

ESTUDO DE FOTOATIVAÇÃO DE CORANTES UTILIZADOS NA TERAPIA FOTODINÂMICA: FASE II

Gabriel Marino de Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Luis Carlos Malacarne (Orientador), Vitor Santaella Zanuto (Coorientador). E-mail: lcmala@dfi.uem.br
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá PR.

Área e subárea do conhecimento: Física/Física da Matéria Condensada

Palavras-chave: Espectroscopia de Lente Térmica; Corantes Xantenos; Geração de Oxigênio Singleto.

RESUMO

Este trabalho dá continuidade a um projeto anterior que visava estudar corantes fotossensíveis usados em terapia fotodinâmica usando técnicas espectroscópicas, em particular espectroscopia de lentes térmicas. Nesta etapa, além do *Sirius Red*, investigamos uma classe específica de corantes conhecidos como xantenos. Utilizamos a técnica LT em adição a outras técnicas para caracterizar o processo de fotodegradação e geração de oxigênio singleto destes corantes. Essas propriedades são relevantes para a dosimetria usada na terapia fotodinâmica.

INTRODUÇÃO

O princípio da interação radiação-matéria baseia-se na conversão de parte da energia transportada pelas ondas eletromagnéticas (luz) em energia térmica, que provoca o aquecimento do material exposto à radiação. Esse fenômeno é chamado de efeito fototérmico (Almond; Patel, 1996). Este efeito é de grande interesse para a análise de propriedades termo-ópticas de certos materiais.

Existem várias técnicas baseadas em efeitos induzidos pela absorção da luz e subsequentes processos de relaxamento dos estados excitados. Uma dessas técnicas é a espectroscopia de lente térmica (TL), que usa lasers para estudar os processos fotofísicos de materiais líquidos e sólidos (Bialkowisk, 1996).

Uma característica da técnica de lentes térmicas é que ela detecta mudanças no caminho óptico devido à absorção local do feixe de luz, gerando um gradiente de índice de refração na amostra após irradiá-la com um feixe de laser. Esta é uma técnica resolvida no tempo que permite a determinação das propriedades dinâmicas de uma amostra e é de natureza não destrutivo. A alta sensibilidade da técnica, capaz de analisar soluções em concentração nano-molar, representa uma vantagem sobre a espectroscopia convencional.

A ajuste dos transientes produzidos por LT utilizando os modelos apropriados permite a determinação parâmetros como a difusividade térmica, o coeficiente de

difusão de massa, eficiência quântica de geração de calor e a taxa de fotodegradação (CAMARGO, 2019). Portanto, mesmo sistemas físicos que exibem reações fotoquímicas podem ser estudados usando LT, como é o caso deste estudo. Aplicamos esta técnica para a caracterização de uma classe de corantes fotossensíveis. Essas amostras contêm espécies fotoativas que produzem efeitos adicionais além do efeito térmico ao interagir com a radiação, os quais são de fundamental importância na terapia fotodinâmica.

A terapia fotodinâmica (TFD) é um conjunto de técnicas e procedimentos para o tratamento de doenças epidérmicas e tumores e na inativação de microrganismos (GUNAYDIN, 2021). O mecanismo relacionado a TFD ocorre quando a absorção de luz faz com que o material fique excitado e reaja com moléculas de oxigênio no meio, resultando na formação de espécies reativas de oxigênio, especialmente oxigênio singleto. Essas espécies reativas podem danificar o ambiente biológico e causar a morte celular.

Esta tecnologia é uma grande promessa no combate a vários tumores cancerígenos e doenças não cancerígenas. A qualidade do fotossensibilizador é importante para a eficácia da TFD, e as características de um fotossensibilizador ideal incluem pureza química, eliminação rápida dos tecidos, meia-vida curta e alta eficiência de produção de oxigênio singleto e falta de toxicidade na ausência de luz.

Para obter melhores resultados com a técnica de TFD, é importante conhecer o mecanismo de fotoativação dos fotossensibilizadores, que depende de fatores como temperatura, pH, tipo de solvente, concentração e propriedades físico-químicas. Os corantes xantênicos são compostos orgânicos com estrutura química básica constituída por dois anéis de benzeno unidos por um átomo de carbono e um átomo de oxigênio. Esses compostos apresentam uma alta capacidade de gerar oxigênio singleto em meio aquoso.

A estrutura básica do xanteno forma a espinha dorsal de vários compostos, como derivados do xanteno (DX), eritrosina (ERY), eosina (EOS) e rosa bengala (RB). Esses compostos tendem a apresentar fluorescência em cores fortes cobrindo todo o espectro visível. O corante *Sirius Red* (SR) também foi usado neste estudo como corante de controle, pois absorve na mesma faixa e não apresenta fotoatividade aparente.

Neste trabalho, utilizamos métodos espectroscópicos, incluindo a LT, na caracterização dos processos de fotodegradação e geração de oxigênio singleto do fotossensibilizadores xantênicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

A configuração experimental de LT utilizada neste estudo foi configuração de feixe duplo com modo descasado e colinear. Um deles produz um efeito de lente térmica

(chamado de laser de excitação) e o outro é posicionado de forma colinear com o laser de excitação para testar a lente térmica (chamado de laser de prova). Os efeitos térmicos surgem do aquecimento que o feixe de excitação induz na amostra, e a distribuição de temperatura causa mudanças no caminho do laser. A amplitude deste efeito está diretamente relacionada com a absorção óptica da amostra.

Um laser de íon argônio emitindo em $\lambda=514$ nm foi usado para excitar a amostra e um laser He-Ne emitindo em $\lambda=632,8$ nm foi usado para detectar o efeito de LT. Este arranjo usa quatro lentes de focagem e vários espelhos (dois espelhos dicróicos para obter um arranjo colinear). Todos os elementos ópticos distribuídos servem para direcionar e focar o feixe na amostra. Um obturador chamado 'shutter' foi usado para controlar o tempo de exposição da luz de excitação à amostra. Dois fotodiodos também foram usados, um para analisar o efeito e outro para disparar a aquisição de dados assim que o feixe de excitação atingisse a amostra (o chamado "gatilho").

Amostras dos corantes xantêmicos (eritrosina (ERY), eosina (EOS), rosa bengala (RB)) e o corante *Sirius Red* (SR) foram inicialmente preparadas como soluções estoque em concentrações de 25 μM . Eles foram então diluídos para atingir uma concentração de 1,5 μM .

Adicionado a LT, foi utilizado um espectrômetro para análise da cinética de geração de oxigênio singleto. Uma substância que interage com o oxigênio singleto gerado pelo fotossensibilizador na presença de luz, conhecido como uma prova química para detecção da geração de oxigênio singleto (ácido 9,10-antracenodil-bis(metileno) dimalônico-ABDA), foi adicionada à solução contendo os corantes xantenos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o transiente LT, o modelo de Shen-Pedreira (CAMARGO, 2019) foi usado para ajustar os dados experimentais. Esses ajustes nos permitiram não apenas obter os parâmetros térmicos e fotofísicos das amostras, mas também determinar aproximadamente a taxa de fotodegradação e o coeficiente de geração de calor.

Observamos que os corantes xantenos têm efeitos adicionais além do sinal térmico puro. Estes mostram uma diminuição na amplitude após a mudança inicial. Este é um efeito característico de materiais que apresentam fotobranqueamento, resultando em uma diminuição do valor do coeficiente de absorção e, portanto, menos calor gerado, e a consequente diminuição da amplitude do sinal de lente térmica. A análise dessa mudança fornece informações diretas sobre a taxa de fotobranqueamento.

Foi observado que cada transiente se comporta de maneira diferente em relação ao efeito de foto resposta. Esse resultado demonstra uma taxa de fotodegradação

diferente entre os corantes xantênicos. Como esperado, a transição do corante SR (usado como corante de controle) é puramente térmica e não tem efeito adicional, independentemente da potência usada.

Medições dos espectros de absorção dos corantes em função da concentração também foram feitas. Isso é útil para interpretar os dados de LT, pois permite estimar o coeficiente de absorção óptica (β_0) no comprimento de onda de interesse (514 nm neste caso), e com isso determinar a eficiência de geração de calor de cada corante. Para a cinética de fotoativação na presença de ABDA, foi utilizada uma concentração de 3,125 μM para cada corante. A taxa de mudança dos picos característicos do espectro de absorção ABDA permitiu a determinação da eficiência química de geração de oxigênio singleto para os corantes utilizados neste trabalho.

CONCLUSÕES

A utilização da técnica LT se mostrou muito útil para o estudo e caracterização de fotossensibilizadores utilizados em TFD. Além disso, esta técnica permite a determinação de parâmetros-chave de propriedades termo-ópticas, fornecendo informações sobre a fotodegradação e taxa de geração de calor dos corantes. Além da LT, outras técnicas espectroscópicas também são adequadas para caracterizar as propriedades dos corantes utilizados e são importantes para otimizar a dosimetria utilizada na TFD.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos professores e alunos de pós-graduação do grupo de pesquisa pela orientação, e ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ALMOND, D. P.; PATEL, P. M. **Photothermal Science and Techniques.**, volume 10. (Chapman and Hall, London), 1996.

BIALKOWISKI, S. E. **Photothermal Spectroscopy Methods for Chemical Analysis.** (Wiley, New York), 1996.

CAMARGO, V. G. **A utilização de técnicas fototérmicas na caracterização de fotossensibilizadores aplicados na terapia fotodinâmica.** Tese (Doutorado). - Programa de Pós-graduação em Física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2019.

GUNAYDIN, G.; GEDIK, M. E. and AYAN, S. **Photodynamic Therapy—Current Limitations and Novel Approaches**, *Frontiers in Chemistry* 9, 2021.