



## LA TERAPIA FOTODINAMICA IN COSTANTE EVOLUZIONE: NUOVE PROMETTENTI PORFIRINE

*La famiglia delle porfirine e dei loro derivati comprende la maggior parte dei PS e in letteratura sono molti gli studi sulla sintesi e l'attività di nuovi derivati porfirinici, volti al miglioramento delle caratteristiche chimico-fisiche e/o di attività. Qui presentiamo due serie di alchil piridilporfirine tetra cationiche. I composti sono stati caratterizzati chimicamente e la loro stabilità alla luce e la produzione di ossigeno singoletto è stata determinata. Per individuare una possibile relazione tra l'attività fotodinamica e la lunghezza della catena alchilica, sono stati valutati gli effetti sulla vitalità cellulare e l'assorbimento cellulare su specifiche linee cellulari tumorali.*

La terapia fotodinamica (PDT) è una forma moderna e non invasiva di trattamento terapeutico in ambito antimicrobico e antitumorale alternativa o adiuvante alle terapie oncologiche per il trattamento di numerosi tumori come quelli dell'esofago, del polmone, della laringe, della cervice uterina, della pelle, dell'occhio, della testa e del collo [1, 2].

Il protocollo generale della PDT prevede l'impiego di un composto fotosensibile (fotosensibilizzante o PS), di una luce con lunghezza d'onda adatta allo specifico fotosensibilizzante e di ossigeno molecolare. Nessuna delle tre componenti è individualmente tossica, ma la loro azione combinata dà luogo a una serie di reazioni iniziate dalla luce che portano alla generazione di specie radicaliche dell'ossigeno (ROS) in grado di produrre danni irreversibili alle cellule che possono causarne la loro morte (Fig. 1).

La tipologia di morte cellulare indotta da PDT dipende dalle proprietà del PS, dalla dose di luce e dalla quantità di ossigeno presente a livello tissutale. La se-

lettività del trattamento è associata all'accumulo preferenziale del PS nel tessuto neoplastico e dall'irraggiamento della sola area tumorale [3, 4] che, inoltre, presenta numerosi vantaggi, compresa l'assenza di farmacoresistenza e la scarsa invasività, rendendolo pressoché privo di effetti collaterali [5]. La terapia fotodinamica combinata con chemio-, radio- e immunoterapia ha prodotto un aumento delle prestazioni terapeutiche rispetto ai singoli trattamenti, come riportato da diversi

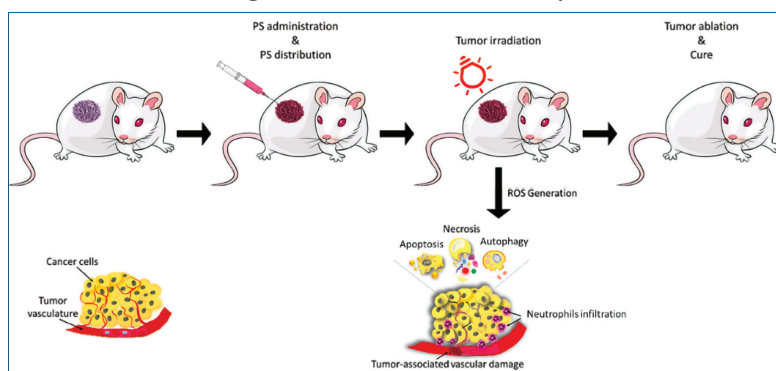


Fig. 1 - Le principali fasi del trattamento fotodinamico e le più comuni modalità di morte cellulare indotte da PDT

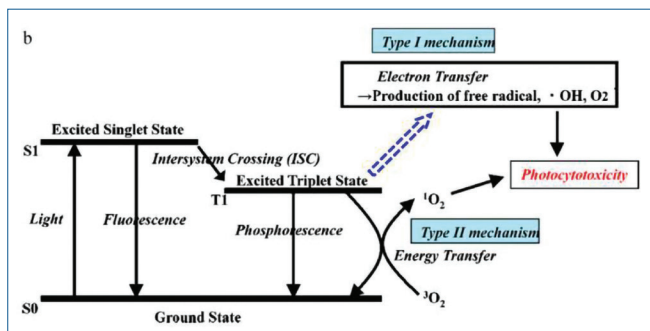


Fig. 2 - Diagramma di Jablonsky e la generazione delle specie reattive dell'ossigeno

studi clinici [2]. Il meccanismo d'azione della PDT coinvolge i processi energetici mostrati in Fig. 2. Al buio, le molecole colorate si trovano nello stato elettronico fondamentale ( $S_0$ ) e, stimolate con una luce di appropriata lunghezza d'onda, passano allo stato eccitato di singoletto ( $S_1$ ).

Questo stato eccitato ha vita breve e le molecole tornano allo stato fondamentale emettendo luce per fluorescenza; nel caso specifico delle molecole che possono funzionare come fotosensibilizzanti, il PS non ritorna allo stato fondamentale ma si porta su uno stato di tripletto ( $T_1$ ), attraverso il processo chiamato conversione intersistemica. Dallo stato  $T_1$  il PS può tornare allo stato  $S_0$  emettendo fosforescenza o trasferendo energia a una molecola di ossigeno producendo ROS che causano morte cellulare [4]. Si generano infatti intermedi reattivi dannosi per le cellule come radicali idrossilici e perossido d'idrogeno o l'ossigeno singoletto ( $^1O_2$ ).

I PS impiegati nella terapia fotodinamica appartengono principalmente alla classe delle porfirine, pigmenti colorati che si trovano in natura come composti biologicamente attivi negli organismi viventi dove svolgono importanti ruoli nel metabolismo.

Le porfirine sono una classe numerosissima di mole-

cole costituite da un sistema aromatico formato da quattro anelli eterociclici di pirrolo collegati tramite ponti di metene (Fig. 3).

La grande varietà delle porfirine, e la capacità di dare luogo a conversione intersistemica nello stato eccitato di tripletto per il loro uso in applicazioni terapeutiche è dovuta - almeno in parte - dalla pleiade di ioni metallici che si legano al centro dell'anello [6, 7]. Sono anche importanti i sostituenti sull'esterno dell'anello [8, 9]. Un buon fotosensibilizzante non deve degradarsi sotto illuminazione, deve produrre rapidamente l'ossigeno singoletto e deve essere assorbito dalle cellule tumorali e - soprattutto - deve avere attività fotodinamica.

La presenza o meno di un atomo di zinco al centro della porfirina e di pendagli differenti (Fig. 4) all'esterno del ciclo conferiscono una diversa resistenza alla fotodegradazione e una diversa capacità di produrre ossigeno singoletto. Ad esempio, nelle molecole illustrate in figura la presenza dell'atomo di zinco rende i PS maggiormente stabili alla luce dei loro corrispettivi privi di metallo centrale. La lunghezza del pendaglio R sul ciclo esterno è invece inversamente proporzionale alla fotostabilità. Più lunga la catena, più si degrada la molecola sotto illuminazione. Anche nella produzione della molecola di ossigeno singoletto la presenza del metallo centrale migliora le prestazioni della porfirina [10] men-

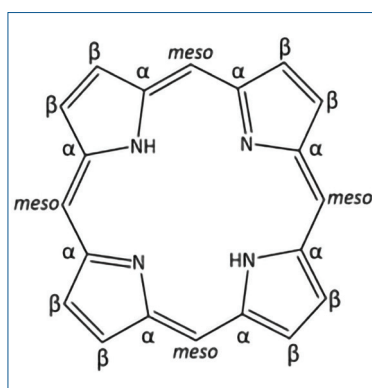


Fig. 3 - Nucleo base della struttura delle porfirine con identificazione dei diversi atomi di carbonio

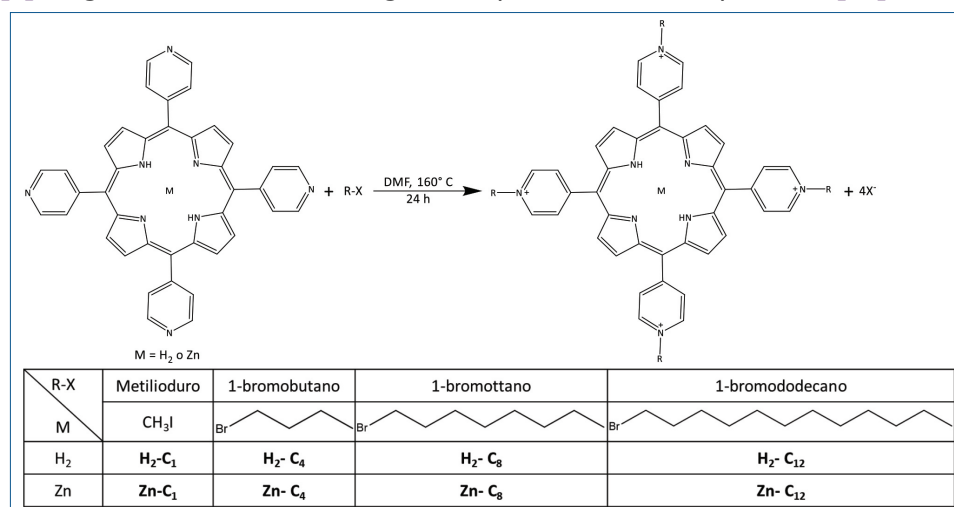


Fig. 4 - Schema riportante la sintesi e la struttura delle porfirine sostituite con catene alifatiche di diversa lunghezza

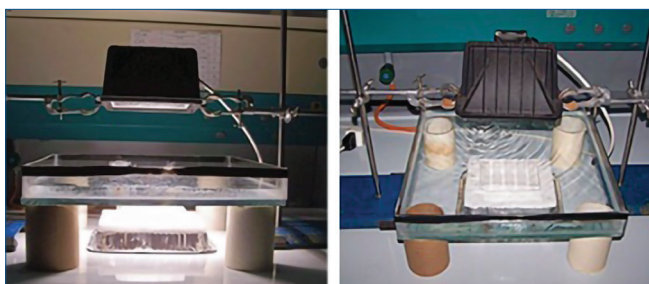


Fig. 5 - Apparato per il test MTT di fototossicità costituito da lampada alogena da 500 W e sistema di raffreddamento ad acqua corrente

tre l'effetto dei pendagli migliora la produzione di ROS con l'aumentare della lunghezza della catena. È fondamentale verificare l'attività fotodinamica dei vari fotosensibilizzanti, che viene ottenuta mediante un saggio sulla vitalità delle cellule tumorali con un semplice apparato illustrato in Fig. 5. Il saggio è molto semplice: l'apparato enzimatico delle cellule vitali è in grado di ridurre la molecola di MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltrazolio) in un composto colorato in violetto. Questa riduzione enzimatica è, invece, assente nelle cellule non vitali. Il test MTT viene effettuato su più di una linea cellulare tumorale - nel caso specifico la linea HCT116 di carcinoma colonrettale e la MCF7 di adenocarcinoma mammario - per stabilire la fototossicità del fotosensibilizzante. Nel caso specifico delle porfirine oggetto dello studio, queste non hanno mostrato alcuna tossicità al buio e la linea HCT116 è risultata più resistente al trattamento fotodinamico rispetto alla MCF7. Inoltre, la presenza dello Zn nella porfirina aumenta di circa dieci volte l'attività fotodinamica rispetto alla molecola priva di metallo, come riportato in letteratura per altre porfirine in cui la presenza dello Zn aumenta il tempo di vita del tripletto [11, 12]. L'effetto dei pendagli è invece massimo quando questi sono formati da 8 atomi di carbonio, suggerendo che questa lunghezza garantisca una maggiore penetrazione cellulare.

In conclusione, tanta strada è stata fatta per capire le correlazioni fra attività fotodinamica e proprietà chimico-fisiche e fotochimiche dei fotosensibilizzanti, ma tanta ne rimane ancora da percorrere per chiarire le modalità di azione biologiche e rendere questa terapia largamente applicabile [13, 14].

## BIBLIOGRAFIA

- [1] X. Zhao, J. Liu *et al.*, *Chem. Soc. Rev.*, 2021, **50**, 4185, DOI: [10.1039/d0cs00173b](https://doi.org/10.1039/d0cs00173b).
- [2] Q. Zhang, L. Li, *J. Buon.*, 2018, **23**, 561.
- [3] S. Kwiatkowski, B. Knap *et al.*, *Biomed. Pharmacother.*, 2018, **106**, 1098, DOI: [10.1016/j.biopha.2018.07.049](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.049).
- [4] S. Pervaiz, *Faseb. J.*, 2001, **15**, 612-617, DOI: [10.1096/fj.00-0555rev](https://doi.org/10.1096/fj.00-0555rev).
- [5] M. Lan, S. Zhao *et al.*, *Adv. Healthc. Mater.*, 2019, **8**, e1900132, DOI: [10.1002/adhm.201900132](https://doi.org/10.1002/adhm.201900132).
- [6] K. Norvaisa, M. Kielmann, M.O. Senge, *Chembiochem*, 2020, **21**, 1793, DOI: [10.1002/cbic.202000067](https://doi.org/10.1002/cbic.202000067).
- [7] N. Tsolekile, S. Nelana, O.S. Oluwafemi, *Molecules*, 2019, **24**, DOI: [10.3390/molecules24142669](https://doi.org/10.3390/molecules24142669).
- [8] J. Kou, D. Dou, L. Yang, *Oncotarget*, 2017, **8**, 81591, DOI: [10.18632/oncotarget.20189](https://doi.org/10.18632/oncotarget.20189).
- [9] F. Heinemann, J. Karges, G. Gasser, *Acc. Chem. Res.*, 2017, **50**, 2727, DOI: [10.1021/acs.accounts.7b00180](https://doi.org/10.1021/acs.accounts.7b00180).
- [10] D. Ouyang, S. Inoue *et al.*, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2016, **20**, 813, DOI: [10.1142/s1088424616500991](https://doi.org/10.1142/s1088424616500991).
- [11] C. Pavani, A.F. Uchoa *et al.*, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2009, **8**, 233, DOI: [10.1039/b810313e](https://doi.org/10.1039/b810313e).
- [12] D.A. Al-Mutairi, J.D. Craik *et al.*, *Free Radic. Res.*, 2006, **40**, 477, DOI: [10.1080/10715760600577849](https://doi.org/10.1080/10715760600577849).
- [13] S. Banfi, E. Caruso *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2006, **49**, 3293, DOI: [10.1021/jm050997m](https://doi.org/10.1021/jm050997m).
- [14] E. Caruso, M. Gariboldi *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. B*, 2017, **167**, 269, DOI: [10.1016/j.jphotobiol.2017.01.012](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.01.012).

### Constantly Evolving Photodynamic Therapy: New Promising Porphyrins

The family of porphyrins and their derivatives encompass most PSs and studies concerning the synthesis and activity of new porphyrin derivatives, aiming the improvement of chemical-physical or activity characteristics, are abundant in the scientific literature. In this study, two series of tetra cationic alkyl pyridylporphyrins were synthesized. The compounds were fully chemically characterized, their light stability and singlet oxygen production determined. To define a possible relationship between the photodynamic activity and the length of the alkyl chain, the effects on cell viability and cellular uptake were also evaluated on a panel of tumor cell lines.