, dano oxidativo e morte celular.

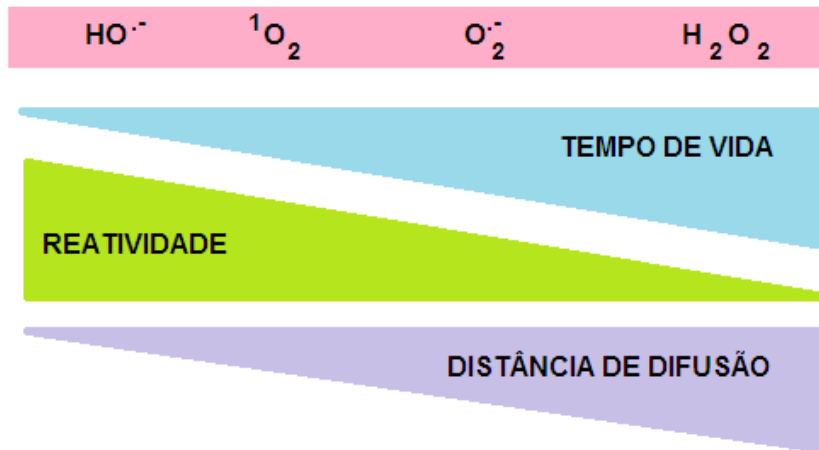


**Figura 2.3** Mecanismos da terapia fotodinâmica associados à regressão tumoral-Diagrama de Jablonski modificado (Shibata *et al.*, 2000).

O oxigénio singlete é o principal agente citotóxico que, sendo um eletrófilo forte, reage rapidamente com as ligações carbono-carbono insaturadas, nucleófilos neutros, tais como, sulfuretos e aminas, bem como aniões (De Rosa e Crutchley, 2002), podendo, desta forma, reagir com um número elevado de moléculas biológicas, nomeadamente, os triglicerídeos, o colesterol, fosfolípidos, aminoácidos, metionina, bases nitrogenadas, entre outros.

Em ambiente celular, o oxigénio singlete apresenta um tempo de vida de aproximadamente 2  $\mu$ s, podendo difundir-se apenas num volume esférico de 10 nm de diâmetro durante esse mesmo período (Hynninen e Nyman, 2004). Desta forma, a extensão do dano é limitada ao local de concentração do fotossensibilizador, que deve estar acumulado perto do alvo no momento da iluminação (Triesscheijn *et al.*, 2006; Chatterjee, Fong & Zhang, 2008).

A relação entre o tempo de vida, a reatividade e a distância de difusão entre os citotóxicos e as biomoléculas biológicas, encontra-se representado na figura 2.4 (Redmond e Kochevar, 2006).



**Figura 2.4** Tempo de vida, a reatividade e a distância de difusão entre os citotóxicos e as biomoléculas biológicas (Redmond, 2006).

### 2.2.2 Resposta Biológica

A TFD induz a produção de agentes citotóxicos que rapidamente destroem as células neoplásicas; esta resposta é afetada *in vivo* pela complexidade dos sistemas biológicos. Diversos alvos celulares podem ser afetados durante a TFD, incluindo a mitocôndria, as membranas plasmáticas, o retículo endoplasmático, o aparelho de Golgi e o núcleo. A morte celular pode ocorrer por necrose ou apoptose (Sharman *et al.*, 1999; Buytaer *et al.*, 2007).

A eficácia da TFD no tratamento do tumor maligno é multifatorial, uma vez que, depende do tipo de fotossensibilizador, da concentração do fármaco e da sua localização intra e extracelular, da dose de luz exposta, do tempo decorridos após a administração do fármaco, da exposição à luz e, ainda, da disponibilidade de oxigênio (Dolmans *et al.*, 2003; Triesscheijn *et al.*, 2006).

Os fatores supra descritos podem provocar a morte celular por três processos independentes, mas, possivelmente relacionados, os quais contribuem para a eficiência na destruição do tumor pela TFD: a morte celular tumoral direta por necrose ou apoptose; destruição vascular do tumor e ativação da resposta imune contra as células tumorais remanescentes (Dolmans *et al.*, 2003; Castano *et al.*, 2005b; Castano, 2006; Triesscheijn *et al.*, 2006; Buytaert, 2007).

As espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), são responsáveis pela morte celular direta das células tumorais, que pode ocorrer por necrose ou apoptose.

Este comportamento é diferente da maioria dos agentes citotóxicos convencionais, como é o caso da quimioterapia, que geralmente causam a morte celular apoptótica (Castano *et al.*, 2006).

A destruição da microvasculatura na zona do tumor também é observada após tratamento com a TFD, o que faz com que haja a privação de oxigênio e nutrientes no local da fototerapia, resultando tal ação em hipoxia severa e persistente, a qual culmina com a morte do tumor. Além disso, a TFD é capaz de ativar a resposta imune contra as células tumorais: esta resposta envolve a atividade anti tumoral das células inflamatórias induzidas pela TFD, assim como, a geração de uma resposta imunológica anti tumoral prolongada (Castano, 2005b).

A importância relativa de cada um dos processos descritos para a resposta geral do tumor, ainda não está bem definida. Contudo, a combinação de todos os processos é fundamental para a cura do tumor. (Dolmans *et al.*, 2003 Castano,2005b).

### 2.2.3 Fotossensibilizadores

Como já foi referido anteriormente, os fotossensibilizadores são compostos que absorvem energia da luz a comprimentos de onda específicos e que, posteriormente, utilizam esta mesma energia desencadeando uma série de reações com a participação da molécula de oxigênio, que resulta na morte das células cancerígenas. (Sebata *et al.*, 2000).

A principal característica do fotossensibilizador é a capacidade deste se acumular preferencialmente no tecido tumoral e produzir agentes citotóxicos para induzir a morte do tecido tumoral onde se acumulou (Sharman *et al.*, 1999). No entanto, existem diversas propriedades que um fotossensibilizador ideal deve apresentar, encontrando-se as mesmas resumidas na tabela 2.1.

**Tabela 2.1** Propriedades que um fotossensibilizador ideal, (Jori, 1996; Sharman *et al.*, 1999; Allison *et al.*, 2004).

PROPRIEDADES	CARACTERÍSTICAS
<b>FÍSICO-QUÍMICAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta pureza química, ou seja, ausência de toxicidade e de formação de subprodutos tóxicos</li> <li>• Alto coeficiente de extinção molar no visível</li> <li>• Baixa tendência à agregação no meio aquoso</li> </ul>
<b>FOTOFÍSICAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Longo tempo de semi-vida no estado tripleto</li> <li>• Alto rendimento de geração de oxigênio singleto e espécies reativas de oxigênio e/ou transferência de elétron para moléculas de substrato</li> </ul>
<b>FARMACOLÓGICAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Direcionamento seletivo e eficiente para o tecido tumoral</li> <li>• Eliminação rápida do organismo</li> <li>• Baixa toxicidade sistêmica</li> </ul>
<b>FOTOTERAPÊUTICAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Destruição preferencial e eficiente de células tumorais</li> <li>• Ausência de efeitos adversos, devido à baixa acumulação na pele, evitando a fotossensibilidade cutânea</li> <li>• Mínima toxicidade no escuro e citotoxicidade apenas na presença de luz</li> <li>• Ausência de potencial mutagénico ou carcinogénico</li> </ul>

Os fotossensibilizadores podem ser classificados em famílias, de acordo com a sua estrutura química, conforme apresentado na Tabela 2.2.

**Tabela 2.2** Classificação dos fotossensibilizadores (Menezes, 2006).

FAMÍLIA DOS FOTOSSENSIBILIZADORES	
<b>DERIVADOS DA PORFIRINA</b>	Derivados da hematoporfirina, derivados da benzoporfirina, texafirinas
<b>DERIVADOS DA CLOROFILA</b>	Clorinas, pupurinas, bacterioclorinas
<b>CORANTES</b>	Ftalocianinas, naftalocianinas

As porfirinas são geralmente conhecidas como a primeira geração de fotossensibilizadores baseados na hematoporfirina. Os derivados da porfirina, após a

purificação e manipulação, foram transformados em produtos comerciais denominados de Photofrin®, Photosan®, Photocan® (Allison *et al.*, 2004).

O Photofrin® foi o primeiro fotossensibilizador aprovado pela FDA, Food and Drug Administration, em 1993, no Canadá, para uso clínico na TFD, em neoplasias da bexiga. Atualmente, já foi aprovado por várias agências de saúde, sendo utilizado no tratamento de diversos tipos de neoplasias e em vários países, como por exemplo, a França, a Alemanha e o Japão, para o tratamento do tumor do pulmão, do trato digestivo e urinário. Embora o Photofrin® represente um importante progresso nas pesquisas oncológicas, envolvendo menores efeitos colaterais, apresenta algumas limitações que devem ser referenciadas:

- 1) Apresenta fraca absorção na região da “janela terapêutica”, limitando a eficiência da TFD;
- 2) A eliminação deste FTS pelo organismo é bastante lenta, o que resulta numa prolongada fotossensibilidade do tecido irradiado, exigindo que o paciente permaneça protegido da luz por vários dias;
- 3) É constituído por uma mistura complexa de derivados de hematoporfirinas, necessitando de métodos de isolamento e purificação do fármaco complexos e de custos elevados.
- 4) Apresenta baixa seletividade para o tecido tumoral e;
- 5) Tem baixo coeficiente de extinção molar, o que faz com que se necessite de doses altas do medicamento para se obter uma resposta terapêutica satisfatória, provocando efeitos secundários, tais como, aumento da frequência urinária e espasmos da bexiga.

Embora estas limitações não tenham interrompido o uso do Photofrin, o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores com maior eficácia é de grande importância (Sharman *et al.* , 1999), levando ao desenvolvimento de novas moléculas fotossensibilizadores, tais como os derivados da porfirina, as clorinas, as ftalocianinas e as naftalocianinas. Estes compostos apresentam algumas vantagens, entre as quais, o facto de serem puros, bons geradores de oxigénio singleto e apresentarem uma alta absorção aos comprimentos de onda onde há máxima transmitância de luz pelos tecidos,

650 a 800 nm, resultando numa maior eficácia na morte celular dos tumores. Por outro lado, estes fotossensibilizadores apresentam maior seletividade para tecidos tumorais e rápida eliminação do organismo, o que minimiza os efeitos secundários (Schuitmaker *et al.*, 1996; Konan *et al.*, 2002; Chatterjee *et al.*, 2008).

O Photosense® é um fotossensibilizador de segunda geração, tendo sido aprovado para uso na TFD na Rússia e na Índia. Trata-se de uma mistura de derivados da alumínio-ftalocianina sulfonada, com atividade promissora no tratamento de diversos tipos de neoplasia (Sharman *et al.*, 1999; Allison *et al.*, 2004).

Os principais fotossensibilizadores já aprovados para o uso na TFD estão apresentados na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3** Principais fotossensibilizadores já aprovados para o uso na TFD, e respetivas neoplasias (Adaptado de Dolmans *et al.*, 2003).

DOENÇA	FÁRMACO
QUERATOSE ACTÍNICA	Levulan® Metvix®
ESÓFAGO BARRETT	Photofrin®
CARCINOMA DE CÉLULA BASAL	Metvix®
CARCINOMA CERVICAL	Photofrin®
CARCINOMA ENDOBRONQUIAL	Photofrin®
CARCINOMA ESOFÁGICO	Photofrin®
CARCINOMA GÁSTRICO	Photofrin®
CARCINOMA DA CABEÇA E DO PESCOÇO	Foscan®
CARCINOMA DA BEXIGA	Photofrin®
CARCINOMA DA PELE, MAMA, PULMÃO E GASTROINTESTINAL	Photosense®
DISPLASIA CERVICAL	Photofrin®

---

## Porfirinas como Agentes da Terapia Fotodinâmica

O cancro é uma patologia normalmente caracterizada por um crescimento desordenado de algumas células de um tecido, com multiplicação e propagação descontrolada destas células pelo corpo humano (Rang *et al.*, 2004). A sua formação é, frequentemente, atribuída a alterações cromossómicas ocorridas durante o ciclo de divisão celular. Neste caso, estas mutações geram anomalias metabólicas que podem originar o descontrolo dos mecanismos de divisão celular (Elsaleh *et al.*, 2000; Stewart, 1998; Simplício *et al.*, 2002).

As terapias mais utilizadas no tratamento do cancro são: a intervenção cirúrgica, a quimioterapia e a radioterapia. A primeira é normalmente utilizada na remoção física de tumores sólidos. Neste procedimento cirúrgico, geralmente, remove-se uma área para além da região tumoral, podendo causar sequelas fisiológicas ou mesmo causar amputações e desfiguração do paciente, levando impreterivelmente à afetação da sua auto estima e do seu relacionamento social.

No tratamento quimioterápico usam-se fármacos anti- neoplásicos, cuja função é inibir a replicação das células. Infelizmente, os efeitos destes compostos não estão confinados às células neoplásicas, sendo que, na maioria dos casos, também atinge às células

normais. Deste modo, os efeitos citotóxicos podem tornar-se deletérios para o doente com o aumento das dosagens.

A radioterapia é um tratamento no qual se utiliza radiação ionizante, como os raios X, raios gama ou partículas subatômicas para destruir as células neoplásicas. A radioterapia pode ser realizada após a cirurgia, em associação, ou não, com a quimioterapia, por forma a minimizar os riscos de uma recidiva do tumor, tendo também indicação antes da cirurgia, sendo que, neste caso, a sua função é reduzir a massa tumoral, facilitando o ato cirúrgico de remoção do tumor. A radioterapia não é um procedimento inócuo, pois apresenta diversos efeitos secundários variáveis em função da área que é tratada. Alguns dos efeitos mais comuns são fadiga, irritação ou alteração da cor da pele sujeita à radiação, perda temporária ou permanente do cabelo, perda do apetite, infertilidade ou mesmo esterilidade, secura ou estreitamento vaginal, impotência, etc.

Neste contexto, a fototerapia tem vindo a ser usada como uma nova ferramenta bastante útil no tratamento alternativo das neoplasias.

As porfirinas e seus derivados são compostos com alto potencial de utilização na terapia fotodinâmica, TFD, uma vez que, sendo agentes cromóforos fotossensíveis aos comprimentos de onda na faixa de 630 nm (bandas Q), apresentam um alto rendimento quântico do estado tripleto, gerando quantidades significativas de oxigénio no estado singleto (Perussi, 2007), condições necessárias para que o fotossensibilizador, FST, seja usado como antineoplásico em TFD.

Além disso, a afinidade dos FST pelos tecidos neoplásicos, em comparação com os tecidos saudáveis, confere-lhes grande especificidade e menor citotoxicidade que as terapias tradicionais.

### **3.1 Derivados porfirínicos**

Os derivados porfirínicos apresentam elevada afinidade para lipoproteínas de baixa densidade, LDL, que se encontram em maior quantidade nos tecidos tumorais. Esta propriedade melhora a biodisponibilidade dos compostos porfirínicos para o tecido

tumoral acumulando-se nessas células e possibilitando uma ação localizada da TFD (Machado, 2000; Simplício, 2002; Tessaro, 2005; Tominga *et al.*, 2004).

Outro fator que pode contribuir para a maior retenção das porfirinas nas células neoplásicas, são os baixos valores de pH do fluido intersticial do tecido tumoral relativamente ao tecido normal. A produção de ácido láctico nas células tumorais é maior, devido a uma alteração no mecanismo respiratório das células, provocando uma diminuição do pH deste tecido. Assim sendo, o pH do tecido tumoral varia entre 6,0 e 7,0 face ao pH em tecidos normais, o qual está compreendido entre 7,2 e 7,4. Com o aumento da acidez, aumenta a ionização das porfirinas com valores de  $pK_a$  menores, tornam-se mais hidrossolúveis e podendo ser retidas de forma seletiva (Lehninger, 2000; Menezes, 2006).

Por outro lado, as porfirinas que apresentam uma elevada lipossolubilidade têm maior tendência para a auto-agregação em solução aquosa (Soares, 2006), originando, assim, alterações cromofóricas e diminuição da produção de oxigénio singlete.

As porfirinas também podem sofrer reações de fotobranqueamento, ou seja, foto decomposição química induzida pela luz, transformando-se em espécies com características fotofísicas menos interessantes para a TFD.

### 3.2 Agregação

Agregação é um fenómeno intermolecular que ocorre em solução, envolvendo associação entre moléculas do soluto (auto agregação), ou entre o soluto e o solvente. Apesar do processo de auto-agregação nas porfirinas não estar bem esclarecido, as moléculas podem associar-se em forma de dímeros, trímeros, e oligómeros, assim como, em combinações destes. Dependendo da extensão da agregação, pode ocorrer precipitação.

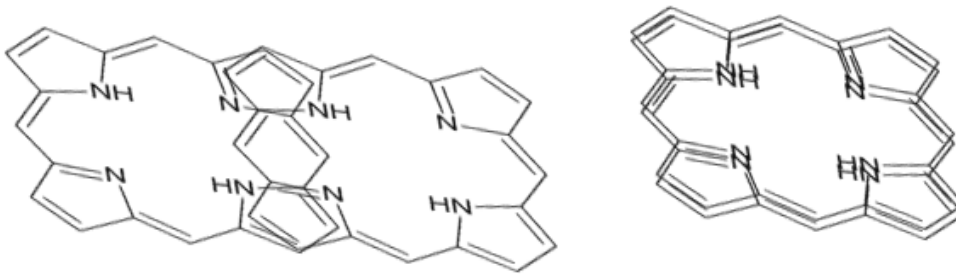
Os tipos de forças intermoleculares envolvidas entre as moléculas dos agregados são: ponte de hidrogénio, interações eletrostáticas, incluindo interações entre o sistema  $\pi$ , forças de Van der Waals e interações hidrofóbicas. O tipo de força depende da estrutura do composto, sendo as interações do sistema  $\pi$  as que apresentam maior contribuição para a auto-agregação das porfirinas e de outros compostos aromáticos (Hutener, 1990).

Na figura 3.1 encontram-se representadas as diferentes formas de agregação.



**Figura 3.1** Representação das formas de auto agregação: face a face (a), entre laterais (b), face-lateral (c) e entre faces paralelas deslocadas (d) (Hutener, 1990).

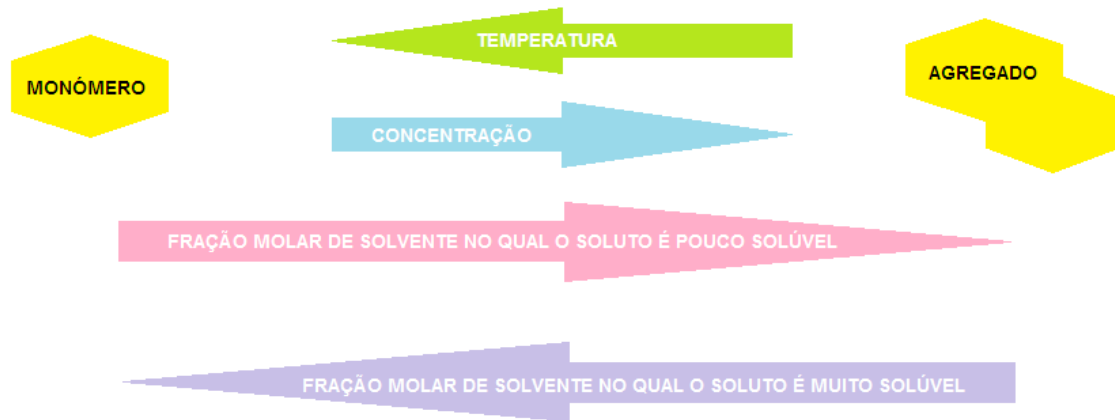
As auto agregações mais comuns das porfirinas são as de faces paralelas deslocadas (d), onde os anéis estão paralelos e separados por uma distância de 3,4-4,0 Å. Esta forma está associada à interação entre os anéis pirrólicos, ricos em elétrons, figura 3.2., com locais deficientes eletronicamente tais como os hidrogénios endocíclicos ou o ião metálico nas metaloporfirinas (Hutener, 1990; Kasha, 1965).



**Figura 3.2** Agregados de porfirinas entre faces paralelas deslocadas e face a face (figura montada a partir de imagens disponíveis na internet).

A formação de agregado é um processo reversível que geralmente se encontra em equilíbrio. Este equilíbrio é afetado por alguns fatores físicos, que podem favorecer a formação do produto de agregação ou a do monómero (figura 3.3) (Hutener, 1990).

As características lipofílicas das porfirinas são um fator que condiciona o processo de auto agregação: as porfirinas hidrofóbicas em meios aquosos têm maior tendência para formar dímeros ou agregados de maiores dimensões que as porfirinas mais hidrofílicas (Kessel, 1991). A presença de cadeias polares laterais nas estruturas das porfirinas favorecem a solvatação da molécula pela água, diminuindo a auto-agregação em consequência do aumento da repulsão eletrostática ou do impedimento estérico entre as cadeias laterais (Richelli, 1995).



**Figura 3.3** Fatores que afetam o equilíbrio entre agregado e o monómero (Hutener, 1990).

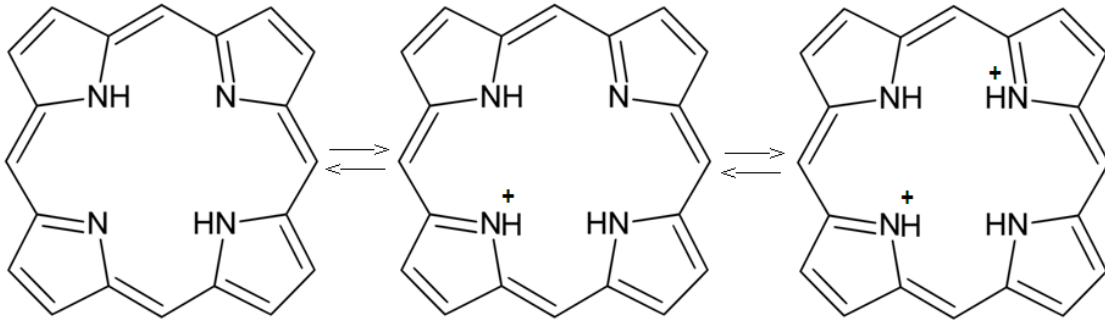
Deste modo, as porfirinas solúveis em água têm menor capacidade para a auto agregação. Além disso, foi observado uma maior acumulação das porfirinas hidrofílicas no tecido tumoral aumentando o interesse destas nos estudos da interação em modelos biológicos (Winkelman, 1985).

Além da influência da estrutura da molécula de porfirina e dos fatores referidos na figura 3.3, a auto-agregação depende de outros fatores, tais como pH, força iônica e interação com outras moléculas.

A força iônica do sangue é da ordem dos 0,36 mol/L, devido à elevada concentração de iões, o que pode alterar as interações eletrostáticas entre as moléculas de porfirinas e biomoléculas, tais como albumina e o DNA, e, conseqüentemente, o seu processo de auto-agregação (Borissevitch, 1996; Borissevitch, 1998).

Pequenas mudanças no pH podem alterar o equilíbrio entre as formas protonadas e desprotonadas das porfirinas (figura 3.4), influenciando o processo da sua auto-agregação ou desagregação, e alterando a biodisponibilidade do fotossensibilizador para o tecido tumoral (Bohmer, 1985; Moan, 1987).

Também a presença de sistemas microorganizados, como membranas biológicas, micelas e macromoléculas, tais como ácidos nucleicos ou proteínas, podem influenciar a auto-agregação ou desagregação das porfirinas (Borissevitch, 1996; Borissevitch, 1998).



**Figura 3.4** Forma desprotonada e protonadas da porfirina (figura montada a partir de imagens disponíveis na internet).

Além disso, a porfirina é absorvida quer pelos tecidos normais quer pelos tecidos tumorais. Contudo, as células tumorais, por apresentarem um metabolismo diferenciado, retêm o FTS por um período mais prolongado, cerca de 72 horas, em detrimento das 24-36 h das células normais, o que pode favorecer, quer o processo de auto agregação, quer o processo de desagregação das porfirinas (Dougherty, 1987; Jori, 1992).

As condições externas, ao interferirem no equilíbrio monómero/agregado, afetam, quer a estrutura dos agregados, quer o tempo de auto agregação, podendo promover a agregação ou a desagregação, exercendo assim uma grande influência na eficácia das porfirinas na TFD.

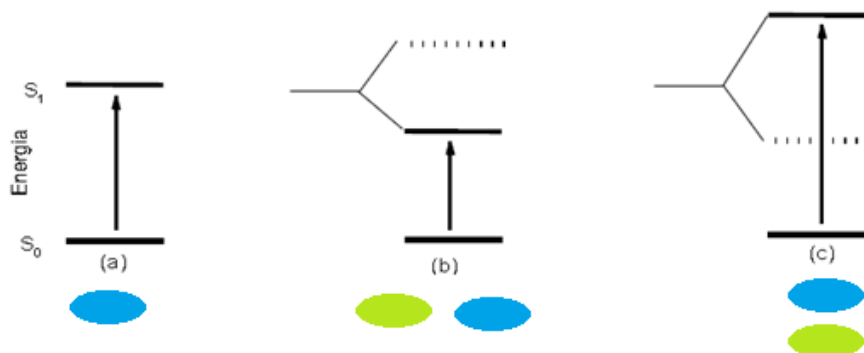
A formação de auto agregados pode alterar a forma do espectro eletrónico da porfirina, ocorrendo o alargamento das bandas, a redução do  $\epsilon$  e o deslocamento do  $\lambda_{\max}$ .

Para auto agregados lineares, formados por interações dipolares, ocorre um deslocamento do  $\lambda_{\max}$  para o vermelho (deslocamento batocrómico). Para agregados paralelos, ocorre um distanciamento entre os níveis de energia do estado fundamental e excitado, conduzindo a um deslocamento para o azul (deslocamento hipsocrómico). (Aggarwal, 2006; Parkash, 1998).

Na figura 3.5 apresenta-se a comparação entre as energias de transição do monómero (a), dímeros lineares (b) e dímeros paralelos (c).

A agregação é considerada um fator muito importante, visto que é comum ocorrer entre as moléculas dos FTS e o meio fisiológico. Os auto agregados de porfirinas apresentam propriedades físicas e fotofísicas diferentes das propriedades dos monómeros de origem, podendo destacar-se : 1) a solubilidade; 2) o espectro eletrónico; 3) o baixo rendimento

quântico de fluorescência e 4) a diminuição dos rendimentos na formação de tripletos e na geração de singletos, exercendo uma grande influência na eficácia das porfirinas na TFD.



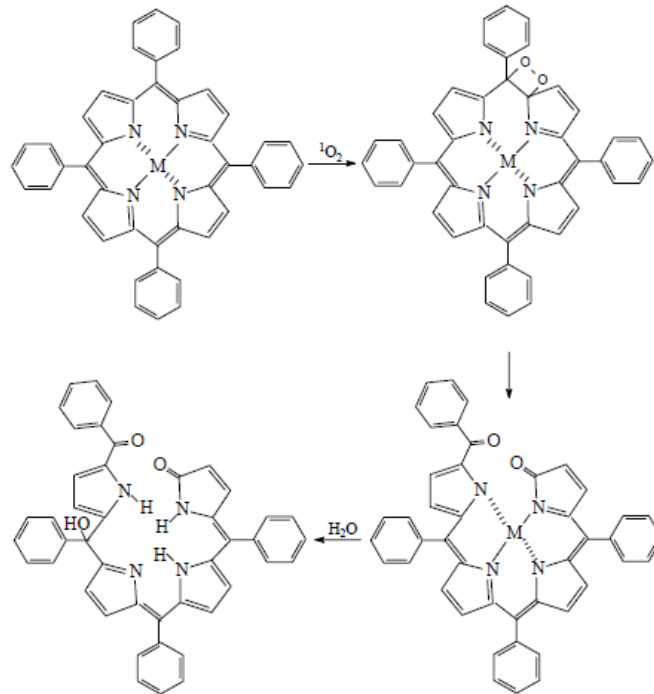
**Figura 3.5** Relação entre as energias de transição do monómero (a), o dímero linear (b), e o dímero paralelo (c) (Fernandes, 2007).

### 3.3 Reações de fotobranqueamento

O processo de fotobranqueamento ou fotodegradação de um FTS consiste na modificação da sua estrutura, provocada por espécies reativas de oxigênio (ROS), geralmente o oxigênio singleto, produzidos durante o tratamento com TFD pelo próprio FTS. Tal modificação reduz a quantidade de FTS inicial e de ROS, originando uma perda na eficiência do tratamento e uma incompleta destruição do tumor (Menezes, 2006).

Assim, uma característica importante para que um determinado composto possa ser usado em TFD, é que este não sofra fotobranqueamento ou fotodegradação durante o tratamento clínico.

O oxigênio singleto,  $^1\text{O}_2$ , por ser uma espécie extremamente reativa, pode promover a degradação dos compostos fotossensibilizadores que foram os seus próprios precursores, caracterizando um tipo especial de fotobranqueamento, como demonstra a figura 3.6.

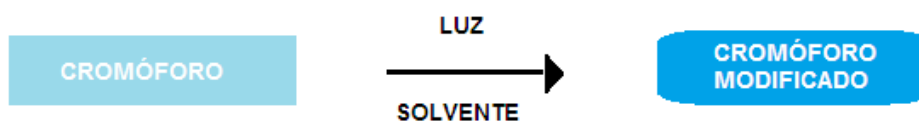


**Figura 3.6** Fotobranqueamento de um composto porfirínico, na presença de oxigénio singlete (Ribeiro, 2005).

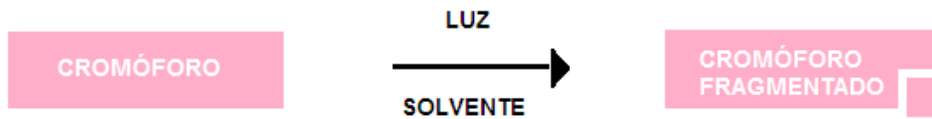
O fotobranqueamento mais comum em TFD pode ocorrer por processo de foto-oxidação ou foto-redução, sendo o primeiro o mais comum (Menezes, 2006).

Existem dois tipos de fotodegradação irreversível que levam a modificações permanentes na estrutura do FTS:

I-Foto-modificação: ocorre modificação da estrutura do FST e consequentemente uma diminuição na intensidade de absorção e emissão de fluorescência a alguns comprimentos de onda. Também se verifica a diminuição da intensidade dos picos de absorção e o aparecimento de uma nova banda de absorção no espetro.



II- Fotobranqueamento verdadeiro: Surge quando as mudanças químicas são profundas e resultam em fragmentos pequenos que não têm absorção apreciável na região do visível. O fragmento torna-se incolor e sem interesse em TFD.



Estes processos reduzem a concentração do FTS original no local de ação da TFD e baixam o poder de absorção da luz do FST modificado. Isto implica uma menor quantidade de ROS, o que diminui a ação fotodinâmica, ou seja, compromete a eficácia do tratamento (Sternberg, 1998).

Por comprometer a formação de espécies reativas capazes de destruir o tecido tumoral, o fotobranqueamento obriga à administração de dosagens mais elevadas de FTS, por forma a compensar a perda ocasionada na fotodegradação. O referido procedimento pode aumentar os efeitos laterais provocados pela alta concentração do FTS, aumentando, também, os custos do tratamento.

No entanto, se a velocidade da fotobranqueamento for lenta, e não interferir no tratamento clínico, este passa a ter interesse clínico, uma vez que, ajuda na fase de eliminação do FTS após a terapia, pois diminui o tempo que o paciente tem que ficar ao abrigo da luz sola por forma a evitar fotossensibilidade cutânea.

Desta feita, a fotodegradação dos FTS pode ser um fator importante quer na distribuição da dose fotodinâmica dos fluidos biológicos, quer na cinética de eliminação do FTS do organismo (Menezes, 2006; Ribeiro, 2005).

### **3.4 Interação das porfirinas com os tecidos biológicos e as células**

A solubilidade do fotossensibilizador é um dos fatores que afeta a sua farmacocinética, uma vez que é necessário que o FTS passe as membranas celulares e seja adsorvido ao tecido tumoral.

Potencializar a interação do FTS com membranas é um aspeto importante no desenvolvimento de novos FTS. A adsorção do FTS nas membranas pode ser estimada

a partir do coeficiente de partilha em sistemas biomiméticos, nomeadamente, o sistema n-octanol/água (Cozzini, 2002; Engelmann, 2007; Tossi, 2003).

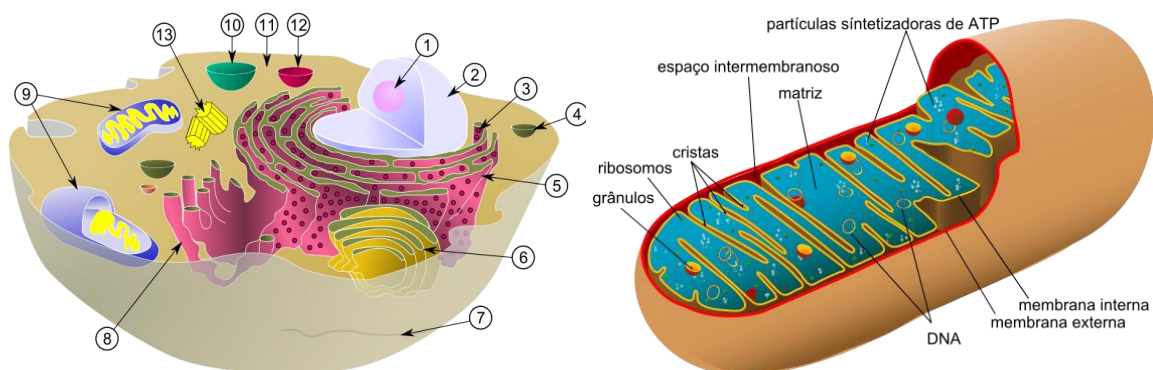
A incorporação do FTS em lipossomas permite estimar a capacidade real de interação do FTS com as membranas celulares, que são compostas por bicamadas lipídicas e por proteínas. Por outro lado, uma das estratégias utilizadas para a incorporação de compostos hidrofóbicos em células dá-se através da incorporação destes em lipossomas, por apresentarem alta afinidade por membranas celulares, as quais também são constituídas por bicamadas lipídicas. Contudo, informações mais precisas podem ser obtidas através de estudos da interação do FTS com células em cultura.

Os potenciais alvos da TFD encontram-se nas células e nas mitocôndrias, as quais se demonstraram serem alvos chave para a TFD (Ball, 1998; Cernay, 1996). A mitocôndria é um organelo intracelular presente na maioria das células eucarióticas, constituída por duas membranas: membrana externa e membrana interna, na qual está contida a matriz mitocondrial (figura 3.7). A membrana externa possui poros não específicos para o soluto, sendo permeável a iões e moléculas com massa inferior a 10 KDa. Já a membrana interna, é bastante seletiva, sendo impermeável a iões. Nas mitocôndrias ativas, o transporte de eletrões está associado ao transporte de protões transmembrar, o qual cria uma diferença de potencial entre a membrana interna e a matriz mitocondrial. Devido a esta diferença de potencial, a membrana interna da mitocôndria apresenta potencial eletroquímico negativo de -180mV.

Este potencial negativo pode ser utilizado para atrair moléculas de FTS catiónicas para a mitocôndria, direcionando a atividade do FTS para o organelo. (Cozzini *et al.*, 2002).

A citolocalização é um fator importante na ação fotodinâmica, podendo ser um importante regulador do tipo de morte celular por necrose ou apoptose. No caso do FTS se localizar na mitocôndria, pensa-se que a morte celular ocorra por apoptose (Cozzini, 2002).

A citolocalização está governada pelos fatores estruturais do FTS, os FTS lipofílicos com distribuição assimétrica de cargas, também designados de anfifílicos, podem penetrar facilmente nas membranas e, difundir-se a outros compartimentos celulares, apresentando maior taxa de incorporação. Contudo, se o FTS apresentar alta polaridade, fica impossibilitado de atravessar as membranas. O mesmo acontece se o composto for muito lipofílico, uma vez que, fica retido na membrana citoplasmática.



(a)

1) nucléolo (2) núcleo (3) ribossomas (pontos pequenos) (4) vesícula (5) retículo endoplasmático rugoso (6) complexo de Golgi (7) Citoesqueleto (8) retículo endoplasmático liso (9) mitocôndria (10) vacúolo (11) citoplasma (12) lisossoma (13) centríolos dentro do centrossoma

(b)

**Figura 3.7** Constituintes de uma célula animal (a) ([http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula\\_animal](http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_animal), mitocôndria humana) (b) (<http://www.ciberdroide.com/wordpress/%C2%BFque-dice-la-ciencia-sobre-la-posibilidade-de-crear-un-parque-jurasico/>).

Assim sendo, é importante que os FTS apresentem grupos polares ou iônicos que proporcionem hidrossolubilidade e cadeias carbonadas relativamente extensas, para que possam ser lipossolúveis. Também a inserção de grupos polares no anel porfirínico é de grande importância, para que as forças de interação entre os grupos polares e o dipolo da água superem as forças de interação entre a ampla nuvem  $\pi$ , dificultando a auto agregação. (Hutener, 1990).

*In vivo*, a eficiência de um fotossensibilizador também depende da sua interação com componentes do plasma sanguíneo, especialmente com a albumina e lipoproteínas (Webber, 2000; Sibata, 2004)

Alguns derivados porfirínicos apresentam alta afinidade para lipoproteínas de baixa densidade (LDL) que os tecidos em metástase possuem em maior concentração.

Esta propriedade promove uma maior acumulação do FTS porfirínicos nos tecidos tumorais (Jori, 1984; Figge, 1948; Michels, 2003).

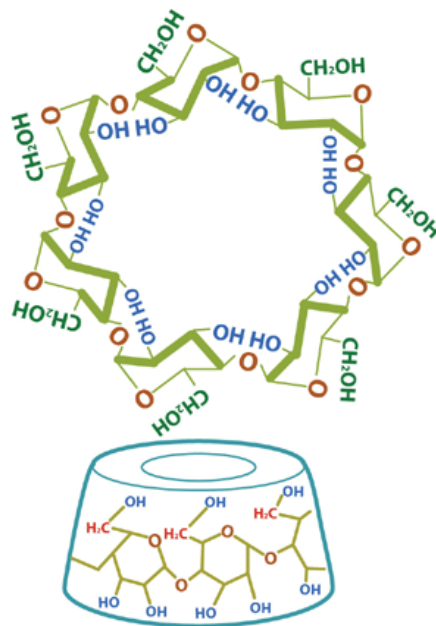
### 3.5 Encapsulamento da porfirinas

Uma das estratégias utilizadas para melhorar a fotodinâmica de um composto porfirínico, reduzindo a auto agregação, a baixa solubilidade, o fotobranqueamento, a falta de penetração na célula e a baixa seletividade para o tecido tumoral, é a incorporação do FTS em sistemas encapsuladores, tais como, a ciclodextrinas, lipossomas e nanopartículas, entre outros.

O encapsulamento, para além das funções referidas, protege o FTS da biotransformação que este pode sofrer ao longo do percurso que medeia a administração até ao tecido tumoral.

As ciclodextrinas (CD's) são oligossacáridos cíclicos formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações  $\alpha(1-4)$ , e são designadas de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ - ciclodextrinas, quando contém 6, 7 e 8 unidades de D-glicose, respetivamente, apresentando um formato de um cone, conforme a figura 3.8 (Uekama, 1998; Lindner, 1982).

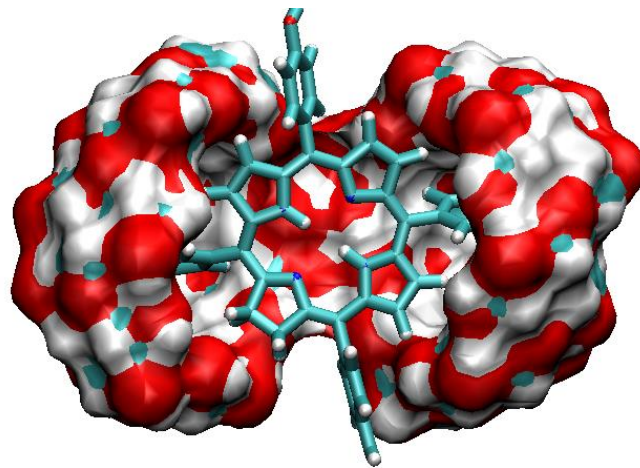
A zona exterior desse cone é constituída por grupos hidróxilos, o que lhes confere carácter hidrofílico. No interior, a cavidade do cone apresenta carácter hidrofóbico (Szejtli, 1998).



**Figura 3.8** Estrutura, em cone, de uma ciclodextrina. A parte exterior é hidrofílica e a cavidade é hidrofóbica (<http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/minimaquinas-dentro-do-seu-corpo.shtml>).

As ciclodextrinas apresentam uma grande capacidade de acomodação de moléculas e complexos apolares na sua cavidade, sendo, por isso, utilizadas na indústria farmacêutica, alimentar e agrícola como veículos de solubilização de moléculas apolares (Hedges, 1998).

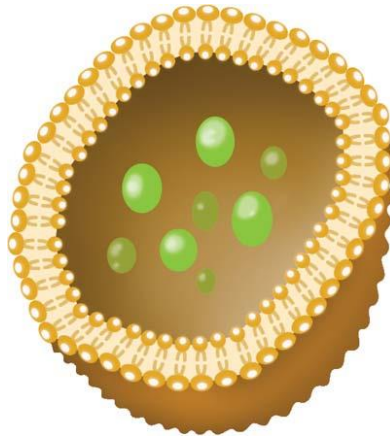
A figura 3.9 representa o exemplo de um agente fotossensibilizador, uma termoporfirina, com dois dos seus grupos fenilos acomodados nas cavidades hidrofóbicas de duas moléculas de ciclodextrinas.



**Figura 3.9** Representação de uma molécula de termoporfirina com dois dos seus grupos fenilos inclusos nas cavidades apolares de duas moléculas de ciclodextrinas formando um complexo 2:1 (Oliveira, 2011).

Os estudos demonstraram que o encapsulamento de FTS com ciclodextrinas pode melhorar a seletividade desses compostos em relação ao tecido tumoral, além de diminuir a percentagem de fotobranqueamento do mesmo, sem interferir no seu espectro de absorção (Kessel, 1991; Bonchio, 2002).

Os lipossomas podem ser definidos como associações coloidais de lipídios anfipróticos, organizados em estruturas fechadas do tipo concha esférica, como mostra a figura 3.10.

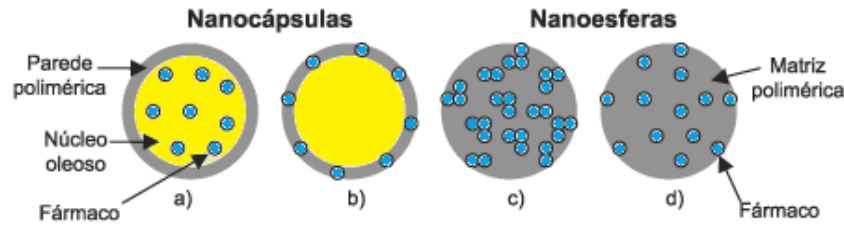


**Figura 3.10** Representação geral de um lipossoma ([http://www.google.pt/imgres?imgurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/images/lipossomo.jpg&imgrefurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/minimaquinas-dentro-do-seu-corpo.shtml&h=445&w=400&sz=24&tbnid=MBE43UXe3I6QnM:&tbnh=91&tbnw=82&zoom=1&usg=\\_\\_YnzNw8qD6Rg6exRp5H8\\_vIQlrGM=&docid=jOrhyiwHuNf48M&sa=X&ei=ARNAUpmOKJKVhQfFqoHQAQ&ved=0CEgQ9QEwBQ&dur=338](http://www.google.pt/imgres?imgurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/images/lipossomo.jpg&imgrefurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/minimaquinas-dentro-do-seu-corpo.shtml&h=445&w=400&sz=24&tbnid=MBE43UXe3I6QnM:&tbnh=91&tbnw=82&zoom=1&usg=__YnzNw8qD6Rg6exRp5H8_vIQlrGM=&docid=jOrhyiwHuNf48M&sa=X&ei=ARNAUpmOKJKVhQfFqoHQAQ&ved=0CEgQ9QEwBQ&dur=338)).

Os lipossomas são excelentes transportadores de FTS, assim como, de outros fármacos com capacidade de aumentar o potencial terapêutico do FTS, permitindo que este tenha uma melhor biodisponibilidade para o alvo terapêutico, evitando, assim, os efeitos laterais, bem como, a auto-agregação e o fotobranqueamento, o que torna os lipossomas o agente transportador mais utilizado (Rodriguez, 2002).

As nanopartículas são materiais à base de polímeros de origem natural ou sintética, que podem ser obtidos através de reações de polimerização de um monómero ou diretamente a partir de um co-polímero.

As nanopartículas podem ser divididas em nanocápsulas e nanoesferas. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido nesse núcleo, e/ou adsorvido na parede polimérica (figura 3.11). As nanoesferas, que não apresentam óleo na sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde os fármacos ficam a revestir a superfície, ou são retidos no interior da esfera (Schaffazick, 2003).

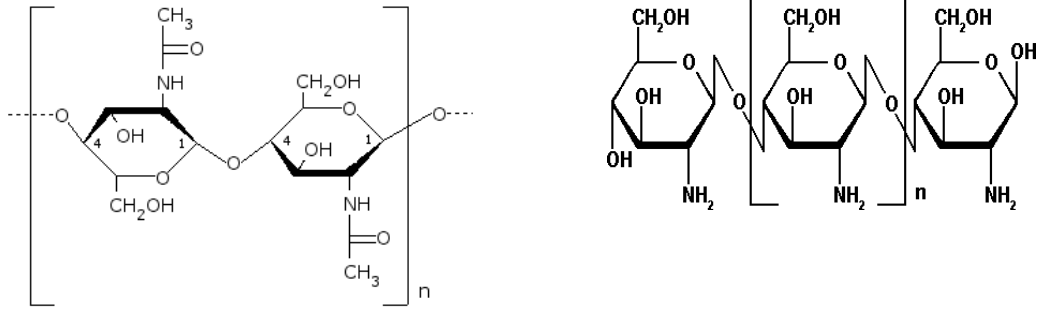


**Figura 3.11** Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: a) fármaco dissolvido no núcleo oleoso das nanocápsulas; b) fármaco adsorvido à parede polimérica das nanocápsulas; c) fármaco retido na matriz polimérica das nanoesferas; d) fármaco adsorvido ou disperso molecularmente na matriz polimérica das nanoesferas (Sheila, 2003).

O uso de nanopartículas no encapsulamento de FTS confere ao FTS uma maior seletividade para o tecido tumoral, diminuindo o tempo de acumulação e aumentando a quantidade de FTS acumulada nos pontos estratégicos da célula cancerígena como, por exemplo, na mitocôndria e nos lisossomas (Bachor, 1991; Konan, 2003).

Para aumentar a seletividade dos FTS encapsulados em adicionou-se à superfície de nanoesferas ou nanocápsulas moléculas facilmente reconhecidas pelas células tumorais, como, por exemplo, o ácido fólico, que aumenta a seletividade do encapsulado em relação ao tecido tumoral. Tal ocorre porque o ácido fólico é utilizado pelas células no processo de divisão celular. Como as células cancerígenas se dividem mais rapidamente que as células normais, estas necessitam de mais ácido fólico, o que faz com que a nanopartícula, revestida com esta molécula, se acumule mais facilmente nas células do tumor que nas células normais (Konan, 2003).

O quitosano é um polissacarídeo com potenciais aplicações decorrentes da sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e biodegradabilidade. Além disso, a adsorção às mucosas e a capacidade de promover a absorção de outras moléculas pelo epitélio, tornam-no num promissor encapsulador (Grenha, 2005). O quitosano é obtido a partir da desacetilação da quitina, que é um polímero de origem natural, figura 3.12.



**Figura 3.12** Estrutura, da quitina e do quitosano(<http://pt.wikipedia.org>).

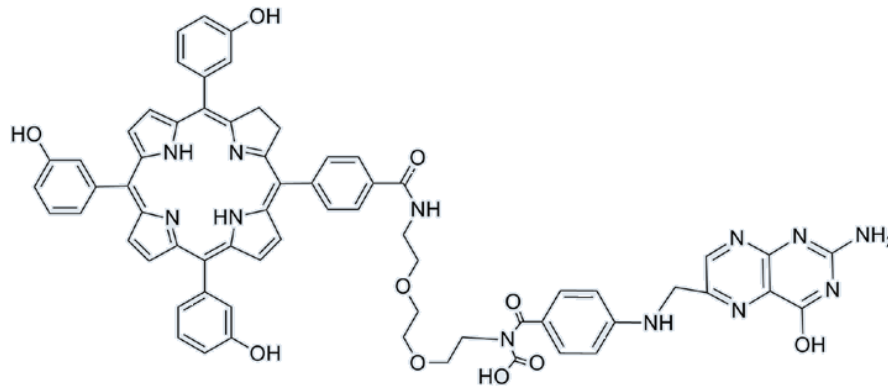
Nos estudos de encapsulamento com tetra-(N-metil-4-piridil) porfirina, TMPyP, em microesferas de quitosano, a técnica spray drier (secagem por pulverizador) desenvolvida, mostrou-se viável para a encapsulação desta molécula (Luz, 2007).

### 3.6 Porfirinas modificadas

Nos últimos anos desenvolveram-se vários FTS com intenção de serem usados em TFD. As porfirinas e os seus derivados foram amplamente estudados com este objetivo, em parte, devido à sua boa biocompatibilidade. Contudo, ainda muito há a fazer para potencializar as propriedades fotofísicas e farmacológicas das porfirinas, proporcionando uma maior eficiência no tratamento.

Uma estratégia importante para a otimização das propriedades farmacocinéticas das porfirinas é a sua conjugação com moléculas endógenas.

Um exemplo de um derivado conjugado é a *tetrakis (m-hidroxifenil) clorina*, (*m*-THPC) (figura 3.13) que apresenta uma elevada acumulação e seletividade em tumores da pele. A conjugação do ácido fólico com o FTS aumenta o transporte do agente bioativo especificamente para o recetor fólico, facilitando o seu transporte do FTS para o interior das células (Gravier, 2008).

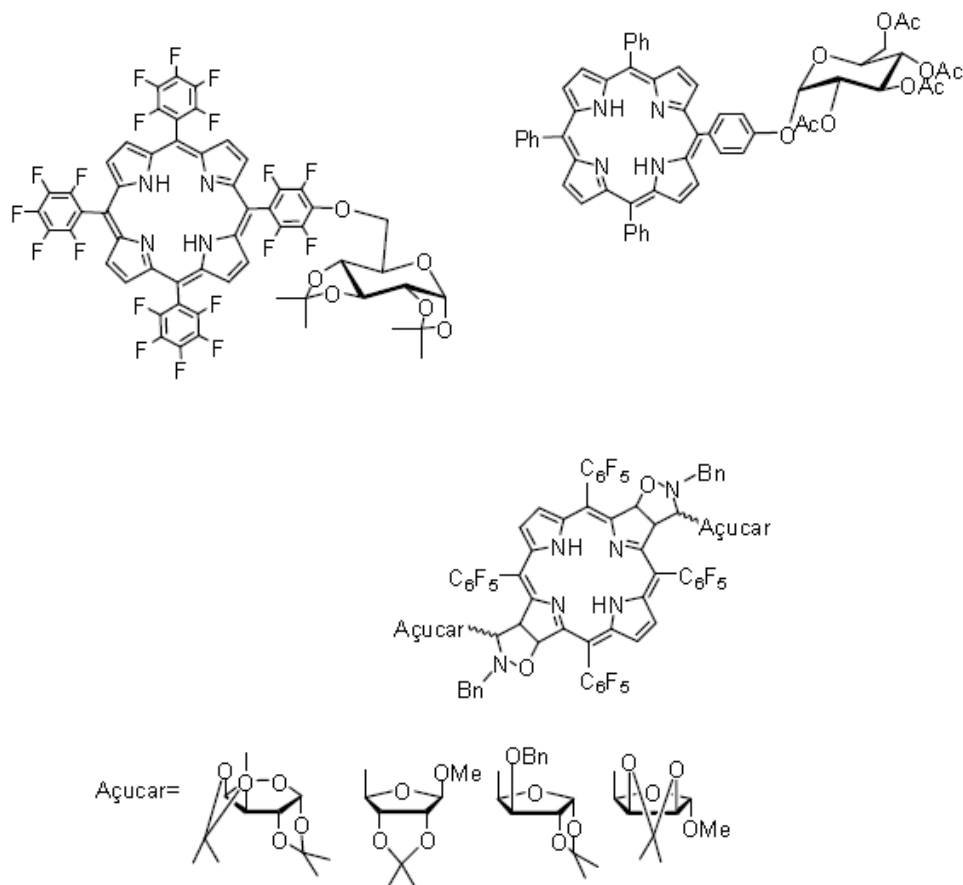


**Figura 3.13** Conjugado de *m*-THPC com ácido fólico (Calvete, Gomes, Moura, 2009).

A introdução de unidades glicosídeas em macrociclos tetrapirrólicos, as glicoporfirinas (figura 3.14) é outra alteração molecular também muito importante nestes compostos, uma vez que, as subunidades de hidratos de carbono podem interagir com recetores específicos da superfície da membrana celular, podendo facilitar a entrada na célula destes conjugados porfirínicos, por endocitose, aumentando a seletividade do FTS para os tecidos tumorais (Carvalho, 2007; Gomer, 1991).

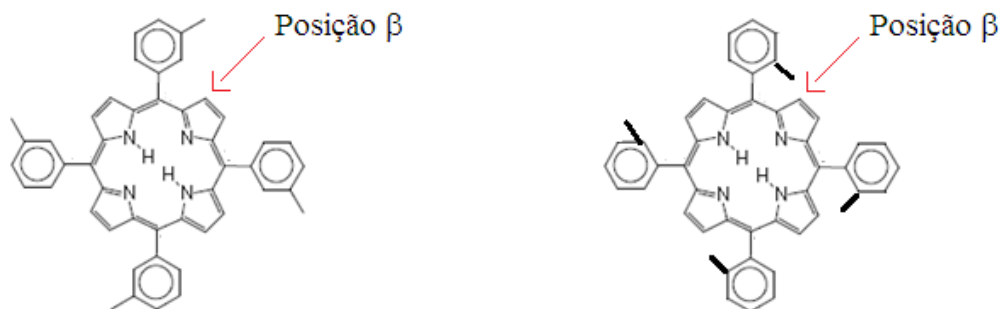
Outra propriedade importante das glicoporfirinas é a sua elevada solubilidade em água e noutros líquidos, o que as torna suscetíveis de poderem ser administradas por via intravenosa.

A ligação de porfirinas a metais, metaloporfirinas, tem atraído interesse na TFD devido à sua capacidade de transporte em micelas. (Gandini *et al.*, 2001). Contudo, alguns estudos mostram que as metaloporfirinas alteram a banda de Sorbet, podendo diminuir a janela terapêutica, e as metaloporfirinas paramagnéticas, apesar de apresentarem resultados promissores como agentes de contraste em imagens por ressonância magnética nuclear em meio aquoso, formam agregados que minimizam a sua eficiência para fins terapêuticos (Yushmanov, 1996; Klein, 2005).



**Figura 3.14** Alguns derivados glicoporfirínicos (Carvalho, 2007).

Outro fator a ter em conta na alteração da estrutura da porfirina são as deformações estruturais do anel porfirínico que são, em geral, acompanhadas por profundas modificações nas propriedades físico-químicas e biológicas de metaloporfirinas e hemoproteínas. A rotação do anel arilo em torno do anel porfirínico é controlada pelo tipo de substituição neste anel: por exemplo os *orto* substituintes conduzem a atropoisomerismo, enquanto substituintes simples em *meta* e *para* não impedem a livre rotação aril-porfirina à temperatura ambiente (figura 3.15).

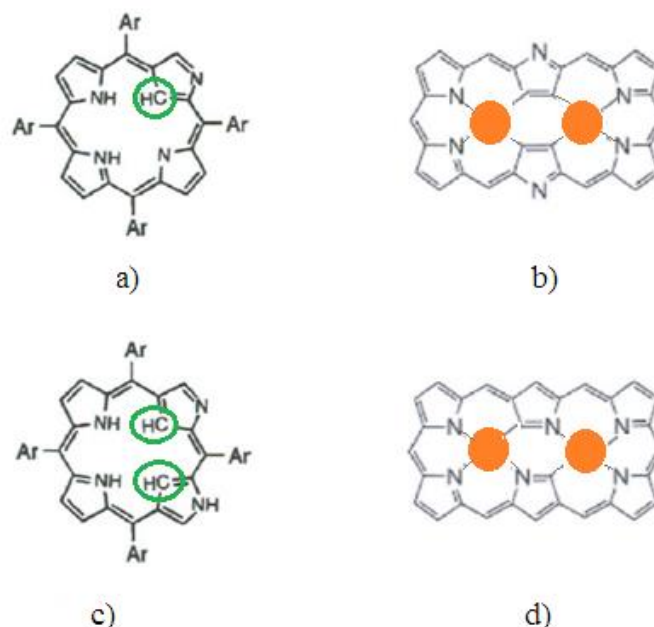


**Figura 3.15** Exemplos de aril-porfirinas com substituinte em *meta* e *orto*(figura montada a partir de imagens disponíveis na internet).

O mecanismo de restrição da rotação do grupo arilo sugerido minimiza as interações estéricas entre os substituintes *orto* do grupo arilo e os substituintes em posições  $\beta$ -pirrólicas da porfirina o que influencia a densidade eletrônica do anel porfirínico (Peixoto, 2011).

As porfirinas invertidas ou N-confusas (figura 3.16) sintetizadas por Furuta *et al.* (Furuta,1994), constituem uma nova classe de compostos de interesse em TFD. Estas espécies diferem das porfirinas convencionais por apresentarem um ou dois átomos de azoto pirrólicos localizados para fora do anel porfirínico, sendo denominadas de porfirina N-confusa e duplamente N-confusa (Furuta, 2000; Maeda, 2003), respetivamente.

Estas estruturas permitem alojar metais de transição em estados de oxidação elevados, tais como,  $Ag^{3+}$  e  $Cu^{3+}$  (Furuta e Maeda, 2000, Furuta, 1999). No caso da porfirina duplamente N-confusa, os dois azotos pirrólicos extremos ao anel são suscetíveis tanto à protonação quanto à desprotonação (Araki, 2001). Este comportamento possibilita a modulação das propriedades espectroscópicas destes compostos, por simples alteração no pH do meio.

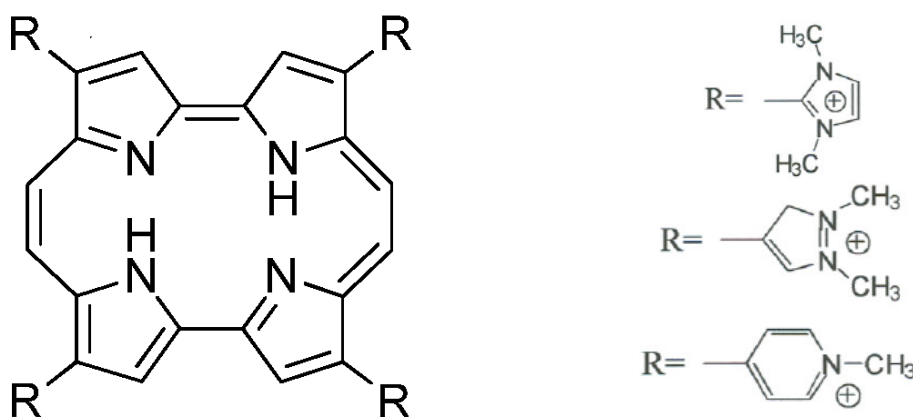


**Figura 3.16.** Estruturas moleculares das porfirinas a) N-confusa e b) *cis* duplamente N-confusa e da c) hexafirina e d) hexafirina duplamente N-confusa nas formas metalo-complexadas (Engelmann, 2005).

O espectro eletrônico da porfirina N-confusa apresenta bandas de baixa intensidade na região de 550 nm a 750 nm, quando comparadas com a duplamente N-confusa. A coordenação com metal aumenta para o dobro a intensidade das bandas desta região e, pode aumentar a reatividade do anel porfirínico.

Um outro aspeto importante nas modificações moleculares dos FTS, são as porfirinas catiónicas, as quais são consideradas compostos bi-funcionais, podendo ligar-se fortemente ao DNA, modificando-o fotodinamicamente, por meio de um mecanismo similar ao de fármacos antineoplásicos intercalantes, tais como, a bleomicina e daunomicina (Li, 1997). Ou seja, intercalam o DNA e promovem a clivagem da cadeia. São atualmente aceites três interações no processo de intercalação entre as porfirinas catiónicas e o DNA; duas de natureza preponderantemente eletrostática, envolvendo ligações à parte externa da cadeia do DNA (Sehlstedt, 1994; Pasternack, 1991), com os grupos fosfato e ao "mínor groove"; enquanto que o terceiro modo refere-se à formação de pilhas de moléculas de porfirina ("stacking") na parte externa da dupla hélice.

As porfirinas catiônicas *meso*-substituídas (figura 3.17), geralmente, têm grupos relativamente volumosos, protegendo o anel porfirínico planar, originando distorções no DNA durante o processo de intercalação, o qual evita a separação das duplas hélices pela ação da DNA polimerase e das topoisomerases (Kruk, 1998). Assim, verificou-se que o modo de interação entre porfirina e o DNA depende do tamanho e da posição dos substituintes (Sari, 1988). Estudos recentes com porfirinas com substituintes de tamanhos similares sugerem que os efeitos eletrônicos são importantes na determinação do modo de interação, (Makundan, 1994), e definem a tendência de associação das porfirinas e a interação com o DNA formando pilhas. Além disso, a presença de ligantes axiais coordenados ao íon metálico central, também influenciam o modo de interação (Kruk, 1998; Tjahjono, 1999).



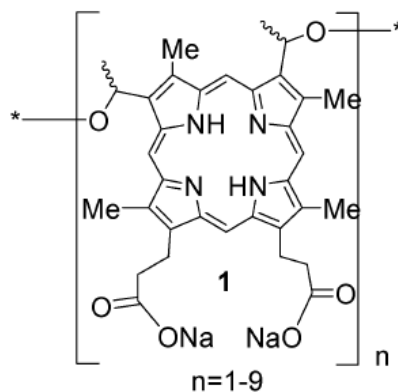
**Figura 3.17.** Estruturas das porfirina *meso*-dimetilpirazólio ( $H_2$ -TDMPzP), *meso*-dimetilimidazólio ( $H_2$ -TDImP) e *meso*-tetra(N-4-metilpirídínio) ( $4P_4Me$ ) (figura montada a partir de imagens disponíveis na internet).

### 3.7 Casos Clínicos

De seguida faz-se uma breve descrição das aplicações de alguns fotossensibilizadores aprovados pelas várias organizações de saúde, ou que estão nos vários estádios de ensaios clínicos.

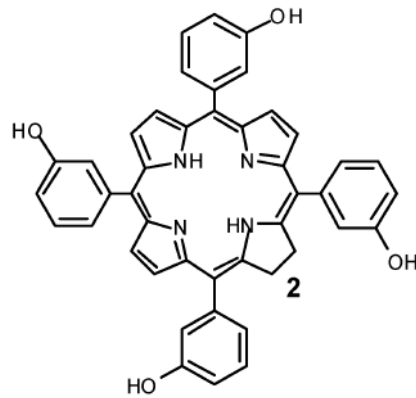
Após um esforço liderado por Dougherty para preparar a versão purificada de hemoporfirina em grandes quantidades, segundo as regulamentações da FDA-EUA, foi aprovado o primeiro fármaco fotossensibilizante para uso clínico, a Photofrin (figura

3.18). Este fármaco (Dougherty, 2000, Tian, 2008; Sutedja, 1992), é uma mistura enriquecida de dímeros e oligómeros ativos aprovados para uso clínico no dos estádios inicial e avançado de cancro do pulmão, do esófago, da bexiga, e cervical e, ainda, no tratamento de doenças malignas e benignas da pele. O seu uso está a ser considerado para o tratamento do sarcoma de Kaposi, esófago de Barrett com displasia de alto grau, psoríase e cancro cerebral, cabeça e pescoço.



**Figura 3.18.** Estrutura da Photofrin.

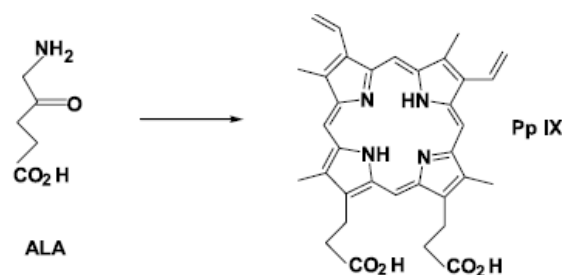
A Temoporfin, (*meso*-tetra-hidroxi-fenil-clorina, *m*-THPC, Foscan), (figura 3.19), é um fotossensibilizador que é ativado entre 2 a 5 dias após administração intravenosa. Esta porfirina acumula-se na pele, o que exige proteção dos olhos e da pele à exposição à luz solar, durante um período de 6 semanas (Nathan, T. R. *et al.* 2002). A Temoporfin foi o primeiro fotossensibilizador a ser utilizado num estudo clínico formal da TFD de cancro da próstata na University College London, em Londres, Reino Unido (Nathan, 2002; Moore, 2006). Os estudos demonstraram a eficácia potencial da Temoporfin no tratamento do cancro da próstata. O colapso financeiro da empresa que produziu a Temoporfin, potenciou os estudos com a mesma no tratamento do cancro por outros centros de investigação. Esses estudos demonstraram a eficácia da Temoporfin no tratamento do cancro de mama (Wyss, 2001), cabeça, pescoço (D'Cruz, 2004), e, ainda, do cancro do pâncreas (Ayar, 2005).



**Figura 3.19.** Estrutura da Temoporfin.

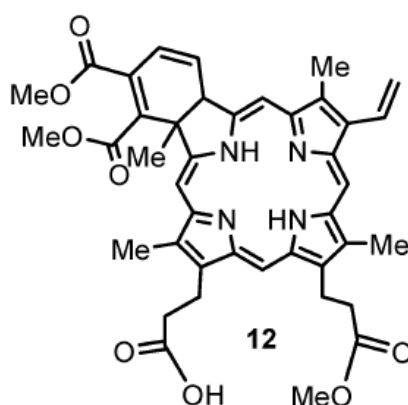
Vários tipos de doenças de pele estão a ser estudadas para a aplicação cutânea da TFD, face à biodisponibilidade da pele ao fotossensibilizador e à luz externa.

Desde a descoberta da protoporfirina endógena IX (PpIX), que a fotossensibilização induzida pela administração de ácido 5-aminolevulínico (ALA) (figura 3.20), tornou-se uma terapia de escolha em lesões pré-malignas e malignas da pele, com a exceção dos melanomas malignos pigmentadas, devido à penetração limitada da luz. Os estudos demonstraram que a ALA-TFD (fototerapia com ALA) é eficaz, segura e bem tolerada pelos pacientes, o que permitiu a sua aprovação pela FDA em 2000. Atualmente, encontra-se sob investigação clínica para avaliar o potencial de tratamento de outras patologias, tais como a psoríase, verrugas virais (Stender, 2000; Hongcharu, 2000; Zaak, D. *et al.*, 2003), cancro da pele basocelular, hamartomas foliculares basalóides, linfoma cutâneo de células T, hiperplasia das glândulas sebáceas e cancro de próstata (Stables, 1997; Morton, 2001; Horio, 2003; Gold, 2004; Oseroff, 2005; Krammer, 2008).



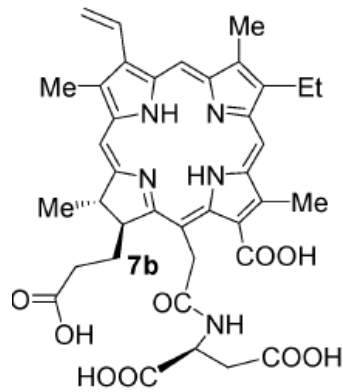
**Figura 3.20.** Esquema de conversão do ALA e a PpIX (Simplício *et al.*, 2002)

A Verteporfina ( BPD- MA) (figura 3.21) foi sintetizada em meados da década de 1980, com a intenção de ser usada tratamento do cancro. No entanto, tem sido utilizada principalmente para FTD ocular, e aprovada para o tratamento da degeneração macular da retina em todo o mundo desde 2000. A Verteporfina é administrada por via intravenosa, seguida da sua ativação, através de um oftalmoscópio equipado com um laser de díodo a 690 nm. Vários estudos clínicos efetuados na América do Norte e na Europa mostraram que pacientes com degeneração macular tratados com Verteporfina, estabilizavam melhor a visão do que aqueles que receberam um placebo (Keam, 2003).



**Figura 3.21.** Estrutura da Verteporfina.

A  $Npe_6$  (LS11, de mono-L-aspartil clorina, talaporfin sódica e laserphyrin) (figura 3.22) é um fotossensibilizador de segunda geração quimicamente puro, aprovado no Japão, para o tratamento do cancro do pulmão. A  $Npe_6$  é uma clorina hidrofílica, devido à presença de um resíduo aspartil (Ferrario, 1992; Song, 1998). Os ensaios clínicos de fase I e fase II já foram concluídos, obtendo-se uma taxa de resposta completa de 82,9 %. A fotossensibilidade da pele é mínima, bem como a toxicidade pulmonar.



**Figura 3.22.** Estrutura da Npe<sub>6</sub>.

### 3.8 Considerações finais

Desde o trabalho de Oscar Raab, em 1900, e dos esforços de Thomas Dougherty, entre outros estudiosos e investigadores, a TFD tem vindo a demonstrar-se uma técnica promissora no tratamento das neoplasias.

A busca de fotossensibilizadores cada vez mais eficientes e com menos efeitos secundários, a utilização de sistemas encapsuladores, a funcionalização das porfirinas com moléculas biocompatíveis para melhorar a farmacocinética, bem como a atividade fotodinâmica desses agentes fototerapêuticos, assim como a utilização de modernas fontes de luz, e a implantação de novos e modernos centros de tratamento, são provas de que este tipo de terapia chegou para ficar.

No entanto, é necessário que os profissionais da área da farmácia, física, química, medicina, biologia entre outras, unam os seus esforços para dar continuidade ao desenvolvimento desta nova e revolucionária modalidade de tratamento médico, pois muito ainda há a desenvolver para que esta terapia consiga ser totalmente seletiva e aplicável a todo o tipo de neoplasias sem causar sofrimento ao paciente.

# Bibliografia

---

Adler, A. D., Longo, F.R., Shergalis, W. (1964). Mechanistic Investigations of Porphyrin Syntheses. I. Preliminary Studies on *meso*-Tetraphenylporphyrin, *J. Am. Chem. Soc.* 86, pp. 3145-3149.

Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Goldmacher, J.; Assour, J.; Korsakoff, L. (1967). A Simplified synthesis for *meso*-tetraphenylporphine. *J. Org Chem*, 32, pp. 476-479.

Adler, A. D.; Sklar, L.; Longo, F. R.; Finarelli; J. D.; Finarelli, M. G. (1968). Mechanistic Study of the Synthesis of *meso*-Tetraphenylporphin. *J. Heterocycl. Chem*, 5, pp. 669-678.

Aggarwal, L. P. F.; Borissvitch, I. E. (2006). On the dynamics of the TPPS<sub>4</sub> aggregation in aqueous solutions successive formation of H and J aggregate, *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spepectroscopy*, 63, pp. 227-233.

Allison, R. R *et al.* (2004). Photosensitizers in Clinical PDT, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.*, 1, pp. 27-42.

Araki, K, Winnischofer, H., Toma, H. E., Maeda, H., Osuka, A. ;Furuta, H. (2001). Acid-Base and Spectroelectrochemical Properties of Doubly N-Confused Porphyrins. *Inorganic Chemistry*, 40, pp. 2020-2025.

Ayaru, P.;Bown, S. G.; Pereira, S. P. (2005). Theranostic nanocells for simultaneous imaging and photodynamic therapy of pancreatic cancer *Int., J. Gastrointest. Cancer*, 35, pp. 1-14.

- Bachor, R.; Shea, C.R.; Gillies, R., Hasan, T.P. (1991). Photosensitized destruction of human bladder carcinoma cells treated with chlorin e<sub>c</sub>-conjugated microspheres,. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88, pp. 1580 .
- Ball, D. J. *et al.* (1998). The induction of apoptosis by a positively charged methylene blue derivative. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 42, pp.159-163
- Bastos *et al.* (2012). O Uso de Porfirinas em Terapia Fotodinâmica no Tratamento da Leishmaniose Cutânea, *Rev. Virtual Quim.*, 4(3), pp. 247-267.
- Bechet, D *et al.* (2008). M. Nanoparticles as Vehicles for Delivery of Photodynamic Therapy Agents, *Trends in Biotechnology*, 26, pp. 612-621.
- Bega, P. C. (2008). Síntese e Caracterização da Nova Porfirina meso-Tetrakis (4-butóxi-3-metóxi-fenil). Porfirina e seus Derivados Metalados. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.
- Ben Amor, T.; Tronchin, M.; Bortolotto, L.; Verdiglione, R.; Jori, G. (1998). Porphyrins and Related Compounds as Photoactivatable Insecticides I. Phototoxic activity of Hematoporphyrin Toward *Ceratitidis Capitata* and *Bactrocera Oleae*. *Photochem. Photobiol.*, 67, pp. 206-211.
- Berg, J. M.; Tymoczko; Stryer J. L. (2006). *Biochemistry*. Nova York, W. H. Freeman.
- Bohmer, R. M.; Morstyn, G. (1985). Uptake of hematoporphyrin derivative by normal and malignant cells: effect of serum, pH, temperature, and cell size, *Cancer Res.*, 45, pp.5328-5334.
- Bonnet, R. (2000). *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*, Londres, Gordon and Breach Science Publishers.
- Bonnet, R.; Martínez, G. (2001). Photobleaching of sensitizers used in photodynamic therapy, *Tetrahedron*, 57, pp. 9513-9547.
- Bonnett, R. (2000). *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*, Amsterdam, Gordon and Breach:Science Publishers.

Borissevitch, I. E. *et al.* (1996). Fluorescence and optical absorption study of interaction of two water soluble porphyrins with bovine serum albumin. The role of albumin and porphyrin aggregation, *J. Luminescence.*, 69, pp. 65-76.

Borissevitch, I. E.; Gandini, S. C. M. (1998). Photophysical studies of excited state characteristics of meso-tetrakis(4-N-methyl-pyridiniumyl) porphyrin bound to DNA, *J. Photochem. Photob. B: Biol.*, 43, pp. 112-120.

Bose, B.; Dube, A. (2008). Photodynamic efficacy of chlorin  $p_6$ : A pH dependent study in aqueous and lipid environment, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, 93, pp. 32-35.

Buytaert, E.; Dewaele, M.; Agostinis, P. (2007). Molecular Effectors of Multiple Cell Death Pathways initiated by Photodynamic Therapy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1776, pp. 86-107.

Calvete, M. J. F.; Gomes, A. T. P. C.; Moura, N. M. M. (2009). Clorinas em terapia Fotodinâmica-Síntese e Aplicações, *Rev. Virtual Quím.*, 1(2), pp. 92-103.

Carre, V. *et al.* (1999). Fungicidal properties of meso-arylglycosyporphyrins: influence of sugar substituents on photoinduced damage in the yeast *Saccharomyces Cerevisiae*. *Photochem. Photobiol. B: Biol*, 48, pp. 57-62.

Carvalho, C. M. B. *et al.* (2007). Photoinactivation of Bacteria in Wastewater by Porphyrins: Bacterial *beta*-Galactosidase Activity and Leucine-Uptake as Methods to Monitor the Process. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol*, 88, pp. 112-118.

Carvalho, C. M. B. *et al.* (2007). Photoinactivation of Bacteria in wastewater by Porphyrins-Two new methods for the rapid monitorization of the process, *J. Photochem. Photobiol.*, 88, pp. 112-118.

Castano, A.P.; Demidova, T.N.; Hamblin, M.R. (2005b). Mechanisms in Photodynamic Therapy: Part three – Photosensitizer Pharmacokinetics, Biodistribution, Tumor Localization and Modes of Tumor, *Destruction. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2, pp. 91-106.

Castano, A.P.; Mroz, P.; Hamblin, M.R. (2006). Photodynamic Therapy and Anti-Tumor Immunity, *Nature Reviews*, 6, pp. 535-545.

Cavaleiro, J. A. S.; Smith, K. M. (1989). *Rev. Port. Quím.* 31, pp. 29.

- Cernay, T.; Zimmermann, H.W. (1996). Selective photosensitization of mitochondria by the lipophilic cationic porphyrin POR10, *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology.*, 34, pp. 191-196.
- Charlesworth, P. *et al.* (1994). Photophysical Properties of Substituted Porphyrins, *J. Chem. Soc. Faraday Trans*, 90, pp. 1073-1994.
- Chatterjee, D. K.; Fong, L. S.; Zhang, Y. (2008). Nanoparticles in Photodynamic Therapy: An Emerging paradigm, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60), pp. 1627-1637.
- Cozzini, P. *et al.* (2002). A. Simple, intuitive calculations of free energy of binding for proteinligand complexes, 1. Models without explicit constrained water, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, pp. 2469-2483.
- D'Cruz, A. K.; Robinson, M. H.; Biel, M. A. (2004). *m*-THPC-Mediated Photodynamic Therapy in Patients With Advanced, Incurable Head and Neck Cancer: a Multicenter Study of 128 Patients, *Head Neck*, 26, pp. 232-40.
- Daniell, M.D.; Hill, J. S. (1991). A History of Photodynamic Therapy. Australian and New Zeland, *Journal of Surgery*, 61, pp. 340- 348.
- De Paula, R.; Faustino, M. A. F., Pinto, D. C. G. A.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. J. (2008). Kinetic Study of *meso*-Tetraphenylporphyrin Synthesis Under Microwave Irradiation, *Heterocycl. Chem*, 45, pp. 453-459.
- DeRosa, M.C.; Crutchley, R.J. (2002). Photosensitized Singlet Oxygen and its Application, *Coordination Chemistry Reviews*, 233-234, pp. 351-371.
- Dolmans, D. E.; Fukumura, D.; Jain, D. K. (2003). Photodynamic Therapy for Cancer, *Nature Reviews Cancer*, 3, pp. 380-387.
- Dolphin, D.; Traylor, T.; Xie, L. Y. (1997). Polyhaloporphyrins: Unusual Ligands for Metals and Metal-Catalyzed Oxidations, *Acc. Chem. Res*, 30, pp. 251-259.
- Dougherty, T. J. (1987). Photosensitizers: Therapy and Detection of Malignant Tumors., *Photochem. Photobiol.*, 45, pp. 879-889.
- Douguert T. J.; Mac Donald, I. J. (2001). Basic principles of photodynamic therapy, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 5, pp.105-129.

- Edelson, R. L. (1988). Light activated drugs, *Sci. Am.*, 259, pp. 68-75.
- Elsaleh, H *et al.* (2000). Can p53 alterations be used to predict tumour response to pre-operative chemo-radiotherapy in locally advanced rectal cancer?, *Radiotherapy and Oncology*, 56. 239-244.
- Engelmann, F. M. (2005). *Derivados porfirínicos como fotossensibilizadores para terapia fotodinâmica-Tese de Doutorado* Instituto de Química, São Paulo, pp. 29.
- Engelmann, F.M. *et al.* (2007). Interaction of cationic meso-porphyrins with liposomes, mitochondria and erythrocytes, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 39, pp.175- 185.
- Fernandes, A. U. (2007) *Caraterização e fotoatividade de fotossensibilizadores derivados de protoporfirina IX e de clorofila. Tese de Doutorado* Instituto de Química, Universidade de São Paulo, são Paulo.
- Ferrario, A.; Kessel D.; Gomer, C. J. (1992). Metabolic Properties and Photosensitizing Responsiveness of Mono-L-aspartyl Chlorin e<sub>6</sub> in a Mouse Tumor Model *Cancer Res.*, 52, pp. 2890-2893.
- Figge, F. H. J.; Weiland, O.S.; Manganiello, O. J. (1948). Cancer detection and therapy: affinity of neoplastic, embryoni e, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 68, pp. 640-641.
- Furuta, H.; Asano, T.; Ogawa, T. (1994). N-confused porphyrin: a new isomer of tetraphenylporphyrin, *Journal of the American Chemical Society*, 116, pp. 767-768.
- Furuta, H.; Maeda, H.; Osuka, A. (2000). Doubly N-Confused Porphyrin: A New Complexing Agent Capable of Stabilizing Higher Oxidation States, *Journal of the American Chemical Society*, 122, pp. 803-807.
- Furuta, H.; Ogawa, T.; Uwatoko, Y.; Araki, K. (1999). N-Confused Tetraphenylporphyrin-Silver (III) Complex, *Inorganic Chemistry*, 38, pp. 2676-2682.
- Furuta, H; Maeda, H.; Osuka, A; Yasutake, M.; Shinmyozu, T.; Ishikawa. Y. (2000). Inner C-Arylation of a Doubly N-Confused Porphyrin-Pd Complex in Toluene-The Possibility of a Pd<sup>3+</sup> Intermediate, *Chemical Communications*, pp. 1143-1144.

- Gandini, S. C. M. ; Yushmanov, V. E. ; Tabak, M. (2001). Interaction of Fe(III)- and Zn(II) tetra- (4-sulfonatophenyl)porphyrins with Ionic and Nonionic Surfactants: Aggregation and Binding. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 85, pp. 263-277
- Gold, M. H. *et al.* (2004). The use of a Novel Intense Pulsed Light and Heat Source and ALA-PDT in the Treatment of Moderate to Severe Inflammatory Acne Vulgaris, *J. Drugs Dermatol.*, 3, S6-S9.
- Gomer, C. J. (1991). Preclinical examination of first and second generation photosensitizers used in photodynamic therapy, *Photochem. Photobiol.*, 54, pp. 1093-1107.
- Gonsalves, A. M.; d'A. Rocha; Varejão, J. M. T. B.; Pereira, M. M. J. (1991). Some New Aspects Related to the Synthesis of *meso*-Substituted Porphyrins, *Heterocyclic Chem*, 28, pp. 635-640.
- Gouterman, M. (1978). *The Porphyrins – Physical Chemistry* Nova York, Academic Press.
- Gravier, J.; Schneider, R.; Frochot, C.; Bastogne, T.; Schmitt, F.; Didelon, J.; Guillemin, F.; Barberi-Heyob, M. (2008). Improvement of meta-tetra(Hydroxyphenyl)chlorin-Like Photosensitizer Selectivity with Folate-Based Targeted Delivery. Synthesis and in Vivo Delivery Studies, *J. Med. Chem.* 51, pp. 3867-3877.
- Grenha, A.; Seijo, B.; Renuián-López, C. (2005). Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery, *Eur. J. Pharm. Sei.*, 25, pp. 427-437.
- Hedges, A. R. (1998). Industrial Applications of Cyclodextrins, *Chem. Rev.*, 98, pp. 2035-2044.
- Hongcharu, W. (2000). Topical ALA-Photodynamic Therapy for the Treatment of Acne Vulgaris, *J. Invest. Dermatol.*, 115, pp. 183-192.
- Horio, T. *et al.* (2003). Photodynamic Therapy of Sebaceous Hyperplasia with Topical 5-Aminolaevulinic Acid and Slide Projector., *Br. J. Dermatol.*, 148, pp. 1274-1276.
- Hutener, C. A.; Sanders, J. K. M. (1990). The nature of  $\pi$ - $\pi$ : interactions., *Journal of the American Chemical Society*, 112, pp. 5525-5534.

Hynninen, P.H.; Nyman, E.S. (2004). Resherch Advances in The Use of Tetrapyrrolic Photosensitizers For Photodynamic Therapy, *Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology*, 73, pp. 1-28.

<[http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula\\_animal](http://pt.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_animal)>

<<http://pt.wikipedia.org>>

<<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/59/Porphin.png>>

<<http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/minimaquinas-dentro-do-seu-corpo.shtml>

<<http://www.ciberdroide.com/wordpress/%C2%BFque-dice-la-ciencia-sobre-la-posibilidade-de-crear-un-parque-jurasico/>>

<[http://www.google.pt/imgres?imgurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/images/lipossomo.jpg&imgrefurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/minimaquinas-dentro-do-seu-corpo.shtml&h=445&w=400&sz=24&tbnid=MBE43UXe3I6QnM:&tbnh=91&tbnw=82&zoom=1&usg=\\_\\_YnzNw8qD6Rg6exRp5H8\\_vIQlrGM=&docid=jOrhyiwHuNf48M&sa=X&ei=ARNAUpmOKJKVhQfFqoHQAQ&ved=0CEgQ9QEwBQ&dur=338](http://www.google.pt/imgres?imgurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/images/lipossomo.jpg&imgrefurl=http://veja.abril.com.br/saladeaula/030809/minimaquinas-dentro-do-seu-corpo.shtml&h=445&w=400&sz=24&tbnid=MBE43UXe3I6QnM:&tbnh=91&tbnw=82&zoom=1&usg=__YnzNw8qD6Rg6exRp5H8_vIQlrGM=&docid=jOrhyiwHuNf48M&sa=X&ei=ARNAUpmOKJKVhQfFqoHQAQ&ved=0CEgQ9QEwBQ&dur=338)>

<<http://www.medicina.ufmg.br/inct/?p=2165>>

<<http://www.scientificpsychic.com/health/vitaminas-y-minerales.html>>

<<http://www-medlib.med.utadh.edu/NetBiochem/hi2.htm> consultado de 06/06/2013>

Jori, G. (1996). Tumor Photosensitizers: Approaches to enhance the Selectivity and Efficiency of Photodynamic Therapy, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 36, pp. 87-93.

Jori, G. *et al.* (1984). Evidence for a major role of plasma lipoproteins as haematoporphyrin carriers *in vivo.*, *Cancer Letter*, 24, pp. 291-297.

Jori, G. J. (1992). Far-red Absorbing Photosensitizers: Their Use in The Therapy o Tumours, *Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 62, pp. 371-378.

Josefsen, L. B.; Boyle, R. W. ( 2008). Photodynamic therapy: novel third-generation photosensitizers one step closer?, *Brit. J. Pharmacol.*, 154, pp. 1-3

- Kasha, M., Rawls, H.R.; El-Bayoumi, M. A. (1965). The excitation model in molecular spectroscopy., *Pure Appl. Chem.*, 11, pp. 371-392.
- Keam, S. J.; Scott, L. J.; Curran M. P, (2003). Verteporfin: a review of its use in the management of subfoveal choroidal neovascularisation, *Drugs*, 63, pp. 2521-2554.
- Kessel, D.; Byrne, C. R.; Ward, A. D. (1991). Photophysical and photobiological properties of diporphyrin ethers, *Photochem. Photobiol.*, 53, pp. 469-474.
- Kessel, D.; Morgan, A.; Garbo, G.M. (1991). Sites and efficacy of photodamage by tin etiopurpurin *in vitro* using different deliver systems., *Photochem Photobiol.*, 54(2), pp. 193-196.
- Kimura, M.; Shirai, H. (2003). *The Porphyrin Handbook - Applications of Phthalocyanines*. Nova York, Academic Press.
- Klein, A. T. J.; Rösch, F.; Coenen, H. H.; Qaim, S. M. (2005). Labelling of manganese-based magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents with the positron emitter  $^{51}\text{Mn}$ , as exemplified by manganese-tetraphenyl-porphin-sulfonate ( $\text{MnTPPS}_4$ ) *Appl Rad Isot* 62, *Applied Radiation and Isotopes*, 62, pp.711-720.
- Konan, Y. N.; Gurny, R.; Alleman, E. (2002). State of the Art in the Delivery of Photosensitizers for Photodynamic Therapy, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 66, pp. 89-106.
- Konan, Y.N; Chevallier, J.; Gurny, R.; Allemann, E. (2003). Encapsulation of p-THPP into nanoparticles: cellular uptake, subcellular localization and effect of serum on photodynamic activity. *Photochem. Photobiol.*, 77(6), pp. 638-644.
- Krammer, B., Plaetzer, K. (2008). ALA and its Clinical Impact, from Bench to Bedside, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 7, pp. 283-289.
- Kruk, N. N.; Shishporenok. S. I.; Korotky, A. A.; Galievsky, V.A.; Chirvony, V. S.; Turpln, P.Y. (1998). Binding of the cationic 5,10,15,20-tetrakis(4-N-methylpyridyl) porphyrin at 5'CG3' and 5'GC3' sequences of hexadeoxyribonucleotides: triplettriplet transient absorption, steady-state and time-resolved fluorescence and resonance Raman studies, *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 45, pp.67-74.

- Lascelles, J. (1964). *Tetrapyrrole Biosynthesis and its Regulation*. Nova York., A. Benjamim, Inc.
- Lehninger;R, A. L; Nelson, D.L; Cox, M. M. (2000). *Princípios de Bioquímica*. São Paulo.Sarvier, São Paulo.
- Li, H. D.; Fedorova, O. S.; Grachev, A. N.; Trumble, W. R.; Bohach, G. A. Czuchajowski, L (1997). *Biochimica et Biophysica Acta-Cene Structure and Expression* 1354, pp. 252-260
- Lindner, K.; Saenger, W. (1982). Crystal and Molecular Structure of Cyclohepta-amylose Dodecahydrate, *Carbohyd. Res.*, 99, pp. 103-115.
- Lindsey, L. S.; Schreiman, I. C.; Hsu, H. C.; Kearney, P. C.; Marguerattaz, A. M. (1987). Rothmund and Adler-Longo Reactions Revisited: Synthesis of Tetraphenylporphyrins Under Equilibrium Conditions, *J. Org. Chem.* 52(5), pp. 827-836.
- Lipson R. L, Gray MJ, Baldes E. J. (1966). Hematoporphyrin derivative for detection and management of cancer, *Ninth Internat. Cancer Congr.*, Tokyo,Japan, pp. 393
- Luz, P. P.; Pires, A. M.; Serra, O. A. (2007). A low-cost ultrasonic spray dryer to produce spherical microparticles from polymeric matrices, *Quim. Nova*, 30(7), pp. 1744-1746.
- Machado, A. E. da H. (2000). Terapia Fotodinâmica: Princípios, Potencial de Aplicação e perspectivas, *Química Nova*, 23 (2), pp. 237-243.
- Machado, A.E.H. (2000). Terapia Fotodinâmica: Princípios. Potencial de Aplicação e Perspectivas, *Química Nova*, 25(2), pp. 236-243.
- Machado, A. E. H. (2000). Terapia Fotodinâmica: Princípios, Potencial de Aplicação e Perspectivas. *Química Nova*, 23(2), pp.236-243.
- Maeda, H.; Osuka, A.; Furuta, H. (2003). Hydrogen Bonding 1D Chain Network of Cis-Doubly N-Confused Porphyrins, *Supramol. Chem.*, 15, pp. 447-450.
- Menezes, P. F. C. (2006). *Estudos Espectroscópicos e Citotóxicos doPhotogem® Fotodegradado e dos Fotoprodutos Formados pela Irradiação com Laser*. (Tese de

Doutoramento em Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos - USP, São Carlos

Michels, S.; Schmidt-Erfurth U. (2003). Sequence of early vascular events after photodynamic therapy, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44, pp. 2147-2154.

Milgrom, L. R. (1997). *The colours of Life: an Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*. Oxford, Oxford University Press.

Moan, J.; Peng, Q.; Evensen, J. F.; Berg, K.; Western, A.; Rimington, C. (1987). Photosensitizing efficiencies, tumor- and cellular uptake of different photosensitizing drugs relevant for photodynamic therapy of cancer, *Photochem. Photobiol.*, 46, pp. 713-721.

Moore, C. M. *et al.* (2006). Photodynamic Therapy Using *Meso* Tetra Hydroxy Phenyl Chlorin (mTHPC) in Early Prostate Cancer, *Lasers Surg. Med.*, 38, pp.356–363.

Morton, C. A., *et al.* (2001). Photodynamic Therapy for Large or Multiple Patches of Bowen Disease and Basal Cell Carcinoma, *Arch. Dermatol.*, 137, pp. 319-324.

Moss, G. P.; Smith, P. A. S.; Tavernier, D. (1995). Glossary of Class Names of Organic Compoundas and Reactive Intermediates Based on Struture, *Appl. Chem.*, 67, pp. 1307-1375.

Nascimento, B. F. O.; Pineiro, M.; Gonsalves, A. M. d'A. Rocha; Silva, M. R.; Beja, A. M.; Paixão, J. A. J. (2007). Microwave-Assisted-Synthetic Method, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 11, pp. 77-84.

Nathan, T. R. *et al.* (2002). Photodynamic Therapy for Prostate Cancer Recurrence after Radiotherapy: a Phase I Study, *J. Urol.*, 168, pp. 1427–1432.

Oliveira, K. T. *et al.* (2008). Synthesis of New Amphilic Chlorin Derivatives From Protoporfirin-IX Dimethyl Ester., *Tetrahedron*, 64, pp.8709-8715.

Oliveira, O. V. (2011).Encapsulamento da porfirina Fosca® em ciclodextrina, 4º Encontro Nacional de Tecnologia Química, Rio de Janeiro 22 a 23 de Agosto

- Oseroff, A. R. *et al.* (2005). Treatment of Diffuse Basal Cell Carcinomas and Basaloid Follicular Hamartomas in Nevroid Basal Cell Carcinoma Syndrome by Wide-Area 5-Aminolevulinic Acid Photodynamic Therapy, *Arch. Dermatol.*, 141, 60-67.
- Parkash, J. *et al.* (1998). Depolarized resonance light scattering by porphyrin and chlorophyll a aggregates, *Biophysical Journal*, 74, pp. 2089-2099.
- Pasternack, R. F.; Giannetto, A.; Pagano, P.; Gibbs, E. J. (1991). Self-assembly of porphyrin on nucleic acids and polypeptides, *Journal of the American Chemical Society* 113, pp. 7799-7800.
- Peixoto, I. N. *et al.* (2011). 34<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química
- Perrussi, J. R. (2007). Inativação Fotodinâmica: Princípios, *Química Nova*, 30(4), pp. 988-994.
- Perussi, J.R. (2007). Inativação Fotodinâmica de Microrganismos., *Química Nova* 30(4), pp. 988-994
- Phillips, J. N (1960).The ionization and Coordination Behavior of Porphyrins, *Rev. Pure Appl Chem.*, 10, pp. 35.
- Policard A. (1924). Etudes sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood, *C. R. Soc. Biol.*, 91, p.1423.
- Purrello, R.; Gurrieri, S.; Lauceri, R. (1999). Porphyrin Assemblies as Chemical Sensors, *Coord. Chem. Rev.* 190, pp. 683-706.
- Raab O. (1900). Uber die wirkung fluoreszierender stoffe auf infusorien. *Z. Biol.*, 39, pp.524
- Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, I. M.; Moore, P. K. (2004). *Quimioterapia do Câncer. In: Farmacologia* Rio de Janeiro, Elsevier, 50, pp. 789-809.
- Redmond, R.W.; Kochevar, I. E. (2006) Spatially Resolved Cellular Responses to Singlet Oxygen, *Photochemistry and Photobiology*. 82, pp. 1178-1186
- Ribeiro, J. N. (2005). *Avaliação da Atividade Fotodinâmica de Porfirinas para Uso em Terapia Fotodinâmica* (Tese de Doutorado em Química) - UNICAMP, Campinas.

- Richelli, F. (1995). Photophysical properties of porphyrins in biological membrane, *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, 29, pp. 109-118.
- Rimington, C.; Kennedy, G.Y. (1962). *Comparative Biochemistry*. Nova York, M. Florkins e H. S. Mason Academic Press.
- Rodriguez, M. E.; Awrueh, J.; Dicelio, L. J. (2002). Photophysical properties of Zn(II) incorporated into liposomes., *J Porphyr Pathalocyanin.*, 6(2), pp. 122-129.
- Rothmund, P. J. (1935). Formation of Porphyrins From Pyrroles and Aldehydes, *Am. Chem., Soc.*, 57, pp. 2010-2011.
- Rothmund, P.; Menotti, A. R. (1941). Porphyrin Studies. IV. 1 The Synthesis of  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , -Tetraphenylporphine., *Am. Chem. Soc.*, 63, pp. 267-270.
- Sari, M. A.; Battioni, J. P.; Dupre, D.; Mansuy, D.; Lepecq. J. B. (1988). Cationic porphyrin-DNA interactions: Importance of the number and position of the charges, *Biochemical Pharmacology*, 37, pp. 1861-1862.
- Schutimaker, J.J. *et al.* (1996) Photodynamic Therapy: a Promising New Modality for The Treatment of Cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 34, pp. 3-12.
- Sehlstedt, U.; Kim. S. K.; Carter, P.; Goodisman, J.; Vollano, J. F.; Norden, B.; Dabrowiak, J.C. (1994). Interaction of Cationic Porphyrins with DNA?, *Biochemistry*, 33, pp. 417-426.
- Shaffazick, S. R.; Guterres, S.S.; Freitas, L. L.; Pohlmann, A. R. (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos, *Quim. Nova*, 26(5), pp. 726-737.
- Sharman, W. M.; Allen, C. M.; Van Lier, J. E. (1999). Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications, *Drug Discovery Today.*, 4, pp. 507 - 517
- Shibata *et al.* (2000). Photodynamic Therapy: a New Concept in Medical Treatment, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33, pp. 869-880.
- Sibata, M. N.; Tedesco, A. C.; Marchetti, J .M. (2004). Photophysicals and photochemicals studies of zinc (TI) phthalocyanine in long time circulation micelles for

photodynamic therapy use, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23, pp. 131-138.

Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Kappe, C. V. (2005). Porphyrins in Diels-Alder reactions. Improvements on the synthesis of a barrelene-fused chlorin using microwave irradiation, *Tetrahedron Lett.*, 46, pp.4723-4726.

Simplício *et al.*(2002). Terapia Fotodinâmica: Aspectos Farmacológicos e Avanços Recentes no Desenvolvimento de Medicamentos, *Química Nova*, 25(5), pp. 801-807.

Simplício, F. I.; Maionchi, F.; Hioka, N. (2002). Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos., *Quim. Nova* 25(5), pp. 801-807.

Smith, K. M. (1975). *Porphyrins and Metalloporphyrins*; Amesterdão, Elsevier.

Smith, K. M. (1979). *Comprehensive Organic Chemistry-The Synthesis and Reactions of Organic Compounds*. Oxford, Barton, D.; Ollis, W. D., Pergamon Press.

Smith, K. M. (2000). *The Porphyrin Handbook*. Nova Iorque, Academic Press.

Soares, R. R. S. (2006) *Estudo de Propriedades da Clorofila a e da Feofitina a visando Terapia Fotodinâmica* Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

Solladie, N.; Hamel, A.; Gross, M. (2000). Synthesis of Multiporphyrinic alpha-polypeptides: towards the study of themigration of an excited state for the mimicking of the natural light harvesting device, *Tetrahedron Lett.*, 41, pp. 6075-6078.

Song,W. ; Wang, K. K. ;Zinsmeister, A. R. (1998). Mono-L-aspartyl chlorin e<sub>6</sub> (NPe<sub>6</sub>) and hematoporphyrin derivative (HpD) in photodynamic therapy administered to a human cholangiocarcinoma model, *Cancer*, 82, 421-427.

Stables, G. I., *et al.* (1997). Large Patches of Bowen's Disease Treated by Topical Aminolaevulinic Acid Photodynamic Therapy, *J. Dermatol.*, 136, pp. 957-960.

Stables, G. I.; Ashe, D. V. (1995). Photodynamic therapy, *Cancer Treatment Reviews*, 21, pp. 311-323.

- Stender, I. M. *et al.* (2000). Photodynamic Therapy With 5-Aminolaevulinic Acid or Placebo For Recalcitrant foot and Hand Warts : Randomised Double-Blind Trial, *Lancet*, 355, pp. 963-966.
- Sternberg, E.D; Dolphin, D. (1998) Porphyrin - based Photosensitizers for use in Photodynamic Therapy., *Tetrahedron* 54, n.17, pp.4151-4202
- Stewart, F.; Baas, P.; Star, W. (1998). What does photodynamic therapy have to offer radiation oncologists (or their cancer patients)?, *Radiotherapy and Oncology*, 48, pp. 233-248.
- Sutedja, T.; Baas, P.; Stewart, F.; van Zandwijk, F. (1992). A Pilot Study of Photodynamic Therapy in Patients With Inoperable Non-Small Cell Lung Cancer, *Eur. J. Cancer*, 28, pp. 1370-1373.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry., *Chem. Rev.*, 98, pp. 1743-1753.
- Tappeiner von H. A., Jodlbaue R. (1907). Die Sensibilisierende Wirkung Fluoreszierender Substanzen: Gesam Melte Untersuchugen Uber Die Photodynamische Erscheinung. Leipzig, Germany, F.C.W. Vogel, pp.1-210.
- Tappeiner von, H; Jesionek, A. (1903) Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden stoffen, *Muench Med. Wochenschr.*, 47, pp. 2042-2044.
- Tian, H. J.; Inoue, K.; Yoza, K.; Ishi-I, T.; Shinkai, S. New Organic Gelalors Bearing a Porphyrin group: A new Strategy to Create ordered Porphyrin Assemblies (1998). *Chem. Lett.*, 871-872.
- Tian, Y. Y.; Wang, L. L.; Wang,W.(2008). Progress in Photodynamics Therapy on Tumors., *Laser Phys.*, 18, 1119-1123.
- TjahJono; D. H.; Akutsu, T.; Yoshioka, N.; Inoue, H. (1999). Cationic porphyrins bearing diazolium rings: Synthesis and their interaction with calf thymus., *DNA, Biochim. Biophys. Acta*, 1472, pp. 333-343.
- Tome, J. P. C. *et al.* (2007). Synthesis of Neutral and Cationic Tripyridylporphyrin-D-Galactose Conjugates and the Photoinactivation of HSV-1, *Bioorg. Med. Chem.*, 15, pp. 4705-4713.

- Tossi, A. *et al.* (2003). Small hydroxyethylene-based peptidomimetics inhibiting both HIV1 and *C. albicans* aspartic proteases, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11, pp. 4719-4727.
- Triesscheijn, M.; Baas, P.; Schellens, H. M.; Stewart, F. A. (2006). Photodynamic Therapy in Oncology, *The Oncologist*, 11, pp. 1034-1044.
- Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie; Irie, T. (1998). Cyclodextrin Drug Carrier Systems, *Chem. Rev.*, 98, pp. 2045-2076.
- Via, L. D.; Magno, S. M. (2001). Photochemotherapy in the treatment of cancer., *Curr. Med. Chem.* 8, pp. 1405-1418.
- Webber, J.; Herman, M.; Kessel, D.; Fromm, D. (2000). Photodynamic treatment of neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. Langenbeck's, *Archives of Surgery*, 385, pp. 299-304.
- Weishaupt; K. R; Gomer; C.J; Doughert ;T.J. (1976). Identification of Singlet Oxygen as the Cytotoxic Agent in Photoinactivation of a Murine Tumor, *Cancer Res.*, 36, pp. 2326-2329.
- Winkelman, J. W. (1985). Quantitative studies of tetraphenylporphinesulfonate and hematoporphyrin derivative distribution in animal tumor systems., *Adv. Exp. Med. and Biol.*, 193, pp. 91-96.
- Wyss, P. *et al.* (2001). Photodynamic Therapy of Locoregional Breast Cancer Recurrences Using a Chlorin-Type Photosensitizer, *Int. J. Cancer*, 2001, 93(5), pp. 720-724.
- <[www.tudosobreplantas.net](http://www.tudosobreplantas.net)>
- Yushmanov, V. E.; Imasato, H.; Tominaga, T. T.; Tabak, M. (1996). 1h Nmr And Electronic Absorption Spectroscopy Of Paramagnetic Water-Soluble Meso-Tetraarylsubstituted Cationic And Anioni Metalloporphyrins, *J. Inorganic Biochem.*, 61, pp. 233-250.
- Zaak, D. *et al.* (2003). 5-Aminolevulinic Acid Induced Fluorescence Endoscopy-a New Technique to Monitor Nd:Yag Laser Treatment of Bladder Carcinoma, *Laser Appl.*,13, pp. 91-95.