

**PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E SUSTENTABILIDADE**

**AVALIAÇÃO DE CLORINAS MODIFICADAS NA FOTOINATIVAÇÃO
DE MICRORGANISMOS**

ANDRES CAMILO ACOSTA ACEVEDO

FOZ DO IGUAÇU - PARANÁ

2026

**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA E
TERRITÓRIO
PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO
INTERDISCIPLINAR EM ENERGIA E SUSTENTABILIDADE**

**AVALIAÇÃO DE CLORINAS MODIFICADAS NA FOTOINATIVAÇÃO
DE MICRORGANISMOS**

ANDRES CAMILO ACOSTA ACEVEDO

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade do Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Energia e Sustentabilidade.

**Área de concentração: Sustentabilidade
Orientadora: Prof.(a) Dr.(a) Marciana P. Uliana Machado**

Foz do Iguaçu - Paraná

2026

Catálogo elaborado pelo Setor de Tratamento da Informação
Catálogo de Publicação na Fonte. UNILA - BIBLIOTECA LATINO-AMERICANA - CENTRAL

A185

Acosta Acevedo, Andres Camilo.

Avaliação de clorinas modificadas na fotoinativação de microrganismos / Andres Camilo Acosta Acevedo. - Foz do Iguaçu, 2026.

77 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território, Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade. Foz do Iguaçu - PR, 2026.

Orientadora: Marciana Pierina Uliana Machado.


1. Micro-organismos - Resistência microbiana. 2. Fototerapia - Clorinas catiônicas. 3. Fototerapia - Terapia fotodinâmica. I. Machado, Marciana Pierina Uliana. II. Título.

CDU 579:60


AVALIAÇÃO DE CLORINAS MODIFICADAS NA FOTOINATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS

Qualificação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade do Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito para a obtenção do título de **Mestre** em Energia e Sustentabilidade.


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **MARCIANA PIERINA ULIANA MACHADO**
Data: 23/03/2026 08:04:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Marciana P. Uliana Machado
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **PAULA ANDREA JARAMILLO ARAUJO**
Data: 25/03/2026 10:42:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof(a) Dr(a) Paula Andrea Jaramillo Araújo
UNILA

Documento assinado digitalmente
 **KATE CRISTINA BLANCO**
Data: 25/03/2026 11:29:16-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof(a) Dr(a) Kate Cristina Blanco

IFSC-USP

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde física e mental ao longo deste período.

Agradeço à minha família pelo apoio incondicional e pela presença constante, mesmo à distância.

Agradeço a minha orientadora Prof.^a Dr.^a Marciana Uliana Machado pela paciência e dedicação, apoio incondicional ao longo dos experimentos e pela oportunidade de desenvolver este trabalho sob sua supervisão. Sou profundamente grato.

Aos meus colegas de laboratório LBIOS. Maria, Kimberly, Laura, Priscila e Juliana por terem me ajudado nos experimentos. Muito obrigado

A banca, as professoras Prof.^a Dr.^a Paula Andrea Jaramillo e Prof.^a Dr.^a Kate Blanco pela contribuição no trabalho.

À minha mãe, em especial, por seu apoio incondicional, incentivo diário e por sempre acreditar em mim ao longo de toda essa jornada.

A Prof.^a Dr.^a Caroline da Costa Silva Gonçalves pelas contribuições ao longo da trajetória acadêmica.

Agradeço a Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA), ao Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Energia e Sustentabilidade (PPGIES) e a CAPES pela bolsa concedida.

RESUMO

Os casos de resistência microbiana têm aumentado significativamente nos últimos anos, despertando alerta sobre o uso inadequado e a administração incorreta de medicamentos. Esses fatores contribuem para o surgimento de microrganismos cada vez mais resistentes, capazes de adquirir genes que dificultam sua inativação pelos tratamentos convencionais, como antibióticos, antifúngicos e antivirais. Nesse cenário, destaca-se a importância da biotecnologia na compreensão da ação microbiana e na busca por alternativas eficazes que ofereçam soluções práticas e sustentáveis. Entre essas alternativas, encontram-se os fotossensibilizadores, moléculas que podem ser de origem natural, como os derivados de clorofila extraídos da alga *Spirulina maxima*, utilizados na Terapia Fotodinâmica (TFD). A TFD combina fotossensibilizador, luz e oxigênio que geram espécies que causam a inativação de microrganismos patogênicos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de fotossensibilizadores catiônicos frente a bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, comparando seu desempenho ao do azul de metileno em diferentes concentrações e doses de luz. Os fotossensibilizadores foram semi-sintetizados partindo da extração da clorofila da *Spirulina máxima*, seguida de transformações químicas seguidas pela caracterização dos mesmos. Na sequência os fotossensibilizadores do tipo clorina foram avaliados frente a inativação de microrganismos (Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, Gram-negativas *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) usando a TFD com uma fonte de irradiação em 660 nm. As concentrações utilizadas foram de 1, 50, 100 e 250 μM e doses de luz de 30 e 45 J/cm^2 . Para o *Staphylococcus aureus*, nas concentrações de 1 e 50 μM das clorinas testadas e nas doses de luz de 20 e 45 J/cm^2 foram obtidos resultados satisfatórios. Para os microrganismos *E. coli* e *P. aeruginosa* nas concentrações 50 e 100 μM com doses de luz de 30 e 45 J/cm^2 foram obtidos resultados promissores. No presente estudo foi possível observar que microrganismos Gram-negativos apresentam resistência à inativação fotodinâmica, reforçando a preocupação de que a aquisição de genes de resistência representa uma séria problemática global para a saúde pública. Por outro lado, o uso de fotossensibilizadores catiônicos mostrou-se altamente promissor frente a esse desafio, evidenciando seu potencial como alternativa eficaz para contornar essa barreira microbiológica. Essa abordagem reforça a busca por novas alternativas sustentáveis, alinhadas aos objetivos propostos pelas ODS, garantindo acesso a tratamentos inovadores e ressaltando sua importância econômica e clínica.

Palavras-chave: Resistência microbiana; clorinas catiônicas; biotecnologia; terapia fotodinâmica; saúde global; sustentabilidade.

RESUMEN

Los casos de resistencia microbiana han aumentado significativamente en los últimos años, lo que ha generado una alerta sobre el uso inadecuado y la administración incorrecta de medicamentos. Estos factores contribuyen al surgimiento de microorganismos cada vez más resistentes, capaces de adquirir genes que dificultan su inactivación mediante tratamientos convencionales como antibióticos, antifúngicos y antivirales. En este escenario, se destaca la importancia de la biotecnología en la comprensión de la acción microbiana y en la búsqueda de alternativas eficaces que ofrezcan soluciones prácticas y sostenibles. Entre estas alternativas se encuentran los fotosensibilizadores, moléculas que pueden tener origen natural, como los derivados de clorofila extraídos del alga *Spirulina maxima*, utilizados en la Terapia Fotodinámica (TFD). La TFD combina fotosensibilizador, luz y oxígeno, generando especies que causan la inactivación de microorganismos patógenos. De esta manera, el objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de fotosensibilizadores catiónicos frente a bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, comparando su desempeño con el del azul de metileno en diferentes concentraciones y dosis de luz. Los fotosensibilizadores fueron semisintetizados a partir de la extracción de clorofila de la *Spirulina maxima*, seguida de transformaciones químicas y posterior caracterización. A continuación, los fotosensibilizadores del tipo clorina fueron evaluados frente a la inactivación de microorganismos (Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, Gram-negativas *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) utilizando la terapia fotodinámica con una fuente de irradiación de 660 nm. Las concentraciones utilizadas fueron 1, 50, 100 y 250 μM , y las dosis de luz fueron 30 y 45 J/cm^2 . Para *Staphylococcus aureus*, en las concentraciones de 1 y 50 μM de las clorinas evaluadas y con dosis de luz de 20 y 45 J/cm^2 , se obtuvieron resultados satisfactorios. Para los microorganismos *E. coli* y *P. aeruginosa*, en las concentraciones de 50 y 100 μM con dosis de luz de 30 y 45 J/cm^2 , se obtuvieron resultados prometedores. En el presente estudio fue posible observar que los microorganismos Gram-negativos presentan resistencia a la inactivación fotodinámica, reforzando la preocupación de que la adquisición de genes de resistencia representa una seria problemática global para la salud pública. Por otro lado, el uso de fotosensibilizadores catiónicos se mostró altamente prometedor frente a este desafío, evidenciando su potencial como alternativa eficaz para superar esta barrera microbiológica. Este enfoque refuerza la búsqueda de nuevas alternativas sostenibles, alineadas con los objetivos propuestos por los ODS, garantizando el acceso a tratamientos innovadores y resaltando su importancia económica y clínica.

Palabras-clave: Resistencia microbiana; clorinas catiónicas; biotecnología; terapia fotodinámica; salud global; sustentabilidad.

ABSTRACT

Cases of microbial resistance have increased significantly in recent years, raising concerns about the improper use and incorrect administration of medications. These factors contribute to the emergence of increasingly resistant microorganisms capable of acquiring genes that hinder their inactivation by conventional treatments such as antibiotics, antifungals, and antivirals. In this scenario, biotechnology plays an important role in understanding microbial action and in the search for effective alternatives that offer practical and sustainable solutions. Among these alternatives are photosensitizers, molecules that may be of natural origin, such as chlorophyll derivatives extracted from the alga *Spirulina maxima*, used in Photodynamic Therapy (PDT). PDT combines a photosensitizer with light and oxygen, generating species that cause the inactivation of pathogenic microorganisms. Thus, the aim of this study was to evaluate the effectiveness of cationic photosensitizers against Gram-negative and Gram-positive bacteria, comparing their performance to that of methylene blue at different concentrations and light doses. The photosensitizers were semi-synthesized starting from the extraction of chlorophyll from *Spirulina maxima*, followed by chemical transformations and subsequent characterization. Next, chlorins photosensitizers were evaluated against the inactivation of microorganisms (Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Salmonella*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*) using photodynamic therapy with a 660 nm irradiation source. The concentrations used were 1, 50, 100, and 250 μM , and the light doses were 30 and 45 J/cm^2 . For *Staphylococcus aureus*, at concentrations of 1 and 50 μM of the tested chlorins and light doses of 20 and 45 J/cm^2 , satisfactory results were obtained. For *E. coli* and *P. aeruginosa*, at concentrations of 50 and 100 μM and light doses of 30 and 45 J/cm^2 , promising results were observed. In the present study, it was possible to observe that Gram-negative microorganisms exhibit resistance to photodynamic inactivation, reinforcing concerns that the acquisition of resistance genes represents a serious global issue for public health. On the other hand, the use of cationic photosensitizers proved highly promising in addressing this challenge, demonstrating their potential as an effective alternative to overcome this microbiological barrier. This approach supports the search for new sustainable alternatives aligned with the goals proposed by the SDGs, ensuring access to innovative treatments and highlighting their economic and clinical relevance.

Keywords: Microbial resistance; cationic chlorins; biotechnology; photodynamic therapy; global health; sustainability.

LISTA DE SIGLAS ABREVIATURAS

ODS	Objetivos Desenvolvimento Sustentável
IV	Infravermelho
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FS	Fotossensibilizadores
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
TFD	Terapia Fotodinâmica
OMS	Organização Mundial da Saúde
SARs COV	Coronavírus
CONITEC	Comissão Nacional de Incorporação Tecnologias
PBS	Solução Salina Tamponada
MBLs	Metalo-beta-lactamases
SBLs	Serina beta-lactamases (SBLs)
OXA	Oxacilinas (OXA)
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos
HPD	Hematoporfirina
MAL	Aminolevulinato de metila
RMN	Ressonância Magnética nuclear
DMSO	Dimetilsulfóxido
LBIOS	Laboratório Biossíntese
HOMO	Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia
LUMO	Orbital Molecular vazio de menor energia
Ch-cat	Clorina catiônica
Ch-amina	Clorina amina
Clorina e6	Clorina segunda geração
AM	Azul de metileno
IPEA	Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada
TMPyP	Porfirinas catiônicas

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mecanismos de disseminação	10
Figura 2 – Principais microrganismos responsáveis pela resistência antimicrobiana	11
Figura 3 – Compostos Bioativos	12
Figura 4 - Estrutura Porfirinóides	13
Figura 5 - Nanocarreadores terceira geração	14
Figura 6 - Classes de Fotossensibilizadores	15
Figura 7 -Janela Terapêutica com tecidos biológicos	16
Figura 8 -Diagrama de Jablonski	17
Figura 9 - Processo da Terapia Fotodinâmica	19
Figura 10 - Representa a TFD incorporada no SUS.	21
Figura 11 - Compostos bioativos da Spirulina	36
Figura 12 - Objetivos ODS	40
Figura 13 - UV-vis FS em diclorometano (A) e PBS (B).	45
Figura 14 - Espectroscopia infravermelho Experimental	45
Figura 15 - Fotodegradação	47
Figura 16 - Fotossensibilizadores: Clorina amina, clorina catiônica e Azul de metileno	50
Figura 17 - <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figura 18 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
Figura 19 - <i>Escherichia coli</i>	53
Figura 20 - <i>Salmonella typhimurium</i>	54

Fotografia

Fotografia 1 – Biotable	33
Fotografia 2 – Testes de Inativação	35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Espectros UV-vis teóricos	45
Quadro – 2 Dados de Espectros IV amina	46
Quadro 3 - Dados de Espectros IV catiônica	47

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
1.1 PANORAMA ATUAL.....	14
1.2 COMPOSTOS BIOATIVOS	16
1.3 FOTOSSENSIBILIZADORES.....	18
1.4 TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD)	24
1.5 PANORAMA ATUAL DA TERAPIA FOTODINÂMICA.....	28
1.6 SPIRULINA MAXIMA	29
1.7 FOTOINATIVAÇÃO DE MICROORGANISMOS.....	31
2. OBJETIVOS.....	36
3.METODOLOGIA.....	36
3.1 SEMI-SÍNTESE DOS FOTOSSENSIBILIZADORES	37
3.1.1 Obtenção do metil feoforbídeo-a:.....	37
3.1.1 Obtenção da clorina Chl-amina:	37
3.1.2 Obtenção da clorina catiônica Chl-cat:	38
3.1.3 Cálculos teóricos	38
3.1.3.b Fonte de iluminação	39
3.1.4 Fotodegradação	39
3.1.5 Cultivo e preparação dos microrganismos.....	40
3.1.6 Fotoinativação dos microrganismos.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1.1 Espectroscopia Infravermelha IV.....	44
3.1.2. Cálculos teóricos	45
3.1.2 Espectros UV-VIS.....	46
3.1.3 Espectro infravermelho (IV)	47
3.1.3 Fotodegradação	50
3.1.4 FOTOINATIVAÇÃO	51
3.1.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	52
3.1.6 <i>Escherichia Coli</i>	55
3.1.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
3.1.8 <i>Salmonella typhimurium</i>	60
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
7. REFERÊNCIAS	64
8. Anexos.....	75

1.INTRODUÇÃO

A importância dos microrganismos como recurso biotecnológico tem sido aplicado desde a evolução da ciência em seus diversos setores por meio de metodologias fornecidas pela biotecnologia aumentando seus benefícios econômicos, ambientais e sociais. Desde a descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928, iniciou-se a revolução dos antibióticos (Faleiro et al., 2011). Essa descoberta ocorreu quando Fleming observou que o crescimento da bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* era inibido por um bolor presente na atmosfera. O fungo responsável, do gênero *Penicillium*, secretava a substância penicilina, capaz de destruir a bactéria (Chhabra et al, 2024).

A descoberta da penicilina abriu caminho para o desenvolvimento da indústria de antibióticos e seu uso na medicina, revolucionando o tratamento de doenças como tuberculose, meningite, pneumonia, sífilis e muitas outras (Silva et al, 2024). Além disso, essa inovação foi crucial durante a Segunda Guerra Mundial, especialmente para a Inglaterra, pois permitiu salvar milhares de soldados feridos no conflito. Assim, o mundo passou a contar com uma ferramenta poderosa e vital para preservar a vida e combater infecções de maneira eficaz (Almeida B et al 2024).

A biotecnologia moderna possibilitou grandes avanços científicos, entre eles a descoberta da estrutura do DNA (ácido desoxirribonucleico), molécula responsável pela informação genética dos seres vivos, realizada por James Watson e Francis Crick em 1953 (Watson et al., 1953). Desde então, os microrganismos têm sido aplicados em diferentes áreas, como na indústria, na obtenção e conservação de alimentos (Siqueira, 2025); no meio ambiente, em processos de biodegradação de compostos orgânicos, trazendo benefícios ambientais (Rodrigues, 2025); e na saúde, com a produção de macromoléculas de interesse médico e veterinário (Mota, 2025).

As macromoléculas fotossensibilizadoras do tipo clorinas e bacterioclorinas têm despertado grande interesse em áreas como a fotobiologia, devido à sua origem natural e caráter sustentável. Além disso, apresentam elevado potencial para aplicação na terapia fotodinâmica (TFD), uma vez que são capazes de absorver

luz em diferentes comprimentos de onda, possibilitando múltiplas aplicações, como a inativação de microrganismos resistentes a antibióticos e células cancerígenas (Bilha, 2025).

A TFD é uma técnica que combina luz, oxigênio e um agente fotossensibilizante, a qual gera espécies reativas capazes de sensibilizar tecidos durante o tratamento. Para ser eficaz, o fotossensibilizador deve apresentar características favoráveis, como boa permeabilidade tecidual, baixa toxicidade, além de propriedades fotofísicas e fotoquímicas adequadas, com elevada eficiência na geração de espécies reativas de oxigênio singlete (ROS) (Ferreira et al., 2022).

Com o avanço da tecnologia, a TFD tem sido aplicada em diferentes áreas da medicina, como a dermatologia, no tratamento de patologias como psoríase, acne e lesões basocelulares, entre outras, conforme descrito pelo National Cancer Institute (NCI). Além disso, apresenta potencial no tratamento de neoplasias (Pereira, 2025), empregando diferentes tipos de fotossensibilizadores (FS), como bacterioclorinas encapsuladas em lipossomas.

A TFD também tem sido aplicada com sucesso no combate a infecções, por meio da (TFDa). Diversos estudos relatam o uso de FS, como azul de metileno, novo azul de metileno, curcumina, feoforbídeo-a e clorina e6, na inativação de microrganismos como fungos e bactérias. Zhu et al. (2021) descrevem a utilização de FS naturais extraídos de plantas, como riboflavina e porfirinas, para a inativação de bactéria Gram-negativa, como *Salmonella enterica*, bem como algumas Gram-positivas, como *Listeria monocytogenes*, encontradas em alimentos como peixes e derivados do mar, frutas e hortaliças. Além disso, Keyvan et al. (2025) destacam que o uso de FS catiônicos apresenta maior eficácia na inativação microbiana, contribuindo para a segurança alimentar.

1.1 PANORAMA ATUAL

O crescimento acelerado da população mundial tem contribuído para o agravamento de problemas de saúde pública, como a resistência microbiana a antibióticos. Entre os principais fatores associados a esse fenômeno estão o uso inadequado de tratamentos, a automedicação, as mutações genéticas e a interrupção precoce das terapias, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2023).

Durante o período da pandemia SARS COV-2, o uso excessivo de antibióticos em todo mundo se intensificou, apesar de não serem contra o vírus, os antibióticos foram usados amplamente como método profilático ou para tratar doenças e suas infecções secundárias associadas (Bertoni et al, 2024). Conforme o estudo de (Nascimento et al 2024) o antibiótico mais prescrito durante o período da pandemia foi a azitromicina, foi indicado para aliviar os sintomas da doença o que resultou em um crescimento da resistência bacteriana contra este fármaco.

Os mecanismos de resistência dos microrganismos podem ser adquiridos por meio da adaptação a determinados fármacos, apresentando origem intrínseca ou adquirida (Araújo et al 2025). A adaptação envolve mecanismos de autoproteção, como mutações que resultam em modificações na permeabilidade da membrana celular, impedindo a entrada do antibiótico na célula ou promovendo sua expulsão ativa (efluxo).

Ao longo do tempo, os mecanismos de resistência têm demonstrado grande dinamismo na disseminação de genes de resistência (Penna et al 2025). Isso ocorre não apenas pela transferência vertical (de uma geração para outra), mas também pela transferência horizontal, que envolve o compartilhamento de genes entre diferentes espécies bacterianas. Esses genes são transmitidos por meio de elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, que facilitam a integração e disseminação dos genes de resistência. (McInnes et al 2020). Tal como descrito na Figura 1.

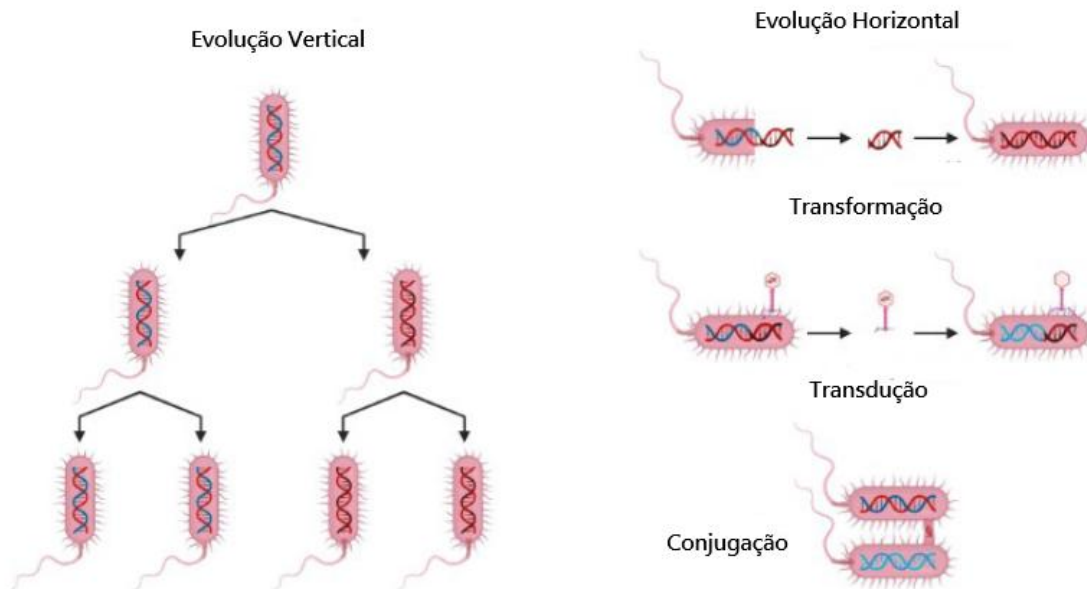


Figura 1. Mecanismos de disseminação de genes de resistência Fonte: Adaptado de Camacho Silva 2023

Os carbapenêmicos são antibióticos de amplo espectro eficazes contra diversas bactérias resistentes a outras classes de antibióticos. Eles atuam inibindo a formação do peptidoglicano, ligando-se às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), que são enzimas essenciais para a síntese da parede celular bacteriana (El-Gamal et al 2020).

Contudo, algumas bactérias Gram-negativas têm desenvolvido mecanismos de resistência aos carbapenêmicos, principalmente por meio da produção de enzimas carbapenemases, capazes de inativar esses antibióticos. Essas enzimas são classificadas em (MBLs), (SBLs) e (OXA) (Figura 2). A produção de carbapenemases confere não apenas resistência aos carbapenêmicos, mas também a outras classes de antibióticos beta-lactâmicos, como cefalosporinas e penicilinas (Pantalião, Ribeiro 2022).

Atualmente, as pesquisas científicas têm se voltado à busca de mecanismos para combater a resistência por meio do desenvolvimento de novos fármacos, incluindo o uso da biotecnologia médica por meio de terapias combinadas, edição genética e terapias baseadas em anticorpos, ampliando as possibilidades terapêuticas (Deneault, 2024).



Figura 2. Principais microrganismos responsáveis pela resistência antimicrobiana

Fonte: Adaptado de (Bathia et al 2021).

1.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são de grande interesse para as indústrias farmacêuticas, agrícolas, alimentícias entre outras (Alba, 2021). Esses compostos são produzidos de maneira natural por plantas, animais e microrganismos apresentando vantagens como no caso das biomoléculas no âmbito da saúde oferecendo propriedades antimicrobianas, imunossupressores, anticancerígenas e anti-inflamatórias.

No mercado farmacêutico, a biotecnologia tem contribuído significativamente para a produção de diversos produtos de origem biológica a partir de plantas e microrganismos, com o auxílio de técnicas como a recombinação de DNA recombinante em plataformas de células de animais, vegetais e microrganismos.

(Salerno *et al* 2018). Os medicamentos biofarmacêuticos revolucionaram o tratamento de doenças como o câncer e distúrbios metabólicos, através da produção de anticorpos monoclonais, interferons, vacinas, entre outros.

Os avanços biotecnológicos têm permitido o sucesso de diversas aplicações, como a produção de insulina recombinante (Martin, 2024). Em 1983, a empresa norte-americana *Johnson* obteve a aprovação da FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA) para o uso dessa insulina em pacientes diabéticos. Ela é produzida a partir da cultura da bactéria *Escherichia coli* geneticamente modificada, substituindo o método tradicional, no qual a insulina era extraída e purificada do pâncreas de vacas e porco (Lara, 2011). No entanto, a insulina derivada desses animais frequentemente causava efeitos colaterais em pacientes. Em contrapartida, a insulina recombinante apresenta vantagens significativas, como a redução de efeitos adversos, devido à sua especificidade em relação às moléculas-alvo.

No entanto, os desafios enfrentados pelos biofármacos atualmente, conforme identificado pela pesquisa realizada pelo Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) em 2024, revelaram diversas barreiras para o setor. Dentre elas, destacam-se as dificuldades de entrada no mercado, uma vez que a indústria é dominada por grandes conglomerados que impõem obstáculos substanciais, como patentes, altos investimentos em pesquisa e desenvolvimento (P&D), além de custos elevados com marketing (Vargas *et al* 2024). Adicionalmente, os altos custos relacionados aos processos de produção, purificação e cultivo em larga escala também representam desafios significativos para a expansão e acessibilidade dos biofármacos.

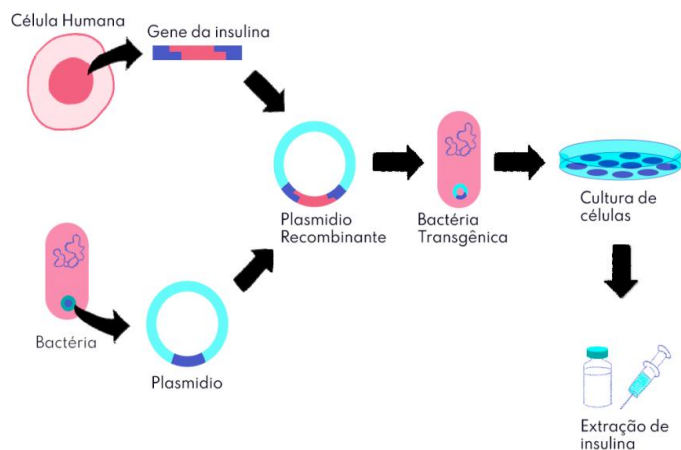


Figura 3. Processo de obtenção da insulina recombinante Fonte Biorender 2025

1.3 FOTOSSENSIBILIZADORES

Diante do panorama atual da resistência microbiana, os fotossensibilizadores surgem como alternativas sustentáveis e biotecnologicamente puras, devido à sua origem natural (Gattu et al, 2024). Esses compostos são bem tolerados pelo organismo humano, pois apresentam semelhança com moléculas presentes no corpo, o que facilita sua absorção e interação com outras substâncias de acordo com (Correia et al 2021). Essa característica contribui para a redução do risco de reações adversas ou efeitos colaterais. (Van-Nghia et al 2022)

A utilização de fotossensibilizadores tem sua origem associada a compostos de natureza natural, destacando-se a clorofila, obtida de plantas e algas e cianobactérias, como *Spirulina maxima* (Uliana et al 2022) (Uliana et al 2014). Os fotossensibilizadores do tipo bacterioclorinas podem ser obtidas de microrganismos, como por exemplo, das bactérias púrpuras (Pereira et al 2025) (Bilha et al 2025) (Rodrigues et al 2021). Outro FS natural bastante utilizado é a curcumina, obtida do açafrão (Blanco et al 2017, Martins et al., 2021). Entre esses compostos, a clorofila presente em plantas verdes constitui um dos mais relevantes fotossensibilizadores naturais, do qual é derivado o metil feoforbídeo, amplamente empregado na TFD (Saberri et al., 2023). Paralelamente, diversos

fotosensibilizadores sintéticos têm sido desenvolvidos, como o azul de metileno, cuja aplicação inclui a inativação de fungos do gênero *Aspergillus* e de diferentes microrganismos patogênicos conforme a (Niazi et al., 2022).

Os derivados de porfirina são moléculas essenciais para sistemas biológicos de acordo com o (Yang et al 2023). Estes compostos são classificados de acordo com as duplas ligações contidas na estrutura de cada estrutura, conforme a Figura 4. Essa diferença estrutural dos compostos tetrapirrólicos são de extrema importância para a estabilização aromática e está relacionado com o número de elétrons conjugados presentes em cada macrociclo de acordo com (W.Zhu et al 2018). Cada classe dos compostos porfirinóides, absorvem a luz em um comprimento de onda específico. Essa mudança na absorção é altamente benéfica para aplicação em TFD, pois as moléculas que apresentam absorção na janela terapêutica ou nas regiões do infravermelho, facilitam a penetração luz no tecido e conseqüentemente apresentam um melhor resultado de TFD para lesões mais profunda. (Yang, C et al., 2021).

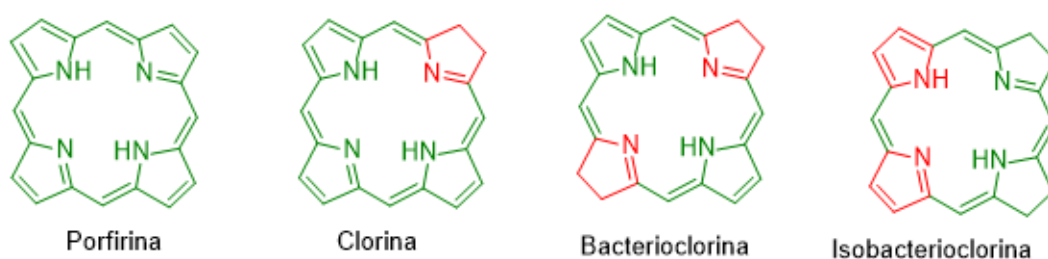


Figura 4. Estrutura dos derivados porfirinóides: adaptado de Streit Fonte: Streit 2026

As características espectroscópicas dos pigmentos são principalmente evidenciadas nas bandas Q e Soret, sendo estas de extrema importância para a compreensão dos processos de absorção de cada composto (Bernardini et al 2020). A banda Soret, localizada aproximadamente em 440 nm, ocorre em razão de transições eletrônicas de alta energia envolvendo os orbitais moleculares, especialmente $\pi \rightarrow \pi$ (Wang et al., 2006). Por sua vez, as bandas de absorção de menor intensidade estão situadas na faixa entre 500 e 700 nm (Santos et al., 2020).

Para que um FS seja considerado um candidato adequado à aplicação em TFD, faz-se necessário que apresente propriedades intrínsecas que assegurem tanto a eficácia quanto a segurança do procedimento terapêutico. Dentre essas propriedades, destacam-se: (I) elevada seletividade espectral, com capacidade de absorver luz em comprimentos de onda específicos que permitam a ativação eficiente na região de maior penetração tecidual; (II) perfil de biodistribuição favorável, aliado ao acúmulo seletivo no tecido-alvo, como células neoplásicas ou microrganismos patogênicos; (III) reduzida citotoxicidade no escuro, de modo a evitar danos colaterais em condições fisiológicas normais; e (IV) solubilidade adequada em meios biológicos, o que favorece a administração, o transporte e a disponibilidade sistêmica da molécula (Allamyradov et al., 2025).

Os FS inicialmente empregados na TFD passaram por sucessivas modificações estruturais e funcionais, com o intuito de aprimorar sua eficácia clínica. Nesse contexto, é possível classificá-los em três gerações distintas, ao longo do tempo. De acordo com Zhao et al. (2024), os FS de primeira geração são majoritariamente derivados de fontes naturais, como a hematoporfirina (HpD), da qual foi desenvolvido o *Photofrin*®. Apesar de representar um marco no avanço da TFD, essa classe apresenta limitações significativas, incluindo elevada fototoxicidade e baixa profundidade de penetração tecidual, conforme a Figura 5. Em contrapartida, os FS de segunda geração foram projetados para superar tais limitações, sendo constituídos principalmente por derivados sintéticos, ALA, Foscan®, Verteporfin (Visudyne®) como azul de metileno, benzoporfirinas, clorina e6, curcumina e bacterioclorinas. Esses compostos exibem máxima absorção na faixa espectral entre 600–700 nm, o que resulta em maior capacidade de penetração nos tecidos e melhor desempenho terapêutico (Uliana et al., 2014).

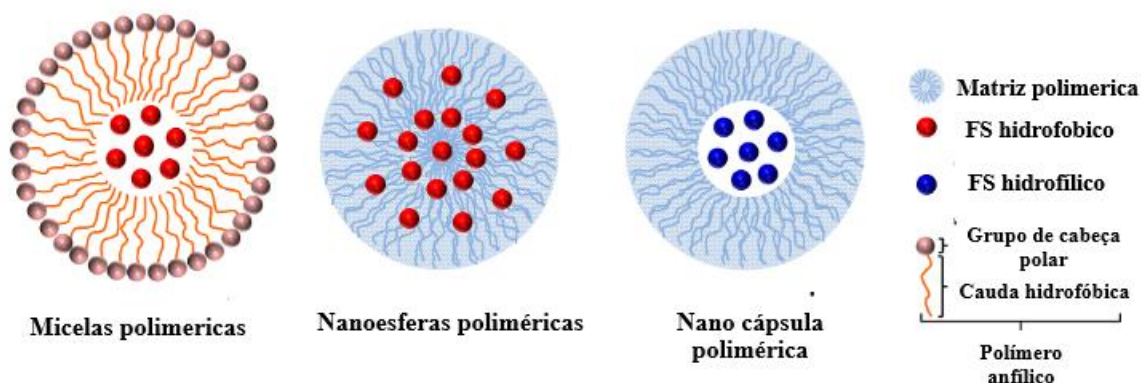


Figura 5. Nanocarreadores de FS Fonte: Adaptado de (Lucky et al 2015).

Os fotossensibilizadores de terceira geração representam a fase mais avançada no desenvolvimento desses agentes terapêuticos, incorporando estratégias de direcionamento molecular e nanotecnológico. Tais compostos podem ser conjugados a biomoléculas, como anticorpos, peptídeos e açúcares, ou ainda veiculados em sistemas nanoestruturados inteligentes. Os principais avanços dessa geração estão relacionados à maior seletividade tumoral, que permite o acúmulo preferencial dos FS em células cancerígenas, reduzindo de forma significativa a fototoxicidade em tecidos saudáveis. Além disso, a associação com nanotecnologia por meio de micelas, nanopartículas metálicas e outros nanocarreadores contribui para aumentar a solubilidade em meio biológico, a estabilidade química e farmacocinética, bem como ampliar a absorção espectral em regiões de interesse terapêutico (El-Sadek et al., 2025), tal como descrito na Figura 6.

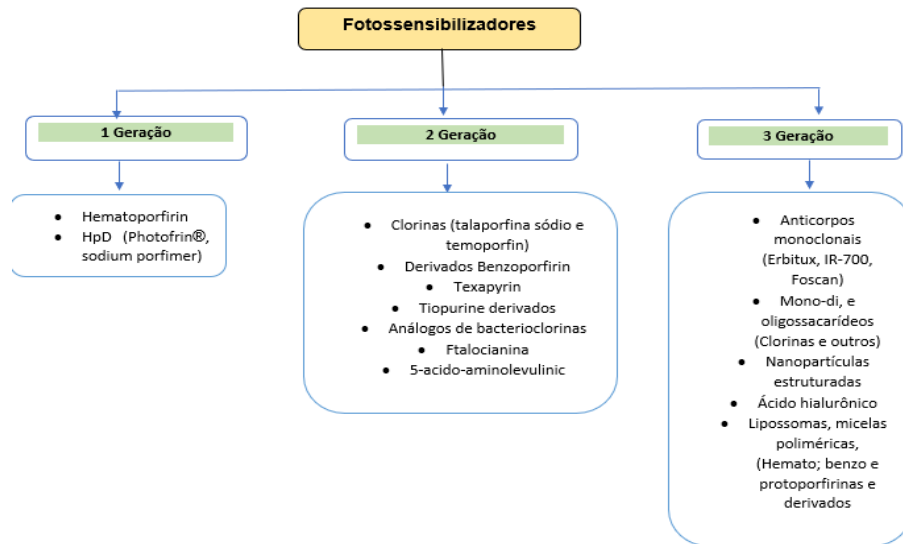


Figura 6: Tipos de Fotossensibilizadores Fonte: Autor próprio 2026

A “phototherapeutic window”, ou janela terapêutica, segundo Gunaydin et al. (2021), refere-se ao intervalo de comprimentos de onda da luz que possibilita maior penetração nos tecidos biológicos. Esse intervalo permite a ativação do FS na profundidade desejada, sem causar danos excessivos às camadas superficiais ou comprometer a saúde geral.

De acordo com Niculescu et al. (2021), a janela terapêutica situa-se entre 600 e 1300 nm, com destaque para a faixa de 620 a 850 nm, onde a penetração da luz nos tecidos é mais eficiente. Assim, a eficácia da TFD depende de diversos fatores relacionados à luz, como comprimento de onda e intensidade.

Entretanto, a absorção da luz nos tecidos é limitada pela presença de componentes como melanina, hemoglobina e outras biomoléculas, que causam absorção e dispersão (Yong et al., 2025). Dessa forma, comprimentos de onda mais curtos, próximos ao azul, são mais fortemente absorvidos por cromóforos do sangue, como a hemoglobina, o que reduz a penetração da luz e limita a eficácia da TFD (Figura 7). Por outro lado, comprimentos de onda mais longos, próximos ao infravermelho, apresentam menor absorção por moléculas como água e hemoglobina, favorecendo maior penetração e possibilitando o alcance de regiões mais profundas do tecido.

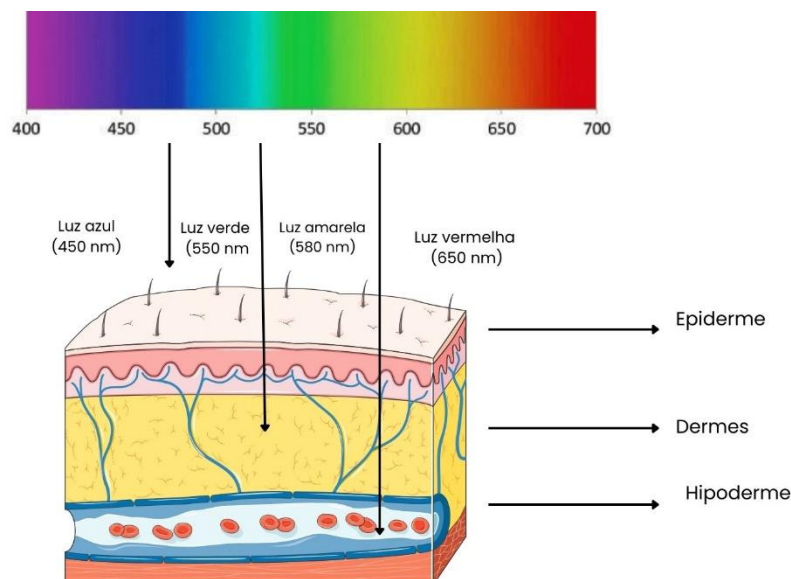


Figura 7. Representação esquemática dos comprimentos de onda da luz e sua respectiva profundidade de penetração nos tecidos biológicos. Fonte: Gunaydin et al., 2021.

Atualmente, existem diversos fotossensibilizadores à base de hematoporfirina disponíveis no mercado, como, por exemplo, o Photofrin®, aprovados e testados clinicamente para o tratamento de câncer de pulmão e esôfago. De acordo com Penetra et al. (2025), o fármaco apresenta meia-vida plasmática de aproximadamente 37 a 52 horas, o que permite sua acumulação seletiva em células tumorais e oferece uma janela de tempo adequada para a ativação pela luz.

Os derivados de MAL (aminolevulinato de metila), comercialmente conhecidos como Metvix® e Levulan®, são amplamente utilizados na dermatologia para o tratamento de lesões de pele e de doenças como queratose actínica, doença de Bowen e leishmaniose cutânea, entre outras (Balakirski et al., 2024).

1.4 TERAPIA FOTODINÂMICA

Diante do aumento dos casos de resistência aos antibióticos, a TFD é considerada uma alternativa promissora no combate à resistência antimicrobiana, pois atua de forma específica e não induz ao desenvolvimento de resistência (Michalak et al., 2025).

A TFD é um método terapêutico que utiliza luz de baixa intensidade para gerar espécies químicas reativas, como oxigênio singlete ou radicais livres, que exercem efeito tóxico sobre microrganismos e células neoplásicas (Schastak et al., 2013).

A TFD teve início na Alemanha, por volta de 1900, com Oscar Raab. O estudante descobriu que a combinação entre luz, oxigênio e determinados corantes podia provocar efeitos biológicos significativos (Hamblin, 2020). Em um experimento utilizando acridina associada à luz, observou-se a morte de protozoários, demonstrando que o efeito dependia da presença do corante (Hamblin, 2020). Em seguida, o pesquisador Hermann von Tappeiner cunhou o termo “ação fotodinâmica” e, juntamente com Jodlbauer, demonstrou a importância do oxigênio no processo de fotossensibilização (Hamblin, 2020).

Já em 1978, iniciaram-se os primeiros testes em tumores utilizando hematoporfirina para detectar e tratar câncer em camundongos, por meio de fluorescência e fototerapia (Dougherty, 1978). Embora os resultados tenham sido considerados revolucionários para a época, houve limitações, como reações adversas e elevada sensibilidade à luz, que exigiam que os pacientes permanecessem em ambientes escuros por semanas, causando significativo desconforto (Hamblin, 2020).

Outra limitação estava relacionada à absorção de luz e à profundidade de penetração. De acordo com Hamblin (2020), alguns medicamentos testados na época apresentavam picos de absorção em comprimentos de onda relativamente curtos, o que restringia a penetração da luz nos tecidos e dificultava o tratamento de tumores mais profundos.

A partir dessa linha de pesquisa, os primeiros fotossensibilizadores clínicos e pré-clínicos foram desenvolvidos, como o Photofrin (hidroxiamilada do hematoporfirina), aprovado pela FDA em 1993 no Canadá (Schweitzer, 2001). O tratamento se tornou amplamente utilizado em vários tipos de câncer, especialmente em tratamentos de câncer de cabeça e pescoço, esôfago e outros tumores acessíveis.

A TFD é um tratamento químico minimamente invasivo que combina luz, oxigênio e um composto FS para induzir a morte de células neoplásicas e/ou microrganismos (Alvarez & Sevilla, 2024). O processo envolve uma série de mecanismos fotoquímicos, nos quais a interação da luz com o oxigênio presente nas células leva à geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o oxigênio singlete, capazes de causar danos às células tumorais.

O funcionamento clássico da TFD, conforme descrito por Agostinis et al (2011), depende de diversos fatores, incluindo a escolha adequada do FS, que deve absorver luz na faixa de 600 a 800 nm, garantindo que a luz tenha uma maior penetração no tecido a ser tratado. Outros fatores determinantes são a disponibilidade de oxigênio e a precisão na aplicação da luz sobre o tecido ou microrganismo-alvo. Recentemente, avanços significativos têm sido alcançados com o uso da nanotecnologia e da inserção de metais na estrutura do FS, estratégias que aumentam sua seletividade e eficiência. Um exemplo é o estudo de Lucky et al. (2015), no qual nanopartículas foram empregadas como veículos para encapsular o FS, resultando em maior estabilidade, direcionamento específico e incremento na produção de oxigênio molecular.

Os mecanismos de produção de oxigênio reativo durante a TFD envolvem processos fotoquímicos que ocorrem após a ativação do FS pela luz (Agostinis et al., 2011). Esses processos podem ser classificados principalmente em dois tipos. No mecanismo do tipo I, o FS ativado reage diretamente com moléculas orgânicas, transferindo ou recebendo elétrons ou átomos de hidrogênio (Tabrizi et al 2025). Essa transferência gera radicais livres, como o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$)

e o ânion superóxido (O_2^-), que podem formar peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros oxidantes. Esses produtos reativos contribuem para o dano oxidativo em estruturas celulares essenciais, incluindo proteínas, lipídios e DNA.

No mecanismo do tipo II, o FS é excitado e alcança o estado tripleto, transferindo energia diretamente para o oxigênio molecular (O_2). Esse processo gera oxigênio singlete (1O_2), uma forma altamente reativa de oxigênio, que promove dano oxidativo imediato às estruturas celulares, resultando em apoptose, necrótica e associada à autofagia de acordo com (Agostinis et al., 2011) (Figura 8).

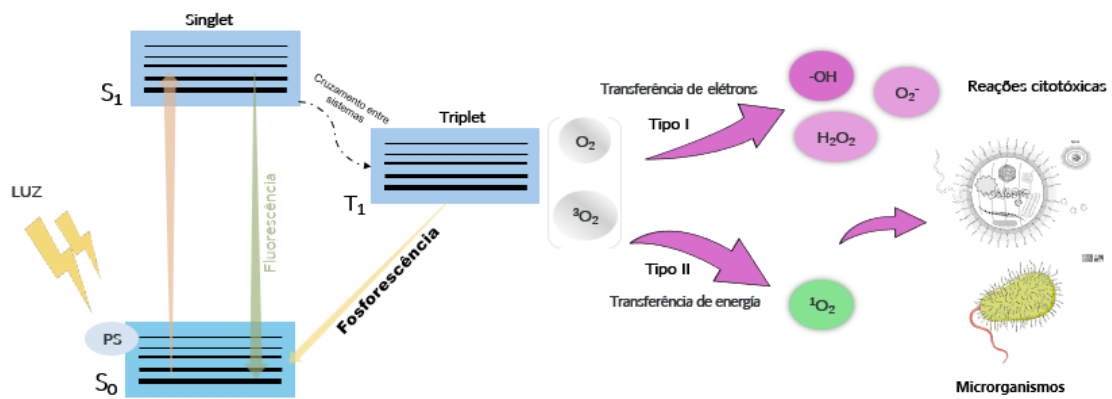


Figura 8. Diagrama de Jablonski modificado Fonte: Adaptado de (Agostinis et al., 2011).

A TFD apresenta um amplo espectro de aplicações médicas, com ênfase especial na dermatologia, onde se consolidou como estratégia eficaz no manejo de diversas afecções cutâneas (Aebisher et al., 2024). Na Europa, a TFD encontra-se aprovada para o tratamento de patologias como a queratose actínica, o carcinoma basocelular superficial e nodular, além de ser empregada em procedimentos estéticos, como o fotorrejuvenescimento cutâneo (Figura 9). O protocolo terapêutico envolve, em geral, a administração tópica de fotossensibilizadores, sendo os mais utilizados o 5-ALA e MAL.

A seleção do FS é determinada pela natureza e pela extensão da condição clínica a ser tratada, a fim de otimizar a seletividade e a eficácia terapêutica (Souza et al 2025).

Terapia Fotodinâmica (TFD)



Figura 9: Processo da Terapia Fotodinâmica. Fonte: Adaptado de (Al-Jamal N et al 2025).

As vias de administração da TFD variam conforme a finalidade terapêutica e a localização do tecido-alvo. Na oncologia, para o tratamento de tumores localizados em regiões profundas, como pulmão, esôfago e pâncreas, a via sistêmica intravenosa é a mais empregada (Straten et al., 2017). O Photofrin® foi o primeiro FS aprovado para uso clínico, demonstrando eficácia em diferentes tipos de neoplasias. No entanto, apresenta algumas limitações, como fotossensibilidade cutânea prolongada e baixa penetração tecidual, devido à absorção em comprimentos de onda relativamente curtos. Em contrapartida, fotossensibilizadores de segunda geração, como Foscan® e Talaporfin, absorvem luz em comprimentos de onda mais longos, o que possibilita maior penetração no tecido e, conseqüentemente, o tratamento de tumores mais profundos, com redução dos efeitos colaterais associados (Penetra et al 2023) tal como exibido na Tabela 1.

De acordo com Araújo et al. (2013), a curcumina foi investigada como FS, sendo ativada por luz azul (450 nm) no tratamento de bactérias cariogênicas dos gêneros *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, tanto em biofilmes

quanto em lesões de dentina cariada. Os resultados do estudo demonstraram que a TFD promoveu uma redução significativa na viabilidade bacteriana, alcançando até 99,9% de inativação em biofilmes.

Formas de uso	Exemplo de FS	Principais aplicações	Referência
Tópica	ALA, MAL	Pele, acne, mucosa, dermatologia	(Sampaio, 2025)
Sistêmica (IV)	Photofrin®	Tumores profundos (pulmão e esôfago)	(Paiva et al 2025)
Intra-cavitária	Talaporfin	Tumores em próstata, cabeça e pescoço)	(Dinakaran & Wilson et al 2023)
Intratumoral/Injetável	Temoporfin (m-THPC)	Aumento de imunidade	(Gierlich et al 2025)
Antimicrobiana (aPDT)	Azul de metileno, curcumina, Clorina e6, Bacterioclorinas	Inativação de fungos	(Prado-Silva et al 2025)

Tabela 1: Tabela com vários tipos de Fotossensibilizadores Fonte AUTOR PRÓPRIO 2025

1.5 PANORAMA ATUAL DA TERAPIA FOTODINÂMICA

Atualmente, a TFD encontra-se incorporada ao Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil, desde o ano de 2023, sendo indicada para o tratamento de pacientes com carcinoma basocelular superficial e nodular, o tipo de câncer de pele mais prevalente no país. De acordo com a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (Conitec), os estudos avaliados demonstraram elevada eficácia clínica, evidenciando que aproximadamente 85% dos tumores tratados foram completamente eliminados a longo prazo, sem a ocorrência de efeitos adversos significativos e sem a formação de cicatrizes (Conitec, 2023). (Figura 10)



Figura 10: Representa a TFD incorporada no SUS. Fonte: CONITEC 2023

1.6 SPIRULINA MAXIMA

A *Spirulina sp.* é uma cianobactéria pertencente ao domínio Bactéria e ao gênero *Arthrospira*, dentro do filo Cyanobacteria. Essa microalga é rica em aminoácidos e pigmentos, como clorofila *a*, ficocianina e xantofilas (Oliveira et al 2013). Possui diversas aplicações, sendo a principal na alimentação, devido ao seu alto teor proteico, tornando-se uma opção sustentável.

De acordo com a literatura, o uso da *Spirulina* promove a sustentabilidade por meio do desenvolvimento de sistemas de produção de alimentos capazes de atender à crescente demanda mundial por proteínas (Tavakoli et al 2025).

Além de atuar como suplemento nutricional, a *Spirulina* pode ser empregada como matéria-prima para a obtenção de fotossensibilizadores por meio de síntese química, sendo transformada e modificada para produzir compostos como metil feoforbídeo-a, clorina e6, entre outros derivados utilizados na TFD, conforme descrito no estudo de Uliana et al. (2022).

O habitat da cianobactéria *Spirulina* consiste em ambientes aquáticos, sendo obrigatoriamente um organismo fotoautotrófico, ou seja, completamente dependente da luz para sua sobrevivência. Essa microalga se destaca pela capacidade de reduzir o CO₂ e assimilar, principalmente, nitratos, conforme apontado pelo autor (Bortolini et al., 2022). O principal produto da fotossíntese

em *Spirulina* é o glicogênio, formado durante o processo de fixação de carbono no ciclo de Calvin. Esse glicogênio atua como precursor para a biossíntese de macromoléculas, como proteínas, carboidratos, lipídios e pigmentos (Coronado T, et al, 2025). (Figura 11).



Figura 11. Compostos bioativos da Spirulina Fonte: Adaptada de Bortolini 2022.

Na literatura, são descritas diversas formas de cultivo de microalgas, que podem variar desde o uso de fotobiorreatores e tanques (*raceways*) até culturas em tanques do tipo lagoas ou tanques artesanais. Entretanto, cada tipo de cultivo apresenta vantagens e desvantagens, de acordo com Cosi et al 2024.

A produção comercial de *Spirulina*, em particular, enfrenta desafios significativos relacionados aos parâmetros de cultivo necessários para maximizar o rendimento e a qualidade do produto.

Entre os métodos descritos na literatura, os cultivos em *raceways* ou canais abertos são as técnicas mais utilizadas, devido ao seu design simples e ao baixo custo de manutenção de acordo com (Rocha 2024). Esses sistemas garantem uma exposição adequada à luz solar e aos nutrientes. No entanto, a eficiência desses sistemas depende de parâmetros como velocidade de agitação, tempo de agitação e temperatura, que influenciam diretamente o crescimento e a morfologia das microalgas. (Prada, 2024)

O crescimento ideal da *Spirulina* ocorre entre 35°C e 37°C em condições laboratoriais, utilizando o meio de cultivo Zarrouk (1996), conforme descrito no estudo de (Varandas *et al* 2022). A *Spirulina* apresenta resistência a temperaturas superiores a 38°C sem comprometer o processo de fotossíntese, devido à sua característica termotolerante. No entanto, temperaturas acima de 40°C podem resultar em uma redução na taxa de crescimento, além de causar problemas como estresse térmico. Isso pode levar à diminuição na produção de compostos de interesse, como carotenoides, conforme relatado por (Karam e Soccol, 2007).

1.7 FOTOINATIVAÇÃO DE MICROORGANISMOS

O uso de microrganismos na biotecnologia tem despertado grande interesse em áreas como a farmácia, alimentos, energia, entre outras na produção de bioprodutos de interesse de acordo com (Ruiz Maldonado K *et al* 2024). Os ecossistemas abrangem grande número de microrganismos com diferentes características, propriedades e aplicações potenciais como o ambiente marinho onde é possível encontrar diversas enzimas e microrganismos isolados de locais remotos dos oceanos com atividade enzimática de interesse para a biotecnologia azul no uso de tratamento de câncer ou atividade antiviral mostrado no estudo de (Ruiz Maldonado K *et al* 2024).

Diversos microrganismos são encontrados em diferentes ecossistemas naturais tanto como na microbiota humana e em alimentos, amplamente distribuídos em solo e água podendo contaminar humanos e animais causando doenças e problemas de saúde pública como no caso das bactérias Gram-negativas. (Madigan *et al.*, 2024).

Alguns dos principais patógenos responsáveis causadores de doenças em seres humanos fazem parte do grupo das *Enterobactérias* as quais provocam infecções graves no trato respiratório, diarreia, sepse, choque endotóxico entre outras complicações (Oliveira Paula, 2024). Entre os gêneros/espécies que com

frequência acometem o ser humano são *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Citrobacterspp*, *Yersinia spp*, *Shigella Spp* e *Salmonella spp*. (Oliveira Paula, 2024).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2021 a resistência aos antimicrobianos foi declarada como uma ameaça à saúde e ao desenvolvimento global, exigindo medidas multissetoriais urgentes para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) (Figura 12). Entre os fatores que aceleram a propagação da resistência aos antibióticos estão o uso indevido e excessivo desses fármacos, a falta de acesso à água potável, ao saneamento básico e à higiene tanto de pessoas quanto de animais, além da adoção de medidas inadequadas de prevenção e controle de doenças e infecções em unidades de saúde.



Figura 12. Objetivos do Desenvolvimento Sustentável. Fonte:ONU BRASIL, 2025.

Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável são propostos pela Organização das Nações Unidas (ONU) para acabar com a pobreza, proteger o meio ambiente e o clima por meio de políticas de inclusão contribuindo a fim de que possamos atingir a Agenda 2030 no Brasil (ONU, BRASIL, 2020).

As pesquisas com TFD e o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores alinham-se ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3, que trata de saúde e bem-estar, pois possibilitam o acesso da população a tratamentos derivados de origem natural, contribuindo para a redução dos níveis de desigualdade (ONU, BRASIL, 2020).

Além disso, a pesquisa também contempla o ODS 12, que trata do consumo e da produção responsáveis, uma vez que promove a conscientização da população sobre o uso adequado de fármacos por meio dos fotossensibilizadores FS (Figura 12) (ONU, BRASIL,2020). Por sua vez, o ODS 14, voltado à vida na água, é atendido ao favorecer a conservação das espécies marinhas e a manutenção da qualidade de vida nos ecossistemas aquáticos (Figura 12). Tais resultados são alcançados por meio de pesquisas inovadoras direcionadas à sustentabilidade, nas quais se prioriza o uso mínimo de substâncias tóxicas durante a síntese de compostos porfirinóides. (ONU, BRASIL,2020), partindo de uma macro molécula produzida naturalmente, sendo necessária apenas algumas modificações estruturais da mesma para transformá-la em um bom fotossensibilizador.

A fácil propagação de doenças despertou o interesse dos pesquisadores em criar novas alternativas mais eficientes, acessíveis e amigáveis com o meio ambiente, por esse motivo os fotossensibilizadores junto com a TFD propiciam a erradicação de microrganismos patógenos por meio da técnica denominada Inativação Fotodinâmica de Microrganismos por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (Conde,2025).

De acordo com Jiang et al. (2024), a TFD representa uma alternativa promissora às terapias convencionais, especialmente em casos de infecções de difícil tratamento devido à resistência associada ao ambiente hipóxico. Os autores Jiang et al. (2024) destacam que a TFD pode ser classificada em dois tipos: o tipo I, menos dependente de oxigênio e capaz de produzir ROS mesmo em condições hipóxicas; e o tipo II, que depende da presença de oxigênio para gerar oxigênio singlete.

Atualmente, a formação de biofilmes bacterianos tem se tornado um desafio crítico para a medicina moderna, devido às infecções crônicas associadas a implantes e tecidos danificados, de acordo com Barrios (2021). Dentro da estrutura desses biofilmes, é possível encontrar cepas de bactérias gram-

negativas, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, responsáveis por infecções recorrentes e resistentes a antibióticos Barrios, (2021).

Os biofilmes consistem em comunidades bacterianas aderidas a superfícies, cuja fixação é facilitada por proteínas de adesão e por uma matriz extracelular composta por exopolissacarídeos e DNA, que atua como barreira física e bioquímica Barrios, (2021). A presença de canais na arquitetura dos biofilmes favorece a sobrevivência bacteriana, permitindo o fluxo de nutrientes e oxigênio e criando micro ambientes propícios à manutenção da colônia.

Segundo Barrios (2021), algumas infecções médicas frequentemente associadas a biofilmes incluem otite média crônica, prostatite, infecções endodônticas e as infecções típicas relacionadas a implantes médicos, todas caracterizadas por elevada resistência aos antibióticos.

De acordo com Michalak et al. (2025), a TFD uma técnica não invasiva utilizada em diversas áreas da medicina, especialmente na dermatologia, oftalmologia, odontologia e no tratamento do câncer. Com o aumento da incidência dessa doença, a demanda por inovações em TFD também tem crescido. No mercado farmacêutico, o Foscan/Temoporfin®, derivado da clorina, é utilizado em estudos clínicos para diferentes tipos de câncer, como os de pâncreas, próstata e cabeça Michalak et al., (2025). Além disso, o uso de lipossomas e vesículas extracelulares apresentou diferenças significativas quanto à biodistribuição e à farmacocinética, sendo que a formulação em vesículas extracelulares proporcionou liberação prolongada do fotossensibilizador em tumores, o que, segundo os autores, potencializa a eficácia do tratamento fotodinâmico Michalak et al., (2025).

O uso de tratamentos convencionais com antibióticos apresenta resultados satisfatórios em manejos de doenças comuns, controlando o crescimento microbiano por meio da inibição da síntese proteica e da parede celular, segundo Yerra e Bagnato (2025). No entanto, o uso excessivo desses fármacos tem contribuído para o aumento dos casos de resistência antimicrobiana,

favorecendo o surgimento de bactérias altamente resistentes, como *Klebsiella pneumoniae*.

Pesquisas *in vitro* apontam o uso de fotossensibilizadores como alternativa complementar aos tratamentos convencionais. No estudo de Yerra e Bagnato (2025), foi demonstrada a sinergia do azul de metileno com antibióticos como ciprofloxacina, gentamicina e ceftriaxona, apresentando efeito combinado contra *Klebsiella pneumoniae* irradiada com luz de 660 nm a 15 J/cm². Em comparação, o uso de TFD com Photodithazine® resultou em uma redução significativa na contagem de CFU/mL, indicando maior eficiência na eliminação bacteriana Yerra e Bagnato, (2025).

Clorinas catiônicas

Na literatura, são descritas clorinas catiônicas aplicadas à inativação microbiana e celular por meio da TFD. No estudo de Meerovich et al. (2019), foram testadas duas bacterioclorinas catiônicas *N*-methylpyridinium contra *Pseudomonas aeruginosa* em biofilmes, demonstrando alta eficiência, embora tenham sido necessárias concentrações e doses de luz elevadas. No entanto, ao comparar essas bacterioclorinas com uma ftalocianina catiônica, os autores observaram que as primeiras apresentaram maior eficiência, atribuída ao menor tamanho molecular, que favoreceu a penetração nas bactérias Gram-negativas.

Ziganshyna et al. (2020), testaram bacterioclorinas catiônicas, como a tetrahidroporfirina tetratosilato, contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas resistentes a antibióticos usados em ambiente hospitalar, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados mostraram boa inativação, embora tenham sido necessárias altas concentrações e doses elevadas de luz LED, segundo os autores (Ziganshyna et al., 2020).

Conforme ressaltam Carmona e Maldonado (2021), o uso de clorinas catiônicas para inativação microbiana se deve à sua capacidade de interagir com a superfície bacteriana, rica em grupos carregados negativamente, fator crucial

para a penetração na membrana externa das bactérias Gram-negativas. No mesmo estudo, um dos derivados testados contendo três cargas catiônicas e um grupo pentafluorofenil demonstrou maior eficiência contra *Escherichia coli*.

2. OBJETIVOS

- **Objetivo Geral**

Obter e avaliar duas clorinas Chl-amina e Chl-cat a partir da modificação química do metil feoforbídeo extraído de *Spirulina maxima*, investigando sua atividade como fotossensibilizadores em terapia fotodinâmica, em comparação com o azul de metileno, para a inativação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Objetivos Específicos

1. Extrair e realizar a modificação química do pigmento clorofila, obtido a partir da cianobactéria *Spirulina maxima*.
2. Avaliar a fotoinativação de microrganismos com diferentes doses de luz e diferentes concentrações de fotossensibilizadores.
3. Determinar a eficácia dos fotossensibilizador semi-sintetizados e comparar com o azul de metileno.
4. Realizar uma avaliação de fotodegradação dos compostos obtidos.
5. Aplicar os compostos modificados em terapia fotodinâmica, visando à inativação de bactérias Gram-negativas e Gram positiva.

3.METODOLOGIA

A caracterização dos fotossensibilizadores foi realizada no equipamento Bruker Avance 400 spectrometer, foi utilizado 400,115 MHz para aquisição dos espectros de ¹H-RMN. Os fotossensibilizadores também foram analisados por espectros de UV-Vis no espectrofotômetro Espectrofotômetro UV-Visível (Mono-Feixe) Modelo UV-M51 - BEL e por infravermelho no equipamento FRONTIER

MIR+SP10 STD (Perkin Elmer). A extração da clorofila e modificações estruturais foram feitas no laboratório de Laboratório de Biossíntese e Síntese (LBIOS) da UNILA. Os reagentes e solventes utilizados nos procedimentos foram utilizados sem prévia purificação. O azul de metileno utilizado como padrão foi da marca Anidrol. A *Spirulina Maxima* foi adquirida da marca Ibérica. Para a realização dos experimentos de fotoinativação e fotodegradação foi utilizado uma fonte de irradiação BioLambda modelo Black Box com comprimento de onda de 660 nm.

3.1 SEMI-SÍNTESE DOS FOTOSSENSIBILIZADORES

3.1.1 Obtenção do metil feoforbídeo-a:

A extração de clorofila e o processo de transesterificação para obtenção do metil feoforbídeo-a foram realizados conforme a metodologia descrita por Uliana et al. (2014).

3.1.1 Obtenção da clorina Chl-amina:

Foi utilizando 200 mg (0,329 mM) de metil feoforbídeo-a, transferido para um balão de fundo redondo com 20 mL de diclorometano e 20 mL de metanol e adicionado 1000 µL de 3-(dimetilamino)-1-propilamina (99%, Aldrich). A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, à temperatura ambiente, protegida da luz, por 96 horas. Em seguida, a reação foi lavada com água destilada, secada e filtrada, o solvente foi removido no rota-evaporador. O fotossensibilizador foi purificado em coluna cromatográfica utilizando sílica Gel Macherey-Nagel 60, e solvente diclorometano e metanol 9:1, obtendo por filtração simples e o produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica, obtendo 55,8 mg (0,0919 mM) e com rendimento de 23,88%.

¹H- RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 9.65 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.94- 7.90 (m, 1H, CONH), 6.20 (d, *J* = 19,0 Hz, 1H); 6.02 (d, *J* = 11,72 Hz, 1H); 5.40 (d, *J* = 19,11 Hz, 1H); 5.13 (d, *J* = 19,02 Hz, 1H), 4.48 (q, *J* = 7,03 Hz), 4.37 (d, *J* = 9,00 Hz), 3.70 (s, 3H), 3.60 (s, 3H), 3.40 (s, 6H), 3.20 (s, 3H), 2,57-2.52 (m, 2H),

1.70 (d, $J = 7.29$ Hz, 7.61); 1.25 (s, 6H); 1.14 (t, $J = 7.14$, $J = 7.14$ Hz, 1H); -1,62 (s, 1H, 1NH); -1.85 (s, 1NH). (Espectro em anexo)

UV-vis (CH₂Cl₂): 662 nm, 503, nm 404 nm

IV (cm⁻¹): 3450, 1720.

3.1.2 Obtenção da clorina catiônica Chl-cat:

Pesou-se 55,8 mg (0,0919 mM) da clorina Chl-amina e adicionado em um tubo selado com 1500 μ L de iodeto de metila (CH₃I) e 20 mL de diclorometano. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante, à temperatura ambiente, protegida da luz, por 96 horas. Ao término da reação, o excesso de iodeto de metila e o solvente foram evaporados e o produto recristalizado. Obteve 53,6 mg (0,0883 mM) com 82,3% de rendimento.

¹H- RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ : 9.47 (s, 1H), 9,34 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 7.70- 7.49 (m, 1H, CONH), 6.20 (d, $J = 19,0$ Hz, 1H); 6.09 (d, $J = 11,72$ Hz, 1H); 5.85 (d, $J = 19,11$ Hz, 1H); 5.13 (d, 1H), 4.47 (q, $J = 7,03$ Hz), 4.31 (d, $J = 9,00$ Hz), 3.60 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 2.99 (s, 3H), 2.52 (s, 9H); 2,17-2.10 (m, 2H), 1.78 (d); 1.55 (t, $J = 7.14$, $J = 7.14$ Hz, 1H); -2,12 (s, 1H, 1NH); -2.26 (s, 1NH). (Espectro em anexo)

UV-vis (CH₂Cl₂): 664 nm, 500 nm, 414 nm

IV (cm⁻¹): 3450, 1730.

3.1.3 Cálculos teóricos

As estruturas moleculares dos fotossensibilizadores semi-sintetizados foram otimizadas utilizando software Gaussian 09 (Frisch et al., 2016), empregando a teoria DFT com as funcionais CAMB3LYP e B3LYP e o conjunto de bases 6-311++G(d,p). Com os cálculos teóricos obteve-se espectros de UV-Vis e

infravermelho dos fotossensibilizadores, os quais foram comparados com os dados experimentais

3.1.3.b Fonte de iluminação

A fonte de iluminação utilizada foi a biotable da marca Biolambda com iluminação em 660 nm, conforme Fotografia 1, a intensidade da iluminação foi ajustada para 23,77 mW/cm². Os experimentos foram realizados nas doses de luz 30 e 45 J/cm², as quais correspondem ao tempo de irradiação de 21 e 30 minutos, respectivamente



Fotografia 1. Biotable utilizada para TFD em 660nm. FONTE: Autor próprio 2025.

3.1.4 Fotodegradação

A fotodegradação dos fotossensibilizadores utilizados na fotoinativação dos microrganismos Chl-amina, Chl-cat e o AM, foram realizadas no com fonte de iluminação em 660 nm (mesma fonte de irradiação do experimento de fotoinativação). Os fotossensibilizadores foram inicialmente dissolvidos em 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 800 µL de água destilada e autoclavada, na sequência as concentrações foram ajustadas para 250 µM para todos os fotossensibilizadores avaliados. As soluções preparadas dos fotossensibilizadores foram irradiadas de 1 em 1 minuto, a cada minuto irradiado foi coletado um espectro de absorção, o tempo total de irradiação foi de 30 minutos, que corresponde à dose de luz de 45 J/cm².

3.1.5 Cultivo e preparação dos microrganismos

Os microrganismos utilizados neste estudo foram uma bactéria gram-positiva, *Staphylococcus aureus* (ATCC 485), e bactérias gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 489), *Escherichia coli* (ATCC 25.922) e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14.028). As cepas foram cultivadas inicialmente em meio de cultura em caldo BHI (Brain Heart Infusion) a 37 °C por 24 horas. Após o crescimento, os tubos foram centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm, o sobrenadante foi descartado e ressuspendido em PBS (Solução Salina Tamponada com Fosfato), a absorbância foi medida em 600 nm e ajustada para 0.1.

3.1.6 Fotoativação dos microrganismos

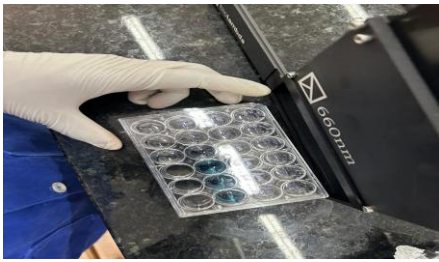
A fotoativação dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella* foi realizada com os fotossensibilizadores Chl-amina, Chl-cat e o fotossensibilizador comercial azul de metileno (usado como padrão). Inicialmente os fotossensibilizadores foram diluídos em 200 µL de DMSO e após adicionados 800 µL de água destilada e autoclavada, as concentrações ajustadas para 1, 30, 45,50 e 100 µM, as quais foram realizadas a fotoativação. A fonte de luz usada foi de 660 nm com as doses de luz de 30 e 45 J/cm².

A fotoativação foi realizada adicionando 500 µL de microrganismo em PBS (absorbância em 0,1) em placas de 24 poços. Foram divididas em grupos controles e grupos de fotoativação. O grupo controle é o grupo que contém somente o microrganismo. O controle escuro consistiu na exposição do microrganismo ao fotossensibilizador, porém sem aplicação de luz.

O controle de luz consistiu na exposição máxima à luz em 660 nm, sem fotossensibilizador. Os grupos foram feitos em triplicata. O grupo de fotoativação, foi adicionado aos 500 µL de microrganismo em PBS os respectivos fotossensibilizadores, incubado no escuro por 20 minutos e na sequência iluminados com a biotable (*Biolambda*).

Após os 20 minutos de incubação e após a irradiação do grupo de fotoinativação, procedeu-se à diluição seriada (10^6), realizada em triplicata na placa de 24 poços, incluindo os grupos controle, controle de luz e TFD já irradiados. Onde 100 μ L de microrganismo de cada grupo foram transferidas para tubos do tipo Eppendorf contendo 900 μ L de PBS, todos protegidos da luz com papel alumínio.

Após as diluições, iniciou-se a inoculação dos microrganismos em placas de Petri contendo Ágar BHI, onde foram adicionados 25 μ L de microrganismo. Nesta etapa foram plaqueados em duplicata. Em seguida a semeadura, as placas foram incubadas em estufa BOD, permanecendo a 37 °C por 24 horas para posterior contagem das colônias, conforme Fotografia 2



Fotografia 2: Para os testes de inativação é necessário o preparo das placas previamente esterilizadas junto com o meio feito em garrafas tipo schott com meio BHI (*Brain Heart Infusion*) autoclavado.

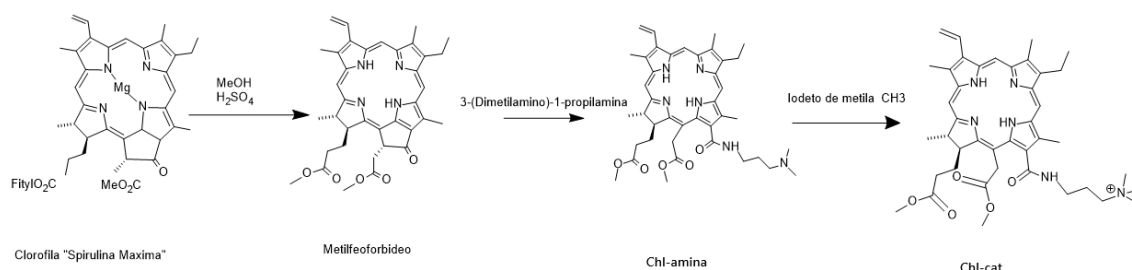
3.1.7 Análise Estatística

Os dados estatísticos foram analisados utilizando o software RStudio (versão 2024.09.0). Foi realizada análise de variância (ANOVA), na qual foram avaliados os valores de p e de F, bem como o valor de F crítico. A comparação múltipla entre os grupos foi conduzida por meio do teste de Tukey (TEAM, 2024).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A obtenção dos fotossensibilizadores inicia pela extração do metil feoforbídeo-a presente na cianobactéria *Spirulina Maxima*. O mesmo foi obtido pela extração com metanol/ H_2SO_4 (5%) conforme descrito na literatura (Uliana et al., 2014). Neste processo de obtenção do metil feoforbídeo-a, ocorre uma reação de remoção do magnésio da clorofila bem como uma reação de transesterificação, onde o grupo fitil é substituído pelo grupo metoxi proveniente do metanol, tornando a molécula menos hidrofóbica e melhorando a solubilidade meio biológico.

Na sequência foi inserido a amina (3-(dimetilamino)-1-propilamina), no metil feoforbídeo-a, gerando a (Chl-amina). Este grupo foi inserido a fim de produzir uma clorina com uma amina terciária em sua estrutura, a qual posteriormente foi catiozinada com iodeto de metila, obtendo-se Chl-cat (Esquema 1).



Esquema 1. Síntese dos Fotossensibilizadores. Fonte: Autor próprio 2025.

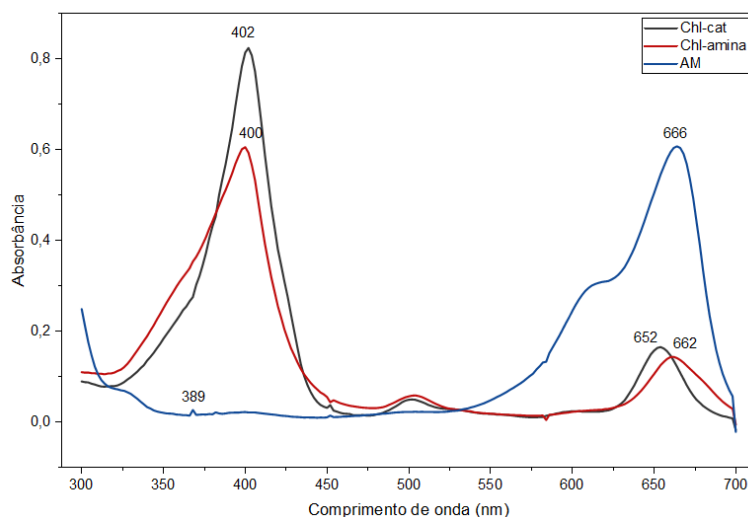
Os fotossensibilizadores foram caracterizados por 1H -RMN, no espectro da Chl-amina, pode-se observar três sinais do tipo singlete integrando para 1H cada sinal em 9.65; 9.55 e 8.79, os quais são sinais de hidrogênios ligados diretamente à aromáticos. Um sinal bem característico que corresponde a adição da amina, formando uma amida é o sinal que corresponde a um multiplete em 7.94- 7.90 -CONH da amida.

Os singletos presentes em 3.70, 3.60, 3.40, 3.20 correspondem às metilas ligadas ao anel aromático e às metilas dos ésteres. Em 3.40 ppm apresenta um singlete integrando para seis hidrogênios, os quais são as duas metilas do grupo amina.

O espectro de ^1H -RMN da Chl-cat é bastante similar a Chl-amina, o que difere é que o sinal que apresentava um singleto com integral de seis hidrogênios em 3.40 ppm, passou a integrar para nove hidrogênios, na região de 2.52 ppm. Esse aumento de três hidrogênios se deve à adição de uma metila, tornando o composto catiônico.

Um bom fotossensibilizador para uso em terapia fotodinâmica ou fotoinativação, deve apresentar bandas de absorção na região da janela terapêutica. As clorinas apresentam absorção na região de 660 nm no espectro de UV-vis. No entanto, as alterações realizadas na molécula podem deslocar estas bandas. Sendo assim, foram realizados espectros de absorção de UV-vis, os quais estão apresentados na Figura 13. Onde se observa a banda Soret em aproximadamente 400 nm e 4 bandas Q. É possível observar que todas as clorinas apresentaram bandas de absorção na região de 660 nm, comprovando o que era esperado para essa classe de compostos. Os espectros de absorção para as clorinas semi-sintetizadas e do AM foram realizados em solvente diclorometano e em PBS (para dissolver em PBS, inicialmente foi adicionado 200 μL de DMSO e depois adicionado PBS). Podemos observar que os espectros realizados em diclorometano e em PBS não modificam de forma considerável as faixas de absorção, tanto da banda Soret quanto das bandas Q (Figura 13).

A



B

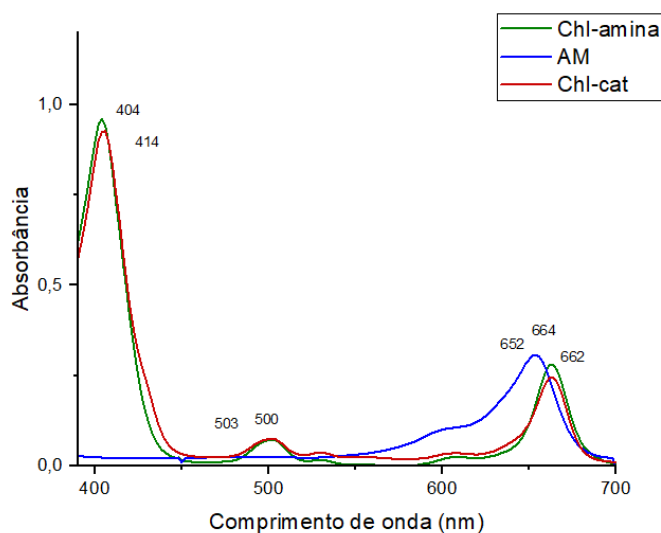


Figura 13: Espectro UV-vis dos fotossensibilizadores em diferentes solventes: em diclorometano (A) e PBS (B). Fonte: Autor próprio 2025.

3.1.1 Espectroscopia Infravermelha IV

Os fotossensibilizadores obtidos nesta semi-síntese também foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho (Figura 14). Conforme os resultados do ensaio de FTIR para os fotossensibilizadores semi-sintetizados, observou-se uma variedade de picos correspondentes aos compostos derivados de porfirinas. No espectro de infravermelho (IV), foram analisados os picos de frequência relativos aos grupos funcionais, bem como a região de impressão digital, abrangendo a faixa de 4000 a 500 cm^{-1} .

Inicialmente, foram identificados grupos N–H na região de 3000–3577 cm^{-1} para os três compostos, correspondentes aos grupos N–H presentes tanto no anel porfirinóides quanto na amida. Além disso, foram observados outros grupos funcionais característicos da estrutura da porfirina, como a ligação amida C–N, encontrada na região de 1529 cm^{-1} para a molécula da amina (em verde) e em 1569 cm^{-1} para a forma catiônica (em rosa), evidenciando uma pequena diferença na região de impressão digital e na vibração molecular. Também foram identificados grupos funcionais C=C e C–O na faixa de 1500–2000 cm^{-1} ,

enquanto as vibrações correspondentes às ligações C–C e C–H aparecem na região de 1000–1340 cm^{-1} .

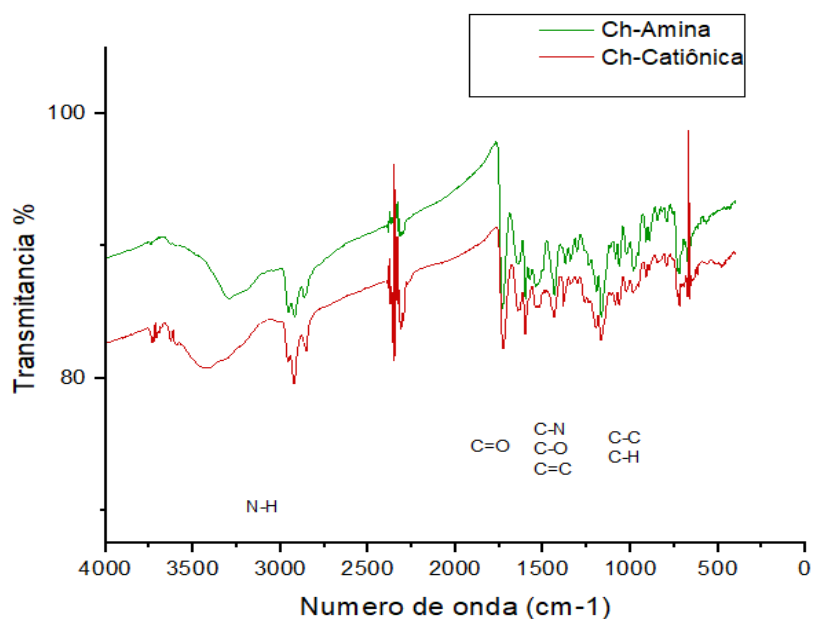


Figura 14. A espectroscopia infravermelha foi realizada com o equipamento modelo Frontier (Perkin Elmer) com refletância total atenuada no laboratório de espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier - LFTIR.

3.1.2. Cálculos teóricos

A realização de cálculos teóricos tem como objetivo de evitar processos experimentais desnecessários, permitindo prever os espectros de UV-vis e IV antes de realizar a síntese. Desta forma pode-se prever qual o espectro de UV-vis e conseqüentemente se a banda Q do derivado porfirinóide é interessante ou não para a aplicação em TFD. Essa abordagem contribui para a sustentabilidade ao minimizar o uso de solventes e reagentes, reduzindo a geração de resíduos químicos.

Por meio dos cálculos teóricos foram obtidos os espectros eletrônicos no UV-Vis, os quais evidenciam as transições eletrônicas entre o (HOMO) e (LUMO). Essas transições foram calculadas pelo método (TDDFT) teoria funcional da densidade do dependente do tempo, permitindo estimar as energias de excitação eletrônica (em eV), bem como as intensidades de absorção por meio da força do

oscilador. Dessa forma, foi possível construir um espectro teórico comparável ao obtido experimentalmente em laboratório.

3.1.2 Espectros UV-VIS

A fim de comparar os dados obtidos experimentalmente foram realizados os cálculos teóricos, os quais estão representados na Quadro 1.

Espectros UV-VIS

Molécula	Dados teóricos			Dados experimentais
	λ (nm)	f (frequência do oscilador)	Orbitais	λ (nm)
Clorina Amina CAMB3LYP	312 (Banda S)	15239	<i>HOMO-1 - LUMO</i>	404
	615 (banda Q)	02631	<i>HOMO - LUMO+1</i> <i>HOMO - LUMO</i> <i>HOMO-1 - LUMO+1</i>	
Clorina Amina B3LYP	395 (Banda S)	0,2612	<i>HOMO-LUMO</i>	404
	583 (banda Q)	0,9287	<i>HOMO-LUMO</i> <i>HOMO-1-LUMO +1</i>	662
Clorina Catiônica CAMB3LYP	374 (Banda S)	14711	<i>HOMO-LUMO +1</i>	414
	623 (banda Q)	02529	<i>HOMO-1 - LUMO+1</i> <i>HOMO-LUMO</i>	664

Clorina Catiônica B3LYP	396 (Banda S)	0,2544	<i>HOMO- LUMO</i>	414
	595 (banda Q)	0,8998	<i>HOMO- LUMO</i>	664
			<i>HOMO-1- LUMO +1 HOMO-2- LUMO +1</i>	

Quadro 1: Dados teóricos dos espectros UV-vis da clorina amina e clorina catiônica.

Os resultados para os espectros UV-vis da clorina amina e clorina catiônica apresentaram valores próximos para as bandas Soret, no entanto divergem os resultados das bandas Q na região de 660 nm, quando utilizado a funcional B3LYP. Sendo assim, para obter dados mais próximos aos valores experimentais, são necessários novos experimentos utilizando outra funcional para otimizar os resultados.

Para este tipo de sistemas a funcional CAM-B3LYP proporcionou melhor concordância entre os resultados teóricos e os dados experimentais, apresentando valores de energia de excitação próximos aos observados experimentalmente. Dessa maneira, mostrou-se apropriado para a simulação dos espectros eletrônicos e para a descrição dos estados excitados relevantes para aplicações em terapia fotodinâmica, mas que ainda podem ser melhorados com a utilização de outras funcionais.

3.1.3 Espectro infravermelho (IV)

De maneira análoga, foram obtidos os dados referentes às vibrações moleculares, incluindo os modos de estiramento e deformação das ligações químicas, para a construção do espectro na região do infravermelho (IV). Utilizou-se o mesmo método DFT para a otimização geométrica das moléculas, seguido do cálculo das frequências vibracionais correspondentes a cada tipo de

ligação presente nas estruturas estudadas, comparando os dados com a literatura.

TIPOS DE LIGAÇÃO clorina com amina	FREQUÊNCIA cm⁻¹ (Experimental)	RESULTADOS TEÓRICOS B3LYP	RESULTADOS DA LITERATURA (cm⁻¹) SILVERSTEIN et al., 2015)
C-O	1207	1250 (éster)	1000-1260
C-C	1280	1016 (amina)	800-1200
C-N (amina terciária)	1350	1347	1010-1360
C-N (amida)	1410	1569	1515-1570
C=C	1500	1526 (anel)	1510
C=O	1720	1742	1680-1700
C-H	1300	1305 (carbonos adjacentes)	1000-1300
N-H (anel)	3450	3526-3570	3400-3520
N-H (amida)	3560	3580	

Quadro 2: Dados teóricos dos espectros Infravermelho da clorina amina. Fonte: Autor próprio 2025.

TIPOS DE LIGAÇÃO clorina catiônica	FREQUÊNCIA cm-1 (Experimental)	RESULTADOS TEÓRICOS B3LYP	RESULTADOS DA LITERATURA (cm ⁻¹) (SILVERSTEIN et al., 2015)
C-O	1154	1156	1000-1260
C-C	1300	1033	800-1200
C-N (amida)	1300	1529	1010-1360
C-N (amina quaternária)	1500	1251	1515-1570
C=C	1551	1547-1667	1510
C=O (éster)	1730	1745	1680-1700
C-H	1300	1291	1000-1300
N-H (anel)	3450	3568-3577	3400-3520
N-H (amida)	3545	3563	

Quadro 3: Dados teóricos dos espectros Infravermelho da clorina catiônica. Fonte: Autor próprio 2025.

Na literatura são encontrados trabalhos com cálculos envolvendo DFT os quais auxiliam na compreensão do dinamismo molecular fornecendo informação crucial para o desempenho das moléculas Padilla et al. (2025) (Acevedo et al 2024).

Comparando os resultados obtidos com a literatura de Silverstein et al. (2015), observa-se que os dados calculados pelo método B3LYP reproduzem diversos tipos de vibrações características da estrutura porfirínica como por exemplo, aromático, estiramento, simétrico, correspondendo a cada tipo de ligação presente na molécula.

Esses deslocamentos vibracionais foram confirmados tanto experimentalmente quanto teoricamente, apresentando boa concordância entre as bandas observadas e as previstas. As intensidades calculadas também refletem as diferenças relativas entre as bandas mais e menos intensas, evidenciando a coerência entre os espectros teórico e experimental.

3.1.4 Análise Estatística

Os resultados da análise estatística demonstraram uma diferença real entre os grupos de controle com bactérias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhimurium* indicando diferença significativa observada em relação ao controle resultando em um nível de confiança de 95% por tanto o tratamento não ocorreu por acaso. Do mesmo modo para as bactérias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* o tratamento com AM com concentração de 1 μM e dose de luz 20 J/cm^2 não produziu efeito significativo sobre o microrganismo quando comparado com o grupo controle ($p > 0.05$).

3.1.5 Fotodegradação

Para os ensaios de fotodegradação (*photobleaching*), os fotossensibilizadores foram preparados em concentrações de 250 μM em meio aquoso (PBS) e submetidos à maior dose de luz utilizada, 45 J/cm^2 . A Figura 15 apresenta a variação da absorbância ao longo de 30 minutos de irradiação para os fotossensibilizadores Chl-amina, Chl-cationica e AM. Os três fotossensibilizadores exibem um declínio contínuo ao longo do tempo, característico do processo de fotodegradação.

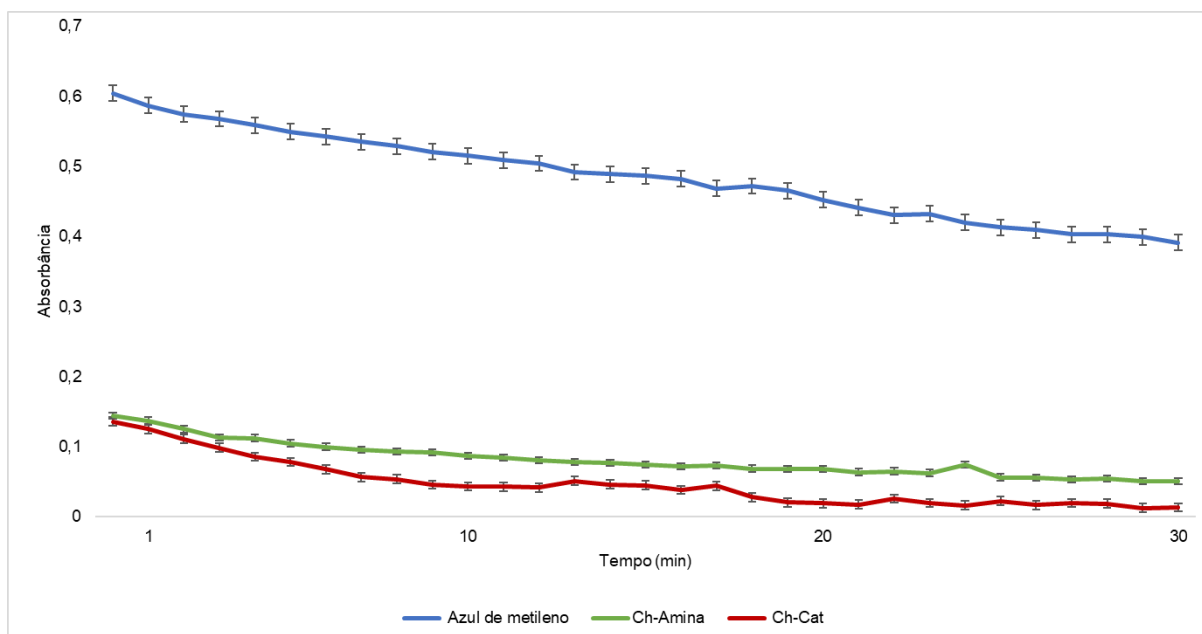


Figura 15: Fotodegradação de Azul de metileno (AM), das clorinas semi-sintetizadas Chl-amina e Chl-catiônica em água irradiada a 660 nm por 30 min, o que corresponde 45 J/cm².

O comportamento da Chl-cat e da Chl-amina mostrou uma diminuição semelhante durante toda a irradiação, padrão observado para derivados de porfirina. Ambos os compostos convergem para níveis semelhantes ao longo da fotodegradação. O mesmo comportamento é observado para o azul de metileno, sendo assim, podemos observar uma fotodegradação similar nos três fotossensibilizadores utilizados neste estudo. Também observa-se que não ocorre a total fotodegradação dos FS após os 30 minutos de irradiação.

3.1.6 FOTOINATIVAÇÃO

Para os testes de inativação dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella* foram empregados os fotossensibilizadores do tipo Chl-amina e Chl-cat e o AM que é um fotossensibilizador comercial, o qual foi utilizado como padrão (Figura 16), onde foram avaliadas diferentes concentrações de 1, 50, 100 e 250 µM e diferentes doses de luz de 30 e 45 J/cm² com bactérias Gram negativas e Gram positivas. Todos os fotossensibilizadores foram irradiados com fonte de luz em 660 nm.

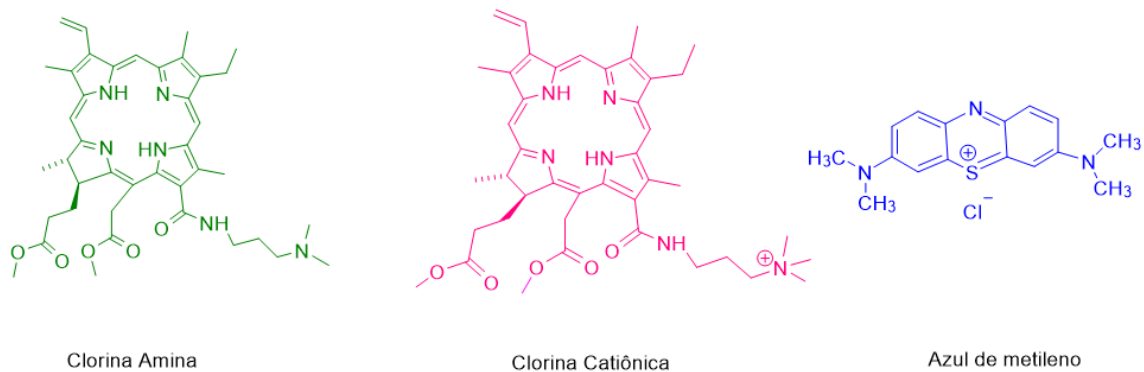


Figura 16: Fotossensibilizadores: Clorina amina, clorina catiônica e Azul de metileno (comercial), FONTE: Autor próprio 2025.

3.1.7 *Staphylococcus aureus*

A fotoinativação dos microrganismos teve início com a inativação da bactéria gram positiva *Staphylococcus aureus* com concentrações 1 e 50 μM com dose de luz de 20 e 45 J/cm^2 , com os fotosensibilizadores Chl-amina, Chl-cationica e AM. Os resultados podem ser observados na Figura 17.

O grupo controle *S.aureus*, possui somente o microrganismo sem FS e sem a presença de luz. No grupo controle Luz, não há presença de FS somente o microrganismo e a dose máxima de luz utilizada neste experimento 45 J/cm^2 . Nos grupos controle com Chl-amina, Chl-cationica e AM, não há presença de luz, somente do microrganismo e FS na concentração de 50 μM . Quando analisamos os grupos controles, podemos observar que todos cresceram normalmente. Por tanto, é importante ressaltar que a presença somente do FS ou somente a presença de luz com os microrganismos não inativou seu crescimento, ou seja, o FS não apresenta toxicidade no escuro e a luz não estimula o crescimento do microrganismo. Pode-se concluir também que a concentração utilizada do DMSO não afeta o crescimento do microrganismo,

visto que é utilizado no controle FS (no escuro), ou seja o DMSO não é tóxico na concentração utilizada.

Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa quando comparado o TFD do azul de metileno quando comparado com o controle *S. aureus*, no teste ANOVA ($p > 0,05$).

Quando realizamos os ensaios, utilizando o FS juntamente com luz, pode-se observar que os microrganismos foram inativados, ou seja, o conjunto FS, luz e oxigênio molecular presente no meio, geram espécies reativas de oxigênio e inativam o microrganismo.

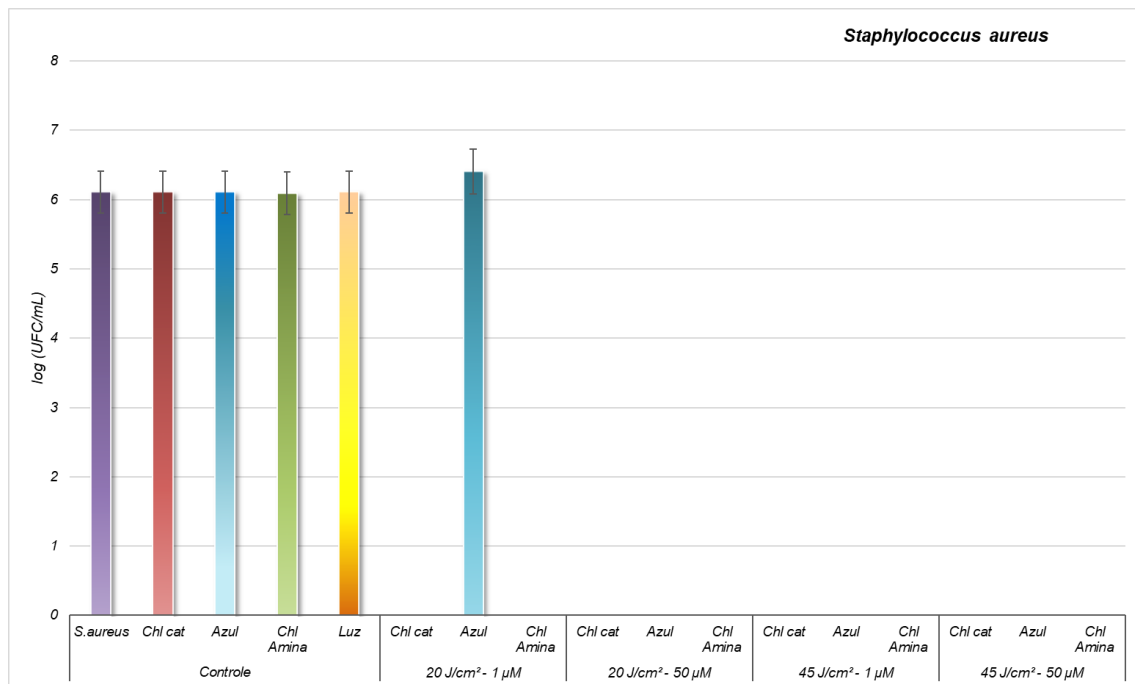


Figura 17: Inativação de *S. aureus* com 20 J/cm² e 45 J/cm² com a Chl-amina, Chl-cationica com e AM, nas concentrações de 1 µM e 50 µM. Controles: *S. aureus* (somente microrganismo) + FS a 100 µM (sem luz) e luz (microrganismo + luz a 45 J/cm. O resultado do TFD com o azul de metileno de 1 µM e 20 J/cm² não demonstrou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle de *S. aureus* ($p > 0,05$). Fonte: Autor 2026

Observa-se que o crescimento de *Staphylococcus aureus* foi significativo com o tratamento fotodinâmico com azul de metileno na concentração de 1 μM e dose de luz de 20 J/cm^2 . No entanto, quando se utiliza a concentração de 1 μM e dose de luz de 45 J/cm^2 , o azul de metileno inativa o microrganismo, comprovando que a inativação de microrganismos também é dependente da dose de luz utilizada.

Nas concentrações de 1 μM e dose de luz de 20 J/cm^2 os fotossensibilizadores Chl-cat e Chl-amina promoveram a inibição do crescimento bacteriano em todas as doses de luz avaliadas (20 J/cm^2 e 45 J/cm^2). Neste caso, pode-se observar que as clorinas semi-sintetizadas foram mais ativas que o azul de metileno, que é o padrão utilizado neste experimento.

Na concentração de 50 μM e nas doses de luz de 20 e 45 J/cm^2 , observa-se excelentes resultados, onde todos os fotossensibilizadores testados inativaram o microrganismo *S. aureus*.

Em comparação com dados previamente reportados na literatura, Nie et al. (2020) avaliaram a eficácia fotodinâmica da Ce6 e do azul de metileno na inativação de *Streptococcus mutans*, uma bactéria Gram-positiva, empregando concentrações de 20, 50, 100 e 200 μM com dose de luz 15 J/cm^2 . Os autores observaram uma redução microbiana de aproximadamente 3-log ao utilizar Ce6, sendo que a eficácia do tratamento aumentou de forma dependente da concentração. Resultados análogos foram verificados no presente estudo com o Chl-amina, Chl-cationica, indicando um comportamento fotodinâmico similar entre os fotossensibilizadores analisados.

De forma semelhante ao observado neste estudo, Muelher et al. (2022) avaliaram a atividade fotodinâmica da TMPyP e do AM frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Nos ensaios realizados, foram empregadas doses de luz de 10,8 J/cm^2 para a TMPyP e 12 J/cm^2 para o azul de metileno, ambas em concentrações de 3,9 μM .

Os autores relataram uma redução microbiana significativa, variando de 6 a 6,7 logaritmos para ambos os microrganismos tratados com a TMPyP, enquanto o AM apresentou uma redução entre 6 e 6,5 logaritmos. Segundo os mesmos

autores, o maior desempenho da TMPyP está relacionado ao acúmulo mais eficiente do fotossensibilizador nas membranas celulares, que constituem um dos principais alvos da terapia fotodinâmica, além da sua maior capacidade de geração de EROs. Tais características resultam em danos estruturais e funcionais mais intensos nas células das bactérias, evidenciando o potencial superior da porfirina catiônica em comparação ao azul de metileno.

De modo complementar aos resultados obtidos por Muelher et al. (2022), Amorim et al. (2024) avaliaram a eficiência fotodinâmica de clorinas dicatiônicas frente a *Staphylococcus aureus*. Nesse estudo, foram alcançados resultados significativos de inativação microbiana mesmo com concentrações inferiores às empregadas no presente trabalho. Utilizando uma dose de luz de 5 J/cm² e comprimento de onda de 650 nm (luz vermelha), os autores relataram uma redução de aproximadamente 7 log.

Esses resultados tanto experimentais quanto os resultados da literatura, reforçam que a inserção de grupos catiônicos na estrutura do fotossensibilizador promove o enfraquecimento da membrana celular, uma vez que a carga positiva facilita a difusão do composto através da matriz extracelular, aumentando, assim, a eficácia da terapia fotodinâmica nos microrganismos Gram positivos.

3.1.8 *Escherichia coli*

Os resultados para a inativação da bactéria Gram negativa *Escherichia coli*, podem ser evidenciados na Figura 18. O grupo controle contendo *E.coli*, contém somente o microrganismo com ausência dos FS e luz. O controle luz, contém o microrganismo e a dose máxima de luz de 45 J/cm². Por último, os grupos contendo o controle dos FS: apresentam o microrganismo juntamente com a Chl-amina, Chl-cat e AM sem presença de luz.

Os controles apresentaram crescimento normal, onde se comprova que os fotossensibilizadores não são tóxicos no escuro, pois não causam redução do microrganismo e que a luz sozinha também não interfere no crescimento do

mesmo. Estes dados do controle reforçam que para ocorrer a inativação de microrganismo, depende do uso combinado FS + luz e oxigênio molecular.

Observou-se significância estatística ($p < 0,05$) no teste ANOVA em comparação aos grupos controle, indicando que as diferenças entre os grupos são confiáveis e não atribuíveis a variações aleatórias dos dados.

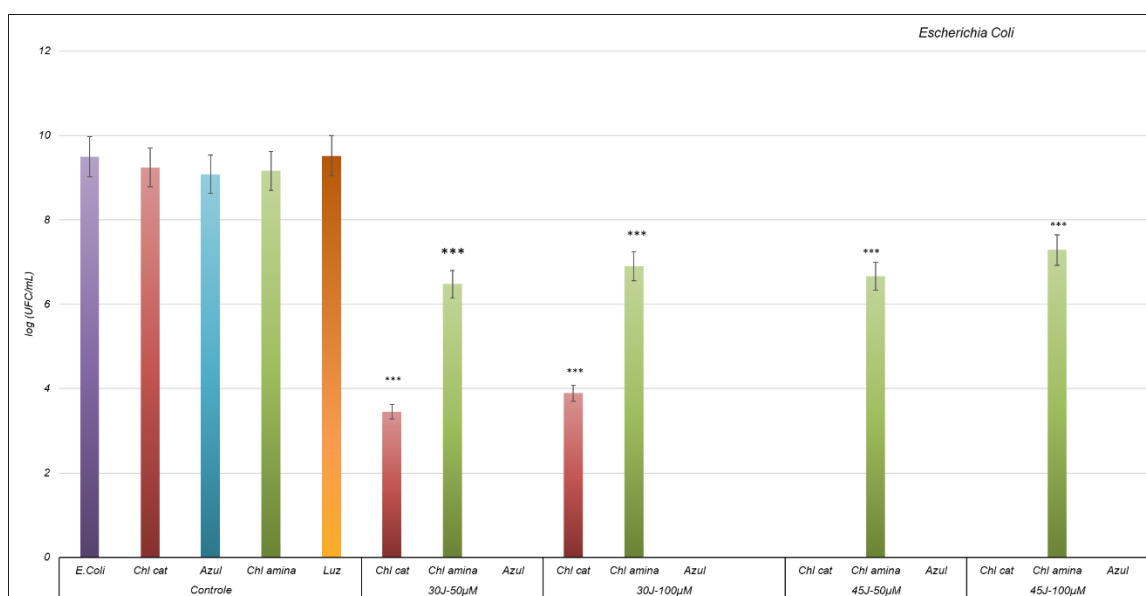


Figura 18: Inativação de *E.coli* com 30 J/cm² e 45 J/cm² com os fotossensibilizadores Clorina catiônica, Clorina amina e Azul de metileno, nas concentrações de 50 µM e 100 µM. Controle: *E.coli* (somente microrganismo) + FS a 100 µM (sem luz) e luz (microrganismo + luz a 45 J/cm²). Os resultados dos experimentos indicados com (***) diferem significativamente do controle de *E.coli* no nível de significância $p < 0,05$. Fonte: Autor 2026.

Os resultados de inativação nas concentrações de 50 µM e 100 µM, com dose de luz de 30 J/cm², demonstraram que o fotossensibilizador azul de metileno promoveu uma excelente inibição do microrganismo. Nestas condições, Chl-amina apresentou uma redução de aproximadamente 3 logs, enquanto a Chl-cat apresentou uma redução de aproximadamente 6 logs, comprovando o que já é descrito na literatura, onde compostos catiônicos apresentam maior atividade de fotoinativação frente a microrganismos Gram negativos.

Para a dose de luz de 45 J/cm², associada às concentrações de 50 µM e 100 µM, tanto o azul de metileno quanto a Chl-cat obtiveram excelente inibição do crescimento microbiano. Já a clorina amina apresentou redução menor, na faixa de 3 logs por se tratar de uma clorina não catiônica.

Conforme evidenciado por Vieira et al (2025), foi avaliado o desempenho do azul de metileno em comparação às porfirinas catiônicas TMPyP na inativação de *E.coli* presente em carne, utilizando concentrações de 25 e 50 μM e uma dose de luz de 360 J/cm^2 . Os autores relataram uma redução de 2 log para o azul de metileno a 50 μM e de 2,4 log para TMPyP demonstrando resultados semelhantes entre os fotossensibilizadores. Para as concentrações de 25 μM , houve uma redução de 1 log para ambos os compostos.

Hawryluk et al. (2025) demonstraram a inativação de *E. coli* isolada de infecções abdominais utilizando azul de metileno nas concentrações de 50, 100 e 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sob uma dose de luz de 7,2 J/cm^2 . Os resultados indicaram reduções de 3–6 logs para 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 5–6 logs para 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 4–7 logs para 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Em estudos complementares, Silva et al. (2024) investigaram a ação sinérgica de porfirinas imidazólicas catiônicas com compostos naturais, como o cinamaldeído, principal componente da canela na inativação de *E. coli*. Utilizando concentrações de 100 nM e 1 μM , associadas a uma dose de luz de 1,36 J/cm^2 , os autores observaram uma redução de 3 logs com 100 nM e de até 7 logs com 1 μM quando combinadas ao cinamaldeído.

3.1.9 *Pseudomonas aeruginosa*

Os resultados do experimento com *P.aeruginosa*, nas concentrações dos fotossensibilizadores de 50 e 100 μM , e nas doses de luz de 30 e 45 J/cm^2 , podem ser observados na figura 19. O grupo controle *P.aeruginosa*, possui somente o microrganismo sem FS e sem dose de luz. No grupo controle luz, não há presença de FS somente o microrganismo e a dose máxima de luz 45 J/cm^2 . Nos grupos Ch-cat e ChI-amina e AM não há presença de luz, somente do microrganismo e dos fotossensibilizadores. Nos cinco grupos de controle, o crescimento do microrganismo permaneceu praticamente inalterado.

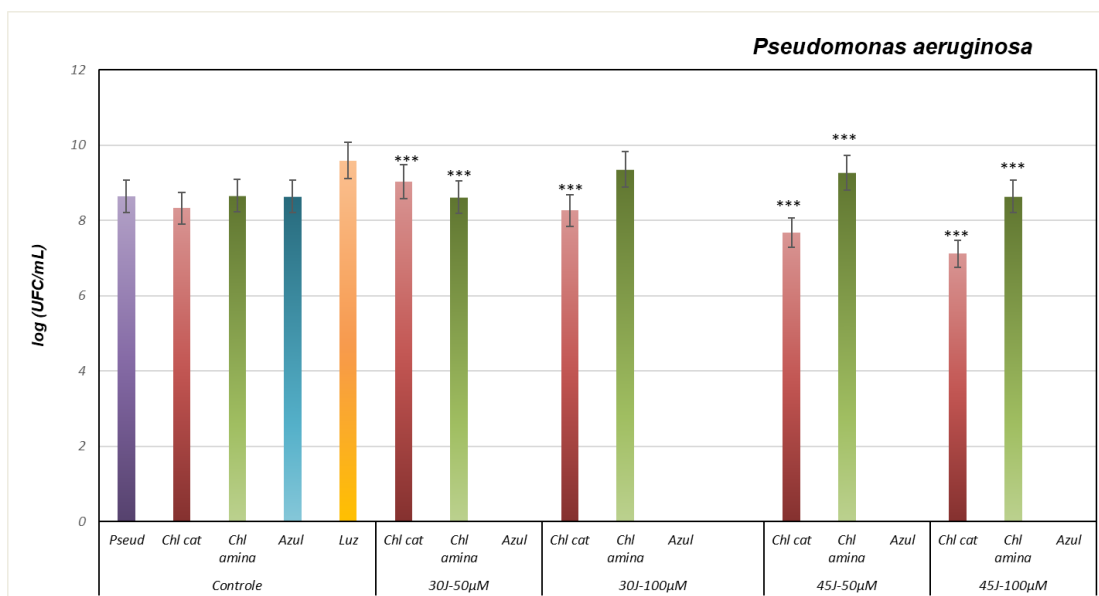


Figura 19: Inativação de *P.aeruginosa* com 30 J/cm² e 45 J/cm². com Ch-catiônica e Ch-amina, e AM, nas concentrações de 50 µM e 100 µM. Controle: *P.aeruginosa* (somente microrganismo) + FS a 100 µM (sem luz) e luz (microrganismo + luz a 45 J/cm²). Os resultados dos experimentos indicados com (***) diferem significativamente do controle de *P.aeruginosa* no nível de significância $p < 0,05$. Fonte: Autor 2026.

Os fotossensibilizadores semi-sintetizados do tipo Chl-cat e Chl-amina não apresentaram inibição do microrganismo nas concentrações de 50 e 100 µM sob dose de luz de 30 J/cm². Nas condições de 50 µM e 45 J/cm², também não foi observada inibição de *P. aeruginosa*. No entanto, na concentração de 50 µM com dose de luz de 45 J/cm², foi registrada inibição de aproximadamente 1 log para a clorina catiônica e na concentração de 100 µM na dose de luz de 45 J/cm² apresentou uma redução de aproximadamente 2 logs. Este resultado demonstra que a inativação de microrganismos usando (TFD) depende da concentração do fotossensibilizador. Nestas mesmas condições, o fotossensibilizador (Chl-amina) não apresentou inativação deste microrganismo, por ser uma fotossensibilizador sem carga.

A análise estatística por meio do teste ANOVA revelou valores de p inferiores a 0,05, evidenciando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais e os respectivos controles, o que levou à rejeição da hipótese nula.

No experimento, o fotossensibilizador azul de metileno apresentou inibição total do microrganismo em todas as concentrações e doses de luz testadas, evidenciando um elevado poder bactericida. No entanto, os resultados observados por Pereira et al. (2018) descreveram uma redução de 4,7 a 5,1 logs após a FTD com dose de luz de 25 J/cm² e concentrações de 100, 300 e 500 µg/mL frente a *P. aeruginosa*.

De modo semelhante, Pérez et al. (2020) avaliaram o azul de metileno em concentrações de 30 e 60 µM, sob dose de luz de 18 J/cm², obtendo uma redução de aproximadamente 6 logs na contagem de *Pseudomonas aeruginosa*.

Os resultados obtidos para os fotossensibilizadores clorina catiônica e clorina amina não foram satisfatórios nas doses de luz de 30 J/cm², com concentrações de 50 e 100 µM. Tal comportamento reforça as observações feitas por Mahmoud et al. (2024) e Beirão et al. (2014), que descrevem a resistência relativa de *P. aeruginosa* à inativação por fotossensibilizadores catiônicos em concentrações de 25 µM sob dose de luz de 100 J/cm², mantendo-se viável mesmo após o tratamento fotodinâmico.

A resistência de *P. aeruginosa* frente à TFD é atribuída à presença de uma membrana externa rica em polissacarídeos, que, juntamente com as bombas de efluxo como o sistema MexAB-OprM, contribui para a resistência a antibióticos. De modo semelhante, em *E. coli* também são observados sistemas de efluxo, como o AcrAB-TolC que impedem o acúmulo intracelular do fotossensibilizador, conforme descrito por Da Cunha et al. (2025).

De acordo com Leus et al. (2023), embora ambas as bactérias sejam Gram-negativas, existe uma diferença drástica em relação à permeabilidade aos tratamentos antimicrobianos. Isso se deve ao fato de que *E. coli* apresenta uma membrana mais simples e menos reticulada, enquanto *P. aeruginosa* possui uma estrutura de membrana mais complexa e altamente seletiva.

Embora seja possível observar o bom desempenho dos fotossensibilizadores Chl-amina e Chl-cat nas condições de 100 µM e 45 J/cm², que se mostraram satisfatórias para a inibição total de *Pseudomonas aeruginosa*, é importante ressaltar o papel das cargas positivas presentes na estrutura dos

fotossensibilizadores. Essas cargas favorecem a interação eletrostática com a superfície bacteriana, de modo que um maior número de porções catiônicas tende a promover melhor adesão celular e, conseqüentemente, maior geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esse comportamento está em concordância com os resultados de Orlandi et al. (2021), que investigaram porfirinas dicationicas em concentrações de 30 μM e dose de luz de 30 J/cm^2 , obtendo eliminação completa do microrganismo. Meerovich et al. (2019).

4.0 *Salmonella typhimurium*

Os dados referentes ao experimento com *Salmonella*, utilizando fotossensibilizadores nas concentrações de 50 e 100 μM e doses de luz de 30 e 45 J/cm^2 , podem ser observados na Figura 20. O grupo controle *Salmonella* contém apenas o microrganismo, sem FS e sem irradiação. No grupo controle luz, não há FS; contudo, este grupo é irradiado com a dose máxima de 45 J/cm^2 . Nos grupos controle Chl-cat, Chl-amina e AM não há irradiação, sendo utilizados apenas o microrganismo e os respectivos FS, isso demonstra que os fotossensibilizadores apenas não são tóxicos no escuro.

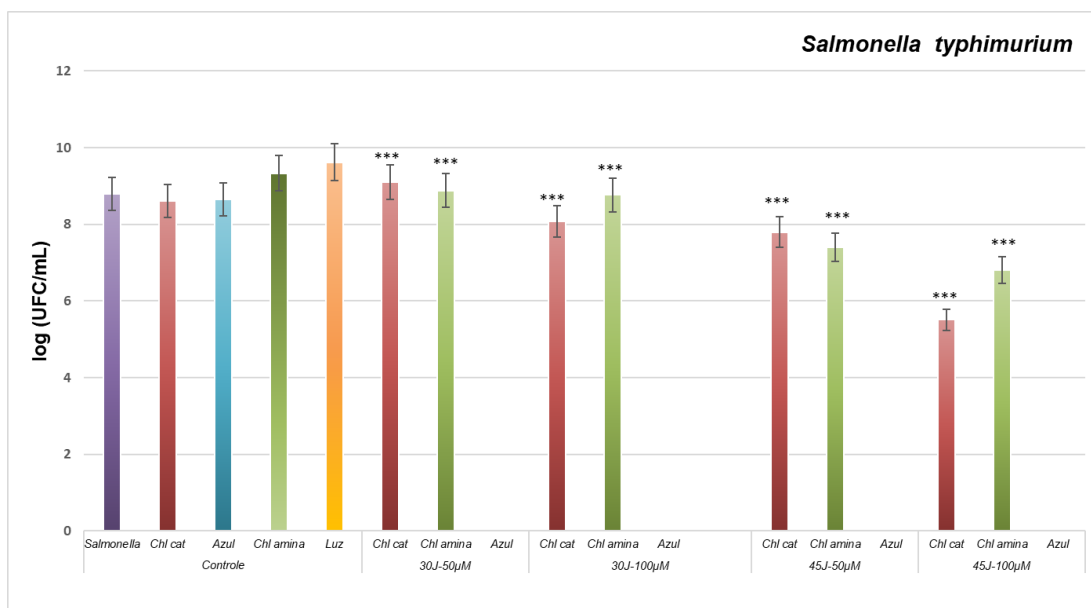


Figura 20: Inativação de *Salmonella* com 30 J/cm² e 45 J/cm² com a clorina catiônica, clorina amina e Azul de metileno, nas concentrações de 50 µM e 100 µM. Controle: *Salmonella* (somente microrganismo) + FS a 100 µM, sem luz) e luz (microrganismo + luz a 45 J/cm²). Os resultados dos experimentos indicados com (***) diferem significativamente do controle de *Salmonella* no nível de significância $p < 0,05$. Fonte: Autor 2026.

Os resultados obtidos com a dose de 30 J/cm² e concentrações de 50 e 100 µM demonstram que o azul de metileno promoveu inativação dos microrganismos, enquanto a Chl-cat reduziu aproximadamente 1 log na condição de 30 J/cm² e 100 µM. Já a Chl-amina não apresentou capacidade de inativação nessas condições.

A análise estatística por meio do teste ANOVA revelou valores de p inferiores a 0,05, evidenciando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais e os respectivos controles, o que levou à rejeição da hipótese nula.

Nos experimentos realizados com a dose de 45 J/cm² e concentrações de 100 µM, o azul de metileno também resultou uma excelente inativação do crescimento microbiano. A Chl-cat promoveu uma redução de cerca de 3 logs, enquanto a Chl-amina apresentou redução aproximada de 1 log, demonstrando mais uma vez a importância de cargas positivas na estrutura dos fotossensibilizadores para a inativação de microrganismos Gram negativos.

Em estudos recentes, Pinheiro et al. (2024) avaliaram a fotoinativação mediada por porfirinas tetracatiônicas contra bactérias provenientes de alimentos, incluindo *Salmonella*. Os autores empregaram concentrações inferiores às utilizadas no presente estudo (17,5 µM) e uma dose de luz consideravelmente mais elevada (270 J/cm²), obtendo reduções entre 3 e 4 logs nas cepas analisadas.

Shao et al. (2024) avaliaram a eficácia da clorina e6 catiônica na inativação de *Salmonella* em sucos, empregando a concentração de 10 µg/mL e doses de luz de 30 e 90 J/cm². Os autores reportaram reduções de 4 logs para a dose de 30 J/cm² e de 5 logs para 90 J/cm².

De acordo com Prasad et al. (2024), analisaram a eficácia do azul de metileno na inativação da *Salmonella*, empregando a concentração de 3,13 μM e uma dose de luz de 76.8 J/cm^2 com irradiação em 660 nm, resultando em uma redução de 4 logs. Essas evidências reforçam que os fotossensibilizadores contendo grupos catiônicos ou dicatiônicos tendem a apresentar maior agregação na superfície bacteriana devido à carga positiva, favorecendo a interação eletrostática.

Conseqüentemente, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o oxigênio singlete, é intensificada, uma vez que a neutralização parcial das cargas positivas reduz a agregação do fotossensibilizador, aumentando sua eficiência fotodinâmica. Essa observação é corroborada por Zhang et al. (2022), que desenvolveram fotossensibilizadores dicationicos e anfifílicos derivados do azul de metileno, demonstrando elevada eficácia na inativação de bactérias Gram negativas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos permitem inferir que a inserção de grupos catiônicos na estrutura das moléculas sintetizadas mostrou-se uma estratégia promissora para a inativação de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Este trabalho reforça a importância de buscar alternativas mais sustentáveis, como os fotossensibilizadores, diante de problemáticas que afetam a população mundial, especialmente a resistência microbiana.

Ao longo do trabalho, é possível observar que foram utilizadas cepas de bactérias comuns em ambientes recorrentes, como água, alimentos, ar e solo, entre outros. Essas bactérias podem tornar-se resistentes por meio da aquisição de genes, o que reforça a necessidade de maior conscientização quanto ao uso adequado de antibióticos. Nesse contexto, torna-se possível relacionar os resultados com os objetivos propostos pelas ODS, especialmente o ODS 3, que aborda saúde e bem-estar, e o ODS 12, que trata do consumo e da produção responsáveis, entre outros.

A semi-síntese de derivados de clorofila é importante uma vez que a estrutura das clorinas já é obtida de fonte natural, minimizando etapas sintéticas. A clorofila passa por pequenas modificações estruturais a fim de torná-las mais eficientes, isso faz com que se minimize o uso de grandes quantidades de solventes e reagentes em laboratório, contribuindo para a sustentabilidade.

O uso dos cálculos teóricos é de fundamental importância, pois consegue prever as bandas de absorção dos fotossensibilizadores, sem ter que realizar toda a síntese e com isso minimiza o uso de solventes e reagentes no laboratório. Contudo, é importante determinar um cálculo que seja ideal para estes tipos de fotossensibilizadores.

Em comparação ao azul de metileno, as clorinas catiônicas podem ser obtidas a partir de biomassa renovável, como a *Spirulina maxima*, apresentando baixa toxicidade celular, elevada biocompatibilidade e maior sustentabilidade. Além disso, o uso dessa microalga como matéria-prima contribui para a redução da pegada de carbono, uma vez que sua produção está associada à fixação de CO₂ durante o cultivo.

Como possíveis estudos futuros, os fotossensibilizadores semi-sintetizados, como a Chl-cat e a Chl-amina, poderão servir de base para pesquisas em áreas específicas, incluindo descontaminação de alimentos, aplicações médicas, esterilização de água, entre outras.

7. REFERÊNCIAS

Aebisher D, Rogoź K, Mysłiwiec A, Dynarowicz K, Wiench R, Cieslar G, Kawczyk-Krupka A and Bartusik-Aebisher D (2024) **The use of photodynamic therapy in medical practice.** *Front. Oncol.* 14:1373263. doi: 10.3389/fonc.2024.1373263

ALMEIDA-BEZERRA, José Weverton et al. Resistência de microrganismos: o desafio contínuo da era pós-antibióticos. In: **Microbiologia avançada: perspectivas atuais e futuras.** Capítulo 1. 2024.

Allamyradov, Yaran, Justice ben Yosef, Berdimyrat Annamuradov, Mahmood Ateyeh, Carli Street, Hadley Whipple, and Ali Oguz Er. 2024. **“Photodynamic Therapy Review: Past, Present, Future, Opportunities and Challenges.”** *Photochem* 4, no. 4: 434–461. <https://doi.org/10.3390/photochem4040027>

Amorim, A. S., Arnaut, Z. A., Mata, A. I., Pucelik, B., Barzowska, A., da Silva, G. J., Pereira, M. M., Dąbrowski, J. M., & Arnaut, L. G. (2024). **Efficient and selective, in vitro and in vivo, antimicrobial photodynamic therapy with a dicationic chlorin in combination with KI.** *ACS Infectious Diseases*, 10(9), 3368–3377. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.4c00492>

Araújo, N. C., Fontana, C. R., Bagnato, V. S., & Gerbi, M. E. M. (2014). **Photodynamic antimicrobial therapy of curcumin in biofilms and carious dentine.** *Lasers in Medical Science*, 29(2), 629–635. <https://doi.org/10.1007/s10103-013-1374-6>.

Al-Jamal, A. N., Abbas, H. H., Al-Hussainy, A. F., Mohammed, B. A., Kadhim, I. M., Mahapatra, D. K., Ward, Z. H., Joseph, T. M., Kianfar, E., & Thomas, S.. **Photodynamic Therapy (PDT) in drug delivery: Nano-innovations enhancing treatment outcomes.** *Health Sciences Review.*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hsr.2025.100218>.

Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., Hahn, S. M., Hamblin, M. R., Juzeniene, A., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., Mroz, P., Nowis, D., Piette, J., Wilson, B. C., & Golab, J. (2011). **Photodynamic therapy of cancer: An update. CA: A Cancer Journal for Clinicians**, 61(4), 250–281. <https://doi.org/10.3322/caac.20114>.

Alvarez, N.; Sevilla, A. **Current Advances in Photodynamic Therapy (PDT) and the Future Potential of PDT-Combinatorial Cancer Therapies**. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 1023. <https://doi.org/10.3390/ijms25021023>

Bhatia, P., Sharma, A., George, A. J., Anvitha, D., Kumar, P., Dwivedi, V. P., & Chandra, N. S. (2021). **Antibacterial activity of medicinal plants against ESKAPE: An update. Heliyon**, 7(2), e06310. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06310>.

BILHA, Juliana Kafka. **Potencial biotecnológico de microrganismos na obtenção de bacterioclorinas para a inativação fotodinâmica**. 2025.

BLANCO, K. C.; INADA, N. M.; BAGNATO, V. S. *Curcumin gum: use of photodynamic therapy in children with acute pharyngotonsillitis. International Journal of Current Medical and Pharmaceutical Research*, v. 3, p. 1665–1667, 2017.

BERTONI, A. G. C. S.; MALLER, A. C. P. A. O AUMENTO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA PÓS-COVID-19: UMA REVISÃO INTEGRATIVA. **REVISTA FOCO**, [S. l.], v. 17, n. 12, p. e6480, 2024. DOI: 10.54751/revistafoco.v17n12-014. Disponível em: <https://ojs.focopublicacoes.com.br/foco/article/view/6480>.

BORTOLINI, Débora Gonçalves; MACIEL, Giselle Maria; FERNANDES, Isabela de Andrade Arruda; PEDRO, Alessandra Cristina; RUBIO, Fernanda Thaís Vieira; BRANCO, Ivanise Guilherme; HAMINIUK, Charles Windson Isidoro. Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, v. 5, p. 100134, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100134>

Brzezinska J, Kujawski J, Witkowska A, Czaja K, Bernard MK, Chmielewski MK (2018) **Experimental and computational studies on a protonated 2-pyridinyl moiety and its switchable effect for the design of thermolytic devices.** PLoS ONE 13(9): e0203604 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203604>.

BERNARDINI, Martina Shasa; KIM, Juhee; KIM, Hyeokjun; SONG, Minkyu; JANG, Woo-Dong; CHUNG, Dae Sung; JUNG, In Hwan. **Wavelength-selective porphyrin photodiodes via control of Soret- and Q-band absorption.** *Dyes and Pigments*, v. 193, art. 109531, set. 2021. DOI: 10.1016/j.dyepig.2021.109531.

Correia, J.H.; Rodrigues, J.A.; Pimenta, S.; Dong, T.; Yang, Z. **Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions.** *Pharmaceutics* 2021, 13, 1332. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332>.

CORONADO-TOVAR, Ariadne; HERRERA-MONROY, Sonia; LÓPEZ-PÉREZ, Pablo Antonio. *Potencial de la espirulina (Arthrospira spp. y Spirulina spp.) en la producción de biocombustibles: una revisión de técnicas y avances.* *Revista Científica de Ingenierías y Arquitectura, México*, v. 4, n. 1, p. 40–58, jun. 2025. DOI: 10.56643/rcia.v4i1.204.

CAMACHO SILVAS, L. A. Resistencia bacteriana, una crisis actual. ***Revista Española de Salud Pública***, v. 97, e202302013, 20 fev. 2023.

CHHABRA, Sumeet; TAKSANDE, Avinash B.; MUNJEWAR, Pratiksha. **The Penicillin Pioneer: Alexander Fleming's Journey to a Medical Breakthrough.** *Cureus*, [S.l.], v. 16, n. 7, Art. e65179, 23 jul. 2024. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.65179>.

Dinakaran D and Wilson BC (2023), **The use of nanomaterials in advancing photodynamic therapy (PDT) for deep seated tumors and synergy with radiotherapy.** *Front. Bioeng. Biotechnol.* 11:1250804. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1250804>

EL-SADEK, Mohamed Z.; ABD EL-AZIZ, Mostafa K.; SHAABAN, Ahmed H.; MOSTAFA, Salah Abdelfatah; WADAN, Al-Hassan Soliman. **Advancements and emerging trends in photodynamic therapy: innovations in cancer treatment and beyond**. *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. *, p. *, 2025. DOI: 10.1007/s43630-025-00765-0

EL-GAMAL, Mohammed I.; BRAHIM, Imen; HISHAM, Noorhan; ALADDIN, Rand; MOHAMMED, Haneen; BAHAAELDIN, Amany. **Recent updates of carbapenem antibiotics**. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 131, p. 185–195, 5 maio 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.022>

Faleiro, F. G., Andrade, S. D., Andrade, S. E. M., & Junior, F. B. R. (2011). Biotecnologia: uma visão geral. *Biotecnologia: Estado de arte e aplicações na agropecuária*. Planaltina, Embrapa, 13-29. ISBN: 978-85-7075-059-4

Ferreira R. P.; Policarpo N. de SRibeiro Z. dos S. de F.; Tonazio C. H. S.; Pinto A. M. de O.; Pinto G. H. P. Aplicação da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT) no tratamento de feridas: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 15, n. 4, p. e 10133, 16 abr. 2022 DOI: <https://doi.org/10.25248/reas.e10133.2022>.

GATTU, Rohith; RAMESH, Sanjay S.; RAMESH, Suhas. **Role of small molecules and nanoparticles in effective inhibition of microbial biofilms: A ray of hope in combating microbial resistance**. *Microbial Pathogenesis*, v. 188, p. 106543, mar. 2024. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106543.

GIERLICH, Piotr; DONOHOE, Claire; BEHAN, Kevin; KELLY, Daniel J.; SENGE, Mathias O.; GOMES-DA-SILVA, Lúgia C. **Antitumor immunity mediated by photodynamic therapy using injectable chitosan hydrogels for intratumoral and sustained drug delivery**. *Biomacromolecules*, v. 25, n. 1, p. 24–42, jan. 2024. DOI: 10.1021/acs.biomac.3c00591.

Gunaydin G, Gedik ME and Ayan S (2021) **Photodynamic Therapy—Current Limitations and Novel Approaches**. *Front. Chem.* 9:691697. doi: 10.3389/fchem.2021.691697

HAMBLIN, M. R. *Photodynamic Therapy for Cancer: What's Past is Prologue. Photochemistry and Photobiology*, v. 96, n. 3, p. 506-516, dez. 2019. Special Issue Invited Review. DOI: 10.1111/php.13190.

HEL AJA, Juho. **Structural analysis of natural chlorin derivatives utilizing NMR spectroscopy and molecular modelling**. Väitöskirja (Doutorado) – University of Helsinki, Faculty of Science, Department of Chemistry, Laboratory of Organic Chemistry, Helsinki, 2000. ISBN 952-91-2285-3 952-91-2286-1 .

KARAM, Letícia Machado; SOCCOL, Carlos Ricardo. **Efeito da temperatura e pH no cultivo de Spirulina major**. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, [S. l.], v. 10, n. 1, 2008. Disponível em: <https://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/564>. Acesso em: 2 set. 2025.

LUCKY, Sasidharan Swarnalatha; SOO, Khee Chee; ZHANG, Yong. **Nanoparticles in Photodynamic Therapy**. *Chemical Reviews*, v. 115, n. 4, p. 1990–2042, jan. 2015. DOI: 10.1021/cr5004198

LARA, Álvaro R. Producción de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. *Revista mexicana de ingeniería química*, v. 10, n. 2, p. 209-223, 2011.

MARTINS, Margarida; ALBUQUERQUE, Cristiana M.; PEREIRA, Cátia F.; COUTINHO, João A. P.; NEVES, M. Graça P. M. S.; PINTO, Diana C. G. A.; FAUSTINO, Maria Amparo F.; VENTURA, Sónia P. M. **Recovery of Chlorophyll a Derivative from *Spirulina maxima*: Its Purification and Photosensitizing Potential**. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 9, n. 4, p. 1772–1780, 15 jan. 2021. DOI: 10.1021/acssuschemeng.0c07880

Martins Conde Beatriz Maria, **Antimicrobial activity of Spirulina platensis biomass extracts enhanced by photodynamic activation** -.Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos do Programa de Mestrado em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). 2025

MCINNES, Ross S.; MCCALLUM, Gregory E.; LAMBERTE, Lisa E.; VAN SCHAİK, Willem. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, v. 53, p. 35–43, fev. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.002>

Michalak, M.; Szymczyk, J.; Pawska, A.; Wysocki, M.; Janiak, D.; Ziental, D.; Ptaszek, M.; Güzel, E.; Sobotta, L. **Chlorin Activity Enhancers for Photodynamic Therapy**. *Molecules* 2025, 30, 2810. <https://doi.org/10.3390/molecules30132810>

MALDONADO-CARMONA, Nidia; OUK, Tan-Sothea; LEROY-LHEZ, Stéphanie. **Latest trends on photodynamic disinfection of Gram-negative bacteria: photosensitizer's structure and delivery systems**. *Photochemical & Photobiological Sciences*, [s. l.], v. 21, p. 1711-1735, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43630-021-00122-0>.

MEEROVICH, G. A.; AKHLYUSTINA, E. V.; TIGANOVA, I. G.; LUKYANETS, E. A.; MAKAROVA, E. A.; TOLORDAVA, E. R.; YUZHAKOVA, O. A.; ROMANISHKIN, I. D.; PHILIPOVA, N. I.; ZHIZHIMOVA, Yu. S.; ROMANOVA, Yu. M.; LOSCHENOV, V. B.; GINTSBURG, A. L. Novel polycationic photosensitizers for antibacterial photodynamic therapy. In: **ADVANCES IN MICROBIOLOGY, INFECTIOUS DISEASES AND PUBLIC HEALTH**. Cham: Springer, 2019. (Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 1282). DOI: https://doi.org/10.1007/5584_2019_431.

Meerovich, G.A. *et al.* Novel Polycationic Photosensitizers for Antibacterial Photodynamic Therapy. In: Donelli, G. (eds) *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health*. *Advances in Experimental Medicine and Biology* (2019.), vol 1282. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/5584_2019_431

NOSSA CAPA. Alexander Fleming e a descoberta da penicilina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 5, p. I–I, out. 2009. DOI: 10.1590/S1676-24442009000500001.

NASCIMENTO, Q. H. P.; REZENDE, G. de O. RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIBIÓTICOS NA PANDEMIA COVID-19. **REVISTA FOCO**, [S. l.], v. 17, n. 11, p. e6768, 2024. DOI: 10.54751/revistafoco.v17n11-040. Disponível em: <https://ojs.focopublicacoes.com.br/foco/article/view/6768>.

NIAZI, Fayez Hussain; QAMAR, Zeeshan; NOUSHAD, Mohammed; MUHAREB, Abdullah Khaled Bin. **Use of Rose Bengal, Methylene blue and Curcumin Photosensitizers activated using light emitting diode on post space disinfection bonded to fiber post: An assessment of extrusion bond strength**. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, v. 38, n. 1, p. 34–39, jan./fev. 2022. DOI: 10.12669/pjms.38.1.4780.

Prasad, A.; Wynands, E.; Roche, S.M.; Romo-Bernal, C.; Allan, N.; Olson, M.; Levengood, S.; Andersen, R.; Loebel, N.; Sabino, C.P.; et al. **Photodynamic Inactivation of Foodborne Bacteria: Screening of 32 Potential Photosensitizers**. *Foods* 2024, 13, 453. <https://doi.org/10.3390/foods13030453>

Niculescu, A.-G.; Grumezescu, A.M. **Photodynamic Therapy—An Up-to-Date Review**. *Appl. Sci.* 2021, 11, 3626. <https://doi.org/10.3390/app11083626>

OLIVEIRA, Cristiane Alves de; CAMPOS, Aline Aparecida de Oliveira; RIBEIRO, Sônia Machado Rocha; OLIVEIRA, Wemerson de Castro; NASCIMENTO, Antônio Galvão do. Potencial nutricional, funcional e terapêutico da cianobactéria spirulina. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição - RASBRAN**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 52–59, 2013

Orlandi, V.T.; Martegani, E.; Bolognese, F.; Trivellin, N.; Garzotto, F.; Caruso, E. **Photoinactivation of Pseudomonas aeruginosa Biofilm by Dicationic Diaryl-**

Porphyrin. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 6808. <https://doi.org/10.3390/ijms22136808>

PAIVA, Bruna Galon; ROSA, Carolina de Oliveira Barbosa da; RANGEL, Sofia Fernandez Cabrera; HERRERA, Julia Cunha Torreão. **Uso da terapia fotodinâmica no controle do carcinoma basocelular superficial.** *Archives of Health*, Curitiba, v. 6, n. 4, ed. especial, p. 1-5, 2025. DOI: 10.46919/archv6n4espec-15822. ISSN 2675-4711.

PRADA QUISPE, Rai Gabriel **Producción de Arthrospira platensis (Spirulina).** 2024.

PEREIRA, Priscila Romero Mazzini. **Bacterioclorina encapsulada em lipossoma: inativação de células tumorais utilizando terapia fotodinâmica.** 2025. Tese de Doutorado.

PANTALIÃO, Maryana Vicente, RIBEIRO, Krysthian de Oliveira Pinto **RESISTÊNCIA A CARBAPENÊMICOS: DESAFIOS EMERGENTES E IMPLICAÇÕES PARA A SAÚDE PÚBLICA** UniSales, **Ciência na prática**, 2022.

PENNA, J.; CABRAL, A. A. S.; JACOMINI, C. P.; BARROSO, B. da S.; MARINHO, M. A. D.; OLIVEIRA, A. E. M. de; SILVA, G. M. da; ZALAZAR, P. I. PIMENTA, A. de F. M.; TEIXEIRA, V. R. Perfil de resistência bacteriana a antimicrobianos em infecções hospitalares: uma revisão sistemática. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, [S. l.], v. 23, n. 5, p. e9869, 2025. DOI: 10.55905/oelv23n5-045. Disponível em: <https://ojs.observatoriolatinoamericano.com/ojs/index.php/olel/article/view/9869>.

ROCHA, Igor Araújo de Carvalho. **Cultivo de arthrospira platensis (spirulina) em fotobiorreator para aplicação em indústria cosmética.** Orientadora: Dra. Juliana Espada Lichston. 2024. 78f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2024.

RODRIGUES, Ricardo Furtado. Marine Biotechnology in Northeast Brazil: Biodiversity's Potential for Innovation in Health and Environmental Sustainability. . *Biological Sciences: Fundamentals and Multidisciplinary Applications*. Vol. 1. [S.I.]: Editora Impacto Científico, 202

SOUZA, Jennifer Melchíades de; TARTUCE, Michela Stefenoni; SILVA, Paula de Oliveira. **Avaliação da eficácia da terapia fotodinâmica no tratamento da acne vulgar.** *Archives of Health*, Curitiba, v. 6, n. 4, ed. especial, p. 01-05, 2025. DOI: 10.46919/archv6n4espec-15894.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. ***Spectrometric Identification of Organic Compounds***. 6th ed. New York: John Wiley & Sons, 1998.

SILVA, Roberto Viana da; PINHEIRO-MACHADO, Rita; AUGUSTO DE SOUSA, Ana Cristina. Penicilina: da descoberta ao patenteamento do processo de produção em larga escala. ***História, Ciências, Saúde – Manguinhos***, Rio de Janeiro, v. 31, e2024021, 2024. DOI: 10.1590/S0104-59702024000100021

SCHWEITZER, Vanessa Gayl. *PHOTOFRIN-mediated photodynamic therapy for treatment of early stage oral cavity and laryngeal malignancies*. ***Lasers in Surgery and Medicine***, v. 29, n. 4, p. 305–313, 2001. DOI: [10.1002/lsm.1133](https://doi.org/10.1002/lsm.1133)

SALERNO, Mario Sergio; MATSUMOTO, Cristiane; FERRAZ, Isabela. **Biofármacos no Brasil: características, importância e delineamento de políticas públicas para seu desenvolvimento**. Texto para Discussão, 2018.

SANTOS, Fabiano da Silveira et al. **Photophysical, photodynamical, redox properties and BSA interactions of novel isomeric tetracationic peripheral palladium(II)-bipyridyl porphyrins**. *Dalton Transactions*, v. 49, n. 45, p. 16278–16295, 2020. DOI: 10.1039/D0DT01063D.

SABERI, Sogol; MODIRI-DELSHAD, Tayebbeh; ETEMAD-MOGHADAM, Shahroo; ALAEDDINI, Mojgan; JAMSHIDLOO, Rahele; RAMAZANI, Ali; MOHAMMADPOUR, Hadiseh; HANNA, Reem; KHOOBI, Mehdi; SHAHABI, Sima. **Efficacy of synthesized cubic *Spirulina platensis* photosensitizer in anticancer photodynamic therapy: An in vitro study**. *Photodiagnosis and*

Photodynamic Therapy, v. 42, p. 103511, jun. 2023. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2023.103511.

SCHASTAK, S.; ZIGANSHYNA, S.; GITTER, B.; WIEDEMANN, P.; CLAUDEPIERRE, T. **Efficient photodynamic therapy against Gram-positive and Gram-negative bacteria using THPTS, a cationic photosensitizer excited by infrared wavelength.** *Plos One*, v. 5, n. 7, e11674, 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0011674.

TORRES BARRIOS, Alejandro David. ***Impacto de los biofilms en la seguridad alimentaria: Desafíos y soluciones emergentes.*** (2022). Trabajo de investigación (Pregrado en Microbiología) – Universidad Simón Bolívar. Tutor: Carlos Hernan Torres Bayona

TAVAKOLI, Zahra et al. Spirulina maxima as a valuable ingredient: Determination of broad fatty acid and amino acid profiles and nutritional quality and anti-amylase capacity. ***Applied Food Research***, v. 5, n. 1, p. 100741, 2025.

TABRIZI, Leila; FITZGERALD-HUGHES, Deirdre; PRYCE, Mary T. *Covalent organic frameworks: Advancing antimicrobial photodynamic therapy for next-generation treatments.* ***Coordination Chemistry Reviews***, Elsevier v. 528, p. 216424, jan. 2025. DOI: Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2024.216424>.

ULIANA, Marciana P.; PIRES, Layla; PRATAVIEIRA, Sebastião; BROCKSOM, Timothy J.; DE OLIVEIRA, Kleber T.; BAGNATO, Vanderlei S.; KURACHI, Cristina. ***Photobiological characteristics of chlorophyll a derivatives as microbial PDT agents.*** ***Photochemical & Photobiological Sciences***, v. 13, n. 8, p. 1137–1145, ago. 2014. DOI: 10.1039/C3PP50376C. Disponible em: <https://doi.org/10.1039/C3PP50376C>.

Uliana, M.P.; da Cruz Rodrigues, A.; Ono, B.A.; Pratavieira, S.; de Oliveira, K.T.; Kurachi, C. **Photodynamic Inactivation of Microorganisms Using Semisynthetic Chlorophyll a Derivatives as Photosensitizers**. *Molecules* 2022, 27, 5769. <https://doi.org/10.3390/molecules27185769>

Uliana, M.P.; da Cruz Rodrigues, A.; Ono, B.A.; Pratavieira, S.; de Oliveira, K.T.; Kurachi, C. **Photodynamic Inactivation of Microorganisms Using Semisynthetic Chlorophyll a Derivatives as Photosensitizers**. *Molecules* 2022, 27, 5769. <https://doi.org/10.3390/molecules27185769>

VARGAS, Marco Antonio. **O Mercado de biofármacos no Brasil e no mundo**. 2024.

VARANDAS, Roberta Conceição Ribeiro; PEREIRA, Andressa Coimbra; ARAÚJO, Vilma Barbosa da Silva. Uso de resíduos de malta da indústria cervejeira como meio alternativo para o cultivo de *Spirulina platensis* e *Spirulina máxima*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. X, n. Y, p. 10;12, dez. 2022. Disponível em: <https://orcid.org/0000-0002-5494-5080>

VAN STRATEN, Demian; MASHAYEKHI, Vida; DE BRUIJN, Henriette S.; OLIVEIRA, Sabrina; ROBINSON, Dominic J. Oncologic photodynamic therapy: basic principles, current clinical status and future directions. *Cancers*, v. 9, n. 2, p. 19, 2017. DOI: 10.3390/cancers9020019

W. Zhu, Y.-H. Gao, P.-Y. Liao, D.-Y. Chen, N.-N. Sun, P.A. Nguyen Thi, Y. J. Yan, X.-F. Wu, Z.-L. Chen, **Comparison between porphin, chlorin and bacteriochlorin derivatives for photodynamic therapy: Synthesis, photophysical properties, and biological activity**, *European Journal of Medicinal Chemistry* (2018), DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.005>.

WANG, Haiyu; LIN, Su; WOODBURY, Neal W. **Electronic transitions of the Soret band of reaction centers from *Rhodobacter sphaeroides* studied by femtosecond transient absorbance spectroscopy**. *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 13, p. 6956–6961, abr. 2006. DOI: 10.1021/jp054850i

YANG, Fuyu; XU, Meiqi; CHEN, Xiaoyu; LUO, Yakun. **Spotlight on porphyrins: Classifications, mechanisms and medical applications**. *Biomedicine &*

Pharmacotherapy, v. 164, p. 114933, (2023). DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114933.

YERRA, Koteswara Rao; BAGNATO, Vanderlei **S. *Enhancing antibiotic effect by photodynamic: The case of Klebsiella pneumoniae.*** *Antibiotics*, v. 14, n. 8, p. 766, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14080766.

Yang, C.-H.; Huang, K.-S.; Wang, Y.-T.; Shaw, J.-F. A Review of Bacteriochlorophyllides: **Chemical Structures and Applications.** *Molecules* 2021, 26, 1293. <https://doi.org/10.3390/molecules26051293>

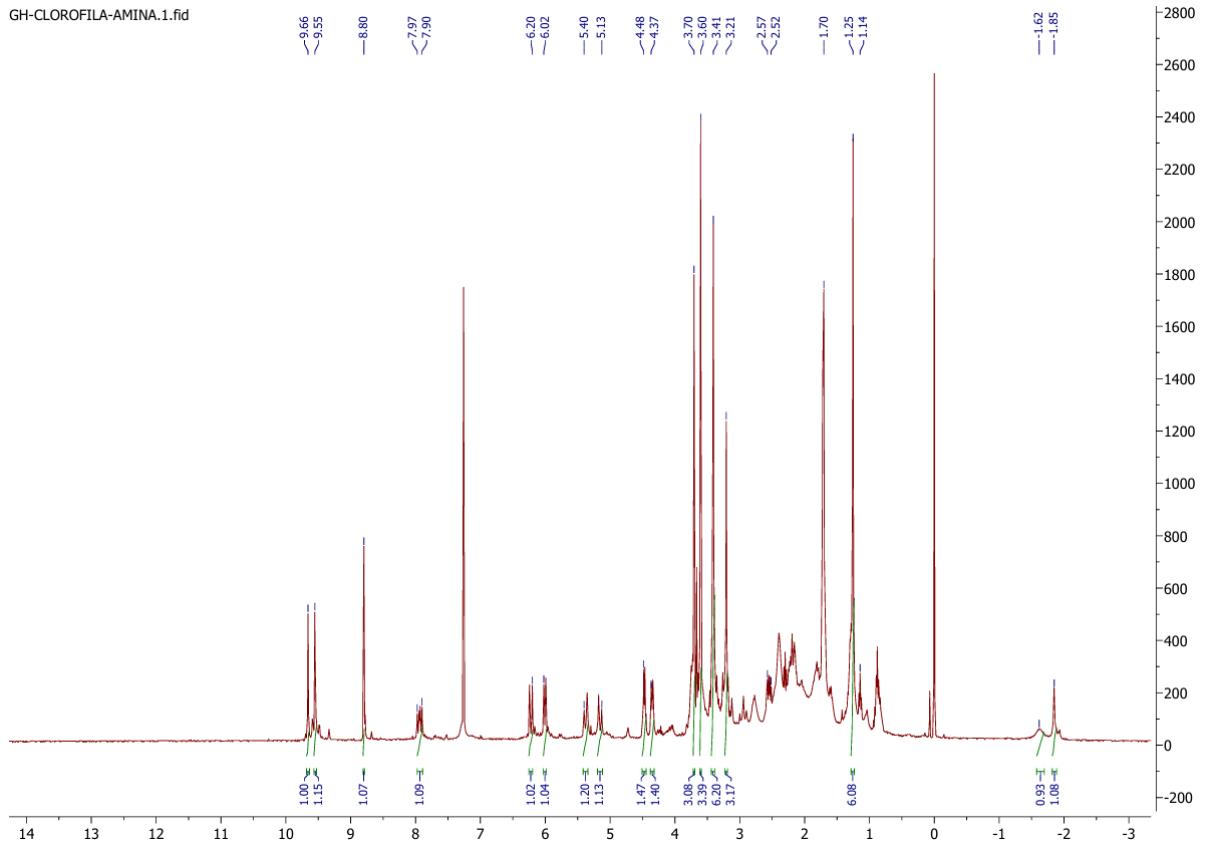
Lv Y, Pu L, Ran B and Xiang B **Targeting tumor angiogenesis and metabolism with photodynamic nanomedicine.** *Front. Cell Dev* (2025). *Biol.* 13:1558393. doi: 10.3389/fcell.2025.1558393

ZIGANSHYNA, Svitlana; GUTTENBERGER, Anna; LIPPMANN, Norman; SCHULZ, Sebastian; BERCKER, Sven; KAHNT, Axel; RÜFFER, Tobias; VOIGT, Alexander; GERLACH, Khrystyna; WERDEHAUSEN, Robert. ***Tetrahydroporphyrin-tetratosylate (THPTS)-based photodynamic inactivation of critical multidrug-resistant bacteria in vitro.*** *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 55, n. 6, p. 105976, jun. 2020. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105976.

ZHANG, Hao; XU, Lixian; GU, Xiaoxiao; YU, Dinghua; LI, Shuang. **Amphiphilic di-cationic methylene blue for improving antibacterial photodynamic efficiency through high accumulation and low aggregation on bacterial cell surfaces.** *RSC Advances. Royal Society of Chemistry*, 2022. DOI: 10.1039/d2ra06484g.

8. Anexos

Espectro de ^1H -RMN da clorina - amina em clorofórmio deuterado



Espectro de ^1H -RMN da clorina - catiônica em clorofórmio deuterado

