

ESTUDO TRANSIENTE DA DESAGREGAÇÃO/AGREGAÇÃO DO FOTOSSENSIBILIZANTE AZUL DE METILENO EM SOLUÇÃO SALINA OU COM SURFACTANTE

Engenharia Biomédica

Junio Luiz Camargo¹; Letícia Veiga²; Julia Zuin Moraes³;
Dr. Egberto Munin⁴(orientador);

Universidade Anhembi Morumbi (UAM)

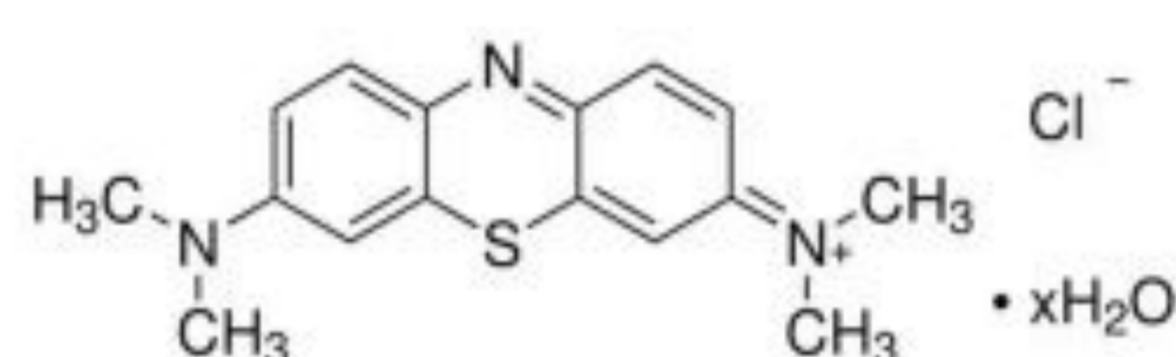
Engenharia Biomédica, São José dos Campos – Cité

ju.lzcam33@gmail.com¹; leticiaveiga07@gmail.com²; juliazunin2@gmail.com³;
emunin@gmail.com⁴

Introdução

A presente pesquisa investiga a agregação do fármaco fotossensibilizante azul de metileno utilizando raios lasers. Deste modo, o projeto visa explorar os processos mecanísticos de interação da radiação laser com meios agregados contribuindo para a pesquisa científica na medida em que busca expandir o conhecimento científico sobre os mecanismos de interação entre moléculas de interesse farmacológico. O fármaco azul de metileno é amplamente utilizado em terapia fotodinâmica devido suas propriedades fotossensibilizantes e de auto agregação molecular presente em soluções. (SOUZA et al. 2006; MUNIN et al. 2007; GIROLDO et al. 2009; SOUZA et al. 2010). Fotossensibilizantes produzem radicais oxidantes (espécies reativas de oxigênio – ROS) quando são expostos à radiação óptica não ionizante em meio rico em oxigênio molecular (SCHMIDT 2006). Devido à elevada reatividade química, tais radicais oxidantes são capazes de conduzir as células à morte por processo de apoptose (GUO, 2010). Tal fato gera uma variedade de aplicações que vai desde o tratamento de câncer, até o tratamento de moléstias provocadas por patógenos microbianos como bactérias e fungos (SOUZA et al. 2006; MUNIN et al. 2007; GIROLDO et al. 2009; SOUZA et al. 2010). Devido ao fato de todo o processo ser disparado pela radiação luminosa, este tipo de terapia recebeu o nome de Terapia fotodinâmica, PDT (do inglês, Photodynamic Therapy), ou traduzida para a língua portuguesa como TFD. Os compostos foto reativos então utilizados em PDT são denominados de fotossensibilizantes (FS). A espécie reativa oxidante que resulta do processo é o oxigênio singleto O_2 .

Na presença de oxigênio, a interação gera substâncias citotóxicas que causam danos oxidativos às células-alvo. Esta reação pode ocorrer por dois caminhos. Na reação do tipo I, a absorção da radiação luminosa conduz o fotossensibilizante ao estado excitado S^* formando radicais superóxidos O_2^- , os quais são citotóxicos. Na reação do tipo II, o fotossensibilizante no estado excitado S^* reage com oxigênio molecular resultando em oxigênio singleto O_2 que é altamente citotóxica levando a célula à morte.



Fórmula estrutural para o azul de metileno hidratado - CAS 122965-43-9, massa molecular 319.85 g/mol.

Agregação molecular é o nome dado ao fenômeno de união de duas ou mais moléculas. Essa união tem por característica uma força “fraca”, como as Forças de Van der Waals. Dentre as moléculas que apresentam esse efeito, estão as moléculas orgânicas que formam os fotossensibilizantes. Do ponto de vista terapêutico, o fenômeno de agregação tem como principal consequência a redução da eficiência do fármaco à produção de oxigênio singleto. O equilíbrio químico em solução dos agregados moleculares é afetado por diversos fatores. Dentre eles pode-se citar a concentração do soluto, polaridade do solvente e a temperatura.

Objetivos

Investigar a agregação do fármaco fotossensibilizante azul de metileno utilizando raios laser para excitação e prova, de forma a colher evidências que fortaleçam as hipóteses mecanísticas lançadas em pesquisas anteriores, quanto aos processos de interação da radiação laser com meios agregados.

Metodologia

Uma solução estoque de azul de metileno será preparada com concentração conhecida. A partir da solução estoque, diluições serão preparadas adicionando-se solvente às soluções unitárias. Soluções salinas serão preparadas adicionando-se quantidades de NaCl às diluições obtidas a partir da solução estoque. Similarmente, soluções com surfactante serão obtidas adicionando-se quantidades de SDS (sodium dodecil sulfate) às diluições obtidas a partir da solução estoque. Para o preparo das soluções-estoque, as massas de soluto serão pesadas em balança analítica e o volume de solvente medido em proveta graduada.

Para o preparo das respectivas diluições e misturas, os volumes desejados de solução-estoque serão coletados utilizando-se pipetas automáticas. Os volumes de solvente a adicionar também serão medidos e transferidos com pipetas automáticas. Diferentes provetas e pipetas serão escolhidas conforme o volume a medir, objetivando sempre minimizar as incertezas instrumentais nas medidas volumétricas. Para as medidas espectroscópicas de absorvância, as soluções preparadas serão acondicionadas em cubetas de pequeno caminho óptico (<1,0 mm) construídas com vidro borossilicato, dispensando-se o quartzo pelo fato de a região de interesse estar no visível e não no UV. As medidas espectroscópicas serão realizadas com um espectrômetro com entrada de fibra óptica modelo USB4000 (Ocean Optics, Rochester – NY, USA). Uma lâmpada halógena dicróica modelo 150W MR16 15V (Osram, GmbH), com temperatura de cor de ~3300 K será utilizada como fonte de luz para o espectrômetro.

Resultados

O projeto encontra-se em andamento, no presente momento estamos aumentando o entendimento da teoria e o amadurecimento das hipóteses, bem como a familiarização do ambiente do laboratório e sua instrumentalização para os testes experimentais necessários que virão. Demos início a parte experimental com espectrômetro e ajustes de portas-amostras necessárias, e testes preliminares promissores.

Conclusões

Este projeto visa investigar os processos mecanísticos de interação da radiação laser com meios agregados. O projeto contribui para a pesquisa científica na medida em que busca expandir o conhecimento científico sobre os mecanismos de interação entre moléculas de interesse farmacológico. Do ponto de vista do ensino e aprendizagem, o aluno terá oportunidade de aprender a trabalhar com instrumentação óptica, bem como com a eletrônica associada, tais quais detectores de radiação óptica, osciloscópios digitais, geradores de sinais eletrônicos, e drivers de dispositivos optoeletrônicos, bem como softwares de análise de dados. Adicionalmente, desenvolverá habilidades necessárias ao preparo de soluções químicas e preparação de amostras para ensaio. Terá a oportunidade de aprender sobre a física e a química de fármacos e suas interações intermoleculares. Terá a oportunidade de produzir novos conhecimentos e de aprender sobre redação de comunicações científicas para divulgação de resultados em conferências e revistas científicas.

Bibliografia

- BDE SÁ BALBINA F.T.C.; MORAES F.J.H.; FERNANDES AU; AND MUNIN E. Transient optical properties, laser induced avalanche effect, and all optical switching in molecular aggregates. *Optical Materials*, 142, 113938. (2023).
- GIROLDO, L. M., FELIPE, M. P., de OLIVEIRA, M. A., MUNIN, E., ALVES, L. P., & COSTA, M. S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) with methylene blue increases membrane permeability in *Candida albicans*. *Lasers in medical Science* (2009) 24(1), 109-112.
- HABIB MORAES, F.J.; DE SÁ BALBINA, FERNANDO T.C.; PROCÓPIO ALVES, L.; FERNANDES, ADJACI U; MUNIN, E. Avalanche-assisted transient optical phenomenon in aggregated toluidine blue dye. *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* v.315, p.124291, 2024
- MUNIN, E., GIROLDO, L. M., ALVES, L. P., & COSTA, M. S. Study of germ tube formation by *Candida albicans* after photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (2007) 88(1), 16-20.

Fomento

Agradecimento a Universidade Anhembi Morumbi (UAM) pela Bolsa de Estudo parcial concedida aos autores.