

Título em Português:	Estudos ópticos espectroscópicos lineares e não lineares em uma nova classe de porfirinas: possível aplicação em terapia fotodinâmica
Título em Inglês:	Linear and nonlinear spectroscopic optical studies in a new class of porphyrins: possible application in photodynamic therapy
Autor:	Carolina Salgado do Nascimento
Instituição:	Universidade de São Paulo
Unidade:	Instituto de Física de São Carlos
Orientador:	Leonardo De Boni
Área de Pesquisa / SubÁrea:	Física da Matéria Condensada
Agência Financiadora:	CNPq - PIBITI

Estudos ópticos espectroscópicos lineares e não lineares em uma nova classe de porfirinas: possível aplicação em terapia fotodinâmica

Carolina Salgado do Nascimento

Leonardo De Boni

Instituto de Física de São Carlos

carol_salgado@usp.br

Objetivos

A principal finalidade deste projeto é o estudo e caracterização espectroscópica de três porfirinas sintetizadas recentemente com a finalidade de serem usadas para aplicações em terapia fotodinâmica e microbiologia. As porfirinas em questão possuem quatro grupos ligantes de fluoreno ao redor do anel macrociclo e podem ser descritas como uma porfirimina de base livre ($H_2TFluorPor$), uma possuindo um íon de zinco no interior do anel macrociclo ($ZnTFluorPor$) e uma com um íon de cobre também no interior ($CuTFluorPor$). Por serem inéditas, o estudo de suas propriedades espectroscópicas, utilizando técnicas espectroscópicas bem conhecidas, é extremamente importante para se determinar as possíveis aplicações destas em dispositivos, microbiologia e fototerapia dinâmica contra o câncer. [1]

Métodos e Procedimentos

As porfirinas foram preparadas a partir de sua dissolução em diclorometano (DCM) para então realizar a determinação de seus espectros de absorvidade molar, o qual foi obtido a partir da aplicação da lei de Beer-Lambert [2] e possuindo os valores do caminho óptico, da concentração de cada amostra e o espectro de absorbância obtido pelo espectrofotômetro, e de emissão de fluorescência, a partir da excitação no comprimento de onda de $\lambda = 520\text{nm}$ utilizando um fluorímetro. Além disso,

foram realizadas medidas de eficiência quântica de fluorescência utilizando o método de Brouwer [3], visando a determinação das taxas de decaimento radiativo e não radiativo. Por último, foram realizadas medidas dos tempos de vida de fluorescência, uma das propriedades mais importantes de uma molécula fluorescente, pois é o que define a janela temporal do fenômeno dinâmico ocorrido além de fornecer outras informações sobre reações intermoleculares. As medidas referentes à fluorescência resolvida no tempo foram realizadas no comprimento de onda $\lambda = 515\text{nm}$ e analisadas a partir do método de convolução de sinais.

Resultados

Os espectros de absorvidade molar e de emissão de fluorescência podem ser observados nas Figuras 1-3.

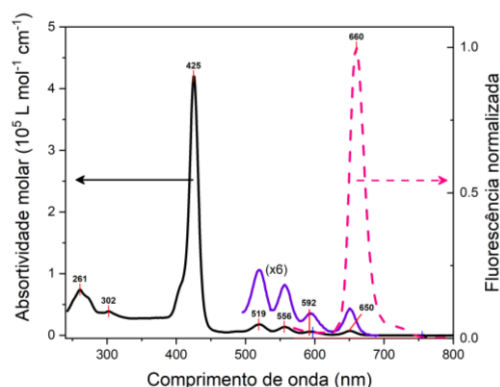


Figura 1: Espectros de absorvidade molar e fluorescência normalizada da porfirimina de base livre.

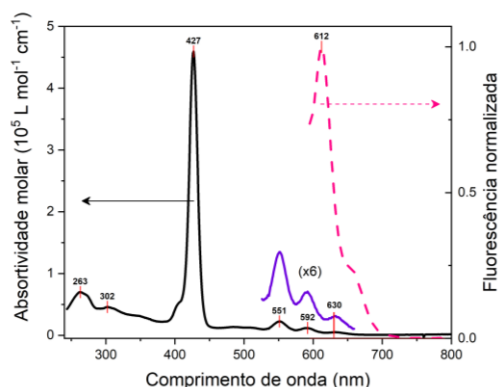


Figura 2: Espectros de absorvidade molar e fluorescência normalizada da porfirina de zinco.

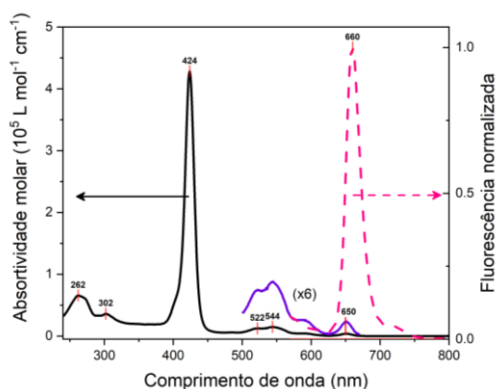


Figura 3: Espectros de absorvidade molar e fluorescência normalizada da porfirina de cobre.

Obtendo esses espectros de absorção na região do UV-Vis das três moléculas, foi possível observar que a banda de Soret, de absorção máxima, se dá em aproximadamente 425nm, e as bandas Qs se mostram entre 500 e 680nm. Estas são fortemente afetadas pelos íons metálicos devido ao aumento da simetria molecular. A partir desse espectro, também foi possível se observar o aparecimento de duas bandas na região de 240nm a 330nm, as quais estão relacionadas aos quatro grupos fluoreno inseridos ao anel macrocíclico. Percebeu-se a partir do espectro de fluorescência das moléculas, que as porfirinas de base livre e zinco emitem com máxima intensidade em 660nm, enquanto a porfirina de cobre emite em 612nm. Com isso e com medidas similares da hematoporfirina, já bem caracterizada, pôde-se calcular os rendimentos quânticos de fluorescência de cada porfirina que podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1 – Rendimentos quântico de fluorescência.

Porfirina	Rendimento quântico (Φ_f)
Base livre	3.86%
Zinco	3.27%
Cobre	3.21%

Por fim, os tempos de vida de fluorescência foram medidos a partir da técnica de fluorescência resolvida no tempo com pulsos de femtossegundos, obtendo os valores presentes na Tabela 2.

Tabela 2 – Tempos de vida de fluorescência.

Porfirina	Tempo de vida [ns]
Base livre	7.30
Zinco	1.54
Cobre	7.89

Conclusões

Os resultados mostraram uma diminuição do tempo de vida de fluorescência com a inserção do íon metálico de zinco ao centro do anel porfirínico, estando em acordo com as eficiências quânticas de fluorescência, mostrando que o íon metálico tende a aumentar a relaxação não radiativa, propriedade que pode ser usada como aliado da termoterapia dinâmica. No entanto, o íon metálico de cobre apresentou um tempo de vida maior que o esperado, necessitando de outras medidas, como a de formação de tripleto, para melhor entendimento.

Referências Bibliográficas

- [1] KOU, J.; DOU, D.; YANG, L. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications. *Oncotarget*, v. 8, n. 46, p. 81591–81603, 2017.
- [2] HOLLAS, J. M. *Modern spectroscopy*. 4th ed. Chichester, J. Wiley, 2004.
- [3] BROUWER, A. M. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 83, n. 12, p. 2213–2228, 2011.

Linear and nonlinear optical spectroscopy studies in a new class of porphyrins: possible application in photodynamic therapy

Carolina Salgado do Nascimento

Leonardo De Boni

São Carlos Institute of Physics

carol_salgado@usp.br

Objectives

The main purpose of this project is the study and spectroscopic characterization of three recently synthesized porphyrins in order to be used for applications in photodynamic therapy and microbiology. The porphyrins in question have four fluorene ligands around the macrocycle ring and can be described as a free-base porphyrin ($H_2TFluorPor$), one with a zinc ion inside the macrocycle ($ZnTFluorPor$) and one with a copper ion also inside the macrocycle ($CuTFluorPor$). As they are unpublished, the study of their spectroscopic properties using well-known spectroscopic techniques is extremely important to determine their possible applications in devices, microbiology and dynamic phototherapy against cancer [1].

Materials and Methods

The porphyrins were prepared from its dissolution in dichloromethane (DCM) to then perform the determination of their molar absorptivity spectra, which was obtained from the application of the Beer-Lambert law [2] and having the values of the optical path, the concentration of each sample and the absorbance spectra obtained by the spectrophotometer, and the fluorescence emission spectra, from excitation at a wavelength of $\lambda = 520nm$ using a fluorimeter.

Furthermore, fluorescence quantum yield measurements were performed using the Brouwer's method [3], aiming to determine the radiative and non-radiative decay rates. Finally, measurements of the fluorescence lifetimes were performed, one of the most important properties of a fluorescent molecule, it defines the time window of the dynamic phenomenon that occurred, in addition to providing other information on intermolecular reactions. The time-resolved fluorescence measurements were performed at wavelength $\lambda = 515nm$ and analyzed using the signal convolution method.

Results

The molar absorptivity and fluorescence emission spectra can be seen in Figures 1-3.

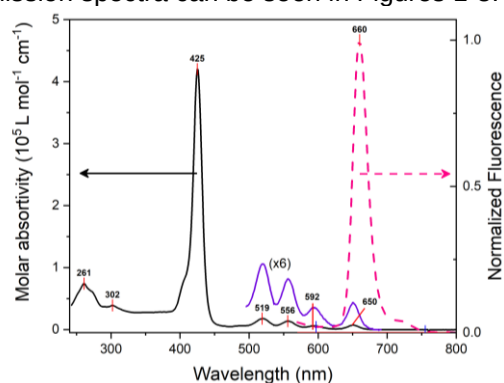


Figure 1: Molar absorptivity and normalized fluorescence spectra of free base porphyrin.

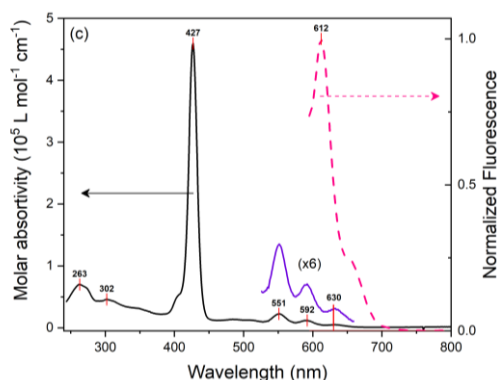


Figure 2: Molar absorptivity and normalized fluorescence spectra of zinc porphyrin.

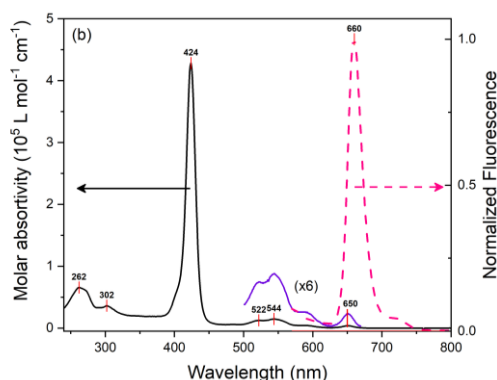


Figure 3: Molar absorptivity and normalized fluorescence spectra of copper porphyrin.

Obtaining these absorption spectra in the UV-Vis region of the three molecules, it was possible to observe that the Soret band, of maximum absorption, is approximately 425nm, and the Qs bands are between 500 and 680nm. These are strongly affected by metal ions due to increased molecular symmetry. From this spectrum, it was also possible to observe the appearance of two bands in the region from 240nm to 330nm, which are related to the four fluorene groups inserted in the macrocyclic ring. It was noticed from the fluorescence spectrum of the molecules that the free base and zinc porphyrins emit with maximum intensity at 660nm, while the copper porphyrin emits at 612nm. With that and with similar measurements of hematoporphyrin, already well characterized, it was possible to calculate the fluorescence quantum yields of each porphyrin, which can be observed in Table 1.

Table 1 – Fluorescence quantum yields.

Porphyrin	Quantum yields (Φ_f)
Free base	3.86%
Zinc	3.27%
Copper	3.21%

Finally, the fluorescence lifetimes were measured using the time-resolved fluorescence technique with femtosecond pulses, obtaining the values presented in Table 2.

Table 2 – Fluorescence lifetimes.

Porphyrin	Lifetime [ns]
Free base	7.30
Zinc	1.54
Copper	7.89

Conclusions

The results showed a decrease in the fluorescence lifetime with the insertion of the zinc metal ion in the center of the porphyrin ring, being in agreement with the fluorescence quantum efficiencies, showing that the metal ion tends to increase the non-radiative relaxation, a property that can be used as an ally of dynamic phototherapy. However, the copper metallic ion had a lifetime longer than expected, requiring other measures, such as the formation of triplets, for a better understanding.

References

- [1] KOU, J.; DOU, D.; YANG, L. Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications. *Oncotarget*, v. 8, n. 46, p. 81591–81603, 2017.
- [2] HOLLAS, J. M. *Modern spectroscopy*. 4th ed. Chichester, J. Wiley, 2004.
- [3] BROUWER, A. M. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 83, n. 12, p. 2213–2228, 2011.