

4. Conclusão

Baseados nos resultados obtidos podemos concluir que:

1. Em soluções aquosas na presença de NaCl TPPS₄ na sua forma biprotonada se agrega em baixas concentrações ($\cong 10^{-6}\text{M}$). Independentemente da concentração da porfirina, o processo de agregação passa por três etapas:

- a. Formação de nuvens de contra-íons ao redor das moléculas da porfirina, que reduzem a repulsão eletrostática entre as moléculas e favorecem sua agregação.
- b. A formação em seguida dos agregados H.
- c. Reorganização dos agregados H em agregados J algum tempo depois, o qual na curva cinética da formação dos agregados J corresponde ao período de indução.

Além do período de indução o crescimento dos agregados J é caracterizado por um tempo médio de crescimento. Ambos os tempos diminuem de horas até minutos quando aumentam as concentrações de porfirina e de NaCl.

2. Não foi observada a formação dos agregados induzida pelo sal para forma desprotonada da TPPS₄ e para porfirina TMPyP. Isso acontece, provavelmente, devido à maior repulsão eletrostática entre as moléculas dessas porfirinas devido a sua maior carga total: -4 para TPPS₄ e +4 para TMPyP.
3. Efeitos similares ao do NaCl ocorrem na formação de agregados da forma biprotonada da TPPS₄ induzida por CTAB na razão $[\text{CTAB}]/[\text{TPPS}_4] < 2:1$. Neste caso também são formados inicialmente os agregados do tipo H, que depois de um período de tempo são reconstruídos em agregados J.
4. A porfirina TPPS₄ exerce um importante efeito sobre a formação das micelas do tensoativo catiônico CTAB, reduzindo em aproximadamente 3 ordens de grandeza

a sua c.m.c. Relacionamos essa c.m.c. à formação de uma micela mista, composta por moléculas de CTAB e TPPS₄.

5. O processo de redução da c.m.c pela presença da porfirina é modulado principalmente pela interação eletrostática entre as moléculas da porfirina e as do tensoativo, que possuem cargas opostas. O efeito da interação hidrofóbica nesse caso faz o papel secundário. Essa afirmação está baseada no fato de que a diminuição da c.m.c. dos tensoativos HPS (zwitteriônico) e SDS (negativo) na presença da TPPS₄ é muito menor que a observada na presença do CTAB.
6. Foi observado que o conteúdo de agregados J atinge o máximo quando $[CTAB]/[TPPS_4] = 1$. Além disso, a análise dos espectros de RLS mostra que o número de agregação da porfirina nesse caso (180) é próximo ao número de agregação das micelas puras de CTAB (170). Baseados nesses fatos, podemos supor que a micela mista possui a estrutura da micela pura de CTAB coberta com uma «casca» formada de agregados J da porfirina.
7. Em maiores concentrações de CTAB, quando $[CTAB]/[TPPS_4] > 2:1$, o processo de agregação pára na fase de formação de agregados H micelizados e os agregados J não se formam. Isso pode significar que nesse caso, a razão entre as concentrações da porfirina e do tensoativo não é favorável para formar a «casca» da porfirina na superfície da micela, o que torna os agregados J não estáveis, e se formam os agregados H porfirina+CTAB mixtos, cuja estrutura não é tão definida, mas são energeticamente mais estáveis. O maior aumento da concentração de CTAB produz a desagregação da TPPS₄ e a ligação dos seus monômeros com as micelas de CTAB. O processo de desagregação pode durar segundos ou até mesmo horas, dependendo da concentração do tensoativo.

8. No caso da porfirina TPPS₄ desprotonada foi observada somente a formação dos agregados H na presença de tensoativos que possuem a carga oposta à da porfirina. Isto também mostra a maior estabilidade dos agregados H em comparação aos J.
9. A interação das porfirinas TMPyP e TPPS₄ com sistemas microorganizados como as micelas e frações de membrana é fortemente influenciada pela adição de NaCl. No sistema porfirina+micelas, o sal aumenta as constantes de ligação porfirina-micela e facilita a penetração das porfirinas no interior da micela. O mesmo efeito é observado no sistema porfirina+células ghost. Isso acontece, provavelmente, devido a uma modificação na estrutura das micelas e da membrana na presença do sal.
10. A penetração das moléculas de porfirina na interior da micela ou da membrana leva à redução da probabilidade de contato entre as porfirinas e oxigênio molecular, o que conseqüentemente reduz a constante bimolecular de supressão do estado tripleto das porfirinas pelo O₂.
11. A agregação da porfirina TPPS₄ diminui dramaticamente os tempos de vida e rendimentos quânticos de seu estado singleto e tripleto, reduzindo assim a produção do oxigênio singleto, o que pode reduzir sua eficácia nas aplicações em PDT. Por outro lado, foi mostrado que a interação com a membrana celular estimula a desagregação desta porfirina, anteriormente agregada, por exemplo, devido à interação com NaCl. Entretanto, dependendo das condições, o processo de desagregação pode durar de segundos até horas.
12. A fim de avaliar a influência da estrutura dos fotossensibilizadores (FS) na sua fototoxicidade, comparamos o efeito fototóxico de ambas porfirinas e dois corantes biscianicos, promissores candidatos para aplicação em PDT, em células

de linhagem neoplásica HT29. Baseados na análise dos resultados obtidos podemos concluir que:

- a. A fototividade de ambas porfirinas em cultura celular demonstrou ser independente do tipo de suas cargas, apresentado um perfil de toxicidade muito similar. Os BCDs apresentaram uma elevada toxicidade em comparação às porfirinas.
- b. Independentemente de as porfirinas e os BCDs possuírem uma cinética de acumulação nas células muito similar e períodos de ligação muito próximos (2h), o tempo e o local de internalização parecem ser dependentes tanto da estrutura quanto da carga do FS. Assim, os BCDs se internalizaram após apenas 2 horas e se localizaram preferencialmente nas mitocôndrias. Por outro lado, a TPPS₄ localiza-se principalmente nos lisossomos enquanto que a TMPyP parece estar localizada na membrana celular, ambas com um tempo de internalização de 24 horas. Estes resultados podem explicar a elevada fototoxicidade dos BCDs observada em nossos experimentos.