

ESTUDOS CINÉTICOS DE MATERIAIS FOTOSENSÍVEIS

KINETIC STUDIES OF PHOTSENSITIVE MATERIALS

RESUMO

Marina Estela Carraro
Mah.carraro@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Medianeira, Paraná,
Brasil

Leandro Herculano da Silva
leandroh@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Medianeira, Paraná,
Brasil

Este trabalho teve como objetivo construir e utilizar um fotorreator para avaliar a estabilidade fotoquímica do corante eosina, por meio da obtenção da taxa de fotodegradação. Para determinar a taxa de fotodegradação do corante, foi construído um fotorreator especificamente para a finalidade do trabalho. Deste modo, foram obtidas as taxas de fotodegradação, do corante eosina, em função da temperatura e da concentração. Para o estudo da taxa de fotodegradação em função da concentração foram preparadas amostras com cinco valores de concentração, e para o estudo em função da temperatura foram escolhidos cinco valores de temperatura. Para cada valor de concentração e temperatura, foram obtidos um espectro de transmitância a cada 30 segundos. Utilizando a lei de Beer-Lambert foram calculados os espectros de absorvância. Com este estudo observamos que, o aumento na temperatura produz um aumento na taxa de fotodegradação, desta maneira, a fotoestabilidade do corante eosina diminui. Quanto a concentração, podemos verificar comportamento contrário. Isso pode estar associado ao fato de que a fotorreação não possui uma dependência explícita com a concentração, podendo estar associadas a outros fatores. Com os resultados obtidos, observou a necessidade de buscar mais resultados, que devem incluir outras técnicas de caracterização, permitindo desenvolver fotofármacos com mais consistência.

PALAVRAS-CHAVE: Terapia Fotodinâmica, Taxa de fotodegradação, Fotorreator

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



ABSTRACT

This work aimed to construct and use a photoreactor to evaluate the photochemical stability of the eosin dye by obtaining the photodegradation rate. To determine the photodegradation rate of the dye, a photoreactor was built specifically for the purpose of the work. In this way, the photodegradation rates of the eosin dye were obtained as a function of temperature and concentration. For the study of the photodegradation rate as a function of concentration samples were prepared with five concentration values, and for the study as a function of temperature five temperature values were chosen. For each concentration and temperature value, a transmittance spectrum was obtained every 30 seconds. Using the Beer-Lambert law the absorbance spectra were calculated. With this study we observed that the increase in temperature produces an increase in the photodegradation rate, thus the eosin dye photostability decreases. As for concentration, we can verify opposite behavior. This may be associated with the fact that photoreaction does not have an explicit dependence on concentration and may be associated with other factors. With the results obtained, noted the need to search for more results, which should include other characterization techniques, allowing the development of more consistent.

KEYWORDS: Photodynamic Therapy, Photodegradation rate, Photoreactor

INTRODUÇÃO Página | 2

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica, que utiliza a interação da luz com um fármaco, para promover a inativação de microorganismos e morte celular. Ao absorver a energia da luz, de comprimento de onda apropriado, moléculas do fotofármaco, realizam uma transferência de energia para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), que por sua vez, sofre uma inversão de spin e converte-se em oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$). (HENDERSON, 1992).

O $^1\text{O}_2$ pode interagir com outros sistemas moleculares, participando de reações químicas ou transferindo energia para esses sistemas e voltar ao seu estado inicial, ou seja, ao estado $^3\text{O}_2$. Ao interagir com proteínas presentes no tecido alvo, os subprodutos gerados por essa interação, ocasionam inativação enzimática que promove a apoptose das células do tecido alvo (RONSEIN, 2006).

As principais aplicações médicas, da TFD, incluem o tratamento de ceratose actínica, acne, câncer de pele não melanoma, úlceras venosas, osteomielites, onicomicoses, feridas advindas de leishmanioses e degeneração macular da retina (ISSA, 2010).

Existem no mercado diversos fotofármacos aprovados para a TFD. No entanto, o alto custo destes medicamentos tem sido considerado o principal obstáculo para a ampliação da utilização da TFD no tratamento de úlceras venosas, uma vez que este tipo de moléstia é mais presente nas camadas mais pobres da população.

No intuito de solucionar o problema, relativo ao alto custo dos fotofármacos, diversos estudos têm desenvolvido e proposto novos fotofármacos para aplicação na TFD, como a eritrosina, eosina, hipericina, fitalocianinas, clorofila, azul de toluidina e azul de metileno (WILSON, 2008).

Para que um corante possa ser considerado um fotofármaco, ele deve apresentar algumas características desejáveis: biocompatibilidade, baixa toxicidade no escuro, elevada taxa de produção de espécies oxidativas, absorção óptica na região do espectro visível, preferencialmente na região de maior permeação em tecidos biológicos, rápida eliminação pelo organismo e estabilidade fotoquímica (SIMPLICIO, 2002).

A estabilidade fotoquímica, está relacionada com processos de fotodegradação, devido a interação do corante (fotofármaco) com a luz ou com o oxigênio singleto, que podem ocasionar uma diminuição da capacidade deste de absorver energia da luz, ou seja, que podem diminuir a absorção óptica do fotofármaco. Uma reação fotoquímica que ocasiona diminuição da absorção óptica do fotofármaco é conhecida como uma reação de fotodegradação ou fotobranqueamento.

A principal consequência do fotobranqueamento, para a TFD, está relacionada a diminuição da taxa de geração de espécies oxidativas, na maioria dos casos o oxigênio singleto. Ou seja, quanto menor a absorção óptica do fotofármaco, menor a taxa de geração de oxigênio singleto e menor a eficácia da técnica para a inativação do tecido alvo.

Neste trabalho, construímos e utilizamos um fotorreator para avaliar a estabilidade fotoquímica do corante eosina, por meio da obtenção da taxa de fotodegradação.

A reação fotoquímica que envolve a fotodegradação do corante, ou seja, da amostra que é estudada, pode ser representada por



Na qual, R e P representam os reagentes e produtos envolvidos na reação fotoquímica que ocorre devido a absorção de luz com energia $h\nu$.

Devido a fotorreação, a absorção óptica da amostra, que será estudada, varia com o tempo de exposição e pode ser monitorada por meio da medida da absorbância $A(t)$.

$$A(t) = L\beta(t). \quad (2)$$

Na qual, L é comprimento da cubeta e β representa o coeficiente de absorção óptica da amostra, que por sua vez, por ser escrito em termos da soma dos coeficientes de absorção óptica dos reagentes e produtos

$$A(t) = L[\beta_R(t) + \beta_P(t)]. \quad (3)$$

Podemos relacionar os coeficientes de absorção óptica com as concentrações e seção de choque dos reagentes e produtos

$$A(t) = L[\epsilon_R C_R(t) + \epsilon_P C_P(t)]. \quad (4)$$

Por outro lado, temos que a soma das concentrações dos reagentes e produtos é constante, ao longo da reação

$$C_P(t) = C_R(0) - C_R(t). \quad (6)$$

Substituindo a equação (6) na equação (4), temos

$$A(t) = L[(\epsilon_R - \epsilon_P)C_R(t) + \epsilon_P C_R(0)]. \quad (8)$$

Assumindo uma reação de primeira ordem, para a fotorreação, temos que a concentração dos reagentes, em função do tempo de iluminação e dada por

$$C_R(t) = C_R(0)e^{-kt}. \quad (9)$$

Na qual, k é a taxa de fotodegradação (ou fotorreação). Substituindo a equação (9) na equação (8), obtemos

$$A(t) = A(0)[(1 - \epsilon)e^{-kt} + \epsilon]. \quad (10)$$

Na qual, $A(0) = L\epsilon_R C_R(0)$ e $\epsilon = \epsilon_P/\epsilon_R$.

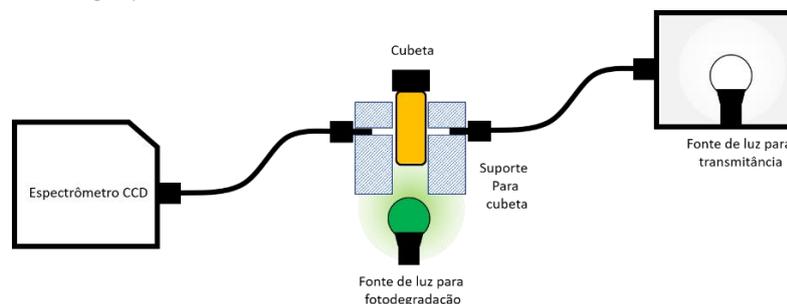
De acordo com a equação (10), se o produto não absorver luz no comprimento de onda utilizado durante a fotodegradação, ou seja $\epsilon_P = 0$, a equação (10) se resume a

$$A(t) = A(0)e^{-kt}. \quad (11)$$

MATERIAIS E MÉTODO

Para determinar a taxa de fotodegradação do corante, é necessário iluminar a amostra, com luz de comprimento de onda que promova a fotodegradação e monitorar o espectro de absorbância em função do tempo. Para isso, foi construído um fotorreator especificamente para esta finalidade. A figura (1), apresenta a representação esquemática do fotorreator utilizado.

Figura 1 – Representação esquemática do fotorreator.



Fonte: Autoria própria.

Para gerar a fotorreação nas amostras, foi utilizado como fonte de luz para fotodegradação um LED com pico de emissão em 525 nm e potência nominal de 10W, alimentado por uma fonte de tensão de 12 VDC e 900 mA.

Como fonte de luz para transmitância, ou luz de referência, foi utilizado um LED branco, conectado a uma fonte de alimentação externa de 12VDC e 300mA. Utilizando uma fibra óptica a luz de referência foi guiada até o suporte para cubeta, composto por um bloco de alumínio com entrada para cubeta cilíndrica. Ao suporte foram adicionados resistores elétricos, conectados a um controlador de temperatura, marca LakeShore, modelo 340, que juntamente com as demais partes do fotorreator, permitiu obter os espectros de transmitância para diferentes valores de temperatura.

As cubetas utilizadas neste trabalho, são fabricadas em vidro borossilicato e possuem um comprimento (ou caminho óptico) de 16 mm. Após atravessar a amostra, colocada dentro da cubeta, a luz é guiada por uma fibra óptica até um espectrômetro CCD, da marca LaserLine, modelo L-SP2, cuja função foi obter o espectro de transmitância das amostras. O espectrômetro foi conectado a um computador que fez a aquisição de dados, por meio de um software específico, a cada 30 segundos.

Neste trabalho, foram obtidas as taxas de fotodegradação, do corante eosina, em solução aquosa, em função da temperatura e da concentração.

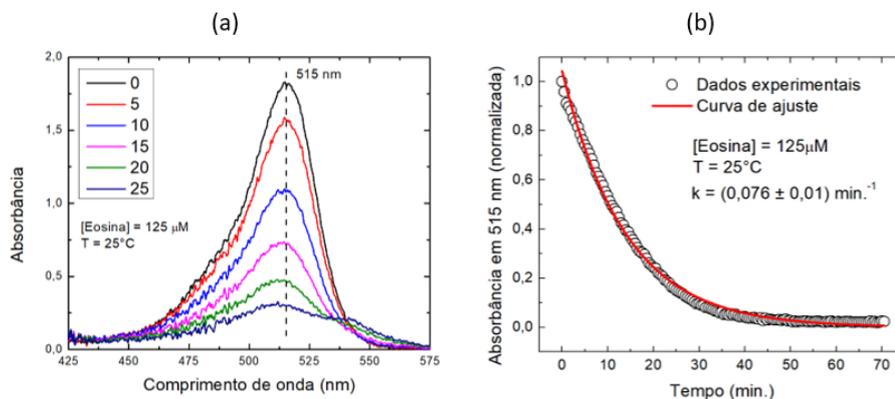
Para o estudo da taxa de fotodegradação em função da concentração foram preparadas amostras com cinco valores de concentração: 25, 50, 75, 100 e 125 μM e para o estudo em função da temperatura foram escolhidos os valores de 20, 25, 30, 35 e 40°C. Para cada valor de concentração e temperatura, foram obtidos um espectro de transmitância a cada 30 segundos. Utilizando a lei de Beer-Lambert foram calculados os espectros de absorvância.

RESULTADOS

A figura (2.a), apresenta os espectros de absorvância, para alguns intervalos de tempos, durante a fotorreação.

Figura 2 – (a) Espectro de absorvância, da solução aquosa de eosina na concentração de 125 μM e temperatura de 25°C, para diferentes intervalos de tempo durante a fotorreação. (b) Absorvância para o comprimento de onda de 515 nm em função do tempo, para a concentração de 125 μM e temperatura de 25 °C. Os círculos abertos

representam os valores obtidos experimentalmente e a linha vermelha o ajuste dos dados, utilizando a equação (11).



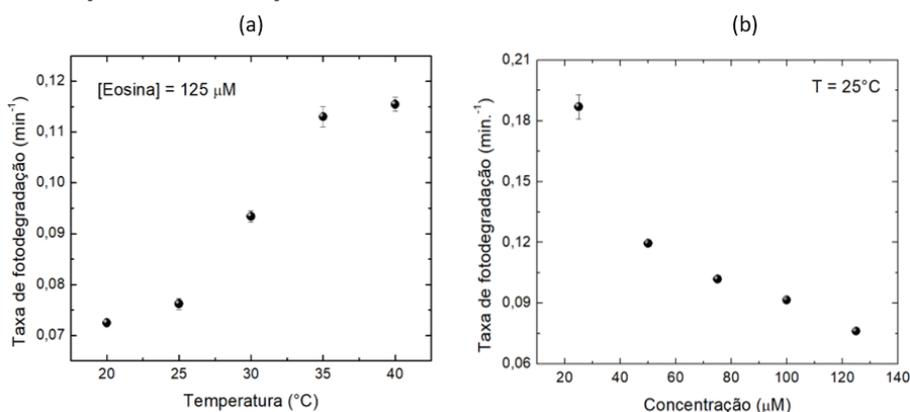
Fonte: autoria própria.

O procedimento que levou a obtenção do gráfico mostrado na figura (2.a) foi repetido para as diferentes concentrações e temperatura, por uma limitação do texto esses resultados não foram apresentados.

Na figura (2.a), vemos uma linha vertical e tracejada, que demonstra o pico de absorvância em 515 nm. Utilizando os valores de pico da absorvância, em 515 nm, para os diferentes valores de tempo. foi possível confeccionar o gráfico mostrado na figura (2.b).

O procedimento que levou a obtenção do resultado apresentado no gráfico da figura (2.b) foi repetido para as diferentes concentrações e temperaturas. Assim, de posse dos valores da taxa de fotodegradação em função da temperatura e da concentração, foram confeccionados os gráficos apresentados nas figuras (4.a) e (4.b), respectivamente.

Figura 4 – (a) Taxa de fotodegradação da solução de eosina (125mM) em função da temperatura. (b) Taxa de fotodegradação da solução de eosina, para temperatura de 25°C em função da concentração.



Fonte: autoria própria.

O gráfico, mostrado na figura (4.a), mostra que, um aumento na temperatura produz um aumento na taxa de fotodegradação. O aumento na taxa de fotodegradação revela que, para esta concentração, a fotoestabilidade do corante eosina diminui. No entanto, o resultado mostra que a taxa de fotodegradação parece estabilizar-se a partir do valor de 35°C.

Na figura (4-b), podemos verificar que a taxa de fotodegradação diminui em função do aumento da concentração, ou seja, para maiores valores de concentração a fotoestabilidade do corante aumenta. Isso pode estar associado ao fato de que a fotorreação não possui uma dependência explícita com a concentração, podendo estar associada com a disponibilidade de oxigênio singleto que pode estar reagindo com o próprio corante e, conseqüentemente, participando da fotorreação.

CONCLUSÃO

Além da construção de um fotorreator, automatizado, com controle de temperatura e dedicado à obtenção da taxa de fotodegradação, os resultados, obtidos neste trabalho, permitiram observar a dependência da taxa de fotodegradação do corante eosina, em função da concentração e da temperatura. No entanto, uma maior e mais completa descrição dos processos que guiam esta fotorreação necessitam de mais resultados, que devem incluir outras técnicas de caracterização. Estes estudos serão conduzidos na segunda etapa deste projeto.

A completa descrição dos processos envolvidos na fotorreação permitirão desenvolver fotofármacos com maior fotoestabilidade ou ajustar a fotoestabilidade para que seja possível eliminar completamente, do organismo, o fotofármaco após a aplicação da TFD.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Araucária de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná (FA) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) que financiaram este projeto com bolsa e auxílio à pesquisa (processo nº 401160/2016-5), respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HENDERSON, B.W.; DOUGHERTY, T. J. How does photodynamic therapy work?, *Photochemical and Photobiology*, v. 55, p. 145–157, 1992.
- RONSEIN, G. E. et al. Oxidação de proteínas por oxigênio singleto: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. *Quím. Nova*, v. 29, n. 3, p. 563-568, 2006.
- WILSON, B. C.; PATTERSON, M. S. The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy, *Physics in Medicine and Biology*, v. 53, p. 61-109, 2008.
- ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. *Anais. Brasileiro de Dermatologia*, v. 85, n. 4, p. 501-511, 2010.
- SIMPLICIO, F. I; MAIONCHI, F.; HIOKA, N. Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos. *Quím. Nova*, v. 25, n. 5, p. 801-807, 2002.