



ESTUDO ESPECTROSCÓPIO DO FOTOSSENSIBILIZANTE AZURE B

Junio Luiz Camargo¹; Letícia Veiga²; Bárbara Vilela Martins³; (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 Mestranda em Engenharia Biomédica; Universidade Anhembi Morumbi;
barbara.vilela.bvm@gmail.com

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

Resumo

O fotossensibilizante Azure B possui grande potencial de aplicação na terapia fotodinâmica. Na presença de oxigênio, a interação gera substâncias citotóxicas que causam danos oxidativos às células-alvo. A presente pesquisa tem como propósito investigar o processo de agregação do fotossensibilizante Azure B. As amostras serão submetidas à análise de luz de led e lasers com leituras no espectrofotômetro e osciloscópio respectivamente. Utilizando-se feixes de laser com comprimentos de onda de 663 nm e 532 nm, usados para modulação térmica dos estados de agregação, espera-se observar comportamentos ópticos similares já observados em outros corantes fenotiazínicos mas ainda não observado no fotossensibilizante Azure B.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica, fotossensibilizantes, agregação molecular.

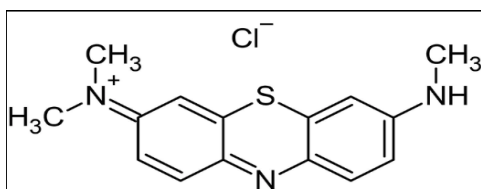
Introdução

Os 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). 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 singlete 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 $[O_2]$, espécie altamente citotóxica, que leva a célula à morte.



Azure B: $C_{15}H_{16}ClN_3S = 305,8g/mol$, (NARAYANA, B.; CHERIAN, T. 2005)

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 fotossensibilizante Azure B 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.

Métodos

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, será preparada uma solução stock conhecida de Azure B em água, configurando uma concentração molar de 3,27mM. E a partir das diluições serão levantados gráficos dos picos de dímeros e monômeros.

Também serão realizadas duas diluições com surfactantes: uma com SDS (sodium dodecyl sulfate) e outra com DTAB (Brometo de Dodeciltrimetilamônio). Do mesmo modo ao experimento anterior, será levantado gráficos com os picos dos monômeros e dímeros. Todas as diluições portando serão submetidas à espectroscopia a fim de analisar os picos de absorbância. O estudo consistirá na incidência por laser na solução de Azure B para verificar o seu potencial de modulação. Neste primeiro experimento será utilizado o laser de comprimento de onda de 663 nm (pico de absorção do monômero). 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.

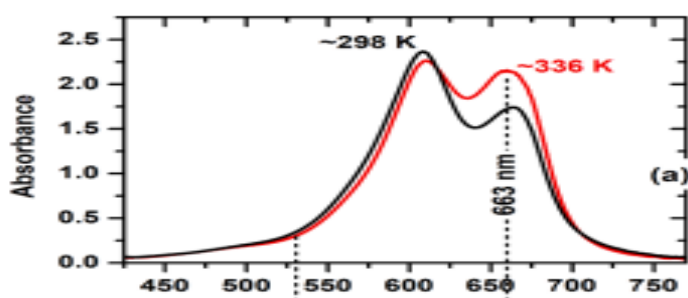


Fig. 1. Espectro de absorvância do azul de metileno em solução aquosa. (VEIGA, L.; DE SÁ BALBINA F.T.C.; MORAES F.J.H.; FERNANDES A.U.; AND MUNIN E. 2024)

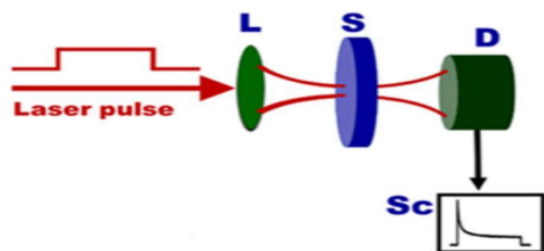


Figura 2. Arranjo experimental para estudar os processos transientes induzidos por laser em corantes autoagregados. (DE SÁ BALBINA F.T.C. et. al. 2023)

No entanto, espera-se, de acordo com estudos anteriores utilizando outros fotossensibilizantes fenotiazínicos, em especial ao azul de metileno, o chamado “efeito avalanche” resultante do aquecimento da amostra no pico do monômero onde é possível observar sua absorção à medida que o laser aumenta a temperatura da amostra favorecendo a formação de monômeros. Será utilizado o laser de comprimento de onda de 663nm. Neste comprimento de onda é possível observar o pico do monômero.

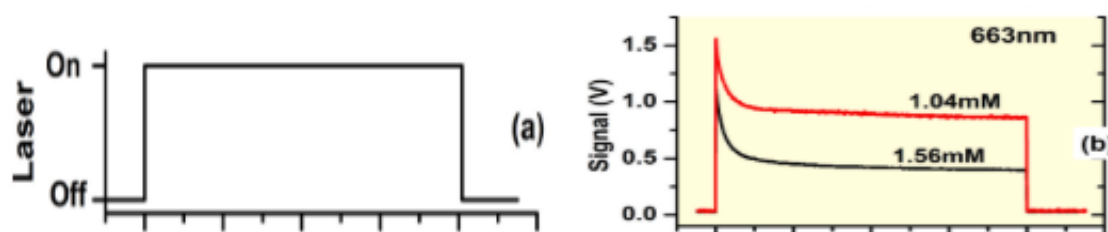


Figura 3. Exemplo do comportamento do sinal antes e depois de uma amostra de um fotossensibilizante após ser exposto a um laser de 663nm. (DE SÁ BALBINA F.T.C. et. al. 2023)

De acordo com a **Figura 3**, é possível observar na leitura feita por osciloscópio que o laser aumenta a temperatura da amostra favorecendo a formação de monômeros. Quando a amostra é excitada com um laser vermelho de 663 nm, atinge o pico da banda de absorção do monômero do Azure B, e a transmissão da amostra diminui ao longo do tempo. A isso entendemos como o efeito avalanche.



Conclusões

Este projeto, portanto, visa investigar os processos mecanísticos de interação da radiação laser com meios agregados. Estando ainda em andamento, 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, confirmando e fortalecendo os resultados de trabalhos anteriores.

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).

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.

NARAYANA, B.; CHERIAN, T. A Facile Spectrophotometric Method for the Determination of Periodate Using Azure B. *J. Braz Chem. Soc.*, v. 16, n. 5, p. 978-981, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000600014>

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

SOUZA, S. C. et. al. Photosensitization of different *Candida* species by low power laser light. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (2006) 83(1), 34-38.

VEIGA, L. et al. Theoretical basis of all-optical modulation of a probe laser beam due to photothermal modulation of the aggregation state in organic dyes, with experimental proof of the principle. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 330, 125687, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2024.125687>



Fomento

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão de bolsa PROSUP/CAPES. Também agradecemos ao Centro de Inovação, Tecnologia e Educação(CITÉ), ao Parque de Inovação Tecnológica de São José dos Campos (PIT), à Universidade Anhembi-Morumbi (UAM) e ao Programa Pró Ciência do Ecossistema Ânima.