

STRESZCZENIE

Badania organicznych cząsteczek fotoaktywnych z wykorzystaniem czasowo-rozdzielczej spektroskopii fluorescencyjnej.

Niniejsza rozprawa przedstawia techniki fluorescencyjnej spektroskopii czasowo-rozdzielczej, stacjonarnej spektroskopii absorpcyjnej i fluorescencyjnej oraz badania przeprowadzone z ich zastosowaniem nad wybraną grupą organicznych cząsteczek fotoaktywnych. Dużo wysiłku poświęcono także przygotowaniu układu pomiarowego, działającego w oparciu o technikę skorelowanego w czasie zliczania pojedynczych fotonów. Specyfika badanych za pomocą tego narzędzia procesów wymusiła konieczność zastosowania przestrajalnego źródła wzbudzenia oraz detektora pojedynczych fotonów zdolnego wykrywać fotony z górnego zakresu światła widzialnego oraz z dolnego zakresu bliskiej podczerwieni. Dostępne na rynku systemy pomiarowe, które realizują technikę skorelowanego w czasie zliczania pojedynczych fotonów, zazwyczaj nie są w stanie spełnić tych wymagań. Aby pokonać to ograniczenie, zestawiono własny i niestandardowy układ pomiarowy, który wraz z metodą analizy uzyskanych za jego pomocą danych opisano w niniejszej rozprawie.

Cząsteczki fotoaktywne definiuje się jako te, w których absorpcja światła inicjuje użyteczne procesy fizyczne lub reakcje chemiczne. Jedną z najintensywniej badanych grup cząsteczek fotoaktywnych stanowią fotouczulacze wykorzystywane w terapii fotodynamicznej nowotworów, zakażeń bakteryjnych oraz infekcji wirusowych. Terapia fotodynamiczna jest procedurą terapeutyczną, która wywiera selektywną fototoksyczność w stosunku do określonego rodzaju komórek. Procedura ta obejmuje wprowadzenie fotouczulacza do organizmu pacjenta oraz napromieniowanie światłem o długości fali odpowiadającej jego pasmu absorpcji. Następnie fotouczulacz ulega przekształceniu w formę aktywną, którą najczęściej są jego wzbudzone stany elektronowe, odpowiedzialne również za generację reaktywnych form tlenu bezpośrednio niszczących niepożądane komórki. Większość fotouczulaczy najnowszej generacji stosowanych w praktyce medycznej to aromatyczne makrocycliczne analogi naturalnie występujących porfiryn. W ostatnich latach jako fotouczulacze zostały zaadaptowane ftalocyjaniny, które początkowo wykorzystywano głównie jako barwniki w przemyśle tekstylnym oraz papierniczym. Syntetyczne analogi ftalocyjaniny wydają się być znacznie bardziej obiecującymi fotouczulaczami ze względu na wykazywany przez nie duży współczynnik absorpcji molowej w zakresie długości fal dobrze transmitowanych przez tkanki. Kluczowym aspektem wydajnego działania terapii jest możliwość szybkiego dostarczenia fotouczulacza w wybrane miejsce w organizmie. Szybka i selektywna dystrybucja fotouczulacza zazwyczaj zapewniana jest przez wprowadzenie

dużych funkcjonalnych podstawników. Wprowadzanie podstawnika może jednak wywołać zniekształcenie pierścienia aromatycznego, które wiąże się ze zmianą struktury elektronowej, obniżeniem aromatyczności i zwiększeniem zasadowości, czyniąc cząsteczki fotouczulacza bardziej podatnymi na protonowanie. Ponadto niektóre duże podstawniki mogą również znacząco modyfikować podatność na agregację. Zarówno protonowanie, jak i agregacja to zjawiska niepożądane, ponieważ mogą obniżyć fototoksyczność fotouczulacza, zmniejszając tym samym skuteczność terapii fotodynamicznej. Niestety, właściwości fotofizyczne protonowanych i zagregowanych metaloftalocyjanin są rzadko badane razem, a w piśmiennictwie brakuje porównań efektów wywołanych przez każde z tych zjawisk. Poniższa praca próbuje wypełnić tę lukę i przedstawić systematyczne spektroskopowe badania protonowania i agregacji metaloftalocyjanin z tym samym podstawnikiem we wszystkich pozycjach nieperyferyjnych. Uzyskane wyniki pozwolą na zaprojektowanie lepszych fotouczulaczy, uwzględniających wpływ badanych efektów na ich fotoaktywność.

Dokładniej rzecz ujmując, protonowanie trzech par dwóch typów metaloftalocyjanin (cynkowych i magnezowych) podstawionych nieperyferyjnie ośmioma podstawnikami 1,4,7-trioksanonyłowymi, *n*-butoksyłowymi lub *i*-propoksyłowymi badano metodami stacjonarnej oraz czasowo-rozdzielczej spektroskopii optycznej. Każdy z badanych związków łatwo ulega protonowaniu w rozpuszczalnikach organicznych, jednak typ centralnie usytuowanego względem cząsteczki jonu metalu silnie wpływa na charakter tego procesu. W szczególności, pochodne magnezowe tworzą izomery *cis*-diprotonowane, które w metaloftalocyjaninach zaobserwowano po raz pierwszy, w przeciwieństwie do odpowiedników cynkowych, które tworzą typowe i powszechnie obserwowane izomery *trans*-diprotonowane. Ponadto badania przeprowadzone na metaloftalocyjaninach podstawionych wymienionymi podstawnikami w ich pozycjach nieperyferyjnych wskazują, że tworzenie formy *cis*-diprotonowanej jest typową cechą alkoksy-podstawionych ftalocyjanin magnezowych, w odróżnieniu do pochodnych zawierających jon cynku. Izomery *cis*-diprotonowanych pochodnych magnezowych powstają przy znacznie niższych stężeniach protonów niż izomery *trans*-diprotonowane odpowiednich pochodnych cynkowych. Stwierdzono również, że izomery *cis* wykazują korzystniejsze właściwości fotofizyczne z punktu widzenia ich zastosowań jako cząsteczek fotoaktywnych niż izomery *trans* analogicznych pochodnych. Badania agregacji pochodnych 1,4,7-trioksanonyłowych metaloftalocyjaniny wykazały, że pochodna magnezu agreguje znacznie łatwiej w niekoordynujących rozpuszczalnikach niż jej cynkowy odpowiednik. Obie pochodne tworzą agregaty fluorescencyjne, co zwykle przypisuje się udziałowi międzycząsteczkowej koordynacji atom tlenu-jon metalu, zapobiegającej powstawaniu niefluorescencyjnych agregatów typu H. Wyniki te wskazują, że koordynacja atom tlenu-jon metalu odgrywa istotną rolę w badanych układach i że silniejsza koordynacja atomu tlenu przez jony magnezu w porównaniu

z jonami cynku może leżeć u podstaw zaobserwowanych różnic między metalowanymi ftalocyjaninami. Wyznaczone czasy zaniku fluorescencji form podstawowych oraz form sprotonowanych są funkcją stopnia sprotonowania, przy czym kształt tej zależności jest różny w zależności od jonu metalu. Wyznaczone dla ftalocyjaniny cynkowej z podstawnikami 1,4,7-trioksanonyłowymi czasy zaniku fluorescencji korelują zarówno z wartością przesunięcia Stokesa, jak również z przesunięciem maksimum pasma Q względem pasma formy podstawowej. Analogiczna pochodna magnezowa zachowuje jedynie korelację względem przesunięcia Stokesa. Powyższe obserwacje świadczą o tym, że własności emisyjne formy *cis*-diprotonowanej pochodnych magnezowych ftalocyjaniny definiowane są nie tylko prawem o przerwie energetycznej, ale również innym zjawiskiem kompensującym działanie tego prawa.