

Título em Português:

Espectroscopia óptica e resolvida no tempo de porfirina base livre contendo átomos de platina e paládio: possível aplicação em microbiologia

Título em Inglês:

Optical and time-resolved spectroscopy of porphyrin free-based containing platinum and palladium atoms: possible application in microbiology

Autor:

Júlia Nonato Croce

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 - PIBIC

Espectroscopia óptica e resolvida no tempo de porfirina base livre contendo átomos de platina e paládio: possível aplicação em microbiologia

Júlia Nonato Croce

Rafael de Queiroz Garcia; Bernardo Almeida Iglesias

Leonardo De Boni

Instituto de Física de São Carlos - USP

juliacroce@usp.br

Objetivos

Quando tratamos de moléculas orgânicas, é importante ter conhecimento acerca de suas estruturas e processos de dissipação da energia absorvida pela luz, o que possibilita analisar se essas são elegíveis para aplicações como a terapia fotodinâmica [1]. Neste estudo foram feitas análises via espectroscopia de três porfirinas, cujos anéis tetrapirrólicos centrais são iguais porém seus grupos periféricos são distintos, com a adição de átomos de platina e paládio, com o objetivo de observar os impactos destas diferenças estruturais na maneira como a molécula interage com a luz e assim analisar potenciais aplicações.

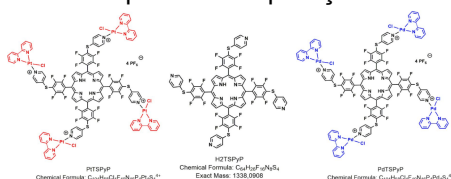


Figura 1: fórmula estrutural das três porfirinas

Métodos e Procedimentos

As três porfirinas (H2TSPyP, PdTSPyP e PtTSPyP) foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO) formando uma solução de concentração final de 10^{-4} Molar. As análises dos espectros de absorção e de fluorescência das três amostras foram feitas com a utilização do espectrômetro comercial UV-Vis Shimadzu 1800, um Fluorímetro Hitachi F-7000 e cubetas

de vidro de caminho óptico de 1mm e 10mm. O cálculo da eficiência quântica de fluorescência (Φ_f) das amostras foi realizado através do método de Brouwer [2], utilizando a hematoporfirina [3] dissolvida em DMSO como amostra de referência.

Os tempos de vida de fluorescência (τ_f) para as três amostras foram calculados através do estudo da fluorescência resolvida no tempo, com a excitação feita pelo segundo harmônico (515 nm) do Laser Pharos-Quantronix, e os dados do decaimento da intensidade de fluorescência foram coletados por uma fibra óptica ligada a um fotodetector rápido de silício conectado ao osciloscópio digital de 1GHz. Com os dados dos tempos de vida de fluorescência foi possível fazer a análise da eficiência quântica de formação de estados tripleto (Φ_T) nas porfirinas, realizada através da técnica de duplo pulso desenvolvida pelo grupo de pesquisa do Instituto de Física de São Carlos [4], com duas excitações separadas por 15ns e através da análise da extinção da fluorescência referente ao segundo pulso.

Resultados

Conforme expresso nos seguintes gráficos, os espectros de absorção e fluorescência para as três amostras são praticamente iguais, mantendo as bandas de absorção típicas do anel porfirínico central e a banda de Soret em 415 nm, havendo então como única distinção a presença de bandas Ns para os átomos de platina e paládio, situadas entre 310 nm e 330

nm. Os valores para as absortividades molares são próximos e da mesma ordem dos valores usualmente observados para essa classe de moléculas. Os espectros de fluorescência observados são iguais para as três moléculas.

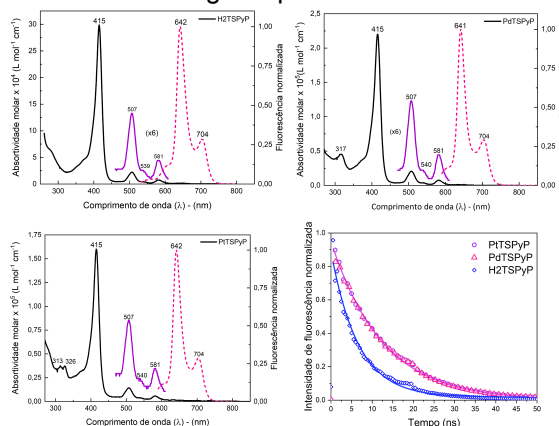


Figura 2: Espectros de absorção e fluorescência e tempos de vida de fluorescência para as porfirinas. Posteriormente, os tempos de vida de fluorescência para as três porfirinas foram estudados, indicando uma redução no tempo de vida da H2TSPyP em relação às demais amostras. O tempo de vida de fluorescência para as porfirinas contendo platina e paládio foi de 10ns e para a porfirina de base livre de 8ns, indicando a influência dos grupos periféricos na forma como a amostra dissipa energia. Por fim, foram analisadas as eficiências quânticas de formação de estados tripletos para as três amostras juntamente com as eficiências quânticas de fluorescência e, com base nesses dados, calculadas as taxas de desativação que estão expressas na tabela a seguir, juntamente com os demais resultados citados.

	H2TSPyP	PdTSPyP	PtTSPyP
Φ_f (%)	1,22±0,02	2,02±0,09	1,98±0,09
τ_f (ns)	8,5±0,5	10,4±0,5	10,1±0,6
k_r [$10^6 s^{-1}$]	1.5	1.9	2.0
k_{ci} [$10^6 s^{-1}$]	77.23	57.67	58.44
k_{isc} [$10^6 s^{-1}$]	46.25	38.61	36.54
Φ_T (%)	37±2	38±1	39±1

Tabela 1: resultados experimentais

Conclusões

Os espectros de absorção e de fluorescência indicam que os metais nos grupos periféricos interferem de maneira fraca em como a molécula absorve a luz, sendo o anel tetrapirrólico central o maior responsável pela absorção. Os dados das eficiências quânticas de fluorescência, dos tempos de vida de fluorescência e da eficiência quântica de formação de tripleto indicam que a porfirina H2TSPyP tem maior tendência a dissipar energia de forma térmica (k_{ic}), sendo indicada para termoterapia fotodinâmica, enquanto as porfirinas PdTSPyP e PtTSPyP são elegíveis para a terapia fotodinâmica. Esta diferença indica que os átomos dos metais servem como estabilizadores na estrutura da porfirina, deixando-a mais plana.

Referências Bibliográficas

- [1]Kou, J., Dou, D., & Yang, L. (2017). **Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications**. Oncotarget, 8(46).
- [2]BROUWER, A. **Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution**. Pure Applied Chemistry, v. 83, n. 12, p. 2213–2228, 2011.
- [3]TORO, C; HERNANDEZ, F. E; DE BONI, L. **Excited State Absorption Study in Hematoporphyrin IX**. Journal of Fluorescence (2010) 20:197-202.
- [4]JORNADA,D.C.; GARCIA,R.Q.; DA SILVEIRA, C. H.; MISOGUTI, L.; MENDONÇA, C. R.; SANTOS, R. C. V.; DE BONI, L.; IGLESIAS, B. A. **Investigation of the triplet excited state and application of cationic meso-tetra(cisplatin)porphyrins in antimicrobial photodynamic therapy**. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, v. 35, 102459, 2021.

Optical and time-resolved spectroscopy of porphyrin free-based containing platinum and palladium atoms: possible application in microbiology

Júlia Nonato Croce

Rafael de Queiroz Garcia; Bernardo Almeida Iglesias

Leonardo De Boni

Instituto de Física de São Carlos - USP

juliacroce@usp.br

Objectives

When working with organic molecules, it is important to have certain knowledge about its molecular structures and the deactivation processes once it's excited by light, which can be used to define if the molecule can be used in applications such as photodynamic therapy [1]. In this project, optical spectroscopy was used to analyze three porphyrins with different atoms in their peripheral groups, with the main objective of observing the impact of such metals - platinum and palladium - on the way the molecule interacts with light, making it possible to propound further applications for them.

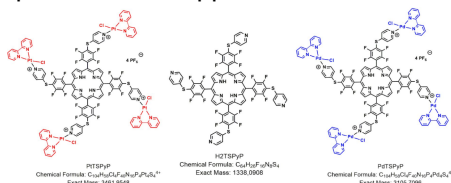


Figure 1: structure of the three studied molecules

Materials and Methods

The three porphyrins (H2TSPyP, PdTSPyP and PtTSPyP) were solved in dimethyl sulfoxide (DMSO) resulting in a solution of 10^{-4} Molar concentration. The absorption and fluorescence spectrums of the substances were analyzed using the commercial spectrometer UV-Vis Shimadzu 1800 and a Hitachi F-7000 fluorimeter, using glass cuvettes with optical

path of 1 mm and 10 mm. The fluorescence quantum yields (Φ_f) were evaluated using Brouwer's method [2], with hematoporphyrin [3] solved in DMSO as reference.

The fluorescence lifetime (τ_f) of the three samples were measured with the study of time-resolved fluorescence, with excitation on the second harmonic of the Laser Pharos-Quantronix (515 nm), the data was collected using an optical fiber linked to a fast photodetector of silica that was connected to a digital oscilloscope of 1GHz. With the fluorescence lifetime data, it was possible to calculate the intersystem-crossing quantum yield (Φ_T) of the porphyrins, performed using the double pulse fluorescence technique developed on the research group of Instituto de Física de São Carlos [4], the technique works by exciting the molecules with two pulses that incide with a 15ns difference between them, making it possible to measure the triplet quantum yield through the analysis of the fluorescence quenching referring to the second pulse.

Results

As shown in the following graphs, the absorption and fluorescence spectra for the three samples are practically the same, maintaining the characteristic absorption bands of the porphyrin ring, with the Soret band located at 415 nm. The only distinction is the presence of N's bands for the platinum and palladium atoms, located between 310 nm and 330 nm. The values for the molar absorptivities are close to and of the same order as typical

values for this class of organic molecules. The fluorescence spectra observed were very similar for the three molecules.

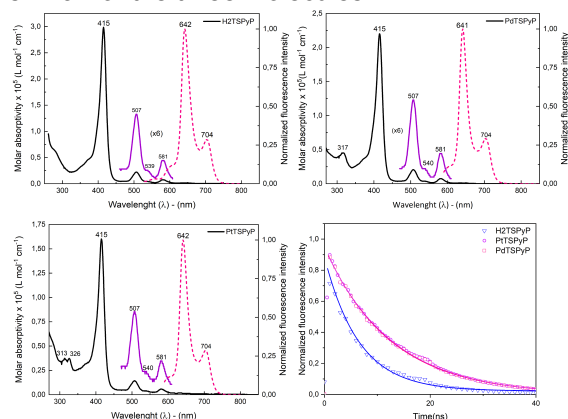


Figure 2: Absorption and fluorescence spectra along to the fluorescence lifetime of the three samples

Afterwards, the fluorescence lifetimes for the three porphyrins were measured, indicating a reduction in the lifetime of H2TSPyP in relation to the other samples. The fluorescence lifetime for the platinum and palladium porphyrins were 10ns and for the free-based porphyrin the lifetime was 8ns, indicating the peripheral groups have an influence on the way the sample dissipates energy. Finally, the fluorescence quantum yields and the quantum yields of formation of triplet states were analyzed for the three samples and based on the collected data, the deactivation rates were calculated. The results can be seen in the following table, along with the other results.

	H2TSPyP	PdTSPyP	PtTSPyP
Φ_f (%)	1,22±0,02	2,02±0,09	1,98±0,09
τ_f (ns)	8,5±0,5	10,4±0,5	10,1±0,6
k_r [10 ⁶ s ⁻¹]	1.5	1.9	2.0
k_{ci} [10 ⁶ s ⁻¹]	77.23	57.67	58.44
k_{isc} [10 ⁶ s ⁻¹]	46.25	38.61	36.54
Φ_T (%)	37±2	38±1	39±1

Table 1: experimental results

Conclusions

The absorption and fluorescence spectra indicate that the metals in the peripheral groups have a weak influence on how the molecule absorbs light, with the porphyrin ring still being the main responsible for the absorption. The data from the fluorescence quantum efficiencies, the fluorescence lifetimes and the triplet quantum efficiency indicate that the porphyrin H2TSPyP has a greater tendency to dissipate energy thermally (k_{ic}), being indicated for photodynamic thermotherapy, while the porphyrins PdTSPyP and PtTSPyP are eligible for photodynamic therapy. This difference indicates that the metal atoms have the effect of stabilizing and flattening the structure of such molecules.

References

- [1]Kou, J., Dou, D., & Yang, L. (2017). **Porphyrin photosensitizers in photodynamic therapy and its applications.** Oncotarget, 8(46).
- [2]BROUWER, A. **Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution.** Pure Applied Chemistry, v. 83, n. 12, p. 2213–2228, 2011.
- [3]TORO, C; HERNANDEZ, F. E; DE BONI, L. **Excited State Absorption Study in Hematoporphyrin IX.** Journal of Fluorescence (2010) 20:197-202.
- [4]JORNADA,D.C.; GARCIA,R.Q.; DA SILVEIRA, C. H.; MISOGUTI, L.; MENDONÇA, C. R.; SANTOS, R. C. V.; DE BONI, L.; IGLESIAS, B. A. **Investigation of the triplet excited state and application of cationic meso-tetra(cisplatin)porphyrins in antimicrobial photodynamic therapy.** Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, v. 35, 102459, 2021.