Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

“Estudo da utilização de filmes poliméricos a base de DNA como sistema carreador
de fármacos e ativos”

Cristiano Ceron Jayme

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: **Química**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Claudio Tedesco

RIBEIRÃO PRETO -SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Jayme, Cristiano Ceron

Estudo da utilização de filmes poliméricos a base de DNA como sistema carreador de fármacos e ativos. Ribeirão Preto, 2018.

130 p. : il. ; 30cm

Tese (Doutorado em Ciências), apresentada à Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Química.

Orientador: Antonio Claudio Tedesco.

1. Terapia Fotodinâmica, 2. Ftalocianina de cloro alumínio,
3. Ácido desoxirribonucleico), 4. Câncer bucal.

FICHA DE APROVAÇÃO

Nome: Jayme, Cristiano Ceron

Título: Estudo da utilização de filmes poliméricos a base de DNA como sistema carreador de fármacos e ativos

Tese apresentada Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área: Química

Aprovado em: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

A Deus por todo o amor.
À minha noiva Aline, meus pais José e Daisy,
meu irmão Nelson e minha avó Geazi
Grato, simplesmente por tudo

AGRADECIMENTOS

Seria praticamente impossível mensurar ou quantificar toda a colaboração e ajuda que tive durante todos esses anos até chegar ao fim desse trabalho. Desde início da graduação tive grandes mestres, amigos e incentivadores. Na realidade todo o desenvolvimento desse trabalho só foi possível mediante o acúmulo de experiências, aprendizados e a vivência com grandes pessoas que contribuíram tanto no meu crescimento na ótica profissional quanto pessoal. Torna-se humanamente impossível citar todos. Aos humanamente citáveis agradeço ao meu orientador e mestre Dr. Antonio Claudio Tedesco, primeiramente por todas as oportunidades dadas, a primeira delas a de participar de um grupo tão especial, em que fui tão bem recebido. Por realmente me orientar, compartilhar seus conhecimentos e muitas vezes aparecer com a luz no final do túnel nos lugares em que eu não enxergava. Tudo isso com toda a certeza estimulou um crescimento muito grande em mim tanto pessoal quanto profissional. Considero essa experiência como única, que foi capaz de me proporcionar grandes ensinamentos que sempre levarei comigo. Muito obrigado meu eterno respeito, admiração e acima de tudo gratidão por tudo.

A todos meus amigos do Centro de Nanotecnologia e Engenharia Tecidual (CNET-USP), que fizeram com que todo esse trabalho fosse realizado de maneira mais leve e me proporcionaram um ambiente de trabalho único, meu agradecimento a todos vocês : Dr. Emanuel Pedro de Oliveira Silva, Dra. Patrícia Leme Goto, Prof. Dr. Fernando Lucas Primo, Prof. Dr. Diogo Silva Pellosi, Maryanne Trafani de Melo, Nathalia Nossi Davanzo, Nathalia Maria Candido, Graciely Gomides Gobo, Jaqueline Martins Gehlen, Olimpia Paschoal Martins, Tácia Gabrielle Lopes, Camila Fernanda Amantino, Henrique Luis Piva, Luandra Aparecida Unten Takahashi, Carla Souza, Daniela Fernandes Silvestrini, Maiko Luiz Carlos, André César Pegoretti da Cunha, Ananda Ferreira Pires, Kelita Angelo, João Brussolo Silva e Felipe Michelassi. Muito obrigado! Alguns de vocês contribuíram muito com a execução desse trabalho e com toda a certeza tem alguns dedos de muitos de vocês aqui. Faço uma menção especial aos meus amigos Dr. Leonardo Barcelos de Paula, Italo Rodrigo Calori, Dr. Leonardo Pereira Franchi e Nayara Rezende por toda contribuição, auxílio e abertura que sempre me concederam ao discutirmos ciência. Grato pelos momentos de grandes ensinamentos que nortearam meu crescimento profissional e pessoal.

Aos Prof(a)s Dr. Iouri Borissevitch, Dr. Amando Ito, Dr. Richard John Ward, Dra. Márcia Andreia Mesquita Silva da Veiga e Dr. Luciano Bachmann por disponibilizarem gentilmente seus laboratórios e equipamentos todas as vezes que necessitei e me deram o apoio e auxílio do desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Eduardo Miller por todo auxílio sempre que solicitado e pelo compartilhamento de sua experiência na vida acadêmica, além de grandes ensinamentos que sempre levarei comigo.

Agradeço muito a toda minha família, em especial aos meus pais José e Daisy por todo apoio, e ensinamentos que me proporcionaram pela dedicação em tempo integral e seu amor sincero. Ao meu irmão Nelson, grande amigo, que eu sei posso contar sempre em qualquer momento. A minha avó Geazi por todo carinho e ensinamentos e a minha irmã Geiza.

Destaco e agradeço com todo o meu respeito minha noiva Aline, minha fortaleza, que sempre esteve ao meu lado, por todo seu amor, carinho e grande razão para eu sempre seguir em frente. A Heloisa e João Vitor por toda amizade, carinho e grande apoio nesta caminhada.

A todos os que compõem o programa de pós-graduação do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto.

A CAPES, pela concessão do suporte financeiro durante a execução do presente trabalho.

A Deus pelo dom da vida e por todas as bênçãos derramadas na minha vida.

“A persistência é o menor caminho do êxito.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

Jayme, C. C. **Estudo da utilização de filmes poliméricos a base de DNA como sistema carreador de fármacos e ativos**. 2018. 130 páginas. Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

Os filmes poliméricos a base de DNA (DNA-PFs) são um sistema de veiculação de fármacos extremamente promissor aplicado à medicina moderna além de convergir busca de alternativas mais seletivas para o tratamento de câncer de boca via Terapia Fotodinâmica. A Ftalocianina de alumínio-cloro (AlClPc) é um fotossensibilizador de segunda geração aplicado em terapia fotodinâmica (TFD) caracterizado por seu caráter anfifílico e tendência de auto-agregação em meio aquoso, prejudicando diretamente seu potencial de aplicação. Objetivando a busca das melhores condições de incorporação da (AlClPc) ao (DNA) foram determinadas as melhores proporções dos componentes a serem estudadas em diferentes condições de solubilidade. Os (DNA-PFs) foram preparados via *Casting* e para esclarecer sua compatibilidade e aplicabilidade, foram avaliados os aspectos morfológicos, bioquímicos e adesão celular das células de carcinoma escamosas orais (OSCC) nos (DNA-PFs). Foi observada uma alteração inicial e temporária na morfologia das células, devido ao processo de ligação ao filme nos estágios iniciais, conforme esperado, que retorna então a um estado morfológico normal mais tarde na configuração. Os estudos de citometria de fluxo mostraram baixa citotoxicidade de (DNA-PFs) no sistema, apresentando viabilidade superior a 90% em todos os (DNA-PFs) testados. Corroboram com esses resultados as análises da cinética do ciclo celular, mostrando que a cinética das células OSCC é mantida na presença de (DNA-PFs). Esses resultados indicam uma alta biocompatibilidade dos (DNA-PFs) produzidos. Após a incorporação da (AlClPc) aos (DNA-PFs) efetuou-se o uso do novo do sistema de veiculação aplicado a (TFD). Ficando evidente o aumento da morte celular, nas respectivas doses aplicadas. Tendo em vista a redução de viabilidade celular apresentada pelo tratamento dos (DNA-PFs-AlClPc) verificou-se ainda o tipo de morte celular induzida pelo tratamento indicando como via preferencial de morte celular ocasionado por apoptose Estes resultados servem como base e possibilitam a abertura de novas perspectiva do potencial uso dos (DNA-PFs) aplicados como sistema de veiculação de fármacos para o tratamento fotodinâmico.

ABSTRACT

Jayme, C. C. **Study the use of DNA-based polymer films as a drug and active drug delivery system.** 2018. 130 páginas. Thesis (Doctoral Degree) – Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.

DNA-based polymer films (DNA-PFs) are an active drug delivery system applied to modern medicine besides converging search for more selective alternatives for the treatment of oral cancer through Photodynamic Therapy (PDT). Aluminum chlorine phthalocyanine (AlClPc) is a second-generation photosensitizer applied in PDT characterized by amphiphilic and tendency for self-aggregation in the aqueous medium, directly damaging its application potential. Aiming the search for the best conditions of incorporation of AlClPc to DNA the best proportions of the components to be studied under different solubility conditions were determined. The DNA-PFs were prepared via *Casting* and to clarify their compatibility and applicability, the morphological, biochemical and cell adhesion aspects of oral squamous cell carcinoma (OSCC) were evaluated in DNA-PFs. An initial and temporary alteration in cell morphology was observed due to the process of binding to the film in the initial stages, as expected, which then returns to a normal morphological state later in the configuration. Flow cytometry studies showed low cytotoxicity of DNA-PFs in the system, presenting viability higher than 90% in all DNA-PFs tested. They corroborate with these results the analyzes of the cell cycle kinetics, showing that the kinetics of OSCC cells is maintained in the presence of DNA-PFs. These results demonstrate high biocompatibility of the DNA-PFs produced. After incorporation of AlClPc to the DNA-PFs, the new one of the delivery system applied to PDT was used. The increase in cell death was evident in the several doses applied. Given the reduction of cell viability presented by the treatment of DNA-PFs-AlClPc, the type of cell death induced by the treatment was also showing, as the preferential route of cell death caused by apoptosis. These results allow new opportunities for potential use DNA-PFs DNA applied as a drug delivery system for PDT.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

O câncer é uma das doenças que mais causam temor na sociedade, por ter se tornado um estigma de mortalidade e dor. Na verdade, a palavra câncer de origem latina (“cancro”) significado de “caranguejo” se referindo à proliferação de células cancerosas no organismo, processo de metástase, que se espalham pelo corpo com crescimento infiltrante dificultando o tratamento e a remoção tumoral (ALMEIDA et al., 2005).

Estima-se, atualmente, que o câncer seja responsável por mais de 12% de todas as causas de óbito no mundo, mais de 7 milhões de pessoas morrem anualmente dessa patologia. Nos últimos anos a incidência de câncer, que em 2002 foi de 11 milhões de casos, alcançará, segundo a International Union Against Cancer (UICC), mais de 15 milhões em 2020 (DE FREITAS et al., 2016).

O câncer pode ser definido como uma sucessão de várias alterações que uma célula sadia sofre no DNA (ácido desoxirribonucleico) dos genes, chamada de mutação genética. A partir do acumulo dessas alterações as células alteradas passam a se comportar de maneira diferente da sadia, essas células são caracterizadas por possuírem multiplicação descontrolada e a capacidade de formação de vasos para nutrição de massa tumoral (angiogênese), podendo crescer e invadir outros tecidos podendo levar a morte. As células cancerosas são, geralmente, menos especializadas nas suas funções que as suas correspondentes sadias. Conforme as células cancerosas vão substituindo as sadias, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções, crescendo e podendo ainda invadir outros tecidos (ALMEIDA et al., 2005).

A denominação de câncer pode ser dada a um conjunto de mais de 100 tipos diferentes de doenças, que tem em comum o crescimento anômalo de células, com capacidade de invadir tecidos ou órgãos. O acumulo dessas células proveniente do crescimento descontrolado das mesmas induzem a formação dos tumores (FIDLER, 2003).

O surgimento do câncer pode ser relacionado diferentes fatores como idade, ambiente, fatores genéticos ou ainda hereditários, essencialmente a maior exposição dos indivíduos a fatores cancerígenos é a principal delas. As novas condições de padrões de vida, a partir da uniformização das condições de trabalho, nutrição e consumo, desencadeada pelo processo global de industrialização, tem reflexos importantes no perfil epidemiológico das populações. A redução das taxas de mortalidade e natalidade apontando para uma maior expectativa de vida e a um envelhecimento populacional, levando ao aumento da incidência de doenças crô-

nico-degenerativas, especialmente as patologias cardiovasculares e as neoplasias (DE FREITAS et al., 2016).

A. Câncer de boca

O Brasil é considerado como o terceiro país no mundo com maior índice de câncer de boca. A doença é pouco conhecida em relação aos outros tipos de neoplasias e tem como grande agravante na maioria dos casos seu diagnóstico tardio (DE FREITAS et al., 2016). O câncer de boca é mais comum em homens, acima dos 40 anos. Entretanto, evidências mostram um aumento significativo de número de casos em indivíduos mais jovens (SUDBO e REITH, 2003; ZAVRAS et al., 2001; DE FREITAS et al., 2016).

Dois fatores devem ser salientados como fundamentais no aumento de predisposições ao desenvolvimento do risco de câncer de boca: tabagismo e etilismo. Os tabagistas podem apresentar uma probabilidade de 4 a 15 vezes maior de desenvolver a doença do que os indivíduos não tabagistas (LEITE, SILVA e MELO, 2005). Diversas reações oxidativas podem ser geradas no tecido ao fumar, essas reações podem produzir radicais livres nos eventos celulares. A presença de espécies reativas de oxigênio pode gerar danos às proteínas, carboidratos, lipídios e DNA. No caso do dano ao DNA, por menor que for, pode resultar em mutagênese e em alteração do ciclo celular, além disso diversos dos produtos da combustão do cigarro são considerados carcinogênicos (LEITE, SILVA e MELO, 2005; DE FREITAS et al., 2016). No caso do etilismo as substâncias tóxicas produzidas pelo etanol são capazes de interagir com o DNA assim ocasionando falhas durante o processo de multiplicação celular das células, o que pode acarretar no aparecimento do câncer (REIS et al., 1997).

1.2 Histórico da terapia fotodinâmica

Documentos datados com cerca de seis mil anos de idade já faziam menção ao emprego de substâncias vegetais para produzir reações mediadas pela luz como forma de tratamento de uma série de doenças. O papiro de Ebers descreve que no Egito a aplicação de luz solar era descrita para tratar doenças de pele, vitiligo e até mesmo o câncer (WEISS et al., 2012; SELLERA, F. P., 2014). Relatos parecidos são descritos, na Grécia antiga, por Heródoto e associavam a exposição solar à luz como forma de revigorar a saúde (ACKROYD et al., 2001).

O primeiro relato científico de emprego da luz como tratamento fotodinâmico surgiu apenas no início do século XX (1990) em Munique, quando Oscar Raab e seu professor Herman von Tappeiner observaram os efeitos decorrentes de fotossensibilização em paramécio. Raab observou a morte rápida de um protozoário, *Paramecium caudatum*, após a exposição à luz em contato com um corante de acridina(VON TAPPEINER, 1900). A presença da luz, atuava modificando a ação do corante, permitindo assim a identificação de um fotossensibilizante. Posteriormente von Tappeiner ampliou as descobertas com outros experimentos e descobriu a necessidade da presença do oxigênio para a reação, criando o termo TFD (ISSA e MANELA-AZULAY, 2010). Sendo que o corante isoladamente não apresentava qualquer efeito citotóxico sobre a cultura de protozoário (ACKROYD et al., 2001). Criando assim o termo terapia fotodinâmica (TFD) ou mais comumente denominada de (PDT) do inglês *Photodynamic Therapy*.

No ano de 1907, von Tappeiner e Jodlbauer publicaram um livro-texto sobre essa terapia, definida como processo de fotossensibilização dependente de oxigênio, no tratamento de tumor cutâneo e destruição de partículas infecciosas. Ainda ampliaram suas experiências descrevendo a ação da eosina tópica a 5% e luz artificial para tratamento de câncer cutâneo não melanoma e de outras dermatoses, como lúpus vulgar e condiloma plano(VON TAPPENIER, 1903). Nesse sentido von Tappeiner e Jodlbauer ainda postularam a ideia de que a eosina, assim como a acridina, depois de incorporada à célula, poderia produzir reação citotóxica quando exposta a fonte de luz adequada, na presença de oxigênio (ISSA e MANELA-AZULAY, 2010; TAUB, 2004).

Houve uma grande evolução referente a aplicação da (TFD) por volta de 1908 quando os primeiros casos descrevendo a aplicação de porfirina como fotossensibilizante foi descrita. Por volta de 1912 Fiedrich Meyer Betz, um médico de origem alemã, se auto aplicou uma alta dose de hematoporfirina o que o deixou fotossensível por cerca de 60 dias(MEYER-BETZ, 1913; MOAN e PENG, 2003). Entretanto apenas em 1924, Policard foi capaz de detectar a emissão de fluorescência de tumores expostos a porfirinas que eram irradiados(POLICARD, 1924). Esse fato desencadeou uma serie de novas pesquisas no final da década de 40, quando se descobriu que as porfirinas se concentravam preferencialmente em neoplasias (SELLERA, F. P., 2014; ACKROYD et al., 2001). Lipson , no final da década de 60, reportou um caso de tratamento efetivo de câncer de mama aplicando derivados de hemtoporfirina e aplicação de luz visível(LIPSON , BALDES e OLSEN, 1961).

No ano de 1968 iniciaram-se os estudos dos efeitos da aplicação fotodinâmica de porfirinas em tumores, o que reascendeu os estudos direcionados a aplicabilidade da (TFD).

Thomas Dougherty, no final dos anos 70, utilizou derivados de hematoporfirina (HPD) para tratamento de câncer de pele e metástases cutâneas, encontrando como principal desvantagem a sensibilização prolongada ocasionada pelas hematoporfirinas, além de serem moléculas grandes em demasia, dificultando a penetração cutânea para uso tópico do mesmo (MOAN e PENG, 2003; NOWIS et al., 2005).

A fotossensibilidade prolongada com o uso de drogas sistêmicas dificultaram a prática dessa técnica em até 1990. Kennedy e colaboradores propuseram um novo método, utilizando ALA tópico como precursor metabólico de fotossensibilizante endógeno, a protoporfirina IX (Pp IX). A Pp IX é tem como principal vantagem a degradação durante o processo de irradiação com fonte de luz específica, reduzindo a fotossensibilização prolongada ocasionada até então (KENNEDY, POTTIER e PROSS, 1990; ISSA e MANELA-AZULAY, 2010).

As pesquisas efetuadas na época direcionaram a aplicação das hematoporfirinas com ácido acético-sulfúrico, apresentando assim um melhor produto e com melhores efeitos locais de aplicação. Comercialmente esse produto foi denominado de Photoprin®, sendo o primeiro fotossensibilizador aprovado para aplicação clínica (MOAN e PENG, 2003), que se caracteriza por ser uma mistura de monómeros, dímeros e oligómeros derivados de hematoporfirina (NOWIS et al., 2005). Aplicado e comercializado em 1995, sendo o primeiro medicamento aprovado pelo FDS (US. *Food and Drug Administration*) para TFD direcionado ao tratamento do câncer de esôfago.

No Brasil o grupo de Pesquisa em Fotobiologia e Fotomedicina da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FFCLRP-USP), foca os estudos direcionados a terapia fotodinâmica desde 1995. Os trabalhos tem enfoque no desenvolvimento novos sistemas de liberação de fármacos fotossensíveis e avaliação das propriedades fotoquímicas, fotofísicas e fotobiológicas desses sistemas aplicados diretamente à TFD (SIQUEIRA-MOURA et al., 2013; DE PAULA et al., 2013b; BOLFARINI et al., 2014; JAYME, CALORI e TEDESCO, 2015; CALORI e TEDESCO, 2016)

1.3 Fotossensibilizadores associado à terapia fotodinâmica

A falta de seletividade de protocolos e procedimentos clássicos utilizados no tratamento do câncer sistêmico como radioterapia e quimioterapia é uma das complicações no uso destas terapêuticas. Estas, de maneira geral, afetam tanto células cancerosas como saudáveis. Nesse sentido, o desenvolvimento de tratamentos alternativos mais seletivos tem ganhado grande enfoque nas últimas décadas. Dentre os novos tratamentos, destacam-se a Terapia Fo-

todinâmica (TFD). Um número significativo de pesquisas direcionada a aplicação da (TFD) foram desenvolvidas na última década, esse avanço de deu em grande parte, devido ao seu reconhecimento por parte da agência norte-americana FDA (US. *Food and Drug Administration*) como uma terapia eficaz para o tratamento de diversas doenças, incluindo o câncer (FAN et al., 2014; CHEN et al., 2013).

A TFD é um método utilizado no tratamento de patologias associadas ao crescimento anormal de tecido como, por exemplo, o câncer de pele (IBBOTSON e FERGUSON, 2012; SZEIMIES et al., 2013), bucal (BICALHO et al., 2013) e próstata (MOORE et al., 2006; BETROUNI et al., 2011) além de outras como doenças bacterianas e fúngicas (SILVA et al., 2013). O método consiste na aplicação tópica ou sistêmica de um agente fotossensibilizador (FS) às células cancerosas e posterior ativação com luz visível de comprimento de onda adequado *in situ*, geralmente, entre 600 e 750 nm, conhecida como “janela terapêutica”. Além de apresentar maior seletividade, a TFD acarreta mínimos efeitos colaterais e vem sendo empregada a mais de quarenta anos (BRASSEUR et al., 1999; CASTANO, DEMIDOVA e HAMBLIN, 2005; TOREZAN, NIWA e FESTA NETO, 2009; DE PAULA et al., 2012) (SIQUEIRA-MOURA et al., 2013). A TFD tem como objetivo principal induzir a morte do tecido neoplásico por um processo de fotossensibilização com redução da massa tumoral e minimizando ao máximo os danos aos tecidos vizinhos.

A TFD tem ainda grande funcionalidade na eliminação de agentes poluentes (CLENNAN, 2000) presentes, principalmente, em resíduos industriais (GOGATE e PANDIT, 2004) bem como outras aplicações como fotobiomodulação (RAMALHO et al., 2010; PELLOSI, DE JESUS e TEDESCO, 2017).

Um FS a ser utilizado em fotoprocessos dinâmicos precisa apresentar algumas características específicas, tais como, forte absorção da luz visível; alto rendimento quântico de oxigênio singlete; baixo rendimento de reação de foto-degradação; alta afinidade e penetração seletiva no tecido doente; farmacocinética favorável; reprodutibilidade; alta estabilidade e baixa toxicidade do fármaco na ausência de luz visível (usado na fotoativação) (HYNNINEN e LÖTJÖNEN, 1980; JAYME, CALORI e TEDESCO, 2015; PELLOSI, DE JESUS e TEDESCO, 2017).

Os FS mais extensamente estudados são porfirinas apresentam como principais características baixa toxicidade no escuro e falta de interações farmacológicas com outras drogas, tornando a PDT um procedimento seguro em oncologia tratamentos combinados. Por muito tempo a maioria estudos pré-clínicos foram dominados pelo uso de hematoporfirina derivados (HPD)(NOWIS et al., 2005). Sendo os compostos derivados de Hematoporfirina classifica-

dos como a primeira geração. A primeira geração de fármacos fotossensíveis (BAGNATO, 2008; NUNEZ; GARCEZ e RIBEIRO, 2015) entretanto, à baixa seletividade ao tecido neoplásico e a uma fraca absorção na região do vermelho, levou o estudo e desenvolvimento de novas moléculas, com propriedades mais atrativas.

As ftalocianinas, e clorinas e bacterioclorinas são classificados como fotossensibilizantes de segunda e terceira geração. A faixa de absorção das ftalocianinas, espectro de absorção, é formado por um conjunto de bandas principais, denominadas de: banda-B (ou banda de Soret) e da bandas Q, que se encontram na região do ultravioleta ou radiação ultravioleta (300-350 nm) e na região de luz visível (UV-VIS) (600-700 nm), respectivamente (JAYME, CALORI e TEDESCO, 2015; UENO et al., 2012; TEDESCO, ROTTA e LUNARDI, 2003a; SIQUEIRA-MOURA et al., 2013; PAULA, L. B. D., 2015).

Dentre os FS de segunda geração destacam-se as Ftalocianinas e dentro dessas a de cloro alumínio (AlClPc) merece uma maior atenção. Fármaco bastante empregado em nosso grupo de pesquisa (BOLFARINI et al., 2014; DE PAULA et al., 2013b; PORTILHO et al., 2013; NUNES, SGUILLA e TEDESCO, 2004; TAPAJÓS et al., 2008; JAYME, CALORI e TEDESCO, 2015). As AlClPc são definidas como um macrociclo tetrapirrólico com um íon alumínio central (Al^{3+}). Além das características necessárias para fotossensibilização, a AlClPc possui a vantagem de alta absorção em comprimentos de onda superior a 650 nm com $\lambda_{\text{Maximo}}=672$ nm em solvente etanol, o que garante sua aplicação na terapêutica contra neoplasias cutâneas pigmentadas, já que não há competição com o pigmento da melanina de máxima absorção em comprimentos de onda maior que 530 nm (MOURA, M. P. D. S., 2011). Ainda as ftalocianinas podem interagir formando compostos com praticamente todos os metais e resultando em sistemas com grande estabilidade (UENO et al., 2012).

Figura 1. Estrutura molecular base das ftalocianinas (A); Estrutura molecular da ftalocinina de cloro alumínio (B). Adaptado de (DA HORA MACHADO, 2000; SIQUEIRA-MOURA et al., 2010).

Outra propriedade a ser considerada deste composto é sua elevada hidrofobicidade favorecendo o processo de auto agregação em meio aquoso. Esta agregação afeta diretamente suas propriedades fotofísicas e de fotossensibilização (DHAMI e PHILLIPS, 1996) (TSUBONE et al., 2014; JAYME, CALORI e TEDESCO, 2015) causando aumento da desativação do estado excitado por processos não radiativos. Portanto, na TFD, os dímeros são considerados inativos ou extremamente ineficientes em relação aos monômeros (BALL et al., 1998; NUNES, SGUILLA e TEDESCO, 2004; OU, SHEN e KADISH, 2006; KADISH; SMITH e GUILARD, 1999; UENO, MACHADO e MACHADO, 2009). Assim sendo, a baixa solubilidade da AIClPc em meio aquoso impossibilita sua aplicação direta no tecido biológico alvo (NUNES, SGUILLA e TEDESCO, 2004; DHAMI e PHILLIPS, 1996; CASTAGNOS et al., 2014).

1.4 Mecanismos fotofísicos e fotoquímicos da terapia fotodinâmica

Os princípios de funcionamento da TFD estão relacionados diretamente aos mecanismos de transferência e absorção de energia. Os processos de absorção de radiação desencadeiam uma série de processos, decorrentes do estado excitado das moléculas. Os processos fotofísicos ocorrentes mediante a ação da luz com a matéria é ilustrado pelo diagrama de Jablonski (LAKOWICZ, 2007).

Após a absorção da luz o fármaco fotossensível, excitado por uma fonte de luz, visível geralmente, e comprimento de onda adequado que se encontra em seu estado fundamental (S_0) com seus elétrons com spins opostos em um orbital de menor energia, sofre uma transição, para o estado singlete excitado (S_1). Este estado excitado possui tempo de vida curto, em torno de nanossegundos, podendo retornar ao estado (S_0) por um processo radioativo, emitindo um fóton (fluorescência) ou por conversão interna com perda de energia na forma de calor (processo não radioativo). O estado excitado singlete pode também submeter-se ao processo de cruzamento intersistemas por meio da inversão do spin do elétron excitado gerando o estado tripleto excitado ($^3FS^*$) com um maior tempo de vida microsegundos (RONCALLI, A. A. E. S., 2010; LAKOWICZ, 2007). Conforme ilustrado na **Figura 1** pelo diagrama de Jablonski.

Figura 2. Diagrama de Jablonski para o processo de fotossensibilização, onde λ_1 = absorção de luz de comprimento de onda adequado, S_0 = estado fundamental, S_1 = primeiro estado excitado singlete, S_n = estados excitados singlete superiores, T_1 = primeiro estado excitado triplete, T_n = estados excitados triplete superiores, Φ_{ic} = rendimento quântico de conversão interna, Φ_{isc} = rendimento quântico de cruzamento intersistema, k_f = constante de velocidade de fluorescência, k_p = constante de velocidade de fosforescência, k_{ET} = constante de transferência de energia. Adaptado de (HAMBLIN, 2016).

O estado triplete pode reagir de duas maneiras distintas, mecanismo do Tipo 1 e mecanismo do Tipo 2 (CASTANO, DEMIDOVA e HAMBLIN, 2005). O mecanismo do Tipo 1 se relaciona diretamente com abstração de um átomo de hidrogênio ou reação de transferência de elétron entre o estado excitado triplete do fármaco fotossensibilizador e diferentes macromoléculas biológicas, acarretando na produção de radicais livres. Ocorre a transferência de elétrons entre a molécula do FS no seu estado excitado S_1 ou T_1 e o substrato, formando assim íons radicais. Os íons radicais livres formados são caracterizados por serem altamente reativos, assim sendo podem reagir com o oxigênio molecular e formar espécies reativas de oxigênio como superóxido ($\bullet O_2^-$), radical hidroxila ($\bullet OH$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Essas espécies geradas caracterizam-se por serem altamente reativa e com uma alta capacidade de oxidar uma grande variedade de biomoléculas.

No mecanismo do Tipo II o estado excitado triplete do fotossensibilizador ($^3FS^*$) transfere energia para o oxigênio molecular (3O_2) para a geração do oxigênio singlete (1O_2). Devido alta reatividade do oxigênio singlete esse reage indiscriminadamente com diversos

materiais biológicos como, lipídios insaturados, aminoácidos entre outros. O oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) é uma espécie altamente reativa, sendo considerada como a principal envolvida no processo de morte celular (BARTUSIK et al., 2013).

Pensando no fármaco fotosensível em contato com células, após o processo de absorção da luz o fármaco fotossensível pode promover a destruição irreversível dos tecidos tumorais através de três formas, resumidamente: (I) Pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) causando diretamente a morte das células tumorais por apoptose e/ou necrose; (II) Via efeito antivascular que pode causar trombose e hemorragia dos vasos tumorais levando a morte das células neoplásicas por privação de oxigênio e nutrientes; e (III) ativação da resposta imune contra as células tumorais através do processo de inflamação aguda e liberação de citocinas no tumor, resultando assim, num influxo de macrófagos e leucócitos que podem contribuir para a destruição tumoral, bem como, estimular o sistema imune a reconhecer e eliminar as células neoplásicas (PAULA, L. B. D., 2015; FICHEUX, 2009; KARIOTI e BILIA, 2010; ORMOND e FREEMAN, 2013).

1.5 Auto-agregados de ftalocianina de cloro alumínio

As ftalocianinas podem ser divididas em duas classes, no aspecto de solubilidade: Ftalocianinas solúveis em água, que podem ser injetadas diretamente na corrente sanguínea e ftalocianinas hidrofóbicas, que deve ser administrado usando algum tipo de entrega sistema. Dessa maneira a forma como o sensibilizador é entregue a célula também é importante, ou seja, se está presente na solução ou ligado ao sistema de veiculação específico, esse fato influenciará a eficiência geral do processo fotodinâmico. Ambiente com heterogeneidade de meio, como sistemas biológicos, células e os tecidos, os parâmetros estruturais e funcionais são envolvido diretamente na determinação da eficiência do processo de fotossensibilização (DHAMI e PHILLIPS, 1996).

A formação dos agregados é um processo comumente descrito para compostos com sistema de conjugação π , tal processo ocorre quando a energia de coesão entre as moléculas consistentes do agregado é maior do que a energia da interação de seus monômeros no ambiente (ISRAELACHVILI, 2011).

As ftalocianinas com alta hidrofobicidade tendem direcionar o equilíbrio existente entre as espécies presentes no meio à formação de agregados em meio aquoso e consequentemente a redução da solubilidade, o que reduz a sua eficácia como fotossensibilizador (SAKA, 2012; TSUBONE et al., 2014). A agregação pode ser definida como a associação, coesão e

aglomeração de moléculas em uma solução. A agregação das ftalocianinas pode ser proveniente de interações π - π entre os sistemas aromáticos e / ou interações específicas entre o ligando de metal (LM) e grupos substituintes ou moléculas de solvente (LEBEDEVA et al., 2004; TSUBONE et al., 2014). O principal problema do estado de agregação das ftalocianinas é que essa altera as propriedades da mesma sendo capaz de alterar a ligação do composto do fotossensibilizador com alvos biológicos e diminui o rendimento quântico de oxigênio singlete, prejudicando diretamente a aplicação em TFD (SIMPLICIO et al., 2004; TSUBONE et al., 2014).

1.6 DNA (*Ácido desoxirribonucleico*)

Recentemente estratégias visando aplicações biomédicas do ácido desoxirribonucléico (DNA) têm destacando-se entre os principais biomateriais em engenharia tecidual (FUKUSHIMA et al., 2007; JEONG et al., 2016; JAYME et al., 2017), no desenvolvimento de nanoestruturas e nanodispositivos funcionais baseados em DNA (JEONG et al., 2016). O interesse no DNA surgiu devido a suas propriedades de automodulação, baixo custo de síntese e biocompatibilidade (JEONG et al., 2016), além da possibilidade de intercalar antibióticos e citocinas entre os pares de bases empalheirados do DNA ou ligados dentro das cadeias da fita. Em particular, uma característica útil do DNA é que a molécula pode ser intercalada e ligada a fármacos naturais ou sintéticos como a driamicina, amsacrina e cloridrato de daunorrubicina (FUKUSHIMA et al., 2007). Neste contexto o DNA apresenta-se um promissor transportador em sistemas de liberação de fármacos.

O ácido desoxirribonucléico (DNA) é conhecido como a macromolécula biológica que contém as informações genéticas de todos os organismos vivos. O DNA é formado basicamente por nucleotídeos, ligados entre si por ligações covalentes denominadas de ligação de fosfodiéster. Os nucleotídeos são formados de um açúcar 2-desoxirribose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada (LENINGER, NELSON e COX, 1993).

Formado essencialmente por bases nitrogenadas, pentose e fosfato, o diferencial de cada constituinte são as bases nitrogenadas: adenina, citosina, guanina e timina. Componentes esses que constituem uma fita simples de DNA através de ligação fosfodiesteres entre os fosfatos. Posteriormente a fita dupla é formada com a ligação entre as bases nitrogenadas, ligações de hidrogênio (LENINGER, NELSON e COX, 1993).

Figura 3. Bases nitrogenadas do DNA adenina (A), citosina (C), guanina (G) e timina (T) (A); Estrutura da dupla hélice do DNA (B) e o corte transversal da molécula do DNA (C). Adaptado de (FINK; SCHÖNENBERGER, 1999)

O arranjo espacial ocasionado pela conformação da dupla hélice cria regiões na superfície do DNA, denominadas de *major groove* e *minor groove*. Essas concavidades de maior e menor tamanho e o espaço criado entre as bases nitrogenadas são possíveis sítios de ligação que a molécula de DNA oferece (LENINGER, NELSON e COX, 1993).

Moléculas pequenas tendem a se ligar ao DNA por intercalação, interagindo entre as bases nitrogenadas do DNA. A intercalação, processo conduzido entalpicamente, resulta da inserção de um sistema de anel aromático planar entre pares de bases do DNA ocasionando ainda um alongamento na hélice do DNA (DE ABREU et al., 2008). Lerman foi o pioneiro na proposta de interação por intercalação do DNA com compostos orgânicos planares (LERMAN, 1961; NI, LIN e KOKOT, 2006). Desde então diversos trabalhos têm se voltado a estudar a intercalação de moléculas pequenas com o DNA como $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dppz}]^{2+}$ (HOLMLIN, STEMP e BARTON, 1998), daunomicina, epirrubicina e actinomicina D (ZHOU, JAMES e SHAFER, 1989; DE ABREU et al., 2008).

Já as ligações que ocorrem na superfície da molécula na região dos *grooves* são de caráter covalente ou não covalente, interações eletrostáticas, nesse caso não ocorre a alteração estrutural da dupla hélice (DE ABREU et al., 2008; WARING, 1981). Os *grooves* se oferecem na parte superficial do DNA, onde as ligações são formadas na parede da molécula, possibilitando a formação de inúmeras ligações por toda a extremidade da molécula, essas ligações na superfície permitem a interação entre o fármaco anti-câncer, ALCIPc, e o DNA (as bases do DNA e a estrutura de fosfato) (ZHOU, JAMES e SHAFER, 1989; DE ABREU et al., 2008)

Quando a interação ocorre na superfície do DNA a eletronegatividade é um parâmetro de suma importância a fim de determinar as regiões onde as interações podem ocorrer preferencialmente. A eletronegatividade da superfície do DNA é relatada na literatura pela seguinte ordem: GC (*major*) $\geq$ AT (*minor*) $\gg$ GC (*minor*) $\geq$ AT (*major*) (BORISSEVITCH e GANDINI, 1998; SCHABERLE, F. A., 2002).

A interação do DNA com diferentes tipos de fármacos foram relatados em diversos trabalhos com diferentes fármacos anti-câncer estudados como o [Pt (DMP) (DIP)] Cl₂.H₂O (SHAHABADI, MOHAMMADI e ALIZADEH, 2011). Nesse aspecto a utilização do DNA para entrega de fármaco pode ser considerada como uma via promissora, uma vez que permitirá a realização de montagens complexas que colocalize fármacos e ativos, ligadas ao alvo mais eficientemente e outras funcionalidades em uma nanoestrutura. A nanotecnologia de DNA permite um alto grau de personalização, a hipótese de que isso iria permitir-nos para sintonizar as nanoestruturas de DNA para entrega ideal de uma determinada droga (ZHAO et al., 2012).

1.7 Sistema de veiculação de fármacos

Grande parte dos agentes antiproliferativos atualmente utilizados para o tratamento do câncer não são capazes de realizar de maneira efetiva a diferenciação entre células saudáveis e cancerígenas, assim sendo a aplicação destes agentes na maioria das vezes vem associada a uma gama de diversos efeitos colaterais. Fato que limita a dose máxima a ser administrada no paciente além de favorecer o aparecimento de resistência a múltiplos fármacos (KOMAROVA e BOLAND, 2013; ESTANQUEIRO et al., 2015). Nesse sentido a eficiência de um tratamento contra o câncer pode ser mensurada por meio da sua habilidade de reduzir e/ou eliminar tumores sem danificar tecidos vizinhos saudáveis. O aumento da especificidade local e a internalização podem melhorar a eficácia e resposta do paciente ao tratamento e as-

sim diminuir a possibilidade de efeitos colaterais comuns inerentes a utilização dos tratamentos clássicos (ALMEIDA, FIGUEROA e DREZEK, 2014; ALMEIDA et al., 2005).

O número de produtos farmacêuticos baseados nos novos sistemas de veiculação de fármacos tem aumentado significativamente nos últimos tempos e com tendência de crescimento para os próximos anos. O planejamento e desenvolvimento de novos sistemas de transportes de moléculas visando o aumento da eficácia de fármacos existentes é um processo que continua crescendo na pesquisa farmacêutica (DAMASCENO et al., 2011).

Os sistemas de veiculação de fármacos (DDS) atualmente possuem plataformas para transporte de fármacos, à base de materiais sintéticos (sílica, polímeros, géis) e naturais (lipídios, proteínas, oligossacarídeos) e tem como enfoque principal tratar os problemas associados aos fármacos convencionais e melhorando suas propriedades farmacológicas (MAHAM et al., 2011). Assim sendo existe grande interesse em pesquisas e estudos focados no desenvolvimento de sistemas de veiculação de fármacos e ativos mais eficientes com intuito de melhorar a sua eficácia terapêutica (DURAN; MORAIS e MATTOSO, 2006).

Dependendo da sua solubilidade em água, cada fármaco possui um perfil diferente e único de liberação e de ação alvo - específico. Os fármacos pouco solúveis em água, como as ftalocianinas de cloro alumínio requerem uma tecnologia adequada para a sua liberação em um órgão ou tecido (DURAN et al., 2010).

Vários tipos de nanopartículas e sistemas coloidais podem melhorar a cinética, biodistribuição e a liberação do fármaco, seja ele fármaco, vacina, proteínas recombinantes ou oligonucleotídeos. Os lipossomas são vesículas esféricas artificiais de tamanho variável (20 nm a vários micrômetros de diâmetro) que podem ser produzidas com fosfolipídios naturais e colesterol. Já as nanopartículas poliméricas podem ser produzidas por diferentes métodos e dependendo do método de preparação, pode-se obter nanoesferas ou nanocápsulas. O fármaco pode ser liberado gradualmente, numa ampla faixa de concentração, por erosão ou difusão (ROSSI-BERGMANN, 2008).

Grande parte das nanopartículas utilizadas nas pesquisas contra o câncer incluem dendrímeros (TEDESCO, ROTA e LUNARDI, 2003b; NISHIYAMA et al., 2009), lipossomas (SIQUEIRA-MOURA et al., 2013; CALORI e TEDESCO, 2016), polímeros nanoparticulados, micelas, nanopartículas proteicas, nanopartículas de cerâmica, nanopartículas virais, nanopartículas metálicas (DE PAULA et al., 2012; PAULA, L. B. D., 2015) e nanotubos de carbono (SPENCER, PURANIK e PEPPAS, 2015).

Ainda podemos destacar o uso de fosfolipídios que são componentes estruturais das membranas biológicas e são encontradas em maior proporção. As formulações de fosfolipí-

dios são anfipáticas e, em meio aquoso, se reorganizam formando uma bicamada planar laminar a fim de minimizar as interações desfavoráveis entre a fase aquosa e as longas cadeias hidrocarbônicas dos ácidos graxos. Tais interações são completamente eliminadas quando a bicamada laminar se dobra para formar vesículas fechadas (PELEGRINO, A. C., 2007).

O desenvolvimento de sistemas de veiculação tem sido proposto, ao longo dos anos, como eficaz ferramenta para superar os mecanismos de resistência celular e aumentar a seletividade do fármaco pelas células cancerosas, consequentemente sendo capaz de reduzir os efeitos colaterais (DE PAULA et al., 2012; BOLFARINI et al., 2014; CALORI e TEDESCO, 2016).

Atualmente existem poucos registros na literatura sobre a utilização do DNA com esse enfoque e que apontam este sistema como um promissor DDS. (GAJRIA , NEUMANN e TIRRELL, 2011; ZHAO et al., 2012). Ainda tem-se por vantagem o uso do DNA na forma de filmes sólidos secos que possuem menor degradação, podem ser mais facilmente aplicados, armazenados em longo prazo, e podem permitir a entrega localizada de implante direto em combinação com liberação controlada e ajuste de dose de luz (GAJRIA , NEUMANN e TIRRELL, 2011).

1.8 Interação cultura celular suportes poliméricos

Os estudos e análises de interações entre células e seu substrato sob a ótica da engenharia de tecidos é de importância determinante nas propriedades biológicas dos implantes. A adesão das células a determinado substrato tem influência direta na morfologia, na proliferação e na viabilidade celular (PÉRTILE et al., 2007). Grande variedade de biomateriais tem ganhado destaque e sendo desenvolvida com diferentes propriedades físico-químicas e mecânicas, essas propriedades buscadas tem relação direta com a aplicação biomédica de interesse. o que inclui regeneração tecidual, novos sistemas de veiculação de fármacos, novos enxertos ou *scaffolds* (SERRANO et al., 2004; PÉRTILE et al., 2007).

Parte importante do sucesso de um suporte utilizado para crescimento celular ou *scaffold* depende diretamente da adesão e do desenvolvimento celular na superfície. A adesão celular geralmente é associada a capacidade das células em reconhecer, se ligar e interagir com um substrato. Somente após o processo de adesão que as células são capazes de iniciar a proliferação, espelhamento e a produção de matriz extracelular além da capacidade de manter seu fenótipo (SANTOS et al., 2004b; BARBANTI , ZAVAGLIA e DUEK, 2005). Especificamente o espalhamento celular é considerado um processo extremamente complexo que ge-

ram modificações na morfologia celular e consequentemente alterações no citoesqueleto, criando assim uma melhor interação com o substrato (SANTOS e WADA, 2007).

O substrato não necessita apresentar características semelhantes às da matriz extracelular para que o processo de adesão celular ocorra, entretanto essa similaridade físico-química é desejada quando o objetivo é a promoção da diferenciação celular ou para que um determinado polímero tenha uma interação mais efetiva no sítio de implantação (SANTOS e WADA, 2007). O desenvolvimento de um biomaterial com boa integração celular depende ainda da própria estrutura dos dispositivos produzidos.

A literatura converge no sentido que materiais porosos promovem o crescimento celular, bem como induzem as células a produzir componentes de matriz extracelular. Mesmo assim materiais com uma adesão mais lenta ou morfologia diferente (SANTOS et al., 2001; SANTOS et al., 2004a) podem ser promissores na aplicação de engenharia tecidual. Alguns materiais estudados em que a adesão celular é mais lenta podem estimular a produção de componentes de matriz extracelular de forma precoce permitindo o crescimento e proliferação celular (MANN et al., 1999; SANTOS et al., 2004b; SANTOS e WADA, 2007).

A superfície do material e suas propriedades como topografia, rugosidade, composição química, são consideradas de grande influencias no processo de adesão celular (ELIAS et al., 2008). As propriedades da superfície do biomaterial podem proporcionar uma maior ou menor interação com a água. A interação com água é importante pois existe uma relação entre a hidrofiliabilidade e a adesão celular substratos mais hidrofílicos tendem a suportar uma melhor interação com células (NEFF, CALDWELL e TRESCO, 1998; DEWEZ et al., 1998; SANTOS e WADA, 2007). A interação entre a superfície e as biomoléculas influenciam diretamente na cinética do processo e na termodinâmica da interação interfacial. Essa interação pode determinar se as proteínas desnaturam ou não, como elas se orientam e se depositam sob a superfície. Dependendo das características da superfície do biomaterial, uma maior ou menor interação com a água vai ocorrer. Se essa interação for positiva, proteínas ativas irão se ligar à superfície molhável do biomaterial e enviarão sinais para determinados tipos celulares para a formação do tecido (KASEMO, 2002; BORGES, A. D. M. G., 2012)

CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho foram eficazes na descrição e explicação do comportamento da ftalocianina de alumínio cloro em sistema binário água/etanol. Determinaram-se as melhores condições de incorporação do fármaco fotossensível (AlClPc) aos DNA-PFs.

Avaliou-se a biocompatibilidade dos DNA-PFs e foram descritas com sucesso o processo de crescimento e cinética do carcinoma epidermóide oral OSCC (aderido ao DNA-PFs), levando a um material de biocompatível desejado.

Após a incorporação da AlClPc ao DNA-PFs e efetuou-se o tratamento via TFD nas linhagens celulares OSCC, em que ficou evidente uma redução de viabilidade celular com um aumento de morte celular, nos ensaios efetuados junto ao DNA-PFs-AlClPc e tendo como via preferencial de morte celular a apoptose.

Esse conjunto de resultados têm uma relevância direta a futuras aplicações dos DNA-PFs com potencial para aplicação como DDS. Sendo que os DNA-PFs podem ser úteis como uma película adesiva para a administração de fármacos utilizados para o tratamento de doenças de pele, tais como infecções fúngicas e reações alérgicas ou para a administração de moléculas ativadas na pele ou doenças bucais como câncer ou ainda na cicatrização de feridas. Por se tratar de um novo sistema de veiculação de fármacos novas análises devem ser feitas com outras linhagens celulares com enfoque em efetivar de maneira mais robusta a aplicabilidade do mesmo e fomentar de maneira significativa a disponibilização dessa nova ferramenta de combate ao câncer. Concomitantemente novas posturas de aplicação dos DNA-PFs surgem, como menção ao design do novo "material de curativo", em que o filme de DNA é proposto como suporte para o crescimento celular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKROYD, R.; KELTY, C.; BROWN, N.; REED, M. The history of photodetection and photodynamic therapy, *Photochemistry and photobiology*, v. 74, p. 656-669, 2001.
- AGITAS, M. S.; CABIR, B.; OZDEMIR, S. Novel metal (II) phthalocyanines with 3, 4, 5-trimethoxybenzyloxy-substituents: Synthesis, characterization, aggregation behaviour and antioxidant activity, *Dyes and Pigments*, v. 96, p. 152-157, 2013.
- ALMEIDA, J. P. M.; FIGUEROA, E. R.; DREZEK, R. A. Gold nanoparticle mediated cancer immunotherapy, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 10, p. 503-514, 2014.
- ALMEIDA, V. d.; LEITÚO, A.; REINA, L. d. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Cancer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução, *Quim Nova*, v. 28, p. 118-129, 2005.
- ANDRUKHOV, O.; HUBER, R.; SHI, B.; BERNER, S.; RAUSCH-FAN, X.; MORITZ, A.; SPENCER, N. D.; SCHEDULE, A. Proliferation, behavior, and differentiation of osteoblasts on surfaces of different microroughness, *Dental Materials*, v. 32, p. 1374-1384, 2016.
- ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente** Bookman Editora, 2009.
- BAGNATO, V. S. **As Novas Técnicas Ópticas para as Áreas da Saúde** Editora Livraria da Física, 2008.
- BALL, D. J.; WOOD, S. R.; VERNON, D. I.; GRIFFITHS, J.; DUBBELMAN, T. M.; BROWN, S. B. The characterisation of three substituted zinc phthalocyanines of differing charge for use in photodynamic therapy. A comparative study of their aggregation and photosensitising ability in relation to mTHPC and polyhaematoporphyrin, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 45, p. 28-35, 1998.
- BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A.; DUEK, E. A. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, 2005.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria** Editora da UNICAMP, 2003.

- BARTUSIK, D.; AEBISHER, D.; GHOGARE, A.; GHOSH, G.; ABRAMOVA, I.; HASAN, T.; GREER, A. A fiberoptic (photodynamic therapy type) device with a photosensitizer and singlet oxygen delivery probe tip for ovarian cancer cell killing, *Photochemistry and photobiology*, v. 89, p. 936-941, 2013.
- BENESI, H. A.; HILDEBRAND, J. H. A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons, *Journal of the American Chemical Society*, v. 71, p. 2703-2707, 1949.
- BETROUNI, N.; LOPES, R.; PUECH, P.; COLIN, P.; MORDON, S. A model to estimate the outcome of prostate cancer photodynamic therapy with TOOKAD Soluble WST11, *Physics in medicine and biology*, v. 56, p. 4771, 2011.
- BICALHO, L. S.; LONGO, J. P. F.; CAVALCANTI, C. E. O.; SIMIONI, A. R.; BOCCA, A. L.; DE ALMEIDA, S.; FATTIMA MENEZES, M.; TEDESCO, A. C.; AZEVEDO, R. B. Photodynamic therapy leads to complete remission of tongue tumors and inhibits metastases to regional lymph nodes, *Journal of biomedical nanotechnology*, v. 9, p. 811-818, 2013.
- BOLFARINI, G. C.; SIQUEIRA-MOURA, M. P.; DEMETS, G. J.; TEDESCO, A. C. Preparation, characterization, and in vitro phototoxic effect of zinc phthalocyanine cucurbit [7] uril complex encapsulated into liposomes, *Dyes and Pigments*, v. 100, p. 162-167, 2014.
- BONCLER, M.; RALSKI, M.; KRAJEWSKA, U.; PODS-ÖDEK, A.; WATALA, C. Comparison of PrestoBlue and MTT assays of cellular viability in the assessment of anti-proliferative effects of plant extracts on human endothelial cells, *Journal of pharmacological and toxicological methods*, v. 69, p. 9-16, 2014.
- BORDBAR, A. K.; MOHAMMADI, K.; KESHAVARZ, M.; DEZHAMPANAH, H. Interaction of 5, 10, 15, 20-Tetrakis (N-Benzylpyridilium-4-yl) Porphyrin (H2TBzPyP) and Its Metal Derivatives with Calf Thymus DNA, *Acta Chimica Slovenica*, v. 54, 2007.
- BORGES, A. d. M. G. **Estudo de adesão e proliferação celular sobre superfícies de filmes poliméricos modificados por processo de plasma frio com descarga de barreira dielétrica.** 2012. Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.
- BORISSEVITCH, I. E.; GANDINI, S. C. Photophysical studies of excited-state characteristics of meso-tetrakis (4-N-methyl-pyridiniumyl) porphyrin bound to DNA, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 43, p. 112-120, 1998.
- BRASSEUR, N.; OUELLET, R.; LA MADELEINE, C.; VAN LIER, J. E. Water-soluble aluminium phthalocyanine copolymer conjugates for PDT: photodynamic activities and pharmacokinetics in tumour-bearing mice, *British journal of cancer*, v. 80, p. 1533, 1999.

- BREZNAN, D.; DAS, D.; MACKINNON-ROY, C.; SIMARD, B.; KUMARATHASAN, P.; VINCENT, R. Non-specific interaction of carbon nanotubes with the resazurin assay reagent: Impact on in vitro assessment of nanoparticle cytotoxicity, *Toxicology in vitro*, v. 29, p. 142-147, 2015.
- CALORI, I. R.; TEDESCO, A. C. Lipid vesicles loading aluminum phthalocyanine chloride: Formulation properties and disaggregation upon intracellular delivery, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 160, p. 240-247, 2016.
- CASTAGNOS, P.; SIQUEIRA-MOURA, M. P.; GOTO, P. L.; PEREZ, E.; FRANCESCHI, S.; RICO-LATTES, I.; TEDESCO, A. C.; BLANZAT, M. Catanionic vesicles charged with chloroaluminium phthalocyanine for topical photodynamic therapy. In vitro phototoxicity towards human carcinoma and melanoma cell lines, *RSC Advances*, v. 4, p. 39372-39377, 2014.
- CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part two-cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 2, p. 1-23, 2005.
- CHEN, J.; SHAO, R.; ZHANG, X. D.; CHEN, C. Applications of nanotechnology for melanoma treatment, diagnosis, and theranostics, *International journal of nanomedicine*, v. 8, p. 2677, 2013.
- CHEN, L. M.; LIU, J.; CHEN, J. C.; SHI, S.; TAN, C. P.; ZHENG, K. C.; JI, L. N. Experimental and theoretical studies on the DNA-binding and spectral properties of water-soluble complex [Ru (MeIm) 4 (dpq)] 2+, *Journal of Molecular Structure*, v. 881, p. 156-166, 2008.
- CLENNAN, E. L. New mechanistic and synthetic aspects of singlet oxygen chemistry, *Tetrahedron*, v. 56, p. 9151-9179, 2000.
- COLLINGS, P. J.; GIBBS, E. J.; STARR, T. E.; VAFEK, O.; YEE, C.; POMERANCE, L. A.; PASTERNAK, R. F. Resonance light scattering and its application in determining the size, shape, and aggregation number for supramolecular assemblies of chromophores, *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 103, p. 8474-8481, 1999.
- DA HORA MACHADO, A. E. Terapia fotodinamica: principios, potencial de aplicacao e perspectivas, *Química Nova*, v. 23, 2000.
- DAMASCENO, B. P.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L.; ARAUJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G. d.; EGITO, E. Microemulsao: um promissor carreador para moleculas insolueis, *Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada*, v. 32, p. 9-18, 2011.

- DE ABREU, F. C.; DE PAULA, F. S.; FERREIRA, D.; NASCIMENTO, V. B.; LOPES, J. C.; SANTOS, A.; SANTORO, M. M.; SALAS, C. E.; GOULART, M. I. O. The application of DNA-biosensors and differential scanning calorimetry to the study of the DNA-binding agent berenil, *Sensors*, v. 8, p. 1519-1538, 2008.
- DE FREITAS, R. M.; RODRIGUES, A. M. X.; DE MATOS JUNIOR, A. F.; DE OLIVEIRA, G. A. L. Fatores de risco e principais alterações citopatológicas do câncer bucal: uma revisão de literatura, *RBAC*, v. 48, p. 13-18, 2016.
- DE OLIVEIRA, F. S.; KORN, M. Spectrophotometric determination of sulphate in automotive fuel ethanol by sequential injection analysis using dimethylsulphonazo (III) reaction, *Talanta*, v. 68, p. 992-999, 2006.
- DE PAULA, C. S.; TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; MOSQUEIRA, V. C. F. Chloroaluminium phthalocyanine polymeric nanoparticles as photosensitisers: photophysical and physicochemical characterisation, release and phototoxicity in vitro, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, p. 371-381, 2013a.
- DE PAULA, L. B.; PRIMO, F. L.; JARDIM, D. R.; MORAIS, P. C.; TEDESCO, A. C. Development, characterization, and in vitro trials of chloroaluminum phthalocyanine-magnetic nanoemulsion to hyperthermia and photodynamic therapies on glioblastoma as a biological model, *Journal of applied physics*, v. 111, p. 07B307, 2012.
- DE PAULA, L. B.; TEDESCO, A. C.; PRIMO, F. L.; VILELA, J. M. C.; ANDRADE, M. S.; MOSQUEIRA, V. C. F. Chloroaluminium phthalocyanine polymeric nanoparticles as photosensitisers: Photophysical and physicochemical characterisation, release and phototoxicity in vitro, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, p. 371-381, 2013b.
- DEWEZ, J. L.; LHOEST, J. B.; DETRAIT, E.; BERGER, V.; DUPONT-GILLAIN, C. C.; VINCENT, L. M.; SCHNEIDER, Y. J.; BERTRAND, P.; ROUXHET, P. G. Adhesion of mammalian cells to polymer surfaces: from physical chemistry of surfaces to selective adhesion on defined patterns, *Biomaterials*, v. 19, p. 1441-1445, 1998.
- DHAMI, S.; PHILLIPS, D. Comparison of the photophysics of an aggregating and non-aggregating aluminium phthalocyanine system incorporated into unilamellar vesicles, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 100, p. 77-84, 1996.
- DURAN, N.; DURAN, M.; TASIC, L.; MARCATO, P. D. Nanocrystal technology in pharmaceuticals, *Química Nova*, v. 33, p. 151-158, 2010.

- DURAN, N.; MORAIS, P. C. d.; MATTOSO, L. H. C. **Nanotecnologia: introducao,preparacao e caracterizacao de nanomateriais e exemplos de aplicacao** Artliber, 2006.
- ELIAS, C. N.; OSHIDA, Y.; LIMA, J. H. C.; MULLER, C. A. Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque, *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, v. 1, p. 234-242, 2008.
- ERIKSSON, M.; LEIJON, M.; HIORT, C.; NORDEN, B.; GRAESLUND, A. Minor groove binding of [Ru (phen) 3] 2+ to [d (CGCGATCGCG)] 2 evidenced by two-dimensional NMR, *Journal of the American Chemical Society*, v. 114, p. 4933-4934, 1992.
- ESTANQUEIRO, M.; AMARAL, M. H.; CONCEIUO, J.; LOBO, J. M. S. Nanotechnological carriers for cancer chemotherapy: the state of the art, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, v. 126, p. 631-648, 2015.
- FAN, Z.; FU, P. P.; YU, H.; RAY, P. C. Theranostic nanomedicine for cancer detection and treatment, *Journal of food and drug analysis*, v. 22, p. 3-17, 2014.
- FERREIRA, D. M. **Estudos de sistemas nanocarreadores para o ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) e seu éster derivado (8-ALA) aplicados na Eletroquimioterapia e Terapia Fotodinâmica contra o câncer de pele.** 2014. Tese (Doutorado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.
- FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; DA SILVA, E. G. P.; DOS SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; DAVID, J. M.; DE ANDRADE, J. B.; BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C. S. F.; NETO, B. B. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems, *Journal of Chromatography A*, v. 1158, p. 2-14, 2007a.
- FERREIRA, S. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDAO, G. C.; DA SILVA, E. P.; PORTUGAL, L. A.; DOS REIS, P. S.; SOUZA, A. S. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods, *Analytica chimica acta*, v. 597, p. 179-186, 2007b.
- FICHEUX, H. **Photodynamic Therapy: Principles and Therapeutic Indications**, 2009. 32-40.
- FIDLER, I. J. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited, *Nature Reviews Cancer*, v. 3, p. 453-458, 2003.

- FUKUSHIMA, T.; KAWAGUCHI, M.; HAYAKAWA, T.; TAKEDA, S.; INOUE, Y.; OHNO, J.; TANIGUCHI, K. Drug binding and releasing characteristics of DNA/lipid/PLGA film, *Dental materials journal*, v. 26, p. 854-860, 2007.
- GAJRIA, S.; NEUMANN, T.; TIRRELL, M. Self-assembly and applications of nucleic acid solid state films, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, v. 3, p. 479-500, 2011.
- GEORGE BROUGHTON, I. I.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. Wound healing: an overview, *Plastic and reconstructive surgery*, v. 117, p. 1e-S, 2006.
- GIBBS, E. J.; MAURER, M. C.; ZHANG, J. H.; REIFF, W. M.; HILL, D. T.; MALICKA-BLASZKIEWICZ, M.; MCKINNIE, R. E.; LIU, H. Q.; PASTERNAK, R. F. Interactions of porphyrins with purified DNA and more highly organized structures, *Journal of inorganic biochemistry*, v. 32, p. 39-65, 1988.
- GITTENS, R. A.; MCLACHLAN, T.; OLIVARES-NAVARRETE, R.; CAI, Y.; BERNER, S.; TANNENBAUM, R.; SCHWARTZ, Z.; SANDHAGE, K. H.; BOYAN, B. D. The effects of combined micron-/submicron-scale surface roughness and nanoscale features on cell proliferation and differentiation, *Biomaterials*, v. 32, p. 3395-3403, 2011.
- GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions, *Advances in Environmental Research*, v. 8, p. 501-551, 2004.
- GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. d. Morte celular por apoptose, *Revista brasileira de cancerologia*, v. 53, p. 335-343, 2007.
- HAMBLIN, M. R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes, *Current opinion in microbiology*, v. 33, p. 67-73, 2016.
- HATAKEYAMA, T.; QUINN, F. X. Fundamentals and applications to polymer science, *Thermal Analysis* 1994.
- HOLMLIN, R. E.; STEMP, E. D.; BARTON, J. K. Ru (phen) 2dppz²⁺ luminescence: Dependence on DNA sequences and groove-binding agents, *Inorganic chemistry*, v. 37, p. 29-34, 1998.
- HU, J. S.; GUO, Y. G.; LIANG, H. P.; WAN, L. J.; JIANG, L. Three-dimensional self-organization of supramolecular self-assembled porphyrin hollow hexagonal nanoprisms, *Journal of the American Chemical Society*, v. 127, p. 17090-17095, 2005.

- HYNNINEN, P. H.; LÖTJÖNEN, S. Preparation of phorbin derivatives from chlorophyll mixture utilizing the principle of selective hydrolysis, *Synthesis*, v. 1980, p. 539-541, 1980.
- IBBOTSON, S. H.; FERGUSON, J. Ambulatory photodynamic therapy using low irradiance inorganic light emitting diodes for the treatment of non-melanoma skin cancer: an open study, *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, v. 28, p. 235-239, 2012.
- ISO. 10993-5: Biological evaluation of medical devices. *Tests for in vitro cytotoxicity*, 6 Jan 2006.
- ISRAELACHVILI, J. N. **Intermolecular and surface forces: revised third edition** Academic press, 2011.
- ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation, *Anais brasileiros de dermatologia*, v. 85, p. 501-511, 2010.
- JAYME, C. C.; KANICKI, J.; KAJZAR, F.; NOGUEIRA, A. F.; PAWLICKA, A. Influence of DNA and DNA-PEDOT: PSS on dye sensitized solar cell performance, *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, v. 627, p. 38-48, 2016.
- JAYME, C. C. **Membranas a base de DNA e DNA-PEDOT: PSS para células solares sensibilizadas por corante**. 2013. Universidade de São Paulo, 2013.
- JAYME, C. C.; CALORI, I. R.; TEDESCO, A. C. Spectroscopic analysis of aluminum chloride phthalocyanine in binary water/ethanol systems as a new drug delivery system for photodynamic therapy cancer treatment, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015.
- JAYME, C. C.; DE PAULA, L. B.; REZENDE, N.; CALORI, I. R.; FRANCHI, L. P.; TEDESCO, A. C. DNA polymeric films as a support for cell growth as a new material for regenerative medicine: Compatibility and applicability, *Experimental cell research*, v. 360, p. 404-412, 2017.
- JELLEY, E. E. Spectral absorption and fluorescence of dyes in the molecular state, *Nature*, v. 138, p. 1009-1010, 1936.
- JEONG, H.; RANALLO, S.; ROSSETTI, M.; HEO, J.; SHIN, J.; PARK, K.; RICCI, F.; HONG, J. Electronic Activation of a DNA Nanodevice Using a Multilayer Nanofilm, *Small*, v. 12, p. 5572-5578, 2016.

- KADISH, K. M.; SMITH, K. M.; GUILARD, R. **The porphyrin handbook** Elsevier, 1999.
- KAHN, J. S.; HU, Y.; WILLNER, I. Stimuli-Responsive DNA-Based Hydrogels: From Basic Principles to Applications, *Accounts of Chemical Research*, v. 50, p. 680-690, 2017.
- KARIOTI, A.; BILIA, A. R. Hypericins as potential leads for new therapeutics, *International journal of molecular sciences*, v. 11, p. 562-594, 2010.
- KASEMO, B. Biological surface science, *Surface science*, v. 500, p. 656-677, 2002.
- KASHA, M. Energy transfer mechanisms and the molecular exciton model for molecular aggregates, *Radiation research*, v. 20, p. 55-70, 1963.
- KENNEDY, J. C.; POTTIER, R. H.; PROSS, D. C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin: IX: basic principles and present clinical experience, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 6, p. 143-148, 1990.
- KOMAROVA, N. L.; BOLAND, C. R. Cancer: calculated treatment, *Nature*, v. 499, p. 291-292, 2013.
- KUBISTA, M.; SJÂBACK, R.; ERIKSSON, S.; ALBINSSON, B. Experimental correction for the inner-filter effect in fluorescence spectra, *Analyst*, v. 119, p. 417-419, 1994.
- KYPR, J.; KEJNOVSKÁ, I.; RENCIU, D.; VORLÍČKOVÁ, M. Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA, *Nucleic acids research*, v. 37, p. 1713-1725, 2009.
- LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy** Springer Science & Business Media, 2007.
- LEBEDEVA, N. S.; PETROVA, O. V.; VYUGIN, A. I.; MAIZLISH, V. E.; SHAPOSHNIKOV, G. P. Peculiarities of solvation interaction of water-soluble metallophthalocyanines with ethanol, *Thermochimica acta*, v. 417, p. 127-132, 2004.
- LEITE, A. C. E.; SILVA, E. N. d.; MELO, N. S. d. Fatores de risco relacionados com o desenvolvimento do cancer bucal: revisão, *Rev Clín Pesq Odontol.* 2005.
- LENINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Principles of biochemistry, *New York: Worth Publishers* 1993.

- LERMAN, L. S. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines, *Journal of molecular biology*, v. 3, p. 18IN13-30IN14, 1961.
- LIPSON, R. L.; BALDES, E. J.; OLSEN, A. M. The Use of a Derivative of Hematoporphyrin in Tumor Detection 2 3, *Journal of the National Cancer Institute*, v. 26, p. 1-11, 1961.
- MA-HAM, A.; WU, H.; WANG, J.; KANG, X.; ZHANG, Y.; LIN, Y. Apoferritin-based nanomedicine platform for drug delivery: equilibrium binding study of daunomycin with DNA, *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, p. 8700-8708, 2011.
- MANN, B. K.; TSAI, A. T.; SCOTT-BURDEN, T.; WEST, J. L. Modification of surfaces with cell adhesion peptides alters extracellular matrix deposition, *Biomaterials*, v. 20, p. 2281-2286, 1999.
- MARTIN, J. Y.; SCHWARTZ, Z.; HUMMERT, T. W.; SCHRAUB, D. M.; SIMPSON, J.; LANKFORD, J.; DEAN, D. D.; COCHRAN, D. L.; BOYAN, B. D. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 29, p. 389-401, 1995.
- MCRAE, E. G.; KASHA, M. Enhancement of phosphorescence ability upon aggregation of dye molecules, *The Journal of Chemical Physics*, v. 28, p. 721-722, 1958.
- MEYER-BETZ, F. Untersuchungen über die biologische (photodynamische) Wirkung des Hämatoporphyrins und anderer Derivate des Blut-und Gallenfarbstof, *Dtsch. Arch. Klin. Med*, v. 112, p. 476-503, 1913.
- MOAN, J.; PENG, Q. An outline of the hundred-year history of PDT, *Anticancer research*, v. 23, p. 3591-3600, 2003.
- MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**, v. 4 2009.
- MOORE, C. M.; NATHAN, T. R.; LEES, W. R.; MOSSE, C. A.; FREEMAN, A.; EMBERTON, M.; BOWN, S. G. Photodynamic therapy using meso tetra hydroxy phenyl chlorin (mTHPC) in early prostate cancer, *Lasers in surgery and medicine*, v. 38, p. 356-363, 2006.
- MORADELL, S.; LORENZO, J.; ROVIRA, A.; ROBILLARD, M. S.; AVILS, F. X.; MORENO, V.; DE LLORENS, R.; MARTINEZ, M. A.; REEDIJK, J.; LLOBET, A. Platinum complexes of diaminocarboxylic acids and their ethyl ester derivatives: the effect of the chelate ring size on antitumor activity and interactions with GMP and DNA, *Journal of inorganic biochemistry*, v. 96, p. 493-502, 2003.

- MOURA, M. P. d. S. **Nanocarreadores contendo ftalocianina de cloroalumínio: desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação in vitro da fotocitotoxicidade em melanoma.** 2011. **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO; FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**, 2011.
- MYSLIWA-KURDZIEL, B. e. al. Solvent effects on fluorescence properties of protochlorophyll and its derivatives with various porphyrin side chains, *European Biophysics Journal*, v. 37, p. 1185-1193, 2008.
- NAUMENKO, E. A.; GURYANOV, I. D.; YENDLURI, R.; LVOV, Y. M.; FAKHRULLIN, R. F. Clay nanotubeGÇôbiopolymer composite scaffolds for tissue engineering, *Nanoscale*, v. 8, p. 7257-7271, 2016.
- NEFF, J. A.; CALDWELL, K. D.; TRESCO, P. A. A novel method for surface modification to promote cell attachment to hydrophobic substrates, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, v. 40, p. 511-519, 1998.
- NI, Y.; LIN, D.; KOKOT, S. Synchronous fluorescence, UV-visible spectrophotometric, and voltammetric studies of the competitive interaction of bis (1, 10-phenanthroline) copper (II) complex and neutral red with DNA, *Analytical Biochemistry*, v. 352, p. 231-242, 2006.
- NICHOLSON, D. W. From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents, *Nature*, v. 407, p. 810-816, 2000.
- NISHIYAMA, N.; MORIMOTO, Y.; JANG, W. D.; KATAOKA, K. Design and development of dendrimer photosensitizer-incorporated polymeric micelles for enhanced photodynamic therapy, *Advanced drug delivery reviews*, v. 61, p. 327-338, 2009.
- NOWIS, D.; MAKOWSKI, M.; STOKEOSA, T.; LEGAT, M.; ISSAT, T.; GOEAB, J. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy, *Acta Biochimica Polonica*, v. 52, p. 339-352, 2005.
- NUNES, S. M. T.; SGUILLA, F. S.; TEDESCO, A. C. Photophysical studies of zinc phthalocyanine and chloroaluminum phthalocyanine incorporated into liposomes in the presence of additives, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 37, p. 273-284, 2004.
- NUNEZ, S.; GARCEZ, A. S.; RIBEIRO, M. S. **PDT-Terapia Fotodinamica Antimicrobiana na Odontologia** Elsevier Brasil, 2015.

- O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity, *European Journal of Biochemistry*, v. 267, p. 5421-5426, 2000a.
- O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity, *European Journal of Biochemistry*, v. 267, p. 5421-5426, 2000b.
- OLIVEIRA, D. M.; LACAVA, Z. G.; LIMA, E. C.; MORAIS, P. C.; TEDESCO, A. C. Zinc phthalocyanine/magnetic fluid complex: a promising dual nanostructured system for cancer treatment, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, v. 6, p. 2432-2437, 2006.
- ORMOND, A. B.; FREEMAN, H. S. Dye sensitizers for photodynamic therapy, *Materials*, v. 6, p. 817-840, 2013.
- OU, Z.; SHEN, J.; KADISH, K. M. Electrochemistry of aluminum phthalocyanine: Solvent and anion effects on UV-visible spectra and reduction mechanisms, *Inorganic chemistry*, v. 45, p. 9569-9579, 2006.
- OUGH, E.; NYOKONG, T.; CREBER, K. A.; STILLMAN, M. J. Electrochemistry and spectroscopy of magnesium phthalocyanine. Analysis of the absorption and magnetic circular dichroism spectra, *Inorganic chemistry*, v. 27, p. 2724-2732, 1988.
- PASTERNAK, R. F.; BUSTAMANTE, C.; COLLINGS, P. J.; GIANNETTO, A.; GIBBS, E. J. Porphyrin assemblies on DNA as studied by a resonance light-scattering technique, *Journal of the American Chemical Society*, v. 115, p. 5393-5399, 1993.
- PASTERNAK, R. F.; COLLINGS, P. J. Resonance light scattering: a new technique for studying chromophore aggregation, *Science*, v. 269, p. 935-939, 1995.
- PAULA, L. B. d. **Efeitos da Nanoemulsão de Ftalocianina Cloro-Alumínio na Regulação da Via do Fator de Crescimento Epidermal em Glioblastoma e Meduloblastoma.** 2015. Universidade de São Paulo, 2015.
- PAWLICKA, A.; SENTANIN, F.; FIRMINO, A.; GROTE, J. G.; KAJZAR, F.; RAU, I. Ionically conducting DNA-based membranes for eletrochromic devices, *Synthetic Metals*, v. 161, p. 2329-2334, 2011.
- PEDRO, J. A. **Estudo de processos fotofísicos de sondas fluorescentes em meio aquoso e micelar com surfactantes dipolares iônicos.** 2013.

UFSC- Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis - SC,2013.

PELEGRINO, A. C. **Estudos fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos de porfirinas e ftalocianinas derivadas de éter de coroa.** 2007. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo,2007.

PELLOSI, D. S.; DE JESUS, P. d. C. C.; TEDESCO, A. C. Spotlight on the delivery of photosensitizers: different approaches for photodynamic-based therapies, *Expert Opinion on Drug Delivery* p. 1-12, 2017.

PÉRTILE, R. A.; OTA SIQUEIRA, J.; AMBO, C. R.; IEIRA BERTI, F.; IBEIRO DO VALLE, R. M.; ARQUES PORTO, L. Interação de culturas celulares com suportes biopoliméricos para aplicações biomédicas, *Exacta*, v. 5, 2007.

POLICARD, A. Etude sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de Wood, *CR Soc Biol*, v. 91, p. 1423-1424, 1924.

PORTILHO, F. A.; DE OLIVEIRA CAVALCANTI, C. E.; MIRANDA-VILELA, A. L.; ESTEVANATO, L. L. C.; LONGO, J. P. F.; SANTOS, M. d. F. M. A.; BOCCA, A. L.; MARTINS, O. P.; SIMIONI, A. R.; MORAIS, P. C. Antitumor activity of photodynamic therapy performed with nanospheres containing zinc-phthalocyanine, *Journal of nanobiotechnology*, v. 11, p. 41, 2013.

RAIS, D.; TOMAN, P.; CERNY, J.; MENSIÜK, M.; PFLEGER, J. Roles of Octabutoxy Substitution and J-Aggregation in Stabilization of the Excited State in Nickel Phthalocyanine, *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 118, p. 5419-5426, 2014.

Ramalho Luciana Maria Pedreira, Barbara Mayoral Pedroso Weyll, Maria Daria da Costa Lino, Maria Jose Pedreira Ramalho, and Antonio Luis Barbosa Pinheiro. **Assessment of Laser Photobiomodulation and Polarized Light on the Healing of Cutaneous Wounds on Euthyroid and Hypothyroid Induced Rats**, International Society for Optics and Photonics, 2010. 75520P.

RAMPERSAD, S. N. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays, *Sensors*, v. 12, p. 12347-12360, 2012.

REIS, S. R. d. A.; LIMA, C. R.; MARCHIONNI, A. M. T.; SETUBAL, M. G. Fatores de risco do cancer da cavidade oral e da orofaringe. I. Fumo, alcool e outros determinantes, *RPG rev. pos-grad*, v. 4, p. 127-132, 1997.

RISS, T. L.; MORAVEC, R. A.; NILES, A. L.; DUELLMAN, S.; BENINK, H. I. n. A.; WORZELLA, T. J.; MINOR, L. Cell viability assays, 2016.

- ROLON, M.; VEGA, C.; ESCARIO, J. A.; GOMEZ-BARRIO, A. Development of resazurin microtiter assay for drug sensibility testing of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes, *Parasitology research*, v. 99, p. 103-107, 2006.
- RONCALLI, A. A. e. S. **Estudo fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos de complexos de ftalocianina de cloro-alumínio e indocianina verde em lipossomas**. 2010. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2010.
- ROSSI-BERGMANN, B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico, *Ciência e Cultura*, v. 60, p. 54-57, 2008.
- SAKA, E. T. G. C. D. M. K. H. & B. Z. Photophysical, photochemical and aggregation behavior of novel peripherally tetra-substituted phthalocyanine derivatives, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 241, p. 67-78, 2012.
- SANTOS, A. R.; BARBANTI, S. H.; DUEK, E. A.; DOLDER, H.; WADA, R. S.; WADA, M. L. Vero cell growth and differentiation on poly (l-lactic acid) membranes of different pore diameters, *Artificial Organs*, v. 25, p. 7-13, 2001.
- SANTOS, A. R.; FERREIRA, B. M.; DUEK, E. A.; DOLDER, H.; WADA, R. S.; WADA, M. L. Differentiation pattern of vero cells cultured on poly (L- Lactic Acid)/Poly (Hydroxybutyrate-co-Hydroxyvalerate) blends, *Artificial Organs*, v. 28, p. 381-389, 2004a.
- SANTOS, A. R.; FERREIRA, B. M.; DUEK, E. A.; DOLDER, H.; WADA, R. S.; WADA, M. L. Differentiation pattern of vero cells cultured on poly (L-Lactic Acid)/Poly (Hydroxybutyrate-co-Hydroxyvalerate) blends, *Artificial Organs*, v. 28, p. 381-389, 2004b.
- SANTOS, A. R.; WADA, M. L. Polímeros biorreabsorvíveis como substrato para cultura de células e engenharia tecidual, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 17, 2007.
- SARAVANAN, B. C.; SREEKUMAR, C.; BANSAL, G. C.; RAY, D.; RAO, J. R.; MISHRA, A. K. A rapid MTT colorimetric assay to assess the proliferative index of two Indian strains of *Theileria annulata*, *Veterinary parasitology*, v. 113, p. 211-216, 2003.
- SCHABERLE, F. A. **Estudo das características espectroscópicas dos corantes cianícos com dois cromóforos na interação com DNA: efeitos da força iônica**. 2002. Universidade de São Paulo-FFCLRP, 2002.

- SELLERA, F. P. **Fotoinativação de patógenos causadores da mastite bovina**. 2014. (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).,2014.
- SERRANO, M. C.; PAGANI, R.; VALLET-REGI, M.; PENA, J.; RAMILA, A.; IZQUIERDO, I.; PORTOLES, M. T. In vitro biocompatibility assessment of poly (ε-caprolactone) films using L929 mouse fibroblasts, *Biomaterials*, v. 25, p. 5603-5611, 2004.
- SHAH, A.; NOSHEEN, E.; MUNIR, S.; BADSHAH, A.; QURESHI, R.; MUHAMMAD, N.; HUSSAIN, H. Characterization and DNA binding studies of unexplored imidazolidines by electronic absorption spectroscopy and cyclic voltammetry, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 120, p. 90-97, 2013.
- SHAHABADI, N.; MOHAMMADI, S.; ALIZADEH, R. DNA interaction studies of a new platinum (II) complex containing different aromatic dinitrogen ligands, *Bioinorganic chemistry and applications*, v. 2011, 2011.
- SILVA, A. P.; KURACHI, C.; BAGNATO, V. S.; INADA, N. M. Fast elimination of onychomycosis by hematoporphyrin derivative-photodynamic therapy, *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 10, p. 328-330, 2013.
- SIMPLICIO, F. I.; RIBEIRO DA SILVA SOARES, R.; MAIONCHI, F.; SANTIN FILHO, O.; HIOKA, N. Aggregation of a benzoporphyrin derivative in water/organic solvent mixtures: A mechanistic proposition, *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 108, p. 9384-9389, 2004.
- SIQUEIRA-MOURA, M. P.; PRIMO, F. L.; PETI, A. P. F.; TEDESCO, A. C. Validated spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for determination of chloroaluminum phthalocyanine in nanocarriers, *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 65, p. 9-14, 2010.
- SIQUEIRA-MOURA, M. P.; PRIMO, F. L.; ESPREAFICO, E. M.; TEDESCO, A. C. Development, characterization, and photocytotoxicity assessment on human melanoma of chloroaluminum phthalocyanine nanocapsules, *Materials Science and Engineering: C*, v. 33, p. 1744-1752, 2013.
- SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 124, p. 1-19, 2013.
- SPENCER, D. S.; PURANIK, A. S.; PEPPAS, N. A. Intelligent nanoparticles for advanced drug delivery in cancer treatment, *Current opinion in chemical engineering*, v. 7, p. 84-92, 2015.

- STOCKERT, J. C.; BLÍZQUEZ-CASTRO, A.; CAETE, M.; HOROBIN, R. W.; VILLANUEVA, . MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets, *Acta histochemica*, v. 114, p. 785-796, 2012.
- SUDBO, J.; REITH, A. Which putatively pre-malignant oral lesions become oral cancers?, *Journal of oral pathology & medicine*, v. 32, p. 63-70, 2003.
- SURIN, A. M.; SHARIPOV, R. R.; KRASILGÇÖNIKOVA, I. A.; BOYARKIN, D. P.; LISINA, O. Y.; GORBACHEVA, L. R.; AVETISYAN, A. V.; PINELIS, V. G. Disruption of functional activity of mitochondria during MTT assay of viability of cultured neurons, *Biochemistry (Moscow)*, v. 82, p. 737-749, 2017.
- SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Principles of instrumental analysis**. Cengage learning, 2017.
- SZEIMIES, R.-M.; LISCHNER, S.; PHILIPP DORMSTON, W.; WALKER, T.; HIEPE WEGENER, D.; FEISE, K.; PODDA, M.; PRAGER, W.; KOHL, E.; KARRER, S. Photodynamic therapy for skin rejuvenation: treatment options results of a consensus conference of an expert group for aesthetic photodynamic therapy, *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, v. 11, p. 632-636, 2013.
- TAPAJÓS, E. C. C.; LONGO, J. P.; SIMIONI, A. R.; LACAVA, Z. G. M.; SANTOS, M. F. M. A.; MORAIS, P. C.; TEDESCO, A. C.; AZEVEDO, R. B. In vitro photodynamic therapy on human oral keratinocytes using chloroaluminum-phthalocyanine, *Oral oncology*, v. 44, p. 1073-1079, 2008.
- TAUB, A. F. Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons, *Journal of drugs in dermatology: JDD*, v. 3, p. S8-25, 2004.
- TEDESCO, A. C.; ROTTA, J. C.; LUNARDI, C. N. Synthesis, photophysical and photochemical aspects of phthalocyanines for photodynamic therapy, *Current Organic Chemistry*, v. 7, p. 187-196, 2003a.
- TEDESCO, A. C.; ROTTA, J. C.; LUNARDI, C. N. Synthesis, photophysical and photochemical aspects of phthalocyanines for photodynamic therapy, *Current Organic Chemistry*, v. 7, p. 187-196, 2003b.
- TOREZAN, L.; NIWA, A. B. M.; FESTA NETO, C. Photodynamic therapy in dermatology: basic principles, *Anais brasileiros de dermatologia*, v. 84, p. 445-459, 2009.
- TSUBONE, T. M.; BRAGA, G.; VILSINSKI, B. H.; GEROLA, A. P.; HIOKA, N.; TESSARO, A. L.; CAETANO, W. Aggregation of aluminum phthalocyanine hydroxide in water/ethanol mixtures, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, p. 890-897, 2014.

- UENO, L. T.; JAYME, C. C.; SILVA, L. R.; PEREIRA, E. B.; OLIVEIRA, S. M.; MACHADO, A. E. Photophysics and spectroscopic properties of zinc phthalocyanine revisited using quantum chemistry, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 23, p. 2237-2247, 2012.
- UENO, L. T.; MACHADO, A. E.; MACHADO, F. B. Theoretical studies of zinc phthalocyanine monomer, dimer and trimer forms, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, v. 899, p. 71-78, 2009.
- UMEDA, H.; MANO, T.; HARADA, K.; TARANNUM, F.; UEYAMA, Y. Appearance of cell-adhesion factor in osteoblast proliferation and differentiation of apatite coating titanium by blast coating method, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 28, p. 112, 2017.
- VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. **Molecular fluorescence: principles and applications** John Wiley & Sons, 2012.
- VAN DEN DRIESSCHE, F.; RIGOLE, P.; BRACKMAN, G.; COENYE, T. Optimization of resazurin-based viability staining for quantification of microbial biofilms, *Journal of microbiological methods*, v. 98, p. 31-34, 2014.
- VANINI, G.; SOUZA, M. O.; CARNEIRO, M. T.; FILGUEIRAS, P. R.; BRUNS, R. E.; ROMÚO, W. Multivariate optimisation of ICP OES instrumental parameters for Pb/Ba/Sb measurement in gunshot residues, *Microchemical Journal*, v. 120, p. 58-63, 2015.
- VELASCO-ORTEGA, E.; ALFONSO-RODRIGUEZ, C. A.; MONSALVE-GUIL, L.; ESPA-LOPEZ, A.; JIMENEZ-GUERRA, A.; GARZN, I.; ALAMINOS, M.; GIL, F. J. Relevant aspects in the surface properties in titanium dental implants for the cellular viability, *Materials Science and Engineering: C*, v. 64, p. 1-10, 2016.
- VIJAYALAKSHMI, R.; KANTHIMATHI, M.; SUBRAMANIAN, V.; NAIR, B. U. Interaction of DNA with [Cr (Schiff base)(H₂O)₂] ClO₄, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1475, p. 157-162, 2000.
- VILSINSKI, B. H.; GEROLA, A. P.; ENUMO, J. A.; CAMPANHOLI, K. d. S. S.; PEREIRA, P. C. d. S.; BRAGA, G.; HIOKA, N.; KIMURA, E.; TESSARO, A. L.; CAETANO, W. Formulation of Aluminum Chloride Phthalocyanine in PluronicTM P-123 and F-127 Block Copolymer Micelles: Photophysical properties and Photodynamic Inactivation of Microorganisms, *Photochemistry and photobiology*, v. 91, p. 518-525, 2015.
- VON TAPPEINER, H. Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab. *Muench. Med. Wochenschr*, v. 47, 1900.

- VON TAPPENIER, H. Therapeutische versuche mit fluoreszierenden stoffen, *Munch Med Wochenschr*, v. 47, p. 2042-2044, 1903.
- WALLIN, R. F.; ARSCOTT, E. F. A practical guide to ISO 10993-5: Cytotoxicity, *Medical Device and Diagnostic Industry*, v. 20, p. 96-98, 1998.
- WARING, M. J. DNA modification and cancer, *Annual review of biochemistry*, v. 50, p. 159-192, 1981.
- WEISS, A.; VAN DEN BERGH, H.; GRIFFIOEN, A. W.; NOWAK-SLIWINSKA, P. Angiogenesis inhibition for the improvement of photodynamic therapy: the revival of a promising idea, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, v. 1826, p. 53-70, 2012.
- WIEDERKEHR, N. A. The aggregation behavior of Zinc-Tetracarboxy-Phthalocyanine and Its Spectral Sensitization on Titanium Dioxide Films, *J. Braz. Chem. Soc. (São Paulo)*, v. 7, p. 7-13, 1996.
- ZAVRAS, A. I.; DOUGLASS, C. W.; JOSHIPURA, K.; WU, T.; LASKARIS, G.; PETRIDOU, E.; DOKIANAKIS, G.; SEGAS, J.; LEFANTZIS, D.; NOMIKOS, P. Smoking and alcohol in the etiology of oral cancer: gender-specific risk profiles in the south of Greece, *Oral oncology*, v. 37, p. 28-35, 2001.
- ZHANG, L. Z.; TANG, G. Q. The binding properties of photosensitizer methylene blue to herring sperm DNA: a spectroscopic study, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 74, p. 119-125, 2004.
- ZHAO, Y. X.; SHAW, A.; ZENG, X.; BENSON, E.; NYSTROËM, A. M.; HOEGBERG, B. DNA origami delivery system for cancer therapy with tunable release properties, *Acs Nano*, v. 6, p. 8684-8691, 2012.
- ZHOU, N.; JAMES, T. L.; SHAFER, R. H. Binding of actinomycin D to [d (ATCGAT)] 2: NMR evidence of multiple complexes, *Biochemistry*, v. 28, p. 5231-5239, 1989.
- ZIEGLER, U.; GROSCURTH, P. Morphological features of cell death, *Physiology*, v. 19, p. 124-128, 2004.