

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

Junio Luiz Camargo¹; Leticia Veiga²; Julia Zuin Moraes³; Dr Egberto Munin⁴

¹ Mestrando em Engenharia Biomédica; Universidade Anhembi Morumbi; ju.lzcam33@gmail.com

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

³ Graduanda em Biomedicina e bolsista PIBIC-CNPq; Universidade Anhembi Morumbi; juliazuin2@gmail.com

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

RESUMO:

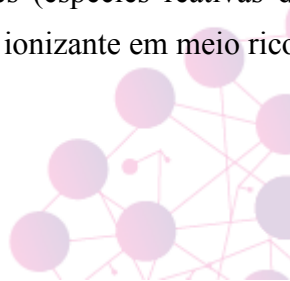
Dentre outras aplicações, o fármaco azul de metileno encontra aplicação como fotossensibilizante em terapia fotodinâmica e sua auto agregação é uma das propriedades das moléculas em solução, fato que afeta suas propriedades fotofísicas. A agregação molecular afeta também os processos de adsorção e de difusão da molécula em meios biológicos e outros meios tornando-se, portanto, um fenômeno de especial interesse científico. A presente pesquisa investiga a agregação do fármaco fotossensibilizante azul de metileno utilizando raios lasers. Deste modo, o projeto visa explorar os processos mecânicos 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.

PALAVRAS-CHAVE: Agregação molecular, corantes, fotossensibilizantes.

INTRODUÇÃO:

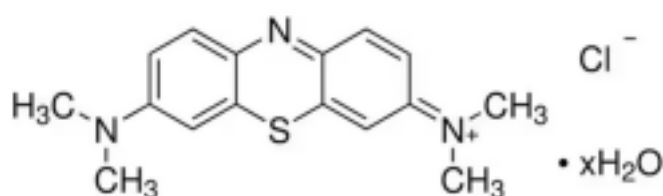
O fármaco azul de metileno é amplamente utilizado em terapia fotodinâmica devido às suas propriedades fotossensibilizantes. (SOUZA et al. 2006; MUNIN et al. 2007; GIROLDO et al. 2009; SOUZA et al. 2010).

Fotossensibilizantes produzem radicais oxidantes (espécies reativas de oxigênio – ROS) quando são expostos à radiação óptica não ionizante em meio rico em oxigênio



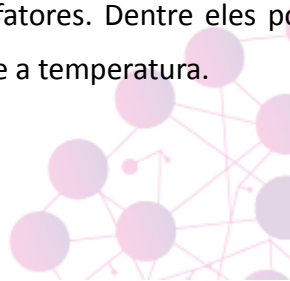
molecular (SCHMIDT 2006). Devido à elevada reatividade química, tais radicais oxidantes são capazes de conduzir as células à morte por processo de apoptose (GUO, 2010). Tal fato gera uma variedade de aplicações que vai desde o tratamento de câncer, até o tratamento de moléstias provocadas por patógenos 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 produzindo oxigênio singleto 1O_2 , espécie altamente citotóxica a qual leva 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.



O trabalho propõe investigar a agregação do fármaco fotosensibilizante 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.

MÉTODO:

A pesquisa tem como objeto de estudo compostos moleculares da família dos fenotiazínicos, os quais são frequentemente utilizados como fármacos fotoativos em terapia fotodinâmica. Uma vez que o presente trabalho investiga os efeitos de agregação molecular, os corantes fenotiazínicos foram escolhidos para estudo porque, nesta classe molecular, os efeitos de agregação são expressivos e suas bandas de absorção são largas e situadas nas regiões espectrais coincidentes com o comprimento de onda de lasers e LEDs disponíveis para os experimentos. Adicionalmente, são compostos com excelente estabilidade molecular e comercialmente disponíveis. Deste modo, uma solução estoque de azul de metileno foi preparada com concentração conhecida. A partir da solução estoque, diluições foram preparadas com adições de solvente. Soluções salinas foram preparadas adicionando 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 as medidas espectroscópicas de absorbância, as soluções preparadas são acondicionadas em cubetas de pequeno caminho óptico ($<1,0$ mm) construídas com vidro borossilicato.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

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. Foi dado início à 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.

REFERÊNCIAS:

DE 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.

GUO, H., QIAN, H., IDRIS, N. M., & ZHANG, Y. Singlet oxygen-induced apoptosis of cancer cells using upconversion fluorescent nanoparticles as a carrier of photosensitizer. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* (2010) 6(3), 486-495.



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.

QI, Y., XIE, R., YU, A., BUKHARI, M. N., ZHANG, L., CAO, C., & CHEN, W. Effect of ethylene glycol and its derivatives on the aggregation properties of reactive Orange 13 dye aqueous solution. *RSC Advances* (2020) 10(57), 34373-34380

SCHMIDT, R. Photosensitized generation of singlet oxygen. *Photochemistry and photobiology* (2006) 82(5), 1161-1177.

SOUZA, R. C., JUNQUEIRA, J. C., ROSSONI, R. D., PEREIRA, C. A., MUNIN, E., & JORGE, A. O. Comparison of the photodynamic fungicidal efficacy of methylene blue, toluidine blue, malachite green and low-power laser irradiation alone against *Candida albicans*. *Lasers in medical Science* (2010) 25(3), 385-389.

SOUZA, S. C., JUNQUEIRA, J. C., BALDUCCI, I., KOGA-ITO, C. Y., MUNIN, E., & JORGE, A. O. C. Photosensitization of different *Candida* species by low power laser light. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (2006) 83(1), 34-38.

YAZDANI, O., IRANDOUST, M., GHASEMI, J. B., & HOOSHMAND, S. Thermodynamic study of the dimerization equilibrium of methylene blue, methylene green and thiazole orange at various surfactant concentrations and different ionic strengths and in mixed solvents by spectral titration and chemometric analysis. *Dyes and Pigments*, 92(3), 1031-1041 (2012).

FOMENTO

Os autores agradecem o apoio da Universidade Anhembi Morumbi, do Instituto Ânima - IA e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES – Brasil –Código de financiamento 001. 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.

