

Utilização de técnica espectrofotométrica para estudo de fármacos fotoativos em microambiente micelar

Julia Zuin Moraes¹; Letícia Veiga²; Junio Luiz Camargo³;
Dr Egberto Munin⁴ (orientador).

¹ Graduanda em Biomedicina e bolsista PIBIC-CNPq; Universidade Anhembi Morumbi; juliazuin2@gmail.com

² Mestranda em Engenharia Biomédica; Universidade Anhembi Morumbi; leticiaveiga07@gmail.com

³ Mestrando em Engenharia Biomédica; Universidade Anhembi Morumbi; ju.lzcam33@gmail.com

⁴ Doutor em Física; Universidade Anhembi Morumbi; egberto.munin@ulife.com.br

Resumo

O presente estudo busca compreender a interação de fármacos fotoativos catiônicos em microambiente micelar em diferentes concentrações, utilizando técnica espectrofotométrica para caracterização. Serão preparadas soluções de azul de metileno (MB) e Azul de Toluidina (TBO) misturado aos surfactantes SDS e DTAB para a determinação da Concentração Micelar Crítica (CMC). A metodologia inclui a análise da absorção espectral de amostras por UV-Vis e a avaliação do estado de agregação molecular dos fármacos por meio de ferramentas analíticas como OriginLab e Excell. Espera-se que altas concentrações de fármacos alterem a CMC, impactando o comportamento dessas substâncias. O estudo contribui para o entendimento das interações moleculares em sistemas micelares e visa produzir resultados relevantes para a engenharia biomédica e terapias fotodinâmicas.

Palavras-chave: Micelas, surfactantes, fotofármacos.

Introdução

A nanotecnologia é um campo de estudo da ciência e tecnologia que realiza a manipulação de materiais, estruturas e dispositivos em nanoescala, normalmente variando de 1 a 100 nm. Nota-se ainda que pode ser aplicada em diversas áreas, como



na administração e desenvolvimento de novos fármacos, vacinas, ferramentas de diagnóstico, entre outros, utilizando de materiais biológicos, não biológicos, biomiméticos ou híbridos.

A aplicação da nanotecnologia na farmacologia é foco de interesse devido aos inúmeros avanços ocorridos nas últimas décadas, nas quais foi possível a incorporação de novas práticas terapêuticas. Um exemplo notável é o uso de surfactantes, moléculas anfifílicas com domínios polares e apolares, que têm a capacidade de formar agregados chamados de micelas. As micelas formam-se em um ponto crítico denominado de Concentração Micelar Crítica (CMC) e demonstram que os diferentes estados de agregação exibem propriedades distintas quimicamente e que a variação da concentração desses estados altera as propriedades físico-químicas dos sistemas com surfactantes.

Estudos demonstram que as nanoestruturas micelares melhoram a solubilidade, o carregamento, a proteção e a entrega direcionada de medicamentos, isto pois, aprimora as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas do composto, tornando as formulações mais eficazes para diferentes tratamentos. Destaca-se ainda que, essas características são particularmente relevantes para fotofármacos, como o Azul de Metileno (MB), cuja estabilidade e reatividade podem ser influenciadas pela natureza do ambiente ao redor, pois respondem à luz para ativar suas propriedades terapêuticas ou diagnósticas utilizadas em terapia fotodinâmica. A fotodegradação, por exemplo, pode ser modulada quando essas substâncias estão em um microambiente micelar, o que permite uma otimização de sua ação no meio.

Desta forma, a análise das interações entre fármacos fotoativos e micelas é crucial para o desenvolvimento de técnicas e terapias mais eficazes, o que tem atraído crescente interesse na pesquisa biomédica. Afinal, para garantir que esses fotofármacos funcionem e atinjam tecidos de maneira mais eficiente, é fundamental estudar como eles se comportam em diferentes ambientes e como a presença de micelas pode influenciar suas características fotoquímicas.



Para isso, a utilização de técnica espectrofotométrica no estudo destaca-se com grande importância científica. A espectrofotometria mede a absorção de luz pelas substâncias e é uma ferramenta amplamente utilizada para estudar interações moleculares, processos de degradação e reatividade química, permitindo a obtenção de dados essenciais para a compreensão e caracterização dos fotofármacos com as micelas. Entretanto, os poucos relatos encontrados limitam-se a sistemas diluídos, ou seja, com baixa concentração do composto ativo. Sendo assim, o presente estudo tem o objetivo de analisar a interação desses compostos em diferentes concentrações, ainda não encontradas na literatura.

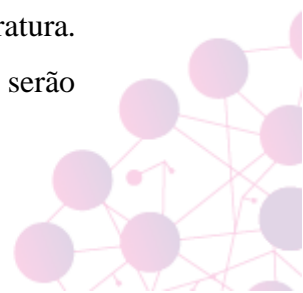
Em síntese, o estudo de fármacos fotoativos em microambientes micelares não só contribui para a compreensão dos mecanismos de interação de moléculas bioativas, mas também abre novas perspectivas para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas fotodinâmicas. A utilização de técnica espectrofotométrica oferece uma ferramenta essencial para impulsionar o projeto, permitindo que se obtenham dados quantitativos e qualitativos cruciais para o avanço da pesquisa.

Métodos

Pesquisa experimental prospectiva de natureza aplicada. Não fará uso de animais, seres humanos ou prontuários médicos. Não há necessidade de submissão aos comitês de ética em pesquisa envolvendo animais ou seres humanos.

Os fotofármacos escolhidos para produzir as amostras para os ensaios experimentais são o corante azul de metileno (MB), CAS 122965-43-9, e o corante azul de ortotoluidina (TBO), CAS 92-31-9. As massas moleculares são 319,85 g/mol para o azul de metileno e 305,83 g/mol para o TBO. A fórmula empírica para o azul de metileno é $C_{16}H_{18}ClN_3S$, e para o azul de toluidina é $C_{15}H_{16}ClN_3S$. Os compostos foram adquiridos pela Sigma Aldrich e as soluções aquosas para este estudo foram preparadas a partir do pó fornecido pelo fabricante sem purificação adicional.

Serão preparadas soluções-estoque para diferentes concentrações de fotossensibilizante, que serão definidas em função de trabalhos existentes na literatura. De forma semelhante, as concentrações de surfactantes (SDS e DTAB) serão



convenientemente escolhidas a partir de informações da literatura. As soluções que servirão como amostras para os ensaios serão preparadas misturando-se diluições das soluções do fotofármaco com diluições das soluções estoque dos surfactantes de forma a se ter uma quantidade adequada de amostras com diferentes concentrações de surfactantes e de fotofármaco.

Para o preparo das diluições serão utilizadas vidrarias de precisão analítica, tais como pipetadores automáticos e balões volumétricos.

O espectro de absorvância para cada amostra preparada será obtido com a utilização de um espectrômetro UV-Vis (USB-4000 – Ocean Optics, USA), instrumento que cobre a faixa espectral de absorção da espécie monomérica, assim como das espécies agregadas do fármaco.

No processo de análise de dados serão testadas diferentes ferramentas matemáticas para extração de informação. O estado de agregação molecular do fármaco sob ensaio será testado primeiramente pela razão AM/AD, sendo AD a absorvância da espécie dimerica e AM a absorvância da espécie monomérica. Alternativamente o estado de agregação molecular será testado calculando-se o comprimento de onda médio da banda de absorção por ferramenta de cálculo integral, conforme descrito na referência. A Concentração Micelar Crítica (CMC) será obtida através da identificação do ponto onde ocorre alteração abrupta na inclinação da curva, isto é, identificação da concentração de surfactante para a qual ocorre alteração abrupta do estado de agregação molecular do fotofármaco.

Para a aplicação da ferramenta de cálculo integral e composição gráfica dos resultados obtidos será utilizado o software OriginLabTM. O software Excell será utilizado para tratamento de dados em planilhas e outros cálculos complementares.

Resultados e Discussões

O presente trabalho está em fase de organização e treinamento dos orientandos, realizando testes para padronização de soluções, de modo que seja possível analisar determinadas concentrações em microambientes micelares e suas devidas agregações, além de também adquirir conhecimento teórico e prático sobre os equipamentos e softwares a serem utilizados e o preparo de amostras. A princípio, o projeto visa



investigar o comportamento dos fotofármacos catiônicos em alta concentração em microambiente micelar utilizando técnica espectrofotométrica. Desta forma, pretende-se contribuir para a compreensão dos mecanismos de ação de compostos de interesse farmacológico, com reflexo no desenvolvimento futuro da biofísica e bioquímica biomolecular e engenharia biomédica.

Conclusões

Os resultados preliminares indicam que a metodologia adotada está sendo eficiente na padronização de soluções-estoque e experimentos iniciais. O treinamento dos orientados quanto ao embasamento teórico, manuseio dos equipamentos e softwares necessários à análise espectrofotométrica está ocorrendo também de forma satisfatória. Embora os experimentos ainda estejam em fase inicial, a abordagem utilizada demonstra potencial para contribuir significativamente na compreensão das interações entre micelas e fármacos fotoativos, particularmente em concentrações mais elevadas, as quais não foram amplamente exploradas na literatura. A continuidade do trabalho permitirá uma avaliação mais robusta das interações moleculares e poderá oferecer insights valiosos.

Referências

1. Moreira, L. M., & Lyon, J. P. (2022). Ionic and non-ionic surfactants: micelles, reverse micelles and micro heterogenous systems.
2. Saha, U., De, R., & Das, B. (2023). Interactions between loaded drugs and surfactant molecules in micellar drug delivery systems: A critical review. *Journal of Molecular Liquids*, 382, 121906.
3. Lim, D. J. (2021). Methylene blue-based nano and microparticles: fabrication and applications in photodynamic therapy. *Polymers*, 13(22), 3955.
4. Mabrouk, M. M., Hamed, N. A., & Mansour, F. R. (2023). Spectroscopic methods for determination of critical micelle concentrations of surfactants; a comprehensive review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 58(3), 206-234.



5. de Sá Balbina, F. T. C., Moraes, F. J. H., Fernandes, A. U., & **Munin, E.** (2023). Transient optical properties, laser induced avalanche effect, and all optical switching in molecular aggregates. *Optical Materials*, 142, 113938.
6. Abbot, V., Bhardwaj, V., & Sharma, P. (2021). Investigation of intermolecular interactions of anionic surfactant SDS and rutin: A physico-chemical approach for pharmaceutical application. *Journal of Molecular Liquids*, 337, 116352.
7. Han, W., Long, W., Peng, L., Zhang, W., & Shi, B. (2023). Effect of nonionic and anionic surfactant on ecotoxicity and micellization behaviors of dodecyl trimethyl ammonium bromide (DTAB). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 671, 131588.

Fomento:

Julia Zuin Moraes teve a concessão de Bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da Universidade Anhembi Morumbi. Os autores agradecem ainda o apoio da Universidade Anhembi Morumbi, do Instituto Ânima e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior: CAPES – Brasil –Código de financiamento 001.

