

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**GRADUAÇÃO EM QUÍMICA LICENCIATURA**

**Terapia fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia.**

**Thiago Vieira Soares dos Santos**

**Uberlândia**  
**2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**GRADUAÇÃO EM QUÍMICA LICENCIATURA**

**Terapia fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia.**

**Thiago Vieira Soares dos Santos**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de licenciado em química pela Universidade Federal de Uberlândia.**

**Orientação: Profa. Dra. Tayana Mazin Tsubone**

**Uberlândia**  
**2020**

**Terapia fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia.**

Thiago Vieira Soares dos Santos

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de licenciado em química pela Universidade Federal de Uberlândia.

Orientação: Profa. Dra. Tayana Mazin Tsubone

Uberlândia, 10 de dezembro de 2020

**Banca Examinadora**

---

Profa. Dra. Tayana Mazin Tsubone

---

Profa. Dra. Harumi Otaguro

---

Profa. Dra. Renata Galvão de Lima

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por me ajudar a superar as dificuldades e adversidades vividas, aos meus pais, familiares, e minha namorada por estarem ao meu lado durante o período de graduação me apoiando e me incentivando.

Aprecio a professora orientadora Dra. Tayana Mazin Tsubone pelos seus conhecimentos e por ter me direcionado com todas as condições necessárias para a elaboração e conclusão deste trabalho.

Sou muito grato a professora Dra. Maria Stela da Costa Gondim que infelizmente não está mais conosco, mas que pode colaborar muito para a minha formação acadêmica e pessoal, não permitindo que eu desistisse da universidade em um momento bem difícil.

Agradeço também a todos os docentes e discentes que percorreram durante esses anos de graduação, incluindo Nicéa Quintino Amaro, Carol Gonçalves de Oliveira, Rafael Willian, Bruno Rodovalho, e a todos que mesmo não mencionados aqui conheci durante este período e que de alguma forma acrescentaram conhecimentos e valores à minha vida.

## RESUMO

A terapia fotodinâmica (TFD) emergiu como uma alternativa pouco invasiva para o tratamento e diagnóstico de câncer. Luz, oxigênio e fotossensibilizadores (FSs) são os elementos básicos para a TFD. Com a irradiação da luz no comprimento de onda adequado para excitar os FSs, eles podem produzir espécies reativas de oxigênio (EROs) induzindo a morte celular por apoptose, necrose ou autofagia. Um dos desafios é que os FSs tradicionais na maioria deles possuem baixa estabilidade em condições fisiológicas, baixa especificidade para as células tumorais e natureza hidrofóbica, o que causa uma auto agregação, diminuindo a eficiência do tratamento da TFD. Nanocarreadores com propriedades adequadas surgiram como uma alternativa atraente para superar as limitações dos FSs e dos sistemas de irradiação de luz. Nesta revisão foi apresentado os desafios atuais do uso da TFD, e abordado de forma resumida alguns dos muitos avanços de vários nanomateriais, incluindo diversas nanopartículas, biodegradáveis e não biodegradáveis que propiciam um aumento da eficiência da TFD.

*Palavras-chave: Terapia fotodinâmica; fotossensibilizadores; nanocarreadores e câncer.*

## ABSTRACT

Photodynamic therapy (PDT) has emerged as a less invasive alternative for the treatment and diagnosis of cancer. Light, oxygen and photosensitizers (PSs) are the basic elements for PDT. With the irradiation of light at the appropriate wavelength to excite the PSs, they can produce reactive oxygen species (ROS) inducing cell death by apoptosis, necrosis or autophagy. One of the challenges is that traditional PSs in most of them have low stability under physiological conditions, low specificity for tumor cells and hydrophobic nature, which causes self-aggregation, decreasing the efficiency of the treatment of PDT. Nanocarriers with suitable properties have emerged as an attractive alternative to overcome the limitations of PSs and light irradiation systems. This review presented the current challenges of using PDT, and briefly addressed some of the many advances in various nanomaterials, including several nanoparticles, biodegradable and non-biodegradable that provide an increase in the efficiency of PDT.

*Keywords: Photodynamic therapy; photosensitizers; nanocarriers and cancer.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas do procedimento da Terapia fotodinâmica. -----	13
Figura 2 – Mecanismo da terapia fotodinâmica (TFD). -----	16
Figura 3 – Esquema de reações envolvidos na formação de EROs -----	18
Figura 4 – Representação do diagrama de orbital molecular do oxigênio nos estados triplete e singlete nos níveis 2s e 2p. -----	20
Figura 5 – Ilustração de uma peroxidação lipídica. -----	22
Figura 6 – Formação de 8OHdG por EROs a partir da guanina. -----	23
Figura 7 - Estrutura de Lewis do radical hidroxila e do íon hidroxila. -----	23
Figura 8 – Representação esquemática da geração de EROs e alguns danos gerados em biomoléculas. A ativação do O <sub>2</sub> ocorre por dois mecanismos diferentes. A redução monovalente de O <sub>2</sub> leva à formação de O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e <sup>•</sup> OH, enquanto a transferência de energia do fotossensibilizador no estado triplete para O <sub>2</sub> leva à formação de <sup>1</sup> O <sub>2</sub> . O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> sofre dismutação para H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> tanto não enzimaticamente quanto por reação catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD). H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> é convertido em H <sub>2</sub> O por catálise de enzimas CAT, GPX e APX. Em seguida essas espécies reativas leva a oxidação de biomoléculas como proteínas, lipídeos e DNA. -----	24
Figura 9 – Estrutura básica de FSs. -----	25
Figura 10 – Estrutura do Photofrin®. -----	27
Figura 11 - Espectro de absorção do Photofrin vs Tookad. -----	29
Figura 12 – Estruturas químicas de alguns FSs de 2° geração. -----	29
Figura 13 – Lasers acoplados em diferentes fibras com: (a) microlentes, (b) difusor esférico, (c) difusor cilíndrico e (d) aplicador de balão com fibra envolvida por espalhamento médio. -----	34

Figura 14 - Janela terapêutica: a faixa espectral de luz visível caracterizada por uma alta profundidade de penetração nos tecidos biológicos. Nessa faixa, os tecidos também são os mais transparentes. ....	38
Figura 15 – Formação de agregado de Porfirina por interação $\pi$ - $\pi$ . ....	39
Figura 16 – Diagrama esquemático de alguns exemplos de formulação de FSs em NPS: (A) lipossoma, (B) nanopartícula de polímero/sílica e (C) nanogel automontado e (D) nano bastão de ouro. ....	41
Figura 17 – Abordagem geral de carregamento de FS em NPs poliméricas .....	43
Figura 18 – (A) Imagem de fluorescência in vivo dos camundongos com tumor 4T1 (marcas de círculo vermelho indicam os locais do tumor) em 2, 6, 12 e 24h após a injeção intravenosa de TPPS e micelas de PEG-TPP-DNB. B) Imagens representativas de tumores no final dos tratamentos. ....	45
Figura 19 – Estrutura da Ftalocianina de Silício e espectro de absorção de AuNPs com Pc4.....	47
Figura 20 – Esquema da síntese de PEG-MSNs/ZnPc e PEG-PEI-MSNs/ZnPc. (a) MSNs, (b) MSNs Ativada com CDI, (c) CDI-MSNs/ZnPc Ativada, (d) PEI-MSNs/ZnPc, (e) PEG-MSNs/ZnPc, e (f) PEG-PEI-MSNs/ZnPc. ....	48
Figura 21 - Efeitos antitumorais do grupo PEG-PEI-MSN-/ZnPc + Luz versus grupos de controle (PEG-PEI-MSNs/ZnPc e luz isolados. ....	49



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-ALA	Ácido 5-aminolevulínico
8-OHdG	8-hidro-guanina
AgNPs	Nanopartículas de prata
AM	Azul de Metileno
APX	Enzima Ascorbato peroxidase
AuNPs	Nanopartículas de ouro
AuNRs	Nanobastões de ouro
CAT	Enzima Catalase
CDI	1,1'-carbonildimidazol
DMRI	Degeneração macular relacionada à idade
DNB	2,4-dinitrobenzeno
EPR	Efeito de permeação e retenção
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FS	Fotossensibilizador
GPX	Enzima Glutathiona peroxidase
HpD	Hematoporfirina
HPPH	2-divinil-(2-1-hexiloxietil) -pirofeorbida
ICG	Verde de Iodocianina
LDLs	Lipoproteínas de baixa densidade
mAbs	Anticorpos monoclonais
MDA	Malonaldeído
MSNs	Nanopartículas de sílica Mesoporosa

m-THPC	Foscan®, 5,10,15,20-tetra(m-hidroxifenil)clorina
NPs	Nanopartículas
Pc4	Ftalocianina de Silício
PEG	Poli-Etileno-Glicol
PEI	Polietilenimina
PLGA	Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)
PpIX	Protoporfirina IX
SNPs	Nanopartículas de sílica
SOD	Enzima Superóxido dismutase
SRE	Sistema reticuloendotelial
TFD	Terapia fotodinâmica
TPP	5,10,15,20-tetrafenil-porfirina
ZnPc	Ftalocianina de Zinco

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral .....	15
2.2 Objetivos específicos .....	15
3. METODOLOGIA.....	15
4. PRINCÍPIOS E MECANISMOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA.....	16
4.1 Reações do Tipo I .....	17
4.2 Reações do Tipo II .....	18
4.3 Oxigênio Singlete .....	19
5. OXIDAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS POR ESPÉCIES REATIVAS GERADAS .....	20
6. TIPOS DE FOTOSSENSIBILIZADORES .....	25
6.1 Fotossensibilizadores de 1º geração .....	26
6.2 Fotossensibilizadores de 2º geração .....	28
6.3 Fotossensibilizadores de 3º geração .....	30
7. FONTES DE LUZ .....	33
8. PRINCIPAIS DIFICULDADES ENCONTRADAS NA TFD ATÉ HOJE .....	37
9. A NANOTECNOLOGIA NA TERAPIA FOTODINÂMICA.....	40
9.1 Nanoestruturas biodegradáveis .....	42
9.1.1 Micelas Poliméricas e lipossomas .....	42
9.2 Nanoestruturas não biodegradáveis.....	45
9.2.1 Nanopartículas metálicas .....	45
9.2.2 Nanopartículas de sílica (SNPS) .....	47
10. CONCLUSÃO.....	51
11. REFERÊNCIAS .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o câncer está entre as quatro principais causas de morte em todo mundo. Em 2018, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (*em inglês: IARC - International Agency for Research on Cancer*), registrou mais de 18 milhões de novos casos, com um total de 9,6 milhões de óbitos em todo mundo, um aumento de 2 milhões de óbitos em 10 anos [1]. Estes números são expressivos, pois trata-se de números abaixo da taxa média da expectativa de vida, que é aos 70 anos. O envelhecimento, o crescimento populacional, mudança dos fatores de risco de câncer, aspectos socioeconômicos e fatores ambientais, em parte são causas relacionadas a estes números [2], [3].

Métodos convencionais como cirurgia, quimioterapia, radioterapia e tratamento hormonal, são comumente utilizados durante o tratamento em pessoas acometidas com o câncer. Apesar de possuírem uma eficácia validada, geram diversos efeitos colaterais que desencadeiam problemas ao longo da vida do paciente. Alopecia, infecções generalizadas, problemas neurológicos, perda de peso e alterações gastrointestinais são alguns exemplos dos efeitos colaterais com o uso desses métodos [4]. A escolha do tratamento é extensamente dependente do estágio evolutivo do câncer. Muitos tipos, como o câncer de pulmão por exemplo, podem ser tratados de forma efetiva por cirurgia, porém esse formato de tratamento, precede de um alto risco de reincidência e de desenvolver um câncer metastático, na qual o câncer se dissemina para vários órgãos do corpo [5].

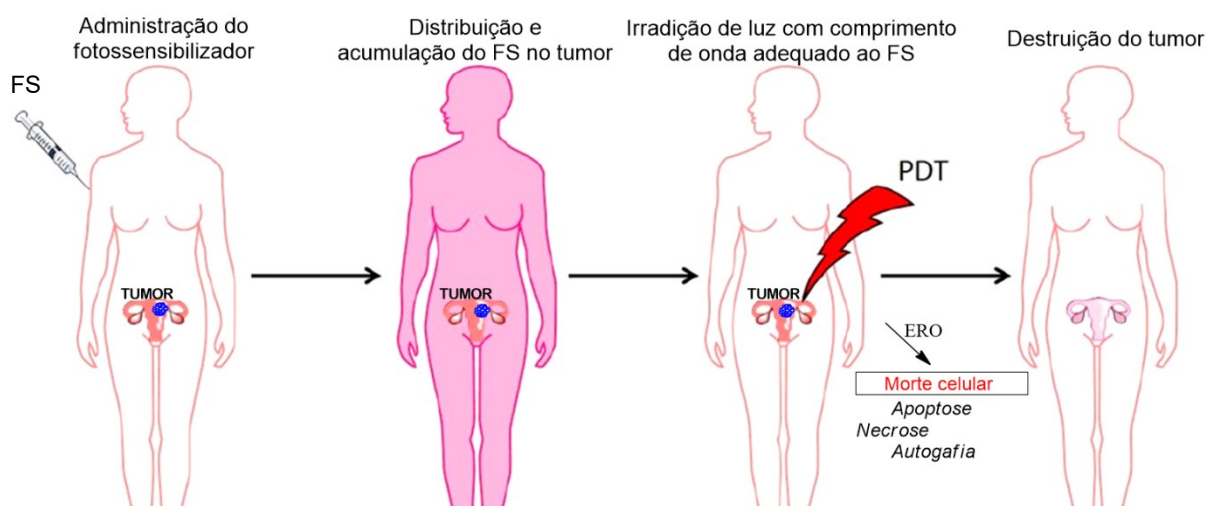
A quimioterapia pode ser usada como uma terapia adjuvante, na qual é realizada após a cirurgia, para destruir as células cancerígenas remanescentes no corpo [6]. Ela envolve uma grande desvantagem, com a administração de drogas intravenosas ou orais. Estas drogas quimioterápicas não são direcionadas especificamente para as células tumorais, desencadeando danos a tecidos saudáveis durante o tratamento [5].

Muito se tem avançado no diagnóstico precoce do câncer, gerando expectativas de tratamentos com o intuito de preservação do tecido saudável durante a cirurgia e ao longo do tratamento. Logo, as crescentes demandas por métodos terapêuticos minimamente invasivos ou até não invasivos para o câncer, levaram ao

desenvolvimento acelerado de tecnologias, como radioterapia tratamento por ultrassom, crioterapia, terapia fotodinâmica (TFD) [7]. A imunoterapia tem se mostrado como uma promissora terapia para o tratamento de câncer, apesar de possuir limitações, como o risco de gerar doenças autoimunes [8].

De modo surpreendente, a terapia fotodinâmica atraiu diversas atenções para ser usada como uma intervenção oncológica para uma variedade de tipos de câncer. Quando aplicada corretamente, a TFD tem nenhum ou mínimos efeitos colaterais, é menos invasiva do que a cirurgia, e pode geralmente ser direcionada com mais precisão do que a quimioterapia e, ao contrário da radioterapia, pode ser repetida várias vezes [3], [9]. Sua aplicação é relativamente simples, no qual o fármaco fotossensível pode ser administrado por via intravenosa ou tópica ao paciente, e os locais dos tecidos do tumor são irradiados seletivamente, causando a destruição celular citotóxica (Figura 1). Embora os FSs e a luz sejam inofensivos por si só, ou seja, o FS não possui toxicidade no escuro, quando combinados fornecem um efeito terapêutico localizado, pois a irradiação é realizada apenas no tecido tumoral. Assim evitando o ataque em células saudáveis e prevenindo efeitos colaterais. Isso porque a energia absorvida da luz é capaz de ativar alguns mecanismos químicos que não ocorreriam na ausência de luz [5].

**Figura 1 – Etapas do procedimento da Terapia fotodinâmica.**



Fonte: Adaptado de [10].

O princípio da TFD baseia-se na ativação de uma molécula fotossensibilizadora sob um comprimento de onda de luz específico para cada molécula, de acordo com seus picos de absorção de energia visualizados em um espectro de absorção. Estas

moléculas que estão acumuladas nos tecidos tumorais, sob a irradiação, geram espécies reativas de oxigênio (EROs) que induzem a danos celulares significativos, destruição dos vasos sanguíneos do tumor e a estimulação da imunidade antineoplásica [11], [12].

O eixo da terapia fotodinâmica são as reações fotoquímicas com os fotossensibilizadores (FS), que são administrados de várias formas sistemáticas. Em uma das possíveis reações, o fotossensibilizador (FS), transfere energia de fóton recebido pela luz irradiada, para as moléculas de oxigênio circundantes, produzindo ERO, como por exemplo o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), que causam morte celular por diferentes vias. Como a citotoxicidade do FS é ativada pela luz, a TFD representa uma opção terapêutica mais coordenada e controlada. Além disso, a maioria dos FSs possuem a capacidade de fluorescência, atuando como agentes de contraste de imagem e agentes terapêuticos ao mesmo tempo, possibilitando a identificação e monitoramento de lesões cancerígenas com precisão durante o tratamento [8].

Para doenças avançadas, a TFD pode prolongar a sobrevida e melhorar a qualidade de vida do paciente devido a sua invasividade mínima, a TFD tem sido usada para tratar vários tipos de câncer e outras condições clínicas. Para o tratamento de condições pré-cancerosas, doenças infecciosas, doenças dermatológicas e até degeneração macular relacionada à idade (DMRI), que é uma doença que leva a perda da visão central. As vantagens incluem também custo-benefício, tratamentos altamente localizados, economia de matriz extracelular que permite a regeneração do tecido normal [12], [13].

O ponto central desse trabalho é descrever uma revisão atualizada dos conceitos gerais da TFD, e apontar algumas aplicações, bem como suas vantagens, desvantagens, e possíveis modificações utilizando a nanotecnologia para potencializar sua eficácia no tratamento de doenças oncológicas. Apesar de inúmeros estudos indicarem o uso de diversos fotossensibilizadores nas últimas três décadas, muito ainda precisa ser desenvolvido e estudado, como novos compostos, novas vias de entrega dos FSs através de nanocarreadores, e métodos inovadores com o objetivo de melhorar sua seletividade e aplicação, estabelecendo como resultante uma maior eficácia da terapia. Por isso, neste trabalho propõe-se explicar os

mecanismos envolvidos na TFD e apontar alternativas que viabilize o aumento da eficiência fotodinâmica.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Realizar um levantamento bibliográfico do uso da terapia fotodinâmica para o tratamento de doenças oncológicas, com enfoque em sistemas desenvolvidos e baseados na nanotecnologia que propiciam um aumento na eficiência da TFD.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Levantar discussões sobre as bases moleculares das reações de fotossensibilização;
- Relacionar abordagens que podem melhorar as propriedades fotoquímicas e fotofísicas dos FS;
- Investigar as pesquisas e trabalhos já realizados acerca das estratégias que possam aumentar a eficiência da TFD com base nos avanços aqui descritos.

## **3. METODOLOGIA**

O levantamento bibliográfico foi realizado levando em consideração a importância de tratamentos menos invasivos para o câncer, como a terapia fotodinâmica por exemplo, usando a nanotecnologia. Para a seleção dos artigos, foi utilizado como ferramenta as seguintes bases de dados online: SciELO, PubMed, ACS Publications, ResearchGate, Science Direct, Elsevier, SCIFinder e Web of Science.

Os critérios de inclusão foram artigos e teses publicados nos idiomas português e inglês, de 2000 a 2020, que apresentassem como palavras-chave as palavras: "Photodynamic therapy, photosensitizers, nanocarriers. cancer e nanotechnology. De 2010 a 2020, foram selecionados artigos que apresentassem apenas sistemas de entregas de drogas usando nanopartículas, que aumentassem a eficiência da terapia fotodinâmica no tratamento de oncológicas. Desde 1900 têm publicações do uso da TFD na medicina, mas apenas nas últimas décadas foram destinados mais esforços para investigação e melhoria dessa terapia, sendo empregada com sucesso em vários tipos de tumores.

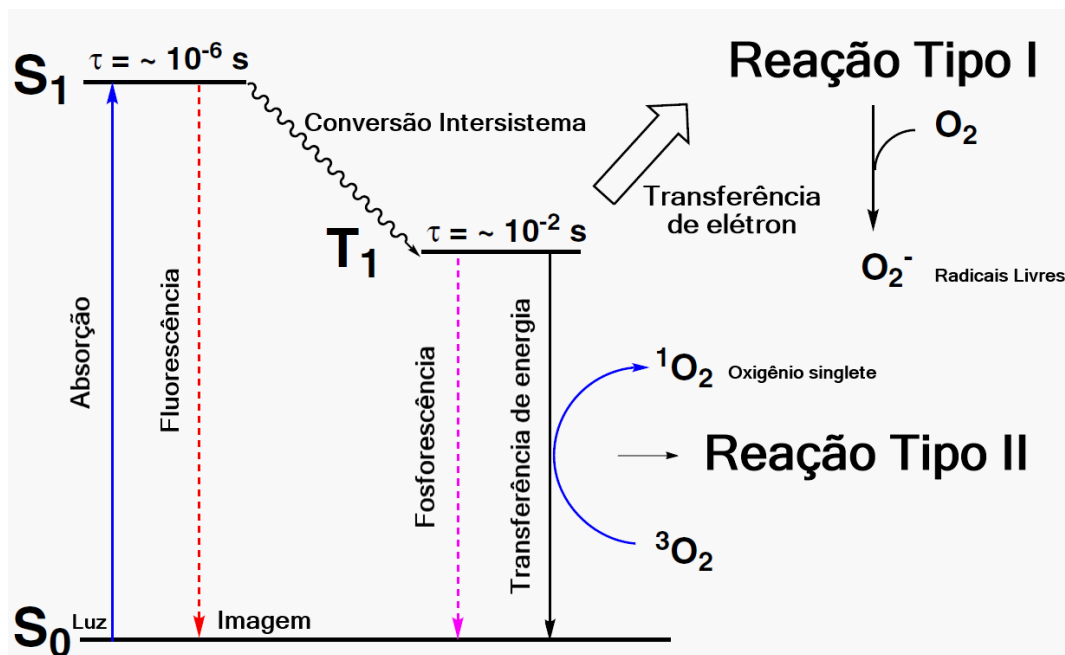
Após a identificação e avaliação dos artigos, foi realizada uma leitura crítica e interpretativa, de forma a selecionar e cruzar as informações para responder aos objetivos do estudo.

#### 4. PRINCÍPIOS E MECANISMOS DA TERAPIA FOTODINÂMICA

Os mecanismos fotofísicos e fotoquímicos da terapia fotodinâmica é baseado em três componentes básicos, o fotossensibilizador (FS), oxigênio nas células alvo e luz com comprimento de onda específico para determinado fotossensibilizador [14].

Após a absorção da luz, o fotossensibilizador excitado no estado tripleto, pode formar espécies reativas de oxigênio, induzindo à citotoxicidade por meio de dois mecanismos principais, denominados reações do tipo I e reações do tipo II, nas quais ambos são dependentes das moléculas de oxigênio presente nas células [12].

Figura 2 – Mecanismo da terapia fotodinâmica (TFD).



Fonte: Adaptado de [15].

A primeira fase de ambos os mecanismos é semelhante. Um fotossensibilizador é irradiado com um comprimento de onda de luz coincidente com o seu espectro de absorção para cada tipo de tratamento, e é convertido do estado fundamental de energia singlete  $S_0$  para o estado excitado singlete  $S_1$  de curta duração devido a absorção de fótons de luz ( $h\nu$ ), mantendo a multiplicidade da molécula igual a 1. Parte da energia é emitida na forma de fluorescência e a energia restante pode direcionar



para um cruzamento intersistema (Intersystem crossing) na qual há uma mudança do momento de spin do elétron excitado do FS, para formar um estado triplete excitado ( $T_1$ ), de vida relativamente mais longa com multiplicidade igual a 3. Essa é a forma terapêutica do FS que dará seguimento à formação das espécies reativas de oxigênio (ERO) (Figura 2) [3], [14]. Essa energia que pode decair e ser liberada na forma de fluorescência, também pode ser utilizada no âmbito clínico de diagnóstico, na utilização de imagens, na fotodeteção, identificando com maior precisão as áreas afetadas, guiando possíveis recessões [3].

#### 4.1 Reações do Tipo I

As reações do tipo I envolvem a produção de espécies reativas de oxigênio, (EROs) resultantes do FS ativado que reage com a membrana plasmática e/ou outros substratos no interior da célula. De acordo com a Figura 3, ocorre uma captação de hidrogênio ou a transferência de elétrons entre o fotossensibilizador no estado triplete  $T_1$  ( $^3FS^*$ ) e uma molécula adjacente (substrato), formando radicais iônicos. Estes radicais interagem com as moléculas de oxigênio que estão no seu estado fundamental ( $^3O_2$ ), levando a produção de EROs, como superóxidos ( $O_2^-$ ), radicais hidroxilas ( $OH^-$ ) e peróxidos de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Essas espécies reativas de oxigênio, induzem reações de oxidação em biomoléculas, causando um estado de estresse oxidativo nas células, e resultando na morte celular [12], [14].

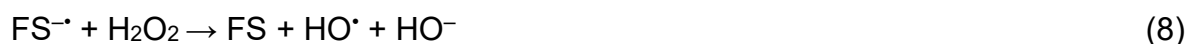
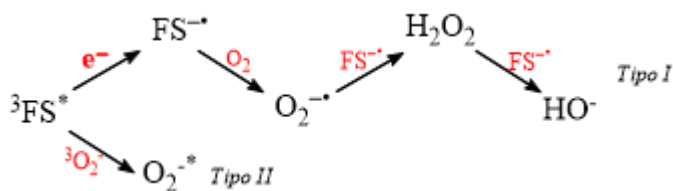


Figura 3 – Esquema de reações envolvidos na formação de EROs.



Fonte: Adaptado de [16].

A etapa inicial de transferência de um elétron consiste na produção do ânion do radical  $\text{FS}^{\bullet-}$  (Eq. 4). O ânion do radical FS pode ainda reagir com o oxigênio molecular ( ${}^3\text{O}_2$ ) para produzir o ânion do radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) (Eq. 5). O  $\text{H}_2\text{O}_2$  é gerado tanto pela dismutação ou desproporcionamento (ocorre redução e oxidação da mesma espécie) do ânion-radical superóxido (Eq. 6), quanto pela redução de um elétron deste superóxido (Eq. 7). O peróxido reage com os ânion do radical  $\text{FS}^{\bullet-}$ , produzindo o radical hidroxila ( $\text{HO}^{\bullet}$ ), um poderoso agente oxidante (Eq 8) [16], [17]. Essa é uma das possibilidades de reação para formação de EROs.

#### 4.2 Reações do Tipo II

As reações do tipo II envolve a geração de oxigênio singlete ( ${}^1\text{O}_2$ ) através da transferência direta de energia do fotossensibilizador excitado no estado triplete para o oxigênio também no estado triplete (Eq. 3), como ilustrado na Figura 2 [12]. Como a energia necessária para a transição do oxigênio do estado fundamental triplete para o estado singlete é de aproximadamente  $22,0 \text{ kcal.mol}^{-1}$ , o que corresponde a um comprimento de onda de 1274 nm (luz infravermelha), uma energia relativamente pequena é necessária apenas para produzir ( ${}^1\text{O}_2$ ) e essas reações são caracterizadas pela dependência da concentração de oxigênio [18].

A proporção entre os dois tipos de mecanismos, depende de vários fatores, incluindo: as características do fotossensibilizador utilizado, ambiente fisiológico anóxico ou hipóxico (pouca ou grande quantidade de oxigênio), constante dielétrica do tecido e pH, da afinidade de ligação do fotossensibilizador com o substrato alvo. A medida que a quantidade de oxigênio diminui, a reação do tipo I prevalece [14], [18]. Ambos os processos tipo I e tipo II ocorrem simultaneamente, no entanto, o Tipo II é o processo dominante na TFD. Logo é fácil concluir que, em comparação com o Tipo I, as espécies reativas de oxigênio geradas por meio da reação fotoquímica do Tipo II podem ser geradas com uma maior facilidade, o que também está envolvido na

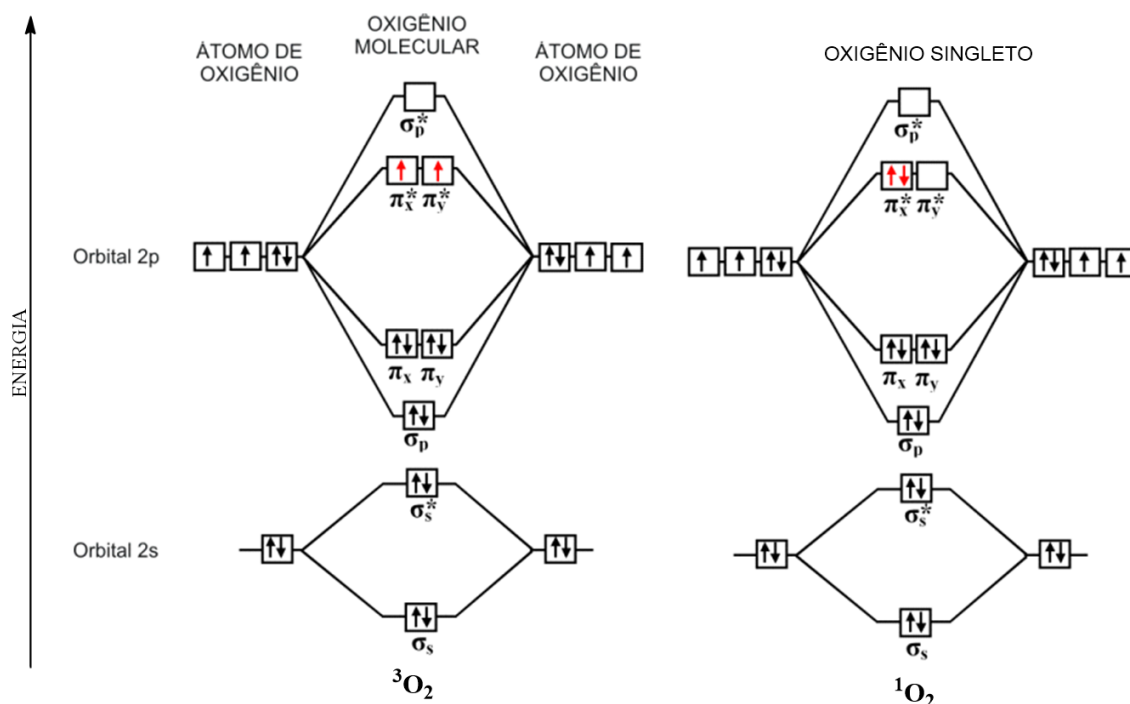
maioria dos processos da terapia, visto à complexidade das moléculas de radicais livres [16].

### 4.3 Oxigênio Singlete

O oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) é a causa ou o intermediário da toxicidade fotoinduzida do  $\text{O}_2$  em organismos vivos. O seu tempo de meia-vida depende muito do meio onde se encontra [17]. Em meio aquoso, sua meia-vida é cerca de 3,5-4,0  $\mu\text{s}$ , pois ele se choca com as moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  transferindo sua energia, desativando-se e retornando à forma de oxigênio triplete. Já em  $\text{D}_2\text{O}$  o tempo é de 68  $\mu\text{s}$ . Porém, em meio orgânico, a meia-vida do oxigênio singlete é maior, em solventes orgânicos sua vida útil é de até 100  $\mu\text{s}$  e em lipídios é de 50–100  $\mu\text{s}$ . O tempo de vida diminui drasticamente para 0,2  $\mu\text{s}$  dentro das células, devido à alta reatividade com substâncias biológicas [19]. A rápida reatividade e uma vida útil curta limitam a distribuição do oxigênio singlete nas células. Assim, os tratamentos da TFD estão localizados no ponto de geração de  $^1\text{O}_2$  [19], [20].

Através do diagrama de orbital molecular (figura 4), o oxigênio no estado fundamental, possui dois elétrons com momento de spins paralelos ( $+\frac{1}{2}$  e  $+\frac{1}{2}$ ), ocupando dois orbitais  $\pi^*$  de mesma energia, chamados de degenerados, possuindo o seu estado de mais baixa energia, caracterizando, portanto, um estado triplete (multiplicidade igual a 3). O oxigênio singlete no seu primeiro estado excitado ( $^1\Delta_g$ ) possui dois elétrons emparelhados com momento de spins opostos ( $+\frac{1}{2}$  e  $-\frac{1}{2}$ ) e um orbital vazio, garantindo um caráter eletrofílico e permitindo a adição mais efetiva de substratos nucleofílicos (sítios ricos em elétrons). Essas características os tornam espécies mais reativas, interagindo com biomoléculas, oxidando-as perdendo as funções biológicas [19], [21].

**Figura 4 – Representação do diagrama de orbital molecular do oxigênio nos estados triplete e singleto nos níveis 2s e 2p.**



Fonte: Adaptado de [21].

## 5. OXIDAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS POR ESPÉCIES REATIVAS GERADAS

Os radicais livres são produzidos naturalmente pelo organismo, por alguma disfunção biológica ou por indução com drogas. São espécies que contêm um ou mais elétrons desemparelhados e, portanto, resulta na reatividade destas espécies. A oxidação é parte fundamental do metabolismo e da vida aeróbica do organismo [17]. A fotossensibilização geralmente leva à oxidação, e afeta algumas propriedades das principais biomoléculas, como lipídios insaturados, ácidos nucleicos, proteínas e carboidratos. Esses efeitos podem levar a profundas consequências, como mutações, foto envelhecimento e / ou morte de células saudáveis e não saudáveis caso essas espécies sejam geradas no núcleo das células [20].

O estresse oxidativo moderado, ou seja, o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a sua remoção interrompe o ciclo celular ou pode levar as células à senescência; a célula sobrevive, mas não pode mais se dividir. O dano oxidativo grave pode desencadear a morte celular localmente por meio de uma interação complexa de apoptose, necrose e células associadas a autofagia [22]. De fato, as EROs atuam como gatilhos de apoptose e como participantes da apoptose

induzida [23]. A apoptose é geralmente a modalidade de morte celular programada mais proeminente e preferível que ocorre em respostas de células tumorais ao tratamento com a TFD; Ela ocorre através de várias vias de sinalização que são juntamente com as caspases, pertencentes a família das proteínas BCL-2, responsáveis pela clivagem de diversos substratos celulares induzindo a morte das células [5], [24].

As espécies reativas de oxigênio são quimicamente muito ativas e possuem uma ampla gama de efeitos em biomoléculas, promovendo danos e destruição de tecidos. EROs são moléculas de sinalização chave que desempenham um papel importante na progressão de doenças inflamatórias, que em concentrações baixas e moderadas, funcionam em processos fisiológicos como regulação do crescimento celular, adesão de células a outras células, diferenciação, senescência e apoptose, mas que em altas concentrações, produzem modificações adversas nos componentes celulares [25], [26]. As principais EROs distribuem-se em dois grupos, as radicalares: superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroxila ( $HO^{\cdot}$ ), peroxila ( $ROO^{\cdot}$ ) e alcóxila ( $RO^{\cdot}$ ); e as não-radicalares: oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e ácido hipocloroso ( $HOCl$ ) [17].

Dentre todas as EROs, o radical hidroxila é a espécie mais deletéria ao organismo, devido à sua meia-vida muito curta em água, cerca de 9 nanossegundos, a torna difícil de ser sequestrada [26]. Além de serem gerados através de reações com  $FS^{\cdot-}$  (Eq.8), também podem ser gerados pela reação de Fenton, uma reação de oxidação do peróxido de hidrogênio com algum metal de transição reduzido que tenha um potencial de redução medido em volts (v) menor que o do  $H_2O_2$  (Eq. 9) [17].

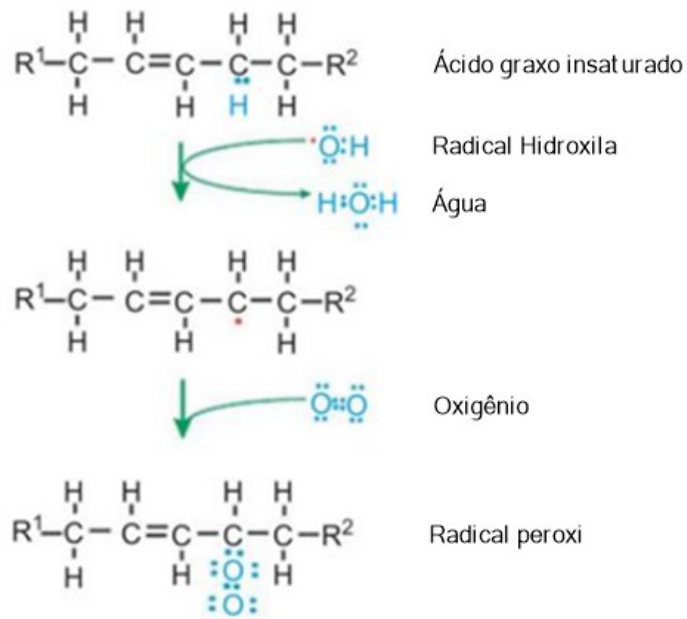


Estes radicais atacam moléculas por abstração de hidrogênio e por adição a insaturações. Causam danos ao DNA, RNA, às proteínas, lipídios e membranas celulares do núcleo e mitocondrial. Esses danos por oxidação de DNA podem levar à inativação ou mutação, induzindo o desenvolvimento de câncer em seres humanos [17].

Os lipídeos são muito sensíveis a modificação oxidativa por EROs. Estas espécies reativas de oxigênio podem induzir peroxidação lipídica através da formação

dos radicais peroxila que são a fase de propagação da peroxidação lipídica (Figura 5) e interromper o arranjo da bicamada lipídica da membrana que pode inativar receptores e enzimas ligados à membrana e aumentar a permeabilidade do tecido [27]. Os produtos dessa peroxidação lipídica como o malonaldeído (MDA) e os aldeídos insaturados, são capazes de inativar muitas proteínas celulares por meio da formação de ligações cruzadas de proteínas [27], [28].

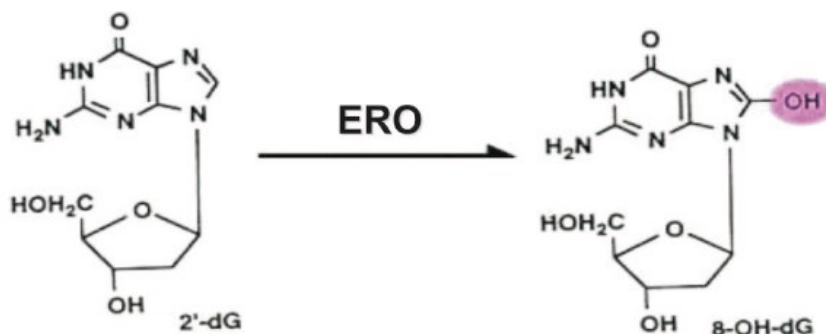
**Figura 5 – Ilustração de uma peroxidação lipídica.**



Fonte: Adaptado de [27].

O estresse oxidativo pode impedir os mecanismos de reparo do DNA ou danificar diretamente o DNA por dano à base de nucleotídeo ou fita de DNA [29]. Produtos específicos de oxidação do DNA, como a 8-hidro-guanina (8-OHdG) por exemplo, um composto altamente mutagênico, é produzida como resultado da incorporação de um radical hidroxila ao carbono 8 da base nitrogenada guanina (2'-dG) (Figura 6) [30].

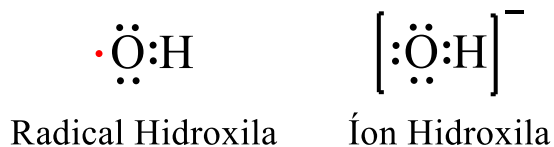
Figura 6 – Formação de 8OHdG por EROs a partir da guanina.



Fonte: Adaptado de [30].

O peróxido de hidrogênio não é reativo em tal intensidade quanto os radicais hidroxilas frente a moléculas orgânicas [17]. No entanto, exerce papel importante no estresse oxidativo por ser capaz de transpor as membranas celulares facilmente por reduzir (Eq. 9) quando está na presença de  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^{2+}$ , e gerar o radical hidroxila e o íon hidroxila (Figura 7) por exemplo. Isso que lhe confere uma característica de forte indutor ao dano oxidativo [26].

Figura 7 - Estrutura de Lewis do radical hidroxila e do íon hidroxila



Fonte: O autor

O ânion superóxido possui baixa permeabilidade à membrana celular frente a outros radicais e afeta principalmente a função enzimática, na qual seu mecanismo de toxicidade envolve a desmontagem de grupamentos sulfidrilas, na qual possui um fator importante na estrutura de proteínas, oxidando principalmente a cisteína [26], [30] A relevância do ânion superóxido, é porque ele gera outros radicais livres capazes de causar lesão celular [17].

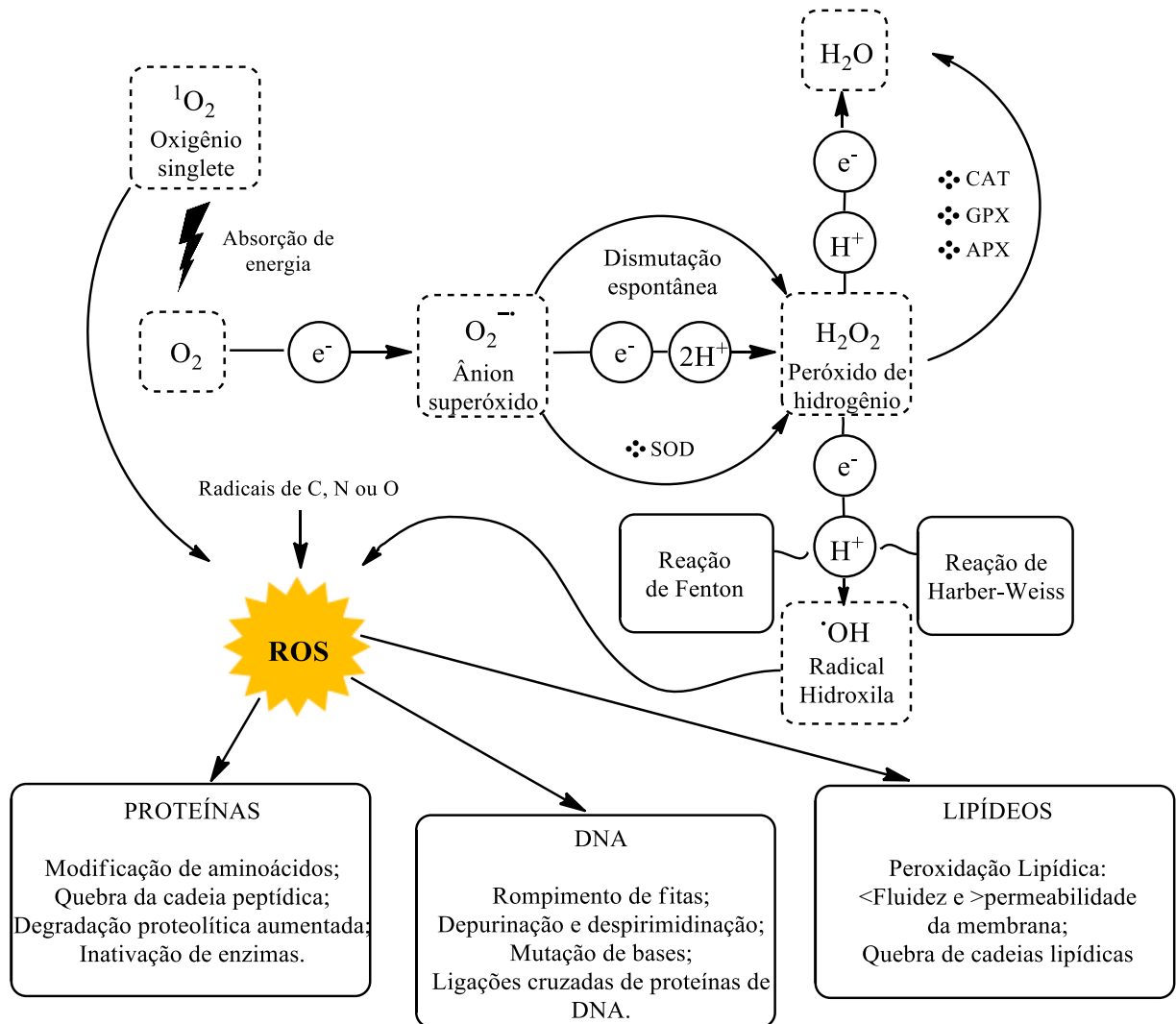


O oxigênio singlete gerado pelas reações de ativação do fotossensibilizador, pode interagir com outras moléculas de duas maneiras: através de reações químicas

ou transferindo sua energia para estas moléculas por supressão física e depois retornando ao estado fundamental [23]. Muitos estudos in vitro demonstram que o  $^1\text{O}_2$  oxida biomoléculas incluindo lipídios, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, carboidratos e moléculas com grupos tióis [31].

Na Figura 8 podemos ver um esquema de geração de algumas espécies reativas e alguns dos diversos danos em biomoléculas.

**Figura 8 – Representação esquemática da geração de EROs e alguns danos gerados em biomoléculas. A ativação do  $\text{O}_2$  ocorre por dois mecanismos diferentes. A redução monovalente de  $\text{O}_2$  leva à formação de  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\cdot\text{OH}$ , enquanto a transferência de energia do fotossensibilizador no estado triplete para  $\text{O}_2$  leva à formação de  $^1\text{O}_2$ .  $\text{O}_2^{\cdot-}$  sofre dismutação para  $\text{H}_2\text{O}_2$  tanto não enzimaticamente quanto por reação catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD).  $\text{H}_2\text{O}_2$  é convertido em  $\text{H}_2\text{O}$  por catálise de enzimas CAT, GPX e APX. Em seguida essas espécies reativas leva a oxidação de biomoléculas como proteínas, lipídeos e DNA.**



Fonte: Adaptado de [26], [27].

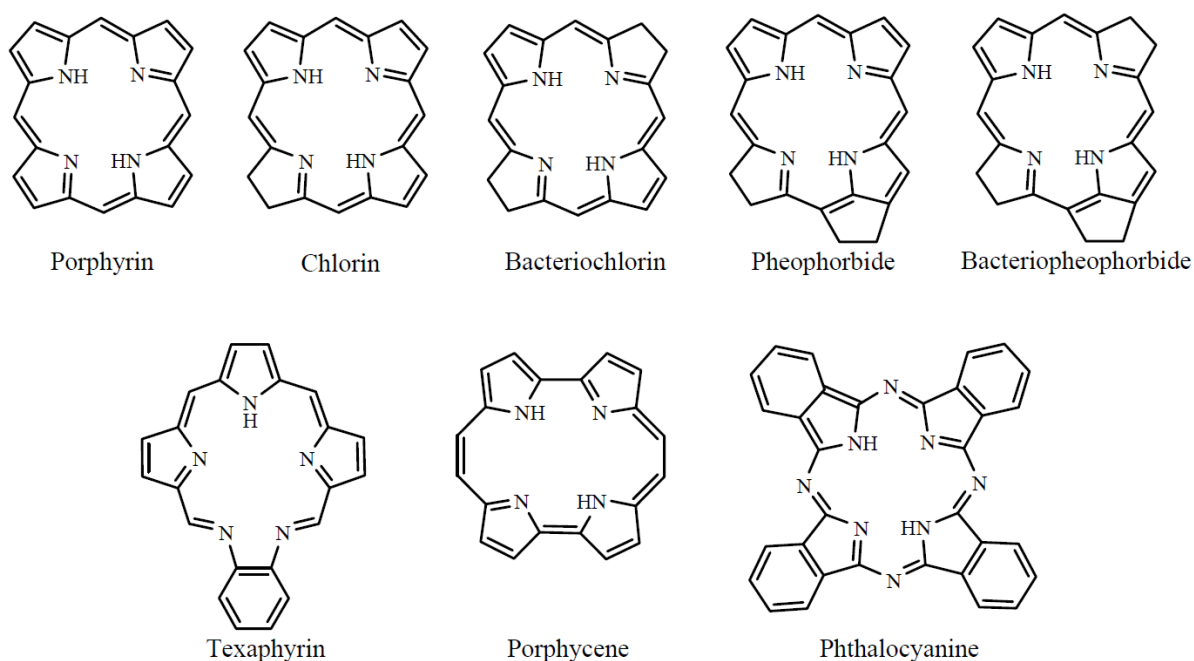


## 6. TIPOS DE FOTOSSENSIBILIZADORES

Além de luz e oxigênio, os fotossensibilizadores são de fato um dos três fatores importantes em todo processo da TFD, devido a capacidade de absorver luz com um comprimento de onda específico, gerando um estado excitado tripleto que leva a formação de EROs [14].

As espécies fotossensibilizadores são categorizadas por algumas estruturas básicas (Figuras 9 e 12), tais como porfirina, clorina, cianina e outros corantes (azul de toluidina, azul de metileno, azul de dimetileno, Rosa Bengal e Hipericina). FSs também podem ser divididos em diferentes gerações de acordo com as suas capacidades funcionais, sendo primeira, segunda e terceira geração [32].

**Figura 9 – Estrutura básica de FSs.**



Fonte: Basic structures of porphyrinoid photosensitizers [19].

Vários estudos foram realizados nas últimas décadas com o objetivo de melhorar a eficácia e seletividade do fotossensibilizador. Alguns deles se concentraram no desenvolvimento de FSs que absorvam energia em maiores comprimentos de onda, permitindo uma penetração mais profunda de fontes de iluminação e, assim, atingindo células tumorais que estão mais profundas. Outros para melhorar a entrega e interação com sistemas biológicos [19]. Idealmente, espera-se

que um FS tenha a capacidade de se acumular preferencialmente no tecido do tumor e ser eliminado rapidamente do tecido normal [3].

Algumas propriedades gerais que os fotossensibilizadores devem possuir são listadas abaixo [14], [33]:

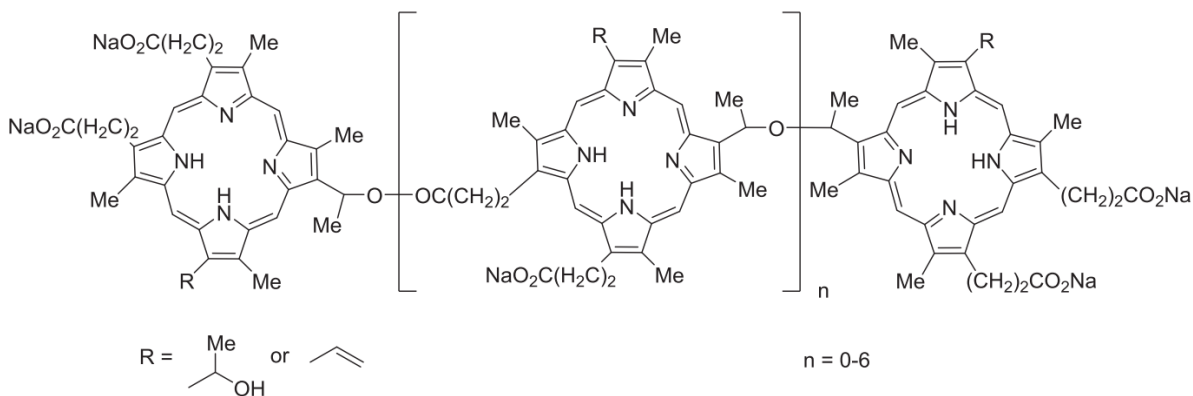
- Características fotofísicas favoráveis;
- Baixa citotoxicidade no escuro;
- Alto rendimento quântico do estado triplete;
- Tempo de vida útil do triplete apropriado para interagir com o oxigênio molecular e outros substratos para gerar quantidade de EROs suficiente;
- Simplicidade na formulação, boa reprodutibilidade e alta estabilidade do formulado;
- Farmacocinética favorável (rápida eliminação do corpo);
- Facilidade de manuseio sintético que permita efetuar modificações para otimizar as propriedades desejáveis;
- Alta afinidade e penetração no tecido doente em detrimento do tecido saudável (seletividade);
- Disponibilidade na forma pura;
- As bandas de absorção não devem se sobrepor à banda de absorção de outras substâncias no corpo, incluindo corantes endógenos como melatonina, hemoglobina ou oxiemoglobina;
- Alta solubilidade nos sistemas fisiológicos;
- Alta seletividade para tecidos neoplásicos: o fotossensibilizador deve ser retirado lentamente das áreas afetadas, mas ser eliminado rapidamente dos tecidos saudáveis, minimizando assim os efeitos colaterais fototóxicos da terapia.

### **6.1 Fotossensibilizadores de 1º geração**

Os fotossensibilizadores de primeira geração, incluem geralmente FSs baseados em porfirinas, que foram apresentados para tratamento em escala comercial na década de 1970 [14].

O Photofrin® (Porfímero sódico) (Figura 10) foi o primeiro medicamento aprovado para uso clínico pelo Canadá em 1993 no tratamento de câncer de bexiga e pelo FDA (Food and Drug Administration) dos EUA para tratamento de câncer de esôfago em 1995. Hoje tem aprovação em mais de 40 países. Desde então suas aplicações clínicas foram expandidas para os mais diversos tipos de tratamento, desde o câncer cefálico, pescoço, mama, pele, intestino, torácico e cervical [19]. É um “Derivado de hematoporfirina” (HpD) contendo uma mistura complexa de monômeros, dímeros e oligômeros de porfirina [3]. A hematoporfirina foi isolada da hemoglobina dos glóbulos vermelhos através do tratamento com ácido sulfúrico concentrado em 1841 por Scherer [33]. O Photofrin® possui baixa absorção de energia na região de 630 nm e tempo de meia vida elevado [18]. Com o tempo de meia vida alto, sua fototoxicidade cutânea de longo prazo dura de três a dez semanas, o que significa que a luz solar e a forte exposição à luz artificial devem ser evitadas durante este período. Embora Photofrin® tenha seus pontos fracos, ele possui um alto rendimento quântico de oxigênio singlete, indicando uma geração eficiente de  $^1O_2$  [19].

**Figura 10 – Estrutura do Photofrin®**



Fonte: Structure of Photofrin® [34]

As vantagens do Porfímero sódico são que ele destrói tumores com eficácia, possui baixa toxicidade no escuro, além de como um sal de sódio, ele é solúvel em água e, portanto, fácil de administrar por meio de uma injeção intravenosa simples [35]. Ele também tem algumas desvantagens, como fotossensibilidade prolongada da pele, baixa seletividade inicial entre o tecido tumoral e o tecido saudável e longo tempo de espera até a absorção entre a administração do medicamento e a luz [12].

Além do Photofrin®, outros fármacos derivados de porfirina foram desenvolvidos, como o Photogem®, Photosan-3® e Photocarcinorin®. O Photogem® foi aprovado no Brasil em 2003 [36].

A primeira geração de FS tem sido amplamente utilizada para o tratamento clínico de diversos tipos de câncer. No entanto, existem algumas limitações e desvantagens intrínsecas, como baixa pureza química, baixa penetração tecidual, baixa absorvidade na região do vermelho, dentro da janela terapêutica de 600-800 nm, meia-vida prolongada e acúmulo intenso em tecidos normais, resultando em toxicidade fotossensível, ou seja, uma hipersensibilidade da pele à luz [32]. Devido seu baixo coeficiente de extinção, uma grande quantidade do medicamentos dessa geração são necessários para obter resposta terapêutica satisfatória [3].

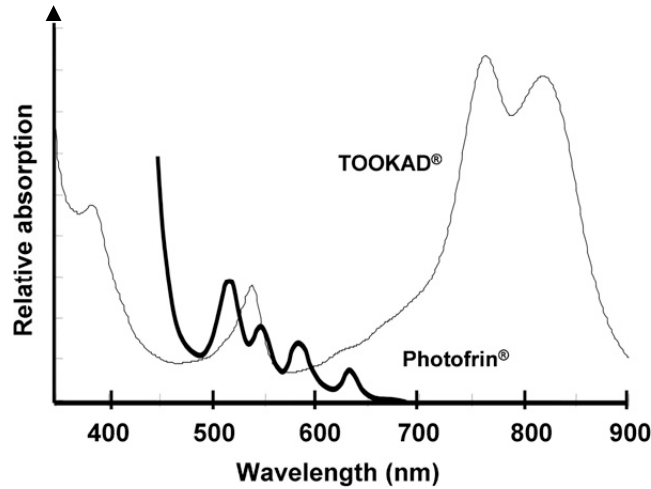
As desvantagens dos fotossensibilizadores de primeira geração forçaram a necessidade de investigação de novos compostos e iniciaram o desenvolvimento dos fotossensibilizadores de segunda geração [14].

## **6.2 Fotossensibilizadores de 2º geração**

Com o objetivo de superar as dificuldades dos FSs de primeira geração, no final dos anos 80 foram desenvolvidos os FSs de segunda geração. Esses compostos possuem altos coeficientes de extinção, bem como máxima absorção de energia em comprimento de onda superior a 600 nm [3].

Estes FSs são caracterizados por apresentar uma maior pureza química, alto rendimento de formação de oxigênio singlete, melhor seletividade para tecidos cancerígenos e maior penetração em tecidos mais profundos, devido à sua maior absorção na faixa de comprimento de onda 600 - 800 nm [14]. Na figura 11 podemos comparar as bandas de absorção entre dois FSs, o Photofrin® de primeira geração, e o Tookad® de segunda geração, utilizado para o tratamento de câncer de próstata [66]. Além disso, os FSs de segunda geração demonstram menos efeitos colaterais, devido eliminação mais rápida do fotossensibilizador do corpo. O que era um problema nos FSs de primeira geração [32].

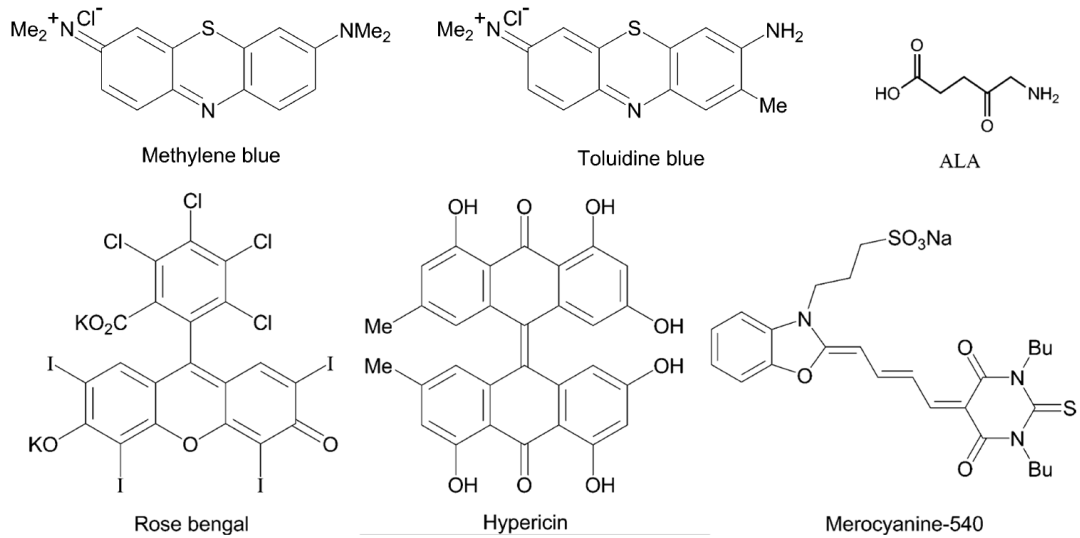
Figura 11 - Espectro de absorção do Photofrin vs Tookad.



Fonte: Adaptado de [66].

Atualmente, estes fotossensibilizadores de segunda geração incluem derivados de porfirinas e fotossensibilizadores sintéticos, tais como: ácido 5-aminolevulínico (5-ALA ou ALA), benzoporfirina, clorinas, texafrinas, bacterioclorinas, ftalocianinas, feoforbidas e bacteriofeoforbidas [14]. Outros compostos não porfirinóides também são considerados como FSs de 2º geração: antraquinonas, xantenos, fenotiazinas, cianinas e curcuminóides (Figura 12). Todos estes com estruturas químicas conhecidas [3].

Figura 12 – Estruturas químicas de alguns FSs de 2º geração.



Fonte: Adaptado de [3]

O 5-ALA é um tipo de pró-fármaco que se torna um FS ativo somente após ser transformado em uma protoporfirina. Por essa razão, o 5-ALA ou seus ésteres podem ser usados topicamente ou oralmente em muitas aplicações clínicas, como na detecção de tumores na bexiga, pele, pulmão e gastrointestinal [19]. Bernardini e colaboradores avaliaram o tratamento de 20 pacientes impossibilitados de procedimentos cirúrgicos que apresentavam neoplasias cutâneas não melanoma. Estes foram submetidos à aplicação tópica com o 5-ALA a 20% por seis horas, e posteriormente uma sessão única de laser de diodo de 630 nm. A resposta clínica do tratamento foi de 91,2% e o resultado estético classificado como excelente [37].

Outro FS desta geração bastante utilizado é o Azul de Metileno (AM). Um corante pertencente à classe das Fenotiazinas que tem absorção máxima de luz em 666 nm e tem como alvo as células de melanoma, também mostrando resultados positivos contra o câncer pele [19].

Muitos fotossensibilizadores de segunda geração foram desenvolvidos com propriedades melhoradas em relação aos de primeira geração, principalmente em relação ao Photofrin<sup>®</sup>, adicionando, subtraindo ou substituindo estruturas nos grupos periféricos da porfirina. Isto possibilitou que sejam quimicamente puros e absorvem fortemente em comprimentos de onda maiores [12]. A Verteporfina (Visudyne<sup>®</sup>), um derivado da benzoporfirina, foi desenvolvida para o tratamento da degeneração macular relacionada a idade e de miopia patológica, além de possuir o pico maior da banda de absorção em 690 nm. Sua rápida eliminação cerca de 5-6h sem induzir fototoxicidade cutânea generalizada e curto tempo de espera (15 min) antes da aplicação de luz tornou o tratamento conveniente para o paciente [32].

A principal desvantagem dos FSs de segunda geração é sua baixa solubilidade em água, o que é um fator limitante na administração intravenosa e força a busca por novos métodos de administração de medicamentos [14].

### **6.3 Fotossensibilizadores de 3<sup>o</sup> geração**

FSs de terceira geração são fotossensibilizadores de segunda geração modificados e vinculados a portadores de drogas e outras moléculas, como lipossomas, anticorpos monoclonais (mAbs), monossacarídeos, lipoproteínas de

baixa densidade (LDLs), peptídeos, polímeros e nanopartículas (NPs), que aumentam a especificidade ao tumor, visando atingir apenas as células cancerígenas [5].

O desenvolvimento desses FSs se concentra em compostos que podem ser ativados com luz que tenha um comprimento de onda maior, atingindo níveis mais profundos dos tecidos e o mais importante que tenha melhor seletividade tumoral, através de receptores biológicos. Podendo então direcionar o FS com muito mais eficiência ao tumor [3]. Os FSs mais interessantes estão se desenvolvendo a partir de agentes naturais, como os compostos de clorofila, que permitem a penetração em níveis mais profundos do corpo, que tem uma estrutura semelhante à hemoglobina. Assim, ele pode circular sistemicamente na corrente sanguínea, mantendo-se “inerte” e destruindo não apenas o tumor primário, mas os tipos secundários de câncer [32].

Até agora, vários FSs foram desenvolvidos para o uso na TFD. Mesmo que vários destes tenham sido clinicamente aprovados e outros ainda em testes, o desenvolvimento de novos FSs com alta especificidade, baixa toxicidade no estado escuro, alta citotoxicidade na ativação da luz e rápida eliminação do corpo continua sendo um desafio [5].

Devido as diversas propriedades fotofísicas, fotoquímicas e eficiência de absorção, atualmente apenas alguns FSs têm aprovação oficial em todo o mundo e estão sendo usados clinicamente. Em relação ao tratamento do câncer, na tabela a seguir, estão listados vários FSs de primeira e de segunda geração, aprovados ou em ensaios clínicos.

**Tabela 1 – Fotossensibilizadores aprovados e em testes clínicos [3], [38]**

Classe	Fotossensibilizador / Nome comercial	Principais indicações	Status atual Aprovação	Modo de aplicação / Excipiente	Absorção máxima (nm) / Coeficiente de extinção (M.cm <sup>-1</sup> )	
1º Geração	Hematoporfirina					
		HpD – Porfímero de sódio / (Photofrin)	Câncer de pulmão, esôfago, bexiga, ovário, mama, intestino e cervical	Canada (1993) Japão (1994) EUA (1995), atualmente em 40 países	Injeção intravenosa com dextrose ou NaCl	630 / 3.000
	Pró-droga de protoporfirina	5-Ácido aminolevulínico (5-ALA) / (Levulan)	Carcinoma basocelular de ceratose actínica, cabeça, pescoço, bexiga e esôfago	EUA (1995) UE (2001)	Creme Tópico	635 / <10.000
5-ALA-Hexilester - H-ALA / (Hexivix e Cysview)		Diagnóstico de câncer de bexiga e células basais	EUA FDA (2010)	Diluyente para instilação intravesical	375-400 / <10.000	
5-ALA-Metilester - M-ALA / (Metvixia)		Ceratose actínica, doença de Bowen e carcinoma basocelular	EUA FDA (2004) EU (2001) Nova Zelândia (2002) Austrália (2003)	Creme Tópico (com óleo de amêndoa, álcool e Cetoestearil sulfato de sódio)	635 / <10.000	
2º Geração	Benzoporfirina					
		Monoácido derivado de uma benzoporfirina / (Visudyne)	Degeneração macular relacionada a idade (DMRI), miopia patológica e Histoplasmose	EUA FDA (2000) UE (2000) Canadá (2000)	Formulação com lipossomas para transporte	689-693 / 35.000
	Clorina	5,10,15,20-Tetra(m-hidroxifenil)clorina (m-THPC) / (Foscan)	Câncer de cabeça, pescoço, próstata, útero e pâncreas, mama	UE (2001)	Solução em polietileno glicol (PEG) com etanol ou propilenoglicol	652 / 30.000
		Mono-L-aspartil clorina e6 (Talaporfina, NPe6, LS11 ou MACE) / (Aptocine e Laserphyrin)	Câncer de pulmão e tumores de diversas origens	Japão (2003)	Solução salina	664 / 45.000
	Ftalocianinas	Ftalocianinas de alumínio sulfonado (AlPcS <sub>4</sub> ) / (Photosens)	DMRI, estômago, pele, cavidade oral e mama	Rússia (2001)	Solução salina	675 / 110.000
		Ftalocianinas de silicone / (Pc4)	Ceratose actínica, doença de Bowen, Tratamento do Linfoma Não Hodgkin de Célula T e câncer de pele	Em testes clínicos (Fase I – EUA)	Tópico	670 / 40.000
		Ftalocianinas de Zinco (ZnPc) / (CGP55847)	Ceratose actínica, doença de Bowen	Em testes clínicos (Fase I – EUA)	Formulação com lipossomas para transporte	675 / 243.000
Texafrinas	Motexafin lutécio (LuTex) / (Antrin)	Câncer de próstata e de pele	Em testes clínicos (Fase II – EUA)	Solução salina / com manitol	732 / 42.000	
Feoforbidas	Palladium-bacteriofeorbida / (Tookad WST09)	Câncer de próstata	Em testes clínicos (Fase III – UE)	Solução Salina / Liofilizado	762 / >100.000	

A trajetória da TFD clínica para o câncer é um tanto peculiar e não direta. Muitos novos fotossensibilizadores foram projetados e propostos de acordo com a possibilidade de melhorias em relação aos anteriores. No entanto, poucos deles foram aprovados pelo FDA e outras entidades regulatórias, e outros estão em fase de testes



clínicos. Mesmo com estes FSs aprovados, nenhum deles apresenta uma fórmula mágica ou exibe todas as características de um FS ideal. Até hoje, Photofrin® ainda é o FS mais utilizado em todo o mundo, apesar das várias desvantagens que apresenta. Desde fotossensibilidade prolongada (3-10 semanas) na pele, até baixa absorção na região vermelha. Além disso, o Photofrin® é uma mistura indefinida de compostos de porfirina que não é preferida pelas autoridades reguladoras gerando opiniões duvidosas sobre a aceitação a longo prazo da TFD [35].

## **7. FONTES DE LUZ**

Para o tratamento mais efetivo da TFD, a fonte de luz aplicada deve ser correspondida de forma adequada ao tecido alvo e do dispositivo de entrega, com relação a tamanho, aplicação, volume do tumor. Logo a seleção da fonte de luz depende da localização do tumor, do fotossensibilizador e do tempo a ser administrada. Para tumores não profundos como câncer de pele, é utilizado iluminação de superfície ou intraoperatória, utilizando iluminação de feixe amplo. Para tumores mais profundos (>1 cm) uma sonda de distribuição de luz é inserida diretamente no alvo e a luz é distribuída de dentro do tumor intersticial [39], [40].

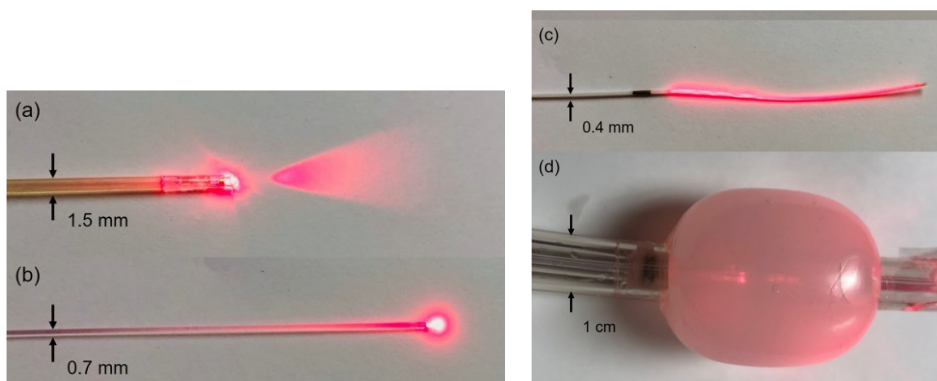
Na radioterapia é utilizado a radiação ionizante (Raios-x, radiação  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), que induzem danos ao DNA. No entanto, a luz não ionizante é usada na TFD, e uma vez que a maioria dos fotossensibilizadores não se acumulam nos núcleos das células, a TFD tem um baixo potencial de induzir danos ao DNA, mutações e carcinogênese [18]. As principais categorias de fontes de luz não ionizantes incluem lasers, diodos emissores de luz (LEDs) e lâmpadas [39].

A luz de ativação mais frequentemente utilizada é a gerada por lasers ou, em alguns casos, por fontes de luz fluorescente. Os lasers são usados com mais frequência porque produzem luz monocromática altamente coerente e direcional que pode ser canalizada com eficiência para as fibras de quartzo usadas como dispositivos de distribuição de luz [18]. A luz coerente de um laser é quando os vales e as cristas dos comprimentos de onda se coincidem no mesmo ponto, devido ao fato de que a emissão estimulada está em fase com o campo de luz estimulante. Isto faz com que ela seja concentrada em um estreito feixe, tornando extremamente intensa em uma única frequência [41].

Os lasers fornecem alta potência óptica e um comprimento de onda que pode ser controlado para corresponder a um fotossensibilizador específico podendo ser usados para TFD superficial e intersticial [40]. Portanto, a luz colimada, isto é, raios praticamente paralelos, geralmente é fornecida por meio de cabos de fibra óptica acopladas aos lasers (Figura 13), permitindo a administração da luz do laser em várias áreas pequenas ou grandes cavidades usando vários pontos de aplicação para uma dosimetria de luz mais uniforme [40], [42]. As fibras também podem ser inclinadas com uma variedade de lentes e difusores que permitem a iluminação ideal dos tecidos a serem tratados. Por exemplo, regiões tubulares como o esôfago e os brônquios pulmonares, podem ser iluminadas com fibras difusoras cilíndricas de comprimentos variados e cabos finos de fibra em broncoscópios e endoscópios respectivamente, eliminando a necessidade de procedimentos cirúrgicos mais complicados [5], [18].

Para o tratamento de lesões superficiais, a fim de cobrir um tecido alvo relativamente grande com irradiância uniforme, o laser pode ser acoplado a lentes de expansão de feixe [40]. Existem muitos tipos diferentes de fontes de luz utilizadas na TFD e estão relacionadas na tabela 2, com as indicações de tratamento.

**Figura 13 – Lasers acoplados em diferentes fibras com: (a) microlentes, (b) difusor esférico, (c) difusor cilíndrico e (d) aplicador de balão com fibra envolvida por espalhamento médio.**



Fonte: [40].

**Tabela 2 – Exemplos de parâmetros de tratamento em TFD com vários fotossensibilizadores e fontes de luz [40], [43], [44].**

Local de tratamento	Droga	Fonte de Luz	Potência (mW.cm <sup>-2</sup> )	Fluência (J.cm <sup>-2</sup> )	Dispositivo de entrega	Tempo de fotossensibilidade
<b>Cavidade oral e orofaringe</b>	Photofrin®	(Diomed) Laser sólido, ou laser de corante B de rodamina bombeado com argônio.	100-200	50-100	Micro lente de fibra de 0,4 mm para tratamento de superfície	
<b>Língua</b>	Photofrin®	Laser de excímero (interação gás-gás) com corante	Não relatado	100	Sonda de fibra de quartzo rotativa intersticial (núcleo de 0,6 mm)	3-10 semanas
<b>Cérebro (glioma, meningioma e carcinoma metastático)</b>	Photofrin®	Laser de corante bombeado com argônio ou bomba KTP	Não relatado	50-150	Aplicador de balão inflável	
<b>Mesotelioma pleural</b>	Photofrin®	Laser de diodo; Laser de corante com bomba KTP (model 630 XP Laserscope,)	120	60	Aplicador de balão com fibra difusora	
<b>Laringe</b>	ALA	Laser Tipo GaAlAs Diodo Laser	30-90	50	Cateter difusor translúcido de 2 cm de comprimento	
<b>Hiperplasia oral</b>	ALA	LED	100	100	Dispositivo portátil de LED	
<b>Leucoplasia oral</b>	ALA	Laser de corante bombeado com argônio	150	100	Sonda de fibra com microlentes	1-2 dias
<b>Papilomatose laringea</b>	ALA	Laser FD-400-A	100-140	80-120	Sonda de fibra	
<b>Neoplasia intraepitelial cervical (NIC)</b>	ALA	Laser de diodo (model: XD635AB)	100-150	100	Cateter leve especial	
<b>Base da Língua</b>	m-THPC	Laser de diodo	100	30	Difusor linear	
<b>Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço</b>	m-THPC	Laser de corante sintonizável	150	30-75	Sonda de fibra com microlentes	6-8 semanas
<b>Esôfago</b>	HPPH*	Laser de corante sintonizável bombeado com argônio	100-400	150-200	Difusor de fibra cilíndrico	1-2 dias
<b>Pulmão</b>	ZnPcS <sub>mix</sub>	Laser de diodo	Não relatado	5	Laser acoplado em Broncoscópio	1-2 dias

\*HPPH: 2-1[Hexyloxyethyl]-2-Devinyipyropheophorbide-a / 2-divinil-(2-1-hexiloxietil)-pirofeorbida

Os componentes essenciais de um laser são: um meio de ganho (amplificador), uma fonte de energia e mecanismo de realimentação. Em lasers convencionais, o mecanismo de realimentação ocorre por uma cavidade ressonante, na qual nos mais simples é feita com um par de espelhos voltados um para o outro com índice de

refração de 100% [45]. O meio de ganho pode ser constituído de diversos materiais, tais como sólidos (vidro, cristais, fibra ou pó), líquidos (corante orgânico) ou gases. A bomba, ou fonte de energia, fornece a energia por meio de corrente elétrica ou luz que excita o meio de ganho. O meio de ganho excitado, emitiria fluorescência espontânea após relaxamento, que não seria coerente nem colimada em condições normais. Porém, na cavidade ressonante de um laser, a fluorescência emitida é refletida pelos espelhos da cavidade de tal forma que atravessa o meio de ganho inúmeras vezes, produzindo emissão estimulada de fótons a cada passagem. O processo de amplificação produz a luz coerente [40].

Seguindo o mesmo mecanismo básico de produção da luz pelos lasers, os LEDs também são dispositivos bastante utilizados principalmente em tumores superficiais, mas que podem ser adaptados para aplicação endoscópica e intersticial [40], [46]. A diferença do laser é que não possui cavidade ressonante, gerando luz incoerente com ampla largura espectral, cerca de +5% do comprimento de onda central dos lasers de diodo. Isso resulta em uma menor eficiência de absorção pelo fotossensibilizador [40].

Outra fonte de luz utilizada na TFD são as lâmpadas, podendo ser lâmpadas fluorescentes, incandescentes, de haleto de metal, arco de xenônio e de sódio [46]. É uma fonte de luz incoerente, na qual a luz é gerada devido à emissão espontânea e os fótons são emitidos aleatoriamente pelos átomos excitados. Isso produz radiação em todas as direções [40].

O principal requisito para a fonte de luz e dispositivos de distribuição para terapia fotodinâmica é atingir iluminação de luz adequada em todo o volume do tecido alvo. Isso significa ter a potência óptica total no comprimento de onda apropriado para ativação do fotossensibilizador e penetração ótima no tecido alvo e a difusão correspondente da distribuição espacial dessa potência com o tamanho e a forma do tumor [42].

A monocromaticidade dos lasers permite a irradiação com um comprimento de onda preciso no qual um FS atinge sua capacidade máxima de absorção [46]. A alta potência de um laser pode ser alcançada através da combinação ou 'empilhamento' de diodos [40]. Ela possibilita que os períodos de irradiação do tumor sejam bem mais curtos. Além disso, ao contrário das lâmpadas, eles são facilmente acoplados às fibras

ópticas permitindo irradiações de tumores em órgãos internos. No entanto, no tratamento de grandes lesões da pele, fontes como os LEDs são superiores aos lasers devido ao seu largo campo de irradiação. E ainda existe a questão da vantagem econômica, principalmente quando se trata de câncer superficial [47]. Lasers operando nos modos de onda pulsada e contínua têm sido usados e cada uma de suas vantagens ainda está sendo investigada [40]. Algumas das vantagens e desvantagens das fontes de luz são descritas na tabela a seguir:

**Tabela 3 – Vantagens e desvantagens dos lasers, LEDs e as lâmpadas [40]**

Fonte de luz	Vantagens	Desvantagens
<b>Laser</b>	Capaz de alta potência; Altamente monocromático; Adaptável a vários tipos de fibras;	Relativamente caro; pode ser grande; Requer alta manutenção.
<b>LED</b>	Baixo custo; Compacto e adaptável; Pode ser usado diretamente para aplicações endoscópicas / intersticiais.	Efeitos térmicos; Baixa potência; Largura espectral ampla; Grande divergência de feixe.
<b>Lâmpada</b>	Design simples; Baixo custo; Alta faixa de irradiação; Facilidade de transporte;	Pode sofrer perdas de acoplamento com guias de luz; Espectro muito amplo; Grande divergência de feixe; Necessário filtro óptico.

## 8. PRINCIPAIS DIFICULDADES ENCONTRADAS NA TFD ATÉ HOJE

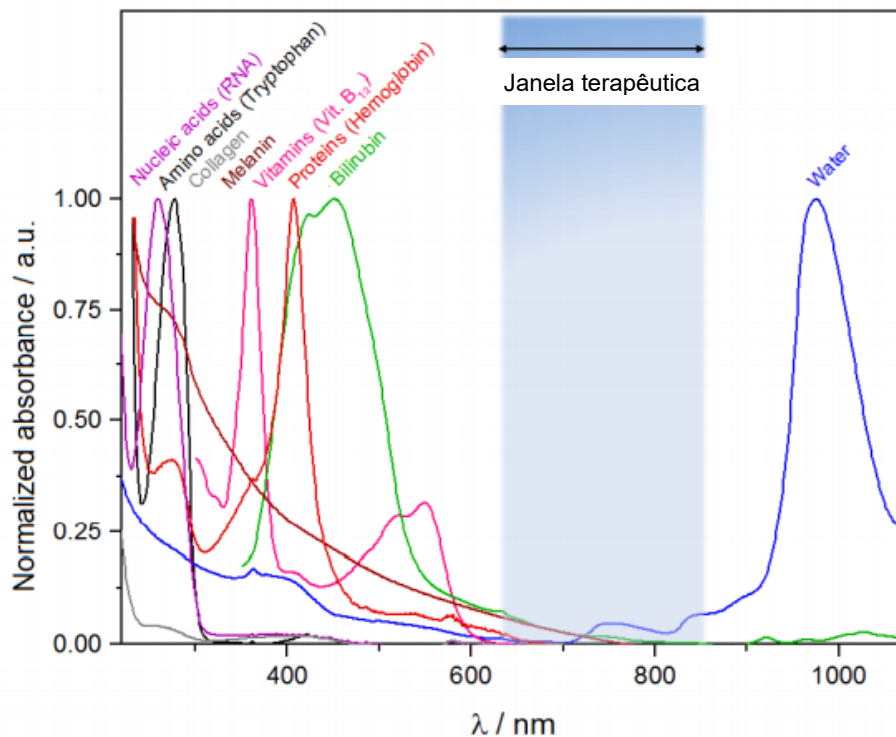
Embora a TFD tenha o potencial de ser uma modalidade autônoma para o tratamento e gerenciamento de cânceres em diferentes estágios, atualmente ela está sendo usada apenas no tratamento de lesões superficiais e planas, lesões que são acessíveis através de endoscópios ou como um adjuvante cirúrgico e tratamento profilático de displasias e lesões primárias [3].

O problema fundamental está na baixa eficiência da TFD em tratar tumores sólidos, volumosos ou tumores profundos [48]. Também não pode ser utilizado para o tratamento de doenças disseminadas avançadas, como o câncer metastático, porque a irradiação do corpo inteiro ainda não é viável. Isso se deve em parte às deficiências nas propriedades dos FSs atualmente disponíveis, como agregação dos FSs, baixa

absortividade na região do vermelho, pequena janela terapêutica e uma distribuição instável em sistemas aquosos [3].

A janela terapêutica ideal para aplicação da TFD exige a utilização de luz com comprimentos de onda característicos da região espectral do visível entre 600 a 800 nm [40]. O comprimento de onda da radiação luminosa incidente, utilizada no procedimento de irradiação, deve levar em conta a capacidade de penetração da luz no tecido e também os máximos de absorção do FS [36]. Da mesma forma que em comprimentos de onda baixos, a absorção de energia e a penetração nos tecidos de muitos FSs são baixas, a absorção da luz em comprimentos de onda alto >800 nm causa efeitos negativos. Um dos efeitos negativos dessa absorção em comprimentos de onda maiores é o fotobranqueamento do FS [19]. Outro ponto é que componentes endógenos como água, aminoácidos, vitaminas, hemoglobina entre outros, absorvem também essa energia proveniente da fonte de luz (figura 14), diminuindo a absorção de energia pelo FSs, conseqüentemente diminuindo a sua produção de EROS [65].

**Figura 14 - Janela terapêutica: a faixa espectral de luz visível caracterizada por uma alta profundidade de penetração nos tecidos biológicos. Nessa faixa, os tecidos absorvem pouca energia.**



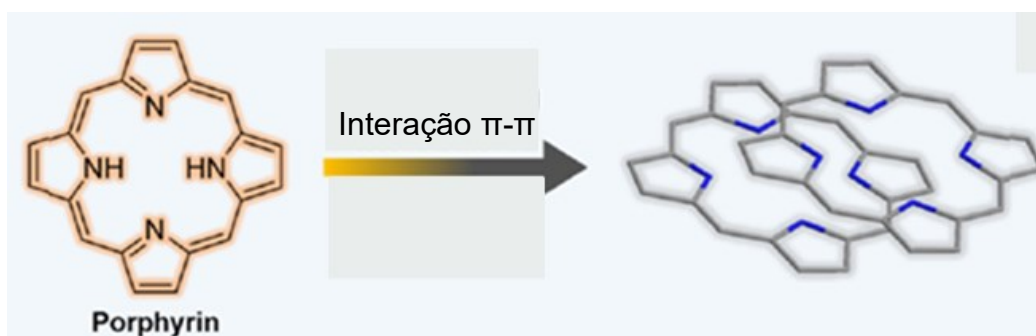
Fonte: Adaptado de [65].

O fotobranqueamento ou fotodegradação de um FS é outro fator que precisa ser melhorado na TFD [49]. Esse fator é a modificação da estrutura do FS, destruição

irreversível que pode ocorrer quando ele está em um estado excitado, o que leva a diminuição da intensidade da fluorescência durante a observação. Tal modificação reduz a quantidade de FS intacto no meio de reação, diminuindo a eficiência do tratamento, tornando a destruição incompleta do tumor [47].

A formação de agregados entre as moléculas do FS também pode prejudicar o processo de geração de EROs, uma vez que ocorrerão decaimentos não radiativos por conversão interna, dificultando a transferência de energia do FS para o  $^3\text{O}_2$ . Tais agregados tendem a formar-se à medida que se aumenta a concentração do FS ou quando o mesmo, de caráter hidrofóbico, está presente num meio aquoso [47]. Um bom fotossensibilizador não deve ter tendência a formar agregados pois isso reduziria a sua capacidade de absorver luz e de passar ao estado tripleto [11]. Uma das razões para essa agregação é que os FSs tradicionais, como porfirina, ftalocianina e análogos, adotam grandes estruturas semelhantes a discos planos, propensas a interagir com as moléculas adjacentes por meio de um empilhamento  $\pi$ - $\pi$  que leva à redução da capacidade de geração de EROs (Figura 15) [8]. Uma das estratégias para evitar os problemas de agregação e aumentar a biodisponibilidade do FS, é tornando-os solúveis em água [19]. Mas isso também induz outros problemas, como baixa permeabilidade às membranas lipídicas das células devido à baixa lipofilicidade [8].

**Figura 15 – Formação de agregado de Porfirina por interação  $\pi$ - $\pi$ .**



Fonte: Adaptado de [8].

A distribuição e localização do fotossensibilizador dentro das células tumorais é de suma importância para a geração de EROs, logo um fator determinante para o sucesso da TFD. Mas com as dificuldades fotoquímicas e fotofísicas dos fotossensibilizadores, estratégias vêm sendo desenvolvidas para melhorar a entrega, biodisponibilidade e seletividade destes FSs para as células alvo para aumentar a

eficiência da terapia fotodinâmica, sendo um dos principais objetivos da TFD baseada em nanotecnologia [3].

Para resolver essas deficiências, vários sistemas nanocarreadores foram amplamente desenvolvidos e aplicados no transporte de FSs hidrofóbicos [9]. Ligar covalentemente os FSs à receptores específicos expressos pelas células tumorais, incluindo anticorpos monoclonais, fragmentos de anticorpos, peptídeos e proteínas têm mostrado resultados satisfatórios quanto a localização final do fotossensibilizador [50].

## **9. A NANOTECNOLOGIA NA TERAPIA FOTODINÂMICA**

A nanotecnologia e o uso comercial de nanomateriais para diversas aplicações é um campo de rápido desenvolvimento no século 21 [51]. Porém, os nanomateriais precisam cumprir critérios de biocompatibilidade, estabilidade e seletividade, para garantir uma entrega eficiente dos fotossensibilizadores usados nas aplicações voltadas à TFD [3], [52]. A entrega específica do FS ao tecido alvo é um dos principais objetivos da nanotecnologia no campo biomédico [15]. As vantagens que estes nanocarreadores possam desempenhar no organismo quando associadas a um determinado fármaco, como os fotossensibilizadores, envolvem alguns aspectos como o direcionamento específico para a região desejada, aumento da sua biodisponibilidade, conferir anfifilicidade à substância, o que permite o transporte por meio da corrente sanguínea e nos tecidos [52].

Essas plataformas de nanocarreadores podem melhorar efetivamente a solubilidade e biocompatibilidade de FSs por meio de carga física diretamente no núcleo hidrofóbico dos nanocarreadores ou por conjugação química, e atingir significativamente melhor penetração tumoral por meio de efeitos aprimorados de permeabilidade e retenção (EPR) [9], [53]. A permeabilidade vascular aumentada que alimenta o tumor e garante seu rápido crescimento, pode ser utilizada para acumular moléculas FSs. No entanto, esse efeito é observado apenas em macromoléculas que apresentam um tempo de circulação prolongado. Por isso, moléculas conjugadas com nanomateriais facilitam a difusão dos FSs causando um acúmulo e distribuição mais eficiente nos tecidos alvo [54]. Por exemplo, porfirinas livres apresentam baixa fototoxicidade e baixa internalização devido à baixa solubilidade. Sendo assim a

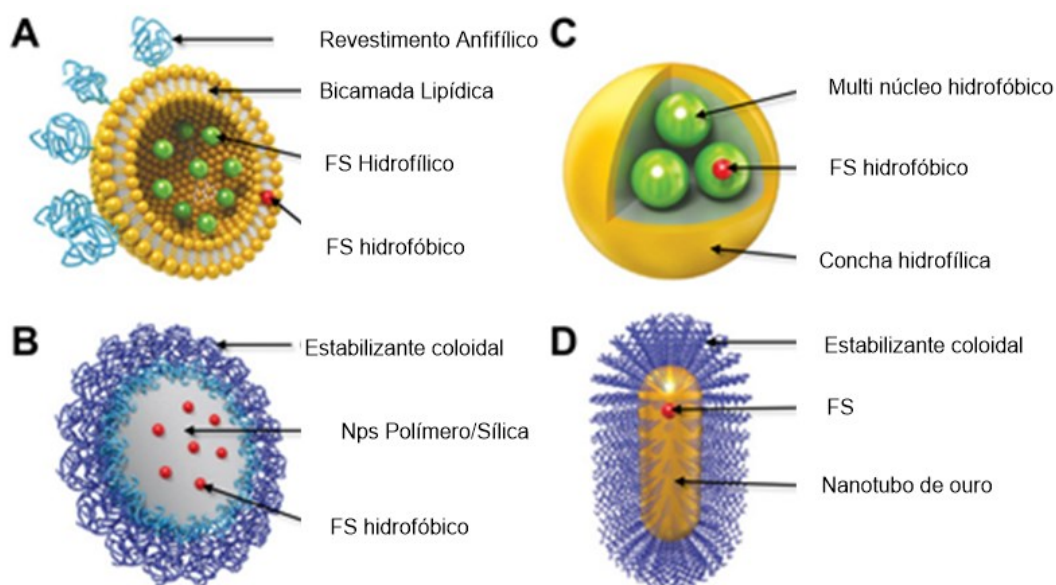


utilização de nanocarreadores para aplicação de porfirinas livres como fotossensibilizadores em TFD se torna mais vantajosa [9].

Diferentes estratégias têm sido desenvolvidas para superar as deficiências atuais no que diz respeito aos problemas associados aos FSs, muitas vezes como já mencionado por meio de um veículo de distribuição que permite uma dispersão estável de FS em sistemas aquosos [3]. Vários tipos de sistemas de entrega já foram caracterizados para a aplicação no tratamento do câncer, na qual incluem nanopartículas lipídicas, poliméricas, de ouro, de sílica [55], lipossomas, dendrímeros [9], nanoemulsões, micelas, dentre outras [56].

Um esquema de algumas dessas nanopartículas pode ser visto na Figura 16.

**Figura 16 – Diagrama esquemático de alguns exemplos de formulação de FSs em NPS: (A) lipossoma, (B) nanopartícula de polímero/sílica e (C) nanogel automontado e (D) nano bastão de ouro.**



Fonte: Adaptado de [7].

Para o direcionamento ativo, a superfície das nanopartículas pode conter membrana biológica e portadores de proteína [9], como também vários ligantes de direcionamento modificados, podendo ser anticorpos ou fragmentos de anticorpos, que reconheçam receptores de superfície específicos nas células tumorais para aumentar a captação de NPs. [53].

Um fator importante a se considerar com o uso de NPs, é a relação do tamanho, a forma e carga superficial das nanopartículas com a biodistribuição no organismo [57]. O tamanho hidrodinâmico afeta diretamente as concentrações nos vasos sanguíneos, a permeabilidade e a eliminação do corpo das NPs [11]. O tamanho da NP deve ser de até ~150 nm, o que resulta em menos interações com células endoteliais e maior tempo de circulação e concentração nos vasos sanguíneos. NPs grandes mostram um bom efeito de retenção, mas baixa permeabilidade. Enquanto NPs pequenas têm boa profundidade de penetração do tumor, mas não permanecem bem no tumor [58]. *Blanco et al.*, 2015, mostraram em seu estudo esta relação, e ressaltam que os diferentes tamanhos das NPs fazem com que elas se internalizem em locais diferentes. As formas cilíndricas e discoides, demonstraram efeitos pronunciados na farmacocinética e na biodistribuição em diferentes órgãos [59].

## **9.1 Nanoestruturas biodegradáveis**

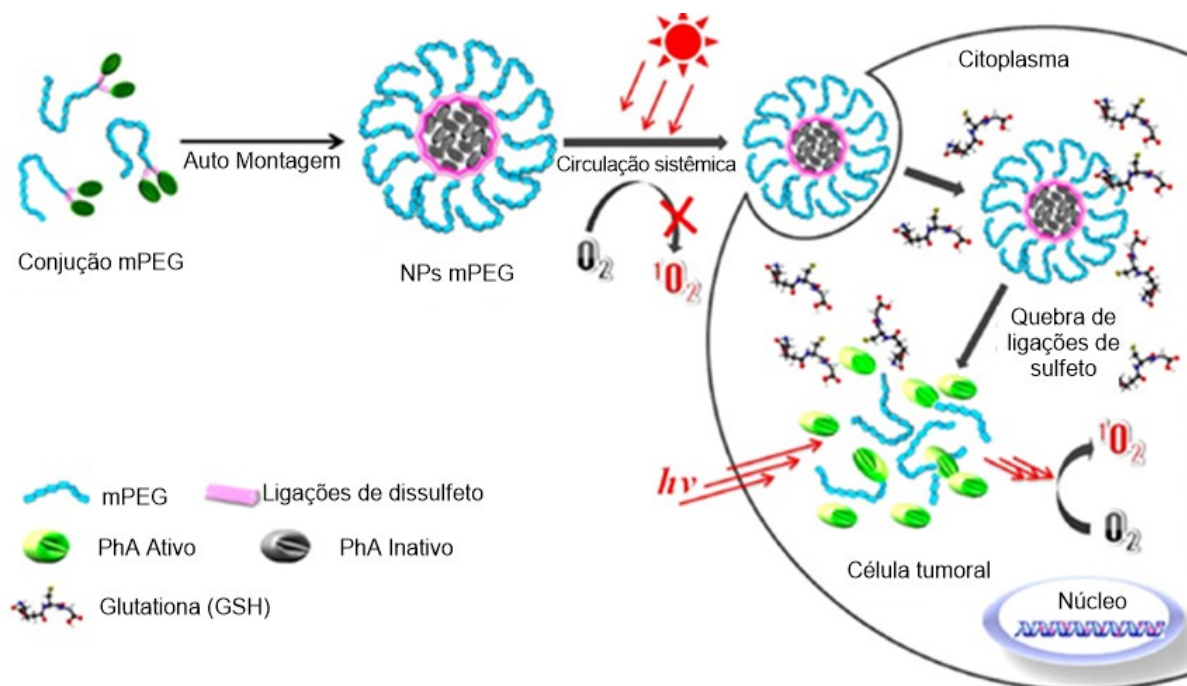
Lipossomas, polímeros, micelas e nanopartículas poliméricas são nanoestruturas biodegradáveis. Algumas das principais vantagens são a alta capacidade de carga de medicamentos, a grande variedade de materiais e processos de fabricação disponíveis e, em particular, o potencial para garantir a liberação controlada de FSs [11].

### **9.1.1 Micelas Poliméricas e lipossomas**

Nanopartículas poliméricas são partículas coloidais preparadas por polímeros biocompatíveis e biodegradáveis, com dissolução e encapsulamento de fotossensibilizadores. As nanopartículas poliméricas fornecem vantagens como fácil produção e modificação de superfície, degradação ajustável do polímero, controle de liberação e proteção do FS [56].

Na Figura 17 podemos verificar um mecanismo geral de carregamento de FSs em nanopartículas poliméricas biodegradáveis e biorredutíveis para a ativação posterior.

**Figura 17 – Abordagem geral de carregamento de FS em NPs poliméricas.**



Fonte: Adaptado de [3]

As nanopartículas não exibem fotoatividade durante a circulação sanguínea. No entanto, quando internalizada por células cancerosas, a clivagem das ligações dissulfeto desencadeada por redução intracelular acelera a dissociação da nanopartícula polimérica, causando a rápida liberação do FS e restauração de sua fotoatividade, assim podendo gerar EROs nos locais específicos para gerar o estresse oxidativo nas células [3].

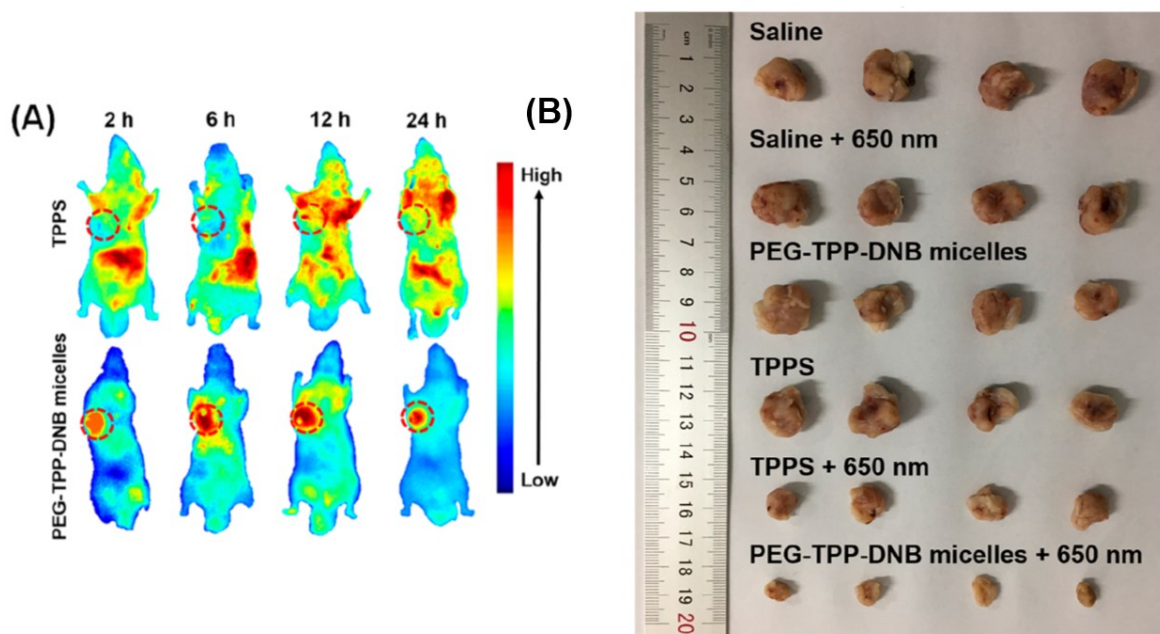
Os lipossomas seriam os sistemas de nanocarreadores mais populares para a entrega de FSs devido à sua alta capacidade de carregamento e flexibilidade para modificação [15]. Tradicionalmente, alguns lipossomas são categorizados por meio de sua meia-vida plasmática curta. Infelizmente esse tempo não é suficiente para que uma célula tumoral absorva o fármaco, dada a rápida expulsão pelo sistema reticuloendotelial (SRE). Recentemente os lipossomas passaram por modificações para melhorar e alongar sua circulação na corrente sanguínea e sua estabilidade estrutural. O refinamento de nanocarreadores lipossomais tem se concentrado em usá-los para entregar FSs, em tecidos-alvo específicos, melhorando os tempos de circulação e a biodisponibilidade. Além disso, o resultado é uma diminuição dos danos ao tecido saudável da área circundante, com menor risco de danos funcionais [46].

Embora os lipossomas tenham várias vantagens, a alta estabilidade da formulação lipossomal impede a seletividade tumoral. Portanto, estudos recentes estão focados nos lipossomas de longa circulação e altamente direcionais [15].

Micelas poliméricas têm atraído grande atenção para a entrega eficaz de FSs aos tecidos tumorais. Como a maioria dos FSs tem alta natureza hidrofóbica, as micelas poliméricas carregadas são um dos melhores transportadores de FSs [15]. As micelas podem ser representadas como nanocarreadores formados a partir de uma única camada de surfactante com superfície hidrofílica e núcleo hidrofóbico [60]. Micelas podem ser projetadas para responder ao valor de pH. Por exemplo, micelas responsivas ao pH, encapsuladas com protoporfirina IX (PpIX), foram desenvolvidas para atingir a desmicelização em pH ácido tumoral, permitindo que as micelas carregadas com FSs sejam usadas para diagnóstico de tumor in vivo (por imagem de fluorescência) e para ação fotodinâmica por geração de oxigênio singlete [46].

*Yudong Xue et al.*, 2019, desenvolveram um sistema micelar biocompatível baseado em moléculas de porfirina (PEG-TPP-DNB; PEG = poly(ethyleneglycol), TPP = 5,10,15,20-tetraphenylporphyrin, DNB = 2,4-dinitrobenzene), que permitiu alta estabilidade para os FSs, evitando vazamento indesejado na circulação sistêmica. Esse sistema possui longo tempo de circulação sanguínea e bom efeito EPR, e todos os resultados in vitro e in vivo mostram que as micelas de PEG-TPP-DNB combinadas com luz em 650 nm podem alcançar o diagnóstico de tumor seletivo com biodistribuição aumentada da porfirina ativa, resultando em alta intensidade de fluorescência, redução de efeitos colaterais e terapia antitumoral fotodinâmica na qual há uma redução do tamanho dos tumores sólidos (Figura 18) [9].

Figura 18 – (A) Imagem de fluorescência in vivo dos camundongos com tumor 4T1 (marcas de círculo vermelho indicam os locais do tumor) em 2, 6, 12 e 24h após a injeção intravenosa de TPPS e micelas de PEG-TPP-DNB. B) Imagens representativas de tumores no final dos tratamentos.



Fonte: Adaptado de [48]

## 9.2 Nanoestruturas não biodegradáveis

Semelhante às nanopartículas biodegradáveis, as nanopartículas não biodegradáveis podem servir como plataformas multifuncionais para a entrega de FSs. A maioria das nanopartículas não biodegradáveis são baseadas em sílica e em materiais metálicos [12]. Outras nanoestruturas como nanoestruturas de ouro, carbono, grafeno, e fulereno são algumas das várias estruturas não biodegradáveis que podem ser usadas para o transporte de fotossensibilizadores [11].

### 9.2.1 Nanopartículas metálicas

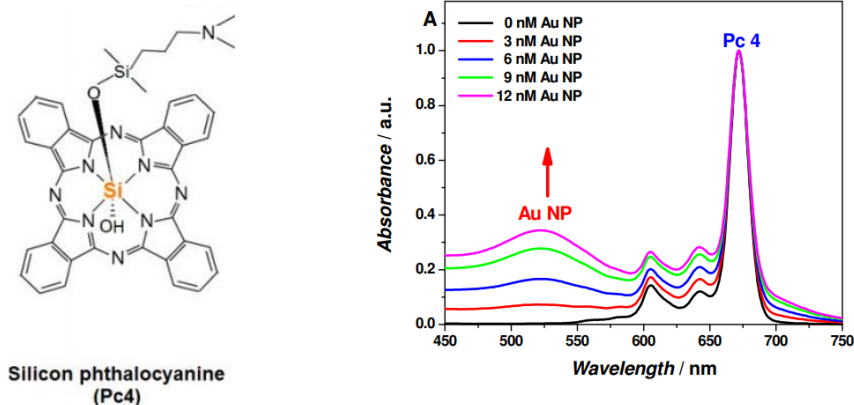
Inúmeras nanopartículas metálicas com diferentes formas e tamanhos variados foram sintetizadas e encontraram muitas aplicações promissoras em diferentes áreas. Várias estruturas como nanopartículas de ouro (AuNPs), nanobastões de ouro (AuNRs), nanopartículas de prata (AgNPs), e muitos outros têm sido extensivamente explorados para o tratamento do câncer devido à sua fácil preparação e funcionalização de superfície, alta biocompatibilidade e, em alguns casos, propriedades ópticas intrínsecas promissoras [55].

A prata é conhecida como um dos antibióticos naturais mais fortes e tem sido usada por humanos para matar uma variedade de microrganismos por muito tempo. Atualmente, as nanopartículas de prata também são amplamente utilizadas no tratamento antibacteriano. Uma das propriedades intrigantes das nanopartículas de prata é que elas normalmente têm uma área de superfície específica excepcionalmente alta, o que significa que a área de superfície de contato da prata com as bactérias pode ser muito grande [34].

Nanopartículas e nanobastões de ouro são nanoestruturas que tem sido amplamente utilizadas na TFD como nanocarreadores de drogas em geral. Essas nanoestruturas exibem ressonância plasmônica de superfície e autofluorescência, o que auxilia na detecção do tumor [11]. Devido aos métodos altamente otimizados para a síntese, permitindo o controle de tamanho, forma e dimensão de AuNPs, elas podem ser projetados especificamente para possuir propriedades particulares, como tamanho e a forma das nanopartículas, influenciando a estabilidade, mobilidade, compatibilidade [61]. Fisiologicamente, o sistema imunológico reconhece todas as substâncias estranhas, incluindo drogas terapêuticas, como invasores. In vivo, AuNPs também possuem a capacidade de escapar do reconhecimento do sistema por não internalizarem os FS, acoplando-os em sua superfície covalentemente ou não covalentemente [3].

*Cheng et al.*, 2011, preparam Nanopartículas de ouro/PEG, conjugadas não covalentemente com Pc4, que tiveram alta absorção na região da janela terapêutica (figura 19). O mecanismo de entrega da droga em tumores através de AuNPs foi investigado por imagens de fluorescência, análise elementar e coloração histológica, e mostraram um direcionamento de tumor altamente eficaz e um tempo de entrega significativamente reduzido para a resposta de TFD em um modelo de camundongo com tumor [11]. A farmacocinética dos conjugados ao longo de um período de teste de 7 dias, mostrou rápida excreção de Pc4, conforme monitorado por meio da fluorescência do medicamento na urina. Além disso, a biodistribuição de AuNPs neste período de estudo indicou a eliminação das NPs dos camundongos. Este estudo sugere que a entrega não covalente via AuNPs, fornece uma abordagem atraente para FSs penetrarem profundamente no centro dos tumores [65].

Figura 19 – Estrutura da Ftalocianina de Silício e espectro de absorção de AuNPs com Pc4.



Fonte: Adaptado de [65]

Várias nanoestruturas de ouro como nanobastões, e nanogel podem produzir oxigênio singlete e induzir o estresse oxidativo, bem como para a remoção completa de tumores sólidos em camundongos [34]. Em contraste com as nanopartículas à base de sílica, além das nanoestruturas de ouro poderem ser fabricadas em tamanhos extremamente pequenos de apenas alguns nanômetros, ao contrário das nanopartículas de sílica em que o FS está “aprisionado” ao núcleo, é possível anexar muitas moléculas de FSs à superfície das NPs devido à sua grande área superficial. Conseqüentemente, o FS é capaz de se difundir imediatamente após atravessarem as camadas lipídicas das células tumorais [11].

### 9.2.2 Nanopartículas de sílica (SNPS)

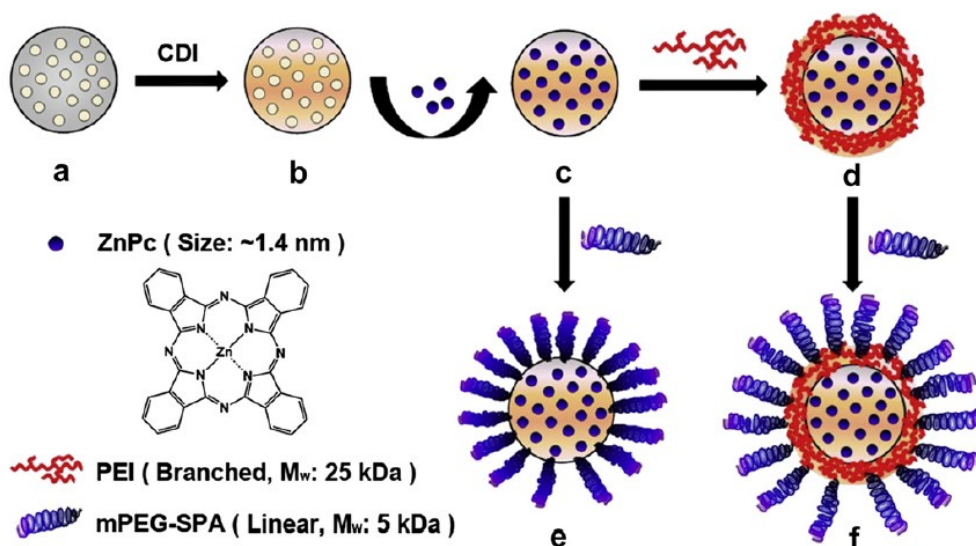
Sendo um material muito versátil, as NPs de sílica (SNPs) podem ser preparadas com forma, em geral esféricas, tamanho e porosidade desejadas. Além disso, a sílica é conhecida pela sua biocompatibilidade e fácil modificação da superfície com uma variedade de grupos funcionais [52]. A sílica possui vários méritos, incluindo sua natureza não tóxica, propriedades inertes e estáveis e potencial não reativo para microbianos e enzimas. Conseqüentemente, as características físicas das SNPs, como tamanho de partícula, forma e propriedade da superfície, são mantidas durante o transporte e o procedimento de terapia. Uma vez que não são biodegradáveis, o tamanho das partículas deve ser cuidadosamente controlado, tão pequeno quanto possível, para evitar a captura pelo SRE, bem como a eliminação do corpo através do rim [7]. Em 2007, Yan e outros colaboradores incorporaram o m-THPC em nanopartículas baseadas em matriz de sílica de solução em gel. Foi

mostrado que este nanossistema Si / m-THPC produziu oxigênio singlete de forma mais eficiente do que as moléculas de THPC livres [34].

Nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs) e NPs de sílica modificada organicamente (ORMOSIL) também têm sido amplamente utilizadas para entregar FS devido às características intrigantes, como grande área de superfície e volume de poro, e alta estabilidade química [55]. Os MSNs podem ser usados como nanocarreadores para FSs hidrofóbicos, como o ZnPc que tende a formar agregados em meio aquoso [34].

Em 2012, Tu et al., incorporaram PEG, Polietilenimina ramificada (PEI – Branched) e a molécula fotossensibilizadora ftalocianina de zinco modificada (ZnPc) às NPs de sílica mesoporosa (MSNs), formando um nanossistema PEG-PEI-MSNs/ZnPc (Figura 20f). Esse sistema permitiu o escape do compartimento endossomal e a distribuição das NPs no citosol da célula e a fototoxicidade dos MSNs/ZnPc modificados com PEG e PEI foi amplamente melhorada *in vitro*, em comparação com as MSNs exclusivamente carregadas com ZnPc [62].

Figura 20 – Esquema da síntese de PEG-MSNs/ZnPc e PEG-PEI-MSNs/ZnPc. (a) MSNs, (b) MSNs Ativada com CDI, (c) CDI-MSNs/ZnPc Ativada, (d) PEI-MSNs/ZnPc, (e) PEG-MSNs/ZnPc, e (f) PEG-PEI-MSNs/ZnPc.



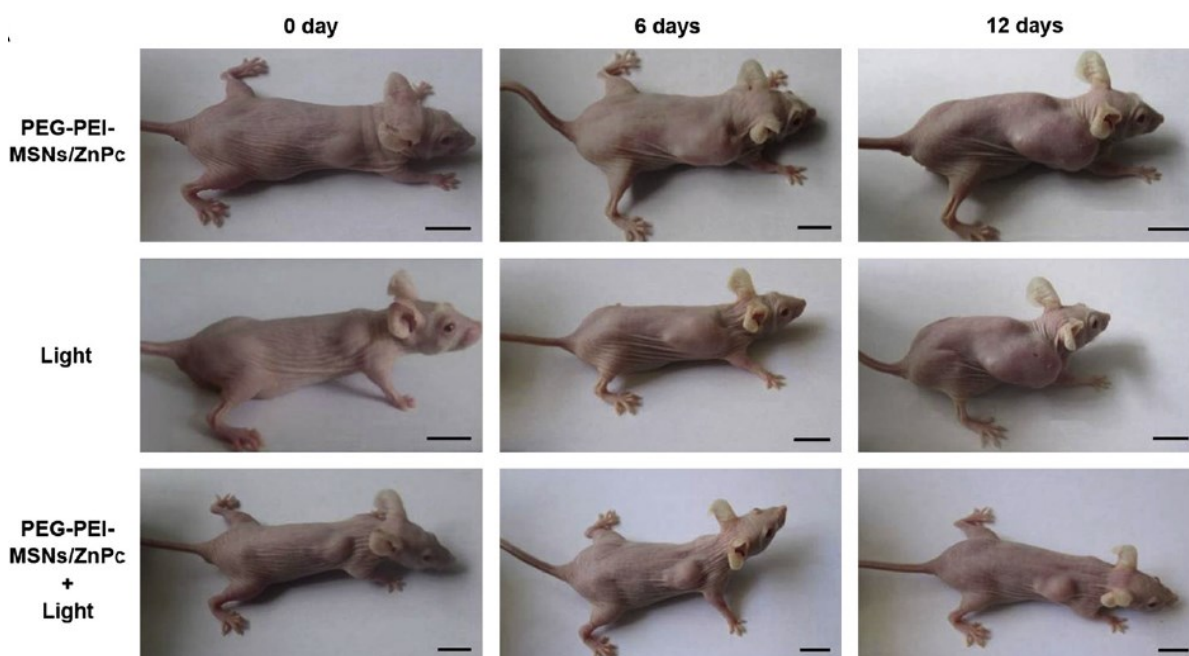
Fonte: Scheme for synthesis of PEGeMSNs/ZnPc and PEGePEIeMSNs/ZnPc [62].

*In vivo* as nanopartículas modificadas com PEG-PEI mostraram maior biodistribuição e absorção, resultando no direcionamento eficiente e destruição bem-sucedida do tumor após exposição à luz de 680 nm. Como mostrado na Figura 21, o volume e o crescimento do tumor foram significativamente suprimidos em 12 dias nos



animais tratados com PEG-PEI-MSNs/ZnPc + Luz. Em contraste marcante, os tumores nos grupos de controle mostraram rápido crescimento tumoral, demonstrando que PEG-PEI-MSNs/ZnPc e a irradiação de luz individuais não afetou o desenvolvimento do tumor. Logo demonstrando a excelente eficácia da terapia fotodinâmica in vivo com PEG-PEI-MSNs/ZnPc. Este resultado pode ser explicado por que o FS ZnPc, está encapsulado dentro da matriz PEG-PEI-MSNs, e pode ser excitado pela irradiação de luz para gerar oxigênio singlete, resultando na indução da morte de células tumorais [62].

**Figura 21 - Efeitos antitumorais do grupo PEG-PEI-MSN-/ZnPc + Luz versus grupos de controle (PEG-PEI-MSNs/ZnPc e luz isolados).**



Fonte: Adaptado de [62].

*Lin et al.*, 2019, demonstrou que só a conjugação de ZnPc com MSNs é ineficiente para o tratamento de tumores [34]. Neste estudo a molécula fotossensibilizadora de ZnPc foi conjugada a MSNs por meio de uma ligação com uma hidrazona responsiva a ácido. O sistema ZnPc-MSNs obtida não apresentou atividade fotodinâmica devido à agregação de FS ZnPc. No entanto, a geração de oxigênio singlete pode ser ativada seletivamente por meio da liberação de FS em soluções ligeiramente ácidas [63].

Usando diferentes métodos sintéticos, uma variedade de nanopartículas de diversos materiais com tamanho e porosidade preferíveis podem ser preparadas para a TFD. Além disso, é possível incorporar agentes específicos às nanopartículas que

tem especificidade às células tumorais [34]. Comparados aos nanocarreadores biodegradáveis, os sistemas não biodegradáveis possuem várias vantagens, incluindo a facilidade de síntese, funcionalização adaptável e robustez na sua estrutura [7].

As desvantagens de exigir uma formulação ou um veículo de entrega excepcional, com tempos de depuração menores, alta seletividade e alta distribuição para o transporte de FSs hidrofóbicos, motivaram mudanças estruturais para que estes se tornassem solúveis em água. Isso foi exemplificado pela mudança do fármaco Tookad insolúvel utilizado no câncer de próstata, para Tookad solúvel [35].

Apesar desses desenvolvimentos, a reprodutibilidade e quantificação indesejáveis de conjugados, o transporte inseguro de FSs em condições fisiopatológicas e a reação fotossensível inespecífica séria e os danos dos FSs durante o tratamento do câncer são outros desafios no futuro clínico aplicação da TFD [9].

## 10. CONCLUSÃO

A TFD é uma modalidade promissora em desenvolvimento para o tratamento do câncer, podendo ser utilizada sinergicamente com outros métodos. Muitos problemas precisam ser resolvidos para aumentar a eficiência do tratamento. Entre eles é importante a escolha do FS, bem como a concentração adequada, o modo de administração deste FS uma vez que muitos são hidrofóbicos, a seleção do tipo de fonte de luz e as condições de dosimetria, que deve ser avaliada criteriosamente para cada tipo de câncer. Os locais de destino também devem ser acessíveis a sistemas de distribuição de luz, e a dosimetria são fatores que também precisam ser avaliados criteriosamente para cada tipo de câncer e FS.

Nesta revisão, foram relatados resumidamente o desenvolvimento de vários FSs e nanocarreadores para a aplicação na TFD. Uma infinidade destes sistemas naturais e sintéticos foram desenvolvidos. Ainda é um desafio desenvolver os FSs ideais, que apresente todas as características ideais. Por isso, a utilização de agentes à base de nanomateriais na TFD representa uma das soluções possíveis para tais deficiências.

Os nanocarreadores sintetizados têm alta especificidade tumoral e eficácia terapêutica *in vitro* e *in vivo*, e os desenvolvidos a base de sílica mesoporosa funcionalizados com polímeros, tem ganhado destaque quanto as diversas vantagens e que poderiam ser usados como uma nanoplataforma multifuncional para o tratamento do câncer através da TFD. Novos avanços em agentes fotossensibilizantes, fonte de luz sistemas carreadores necessitam de mais investigações para alcançar protocolos capazes de aumentar a eficiência da terapia fotodinâmica.

## 11. REFERÊNCIAS

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, and A. Jemal, "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 68, no. 6, pp. 394–424, 2018, doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] A. O. C. Schilithz, F. C. da S. de Lima, J. F. P. Oliveira, M. de O. Santos, and M. soute Rebelo, *Estimativa | 2020 Incidência de Câncer no Brasil*. Rio de Janeiro-RJ: INCA, 2019.
- [3] S. S. Lucky, K. C. Soo, and Y. Zhang, "Nanoparticles in photodynamic therapy," *Chem. Rev.*, vol. 115, no. 4, pp. 1990–2042, 2015, doi: 10.1021/cr5004198.
- [4] C. Fontinel Schein, A. Rodrigues Marques, C. Lehnhart Vargas, and V. Ramos Kirsten, "Efeitos Colaterais Da Quimioterapia Em Pacientes Oncológicos Hospitalizados," *Ciências da Saúde*, vol. 7, no. 1, pp. 101–107, 2006.
- [5] M. G. Mokwena, C. A. Kruger, M. T. Ivan, and A. Heidi, "A review of nanoparticle photosensitizer drug delivery uptake systems for photodynamic treatment of lung cancer," *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 22, pp. 147–154, 2018, doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.03.006.
- [6] A. Sudhakar, "History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods," *J. Cancer Sci. Ther.*, vol. 01, no. 02, pp. i–iv, 2009, doi: 10.4172/1948-5956.100000e2.
- [7] C. K. Lim *et al.*, "Nanophotosensitizers toward advanced photodynamic therapy of Cancer," *Cancer Lett.*, vol. 334, no. 2, pp. 176–187, 2013, doi: 10.1016/j.canlet.2012.09.012.
- [8] J. Dai *et al.*, "Aggregation-Induced Emission Photosensitizers: From Molecular Design to Photodynamic Therapy," *J. Med. Chem.*, vol. 63, no. 5, pp. 1996–2012, 2020, doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b02014.
- [9] Y. Xue *et al.*, "A Redox Stimulation-Activated Amphiphile for Enhanced Photodynamic Therapy - Figures," *Biomacromolecules*, vol. 20, no. 7, pp. 2796–2808, 2019, doi: 10.1021/acs.biomac.9b00581.

- [10] S. Nath, M. A. Saad, M. Pigula, J. W. R. Swain, and T. Hasan, "Photoimmunotherapy of ovarian cancer: A unique niche in the management of advanced disease," *Cancers (Basel)*, vol. 11, no. 12, pp. 1–25, 2019, doi: 10.3390/cancers11121887.
- [11] L. Lin *et al.*, "Active targeting of nano-photosensitizer delivery systems for photodynamic therapy of cancer stem cells," *J. Biomed. Nanotechnol.*, vol. 11, no. 4, pp. 531–554, 2015, doi: 10.1166/jbn.2015.2090.
- [12] W. Li, "Nanotechnology-Based Strategies to Enhance the Efficacy of Photodynamic Therapy for Cancers," *Entrep. Innov. Dur. Austerity*, vol. 10, pp. 851–860, 2009, doi: 10.1057/9781137324436.0012.
- [13] America Optometric Association, "Macular Degeneration - AOA." [Online]. Available: <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-vision-conditions/macular-degeneration?sso=y>.
- [14] S. Kwiatkowski *et al.*, "Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 106, pp. 1098–1107, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.
- [15] H. J. Yoon and W. D. Jang, "Nanotechnology-based photodynamic therapy," *J. Porphyr. Phthalocyanines*, vol. 17, no. 1–2, pp. 16–26, 2013, doi: 10.1142/S108842461230011X.
- [16] S. Gai *et al.*, "Recent advances in functional nanomaterials for light-triggered cancer therapy," *Nano Today*, vol. 19, pp. 146–187, 2018, doi: 10.1016/j.nantod.2018.02.010.
- [17] A. L. B. S. Barreiros, J. M. David, and J. P. David, "Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense," *Quim. Nova*, vol. 29, no. 1, pp. 113–123, 2006, doi: 10.1590/s0100-40422006000100021.
- [18] I. J. MacDonald and T. J. Dougherty, "Basic principles of photodynamic therapy," *J. Porphyr. Phthalocyanines*, vol. 5, no. 2, pp. 105–129, 2001, doi: 10.1002/jpp.328.
- [19] A. B. Ormond and H. S. Freeman, "Dye sensitizers for photodynamic therapy,"

- Materials (Basel)*., vol. 6, no. 3, pp. 817–840, 2013, doi: 10.3390/ma6030817.
- [20] T. M. Tsubone, M. S. Baptista, and R. Itri, “Understanding membrane remodelling initiated by photosensitized lipid oxidation,” *Biophys. Chem.*, vol. 254, no. September, p. 106263, 2019, doi: 10.1016/j.bpc.2019.106263.
- [21] A. S. P. Gonçalves, “Fotogeração de espécies reativas de oxigênio induzida por fullerenos e derivados: um estudo por EPR e captura de spins.,” p. 74, 2010.
- [22] R. L. Yanovsky, D. W. Bartenstein, G. S. Rogers, S. J. Isakoff, and S. T. Chen, “Photodynamic therapy for solid tumors: A review of the literature,” *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, vol. 35, no. 5, pp. 295–303, 2019, doi: 10.1111/phpp.12489.
- [23] B. Halliwell, “Redox biology is a fundamental theme of aerobic life,” *Plant Physiol.*, vol. 141, no. June, pp. 312–322, 2006, doi: 10.1104/pp.106.077073.312.
- [24] A. Luchs and C. Pantaleão, “Apoptosis and in vivo models to study the molecules related to this phenomenon,” *Einstein (São Paulo)*, vol. 8, no. 4, pp. 495–497, 2010, doi: 10.1590/s1679-45082010rb1685.
- [25] A. Alhasawi, F. Legendre, S. Jagadeesan, V. Appanna, and V. Appanna, “Biochemical Strategies to Counter Nitrosative Stress: Nanofactories for Value-Added Products. Nanofactories for Value-Added Products.,” *Microb. Divers. Genomic Era*, pp. 153–169, 2018, doi: 10.1016/B978-0-12-814849-5.00010-1.
- [26] L. H. Madkour, “Biological mechanisms of reactive oxygen species (ROS),” *React. Oxyg. Species (ROS), Nanoparticles, Endoplasmic Reticulum Stress. Cell Death Mech.*, pp. 19–35, 2020, doi: 10.1016/b978-0-12-822481-6.00002-5.
- [27] L. H. Madkour, “Oxidative stress and oxidative damage-induces cell death,” *React. Oxyg. Species (ROS), Nanoparticles, Endoplasmic Reticulum Stress. Cell Death Mech.*, pp. 175–194, 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-822481-6.00008-6.
- [28] M. V. Antunes, C. Lazzaretti, G. D. Gamaro, and R. Linden, “Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-

- dinitrofenilhidrazina,” *Rev. Bras. Ciências Farm. J. Pharm. Sci.*, vol. 44, no. 2, pp. 279–287, 2008, doi: 10.1590/S1516-93322008000200013.
- [29] L. H. Madkour, “Cellular signaling pathways with reactive oxygen species (ROS),” *React. Oxyg. Species (ROS), Nanoparticles, Endoplasmic Reticulum Stress. Cell Death Mech.*, pp. 37–79, 2020, doi: 10.1016/b978-0-12-822481-6.00003-7.
- [30] M. L. Ribeiro, D. G. Priolli, D. D. da C. Miranda, D. A. Paiva, J. Pedrazzoli Júnior, and C. A. R. Martinez, “Avaliação do dano oxidativo ao DNA de células normais e neoplásicas da mucosa cólica de doentes com câncer colorretal,” *Rev. Bras. Coloproctol.*, vol. 27, no. 4, pp. 391–402, 2007, doi: 10.1590/s0101-98802007000400005.
- [31] G. E. Ronsein, S. Miyamoto, E. Bechara, P. Di Mascio, and G. R. Martinez, “Oxidação de proteínas por oxigênio singlete: Mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas,” *Quim. Nova*, vol. 29, no. 3, pp. 563–568, 2006, doi: 10.1590/S0100-40422006000300027.
- [32] R. Baskaran, J. Lee, and S.-G. Yang, “Clinical development of photodynamic agents and therapeutic applications,” *Biomater. Res.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–8, 2018, doi: 10.1186/s40824-018-0140-z.
- [33] F. I. Simplicio, F. Maionchi, and N. Hioka, “Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos,” *Quim. Nova*, vol. 25, no. 5, pp. 801–807, 2002, doi: 10.1590/S0100-40422002000500016.
- [34] J. Chen *et al.*, “Advances in nanomaterials for photodynamic therapy applications: Status and challenges,” *Biomaterials*, vol. 237, no. October 2019, p. 119827, 2020, doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.119827.
- [35] M. R. Hamblin, “Photodynamic Therapy for Cancer: What’s Past is Prologue,” *Photochem. Photobiol.*, vol. 96, no. 3, pp. 506–516, 2020, doi: 10.1111/php.13190.
- [36] R. C. Da Silva, “Avaliação Da Eficiência Fotodinâmica De Fotossensibilizadores Com Aplicação Em Terapia Fotodinâmica,” p. 90, 2007.

- [37] L. Bernardini *et al.*, "Treatment Modality for Nonmelanoma Skin Cancer \*," vol. 83, no. 4, pp. 309–316, 2008.
- [38] A. F. Dos Santos, D. R. Q. De Almeida, L. F. Terra, M. S. Baptista, and L. Labriola, "Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review," *J. Cancer Metastasis Treat.*, vol. 2019, 2019, doi: 10.20517/2394-4722.2018.83.
- [39] D. M. Ozog *et al.*, "Photodynamic Therapy: A Clinical Consensus Guide," *Dermatologic Surg.*, vol. 42, no. 7, pp. 804–827, 2016, doi: 10.1097/DSS.0000000000000800.
- [40] M. M. Kim and A. Darafsheh, "Light Sources and Dosimetry Techniques for Photodynamic Therapy," *Photochem. Photobiol.*, vol. 96, no. 2, pp. 280–294, 2020, doi: 10.1111/php.13219.
- [41] D. mariano da Silva, "Desenvolvimento de métodos para a geração e controle da emissão em lasers aleatórios e speckle." São Paulo, 2016, [Online]. Available: [http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Danilo Mariano da Silva\\_D.pdf](http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Danilo_Mariano_da_Silva_D.pdf).
- [42] T. S. Mang, "Lasers and light sources for PDT: Past, present and future," *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 1, no. 1, pp. 43–48, 2004, doi: 10.1016/S1572-1000(04)00012-2.
- [43] S. L. Manoto, P. R. Sekhejane, N. N. Houreld, and H. Abrahamse, "Localization and phototoxic effect of zinc sulfophthalocyanine photosensitizer in human colon (DLD-1) and lung (A549) carcinoma cells (in vitro)," *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, vol. 9, no. 1, pp. 52–59, 2012, doi: 10.1016/j.pdpdt.2011.08.006.
- [44] J. Lobel *et al.*, "2-[1-hexyloxyethyl]-2-devinyl pyropheophorbide-a (HPPH) in a nude rat glioma model: Implications for photodynamic therapy," *Lasers Surg. Med.*, vol. 29, no. 5, pp. 397–405, 2001, doi: 10.1002/lsm.10001.
- [45] M. Goreti Catorze, "Laser: fundamentos e indicações em dermatologia," *Med. cután. ibero-lat.-am*, vol. 37, no. 1, pp. 5–27, 2009, [Online]. Available: <https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1344425747mc091b.pdf>.
- [46] M. Yang, T. Yang, and C. Mao, "Enhancement of Photodynamic Cancer Therapy by Physical and Chemical Factors," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 58, no. 40,



- pp. 14066–14080, 2019, doi: 10.1002/anie.201814098.
- [47] J. N. Ribeiro, A. V. Flores, R. C. Mesquita, J. H. Nicola, and E. M. D. Nicola, “Terapia Fotodinâmica: uma luz na luta contra o câncer,” *Physicae*, vol. 5, no. 5, 2005, doi: 10.5196/physicae.5.2.
- [48] Y. Xue *et al.*, “A Redox Stimulation-Activated Amphiphile for Enhanced Photodynamic Therapy,” *Biomacromolecules*, vol. 20, no. 7, pp. 2796–2808, 2019, doi: 10.1021/acs.biomac.9b00581.
- [49] K. E. Borbas and D. Lahaye, “Photodynamic Therapy of Cancer,” *Anticancer Ther.*, pp. 187–222, 2008, doi: 10.1002/9780470697047.ch11.
- [50] S. Kwiatkowski *et al.*, “Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations,” *Biomed. Pharmacother.*, vol. 106, no. July, pp. 1098–1107, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.
- [51] L. H. Madkour, “Heavy metals and free radical-induced cell death mechanisms,” *React. Oxyg. Species (ROS), Nanoparticles, Endoplasmic Reticulum Stress. Cell Death Mech.*, pp. 131–157, 2020, doi: 10.1016/b978-0-12-822481-6.00006-2.
- [52] L. D. DE MOURA, “Tratamento de câncer de mama utilizando terapia fotodinâmica com nanoemulsões de ftalocianina de cloro alumínio,” 2017.
- [53] A. Kamkaew, F. Chen, Y. Zhan, R. L. Majewski, and W. Cai, “Scintillating Nanoparticles as Energy Mediators for Enhanced Photodynamic Therapy,” *ACS Nano*, vol. 10, no. 4, pp. 3918–3935, 2016, doi: 10.1021/acsnano.6b01401.
- [54] J. Cancino, V. S. Marangoni, and V. Zucolotto, “Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. Nanotechnology in medicine: concepts and concerns,” *Quim. Nova*, vol. 37, no. 3, pp. 521–526, 2014, [Online]. Available: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422014000300022&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000300022&lng=en&nrm=iso&tlng=en).
- [55] X. Song and Z. Liu, “Nanoparticles for Photodynamic Therapy,” pp. 201–229, 2016, doi: 10.1142/9789813149601\_0004.

- [56] E. T. Sarcan, M. Silindir-Gunay, and A. Y. Ozer, "Theranostic polymeric nanoparticles for NIR imaging and photodynamic therapy," *Int. J. Pharm.*, vol. 551, no. 1–2, pp. 329–338, 2018, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.09.019.
- [57] B. Du and C.-H. Tung, "Enzyme-Assisted Photodynamic Therapy Based on Nanomaterials," *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 6, no. 5, pp. 2506–2517, 2020, doi: 10.1021/acsbomaterials.9b00968.
- [58] P. Decuzzi, S. Lee, B. Bhushan, and M. Ferrari, "A theoretical model for the margination of particles within blood vessels," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 33, no. 2, pp. 179–190, 2005, doi: 10.1007/s10439-005-8976-5.
- [59] E. Blanco, H. Shen, and M. Ferrari, "Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery," *Nat. Biotechnol.*, vol. 33, no. 9, pp. 941–951, 2015, doi: 10.1038/nbt.3330.
- [60] R. Alexandra, S. Pinho, and A. R. Figueiras, "Aplicações Terapêuticas De Si St Em As Micelares Poliméricos Therapeutic Applications of Micellar Polymeric Systems," pp. 48–62, 2016.
- [61] K. Sztandera and B. Klajnert-maculewicz, "Gold Nanoparticles in Cancer Treatment," *Mol. Pharm.*, vol. 16, pp. 1–23, 2019, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.8b00810.
- [62] J. Tu *et al.*, "Biomaterials Multifunctional ZnPc-loaded mesoporous silica nanoparticles for enhancement of photodynamic therapy efficacy by endolysosomal escape," *Biomaterials*, vol. 33, no. 31, pp. 7903–7914, 2012, doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.025.
- [63] A. L. Lin *et al.*, "A pH-responsive stellate mesoporous silica based nanophotosensitizer for: In vivo cancer diagnosis and targeted photodynamic therapy," *Biomater. Sci.*, vol. 7, no. 1, pp. 211–219, 2019, doi: 10.1039/c8bm00386f.
- [64] Janusz M. Dąbrowski, et al., Arnaut, Engineering of relevant photodynamic processes through structural modifications of metallotetrapyrrolic photosensitizers, *Coordination Chemistry Reviews*, Volume 325, 2016, Pages 67-101, ISSN 0010-8545, doi.org/10.1016/j.ccr.2016.06.007.

- [65] Cheng, Yu et al., "Deep penetration of a PDT drug into tumors by noncovalent drug-gold nanoparticle conjugates." *Journal of the American Chemical Society* vol. 133,8 (2011): 2583-91. doi:10.1021/ja108846h.
- [66] Kim MM, Ghogare AA, Greer A, Zhu TC. "On the in vivo photochemical rate parameters for PDT reactive oxygen species modeling". *Phys Med Biol.* 2017 Mar 7;62(5):R1-R48. doi: 10.1088/1361-6560/62/5/R1.