

Raport stiintific

privind implementarea proiectului in perioada ianuarie – decembrie 2012

In cadrul acestei etape a proiectului au fost realizate studii fotofizice si fotochimice ale unor compusi de tip fotosensibilizator si molecule de legatura (linkeri). Din cadrul sensibilizatorilor au fost analizate molecule de tip ftalocianinic si porfirinic, iar din cadrul linkerilor au fost studiate molecule de tip olefinic, atat disponibile comercial cat si sintetizate de catre colaboratori de la Univ. Besancon.

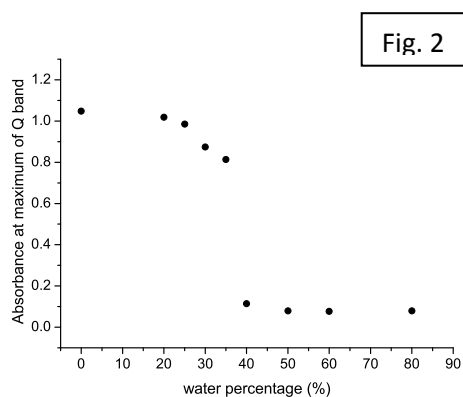
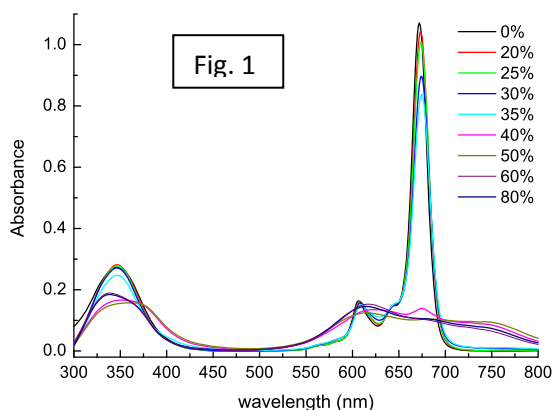
Dintre sensibilizatorii de tip ftalocianinic a fost ales pentru realizarea studiului fotofizic Zn ftalocianina (ZnPc), aceasta prezentand un randament de generare a oxigenului singlet ridicat (0.69). De asemenea in raportari recente aceasta prezinta, impreuna cu lipozomi si nanoparticule, un mare potential pentru eliberarea controlata a medicamentelor. De asemenea, derivati de ftalocianina si porfirina se pot utiliza pentru legarea prin "stivuire" (stacking) π - π cu structura aromatica a CNT.

A fost realizat studiul dependentei proprietatilor fotofizice ale ZnPc in amestecuri binare de solventi DMSO/apa continand proportii diferite de apa. DMSO este un solvent utilizat ca suport pentru administrarea de medicamente datorita patrunderii sale eficiente in tesuturi. A fost pus in evidenta un comportament puternic neliniar al proprietatilor fotofizice, in functie de proportia apei in solvent.

Studiul prin spectroscopie de absorbtie.

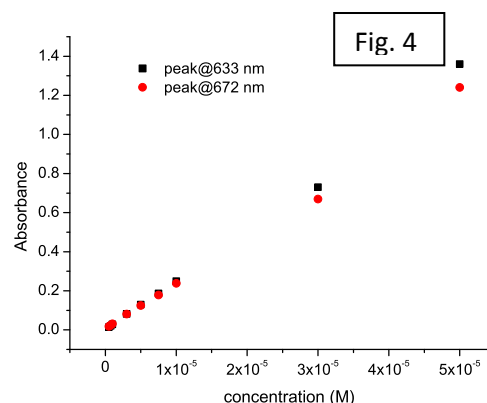
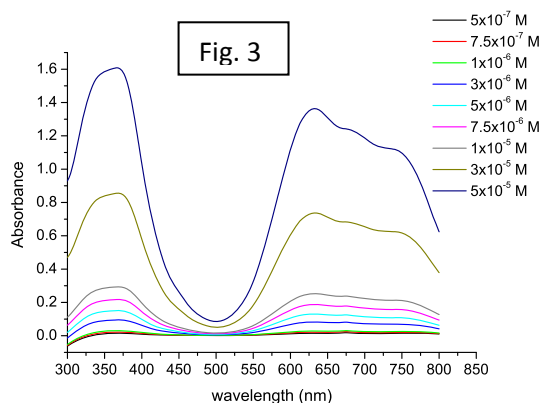
ZnPc prezinta un spectru de absorbtie cu doua benzi principale electronice, banda Q, cu un maxim în jurul valorii de 672 nm si banda Soret avand maximul la aproximativ 350 nm. La randul sau banda Q manifesta o structură vibronică cu maxime de vibratie la 608 nm si 644nm.

Aspectele de absorbtie pentru solutii de ZnPc cu concentratia de $5 \times 10^{-6} \text{M}$ în solutii de DMSO/apa avand diferite raporturi între cosolventi sunt prezentate în Figura 1. Aspectul spectrelor sugerează impartirea lor în două grupari distincte: o grupare continand spectrele solutiilor cu o fractiune a apei in solvent mai mică de 35%, si o alta pentru spectrele solutiilor al caror solvent contine mai mult de 40% apa. Cand procentul de apa in solvent creste de la 0% la 35% se observa o deplasare a pozitiei maximului de absorbtie de aprox. 3 nm catre lungimi de unda mai mari (ZnPc este o molecula ne-polară). Pe acest domeniu de variatie a procentului de apa in solvent se observa de asemenea o scadere cu aproximativ 20% a absorbantei maximului benzii Q. Apoi, cand proportia apei in solvent creste dincolo de 35% se produce un fenomen asemanator unui „bleaching” al solutiei de ZnPc, intensitatea maximului benzii Q scazand brusc si aparand doua benzi largi cu maxime la 633 si 750 nm. Reprezentand intensitatea maximului de absorbtie al benzii Q in functie de cantitatea de apa in solvent se obtin datele din Figura 2, care pun in evidenta modificarea brusca ce se produce la aproximativ 35% procent de apa in solvent.



Potrivit literaturii, o banda de absorbtie a compusilor ZnPc avand maximul la aproximativ 620 nm ar putea fi atribuită formei dimerice a compusului respectiv. Am testat aparitia dimerizarii prin masurarea spectrelor de absorbtie ale solutiilor de ZnPc între limitele extreme de concentratie $5 \times 10^{-7} \text{M}$ si

$1 \times 10^{-4} \text{ M}$; în acest caz, pentru toate soluțiile, proporția de apă în soluție a fost de 40%. Rezultatele sunt prezentate în figurile 3 și 4. Se constată că aspectul spectrului de absorbție este independent de concentrația ftalocianinei (Figura 3). Mai mult decât atât, intensitatea benzilor de absorbție de la 633 și 673 nm prezintă o bună liniaritate în funcție de concentrația ZnPc (Figura 4). Aceste rezultate indică faptul că dimerizarea ZnPc este neglijabilă în domeniul de concentrații menționate.



De aceea, atribuim comportamentul particular al absorbantei ZnPc în amestecul binar de solvenți DMSO/ apă unei puternice interacțiuni între moleculele de colorant și cele ale solventului, solvent binar cu comportare neliniară datorată caracterului puternic asociativ al celor două tipuri de molecule, depinzând de raportul dintre cei doi compuși. Importantele deviații ale proprietăților solventului binar, care apar la anumite valori ale procentului de apă în solvent sunt asociate cu formarea, prin legături de hidrogen, de clusteri moleculari care constă fie dintr-o moleculă de DMSO asociată cu două molecule de apă, fie două molecule de DMSO asociate unei molecule de apă.

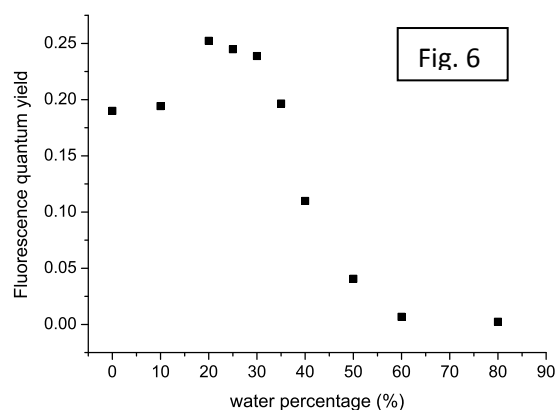
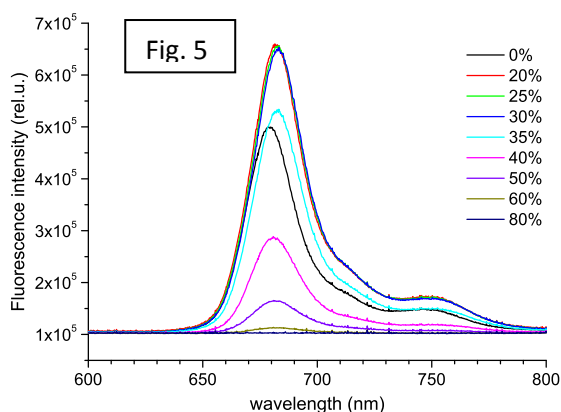
Conform analizei prezentate, variația bruscă a absorbției în spectrele electronice ale ZnPc în funcție de proporția de apă în solvent poate fi atribuită unei schimbări la fel de rapide în structura microscopică a amestecului binar. Modificările structurale ale solventului induc modificări semnificative în interacțiunea solvent-solvat favorizând contactul moleculelor ZnPc cu cele de apă.

Studiul prin fluorescența indusă laser (LIF).

Spectrele de fluorescență indusă de radiația laser de 355 nm pentru ZnPc la concentrația de $5 \times 10^{-6} \text{ M}$, în amestecuri de DMSO / apă la diferite fracțiuni de apă sunt prezentate în Figura 5. Spectrele prezentate indică faptul că probele conținând o cantitate de apă de până la 40% generează radiație de fluorescență destul de intensă, în timp ce pentru probele cu raportul de apă de peste 40% se produce o stingere puternică a fluorescenței. Intensitatea maximă de fluorescență prezintă o creștere până la un procent al apei de 20%, urmând apoi o scădere dramatică până la aproximativ 40% procent de apă în solvent. Randamentul cuantic de fluorescență este prezentat în Figura 6. A fost luat în considerare, ca standard de fluorescență, chiar ZnPc în soluție de DMSO, al cărui randament cuantic de fluorescență este de 0.19.

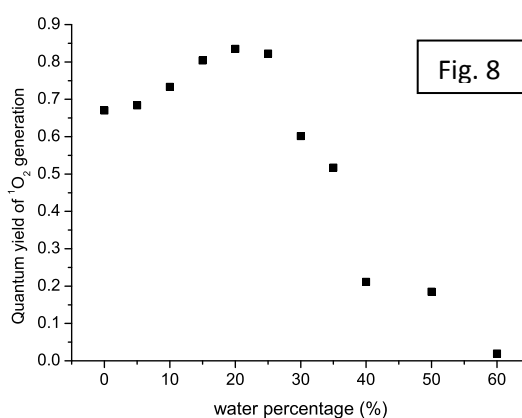
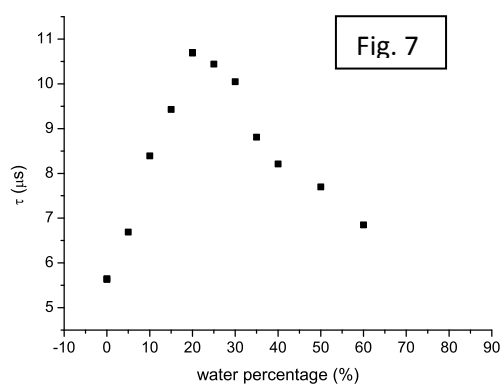
Este evident că schimbările în proprietățile fluorescenței ftalocianinei în amestecuri DMSO/apă sunt direct legate de cele observate pentru spectrele de absorbție. Amandouă indică faptul că schimbările în raportul dintre cei doi cosolvenți induc schimbări majore în comportamentul fotofizic al solvatului ZnPc prin activarea unui proces foarte eficient de dezexcitare neradiativă. Pe de altă parte, creșterea moderată a randamentului cuantic de fluorescență ce apare în domeniul ratelor mici de apă în solvent poate fi atribuită creșterii viscozității solventului binar - caracteristica neliniară a acestuia.

Măsurătorile de fluorescență indusă laser pentru ZnPc în soluții DMSO/apă confirmă, ca și în cazul absorbției, o modificare structurală a solventului și efectul major al acesteia asupra fotofizicii ZnPc solvat.



Studiul Oxigenului Singlet generat

Durata de viață a oxigen singlet generat de ZnPc prin excitare laser (355 nm) la concentrația de $5 \times 10^{-6} \text{M}$ în soluții DMSO/apă a fost măsurată pentru diferite raporturi între cosolvenți (Figura 7), prin evaluarea fosforescenței acestuia la 1270 nm.



Rezultatele indică faptul că adăugarea de apă de până la 20% fracție masică produce o creștere a timpului de viață al oxigenului singlet, urmată de o scădere a acestuia la creșterea proporției de apă dincolo de această limită. Dincolo de fracțiunea de 60% apă în solvent semnalul de fosforescență a fost prea slab pentru evaluarea corectă a timpului de viață.

După informațiile noastre, date privind durata de viață a oxigenului singlet în amestecul binar de solvenți DMSO/apă nu au fost raportate. Este de remarcat faptul că durata de viață a oxigenului singlet în amestecul binar DMSO/apă crește până la o valoare de $10 \mu\text{s}$, la 20% apă în solvent, care este mai mare decât durata sa de viață în apă sau în DMSO.

Randamentul cuantic de generare a oxigenului singlet a fost determinat pentru diferite fracțiuni de masă ale cosolvenților (Figura 8). Acesta arată același tip de variație în funcție de fracțiunea de apă din solvent ca și în cazul duratei de viață a oxigenului singlet. Mai mult decât atât, curba este similară cu cea obținută pentru randamentul cuantic al fluorescenței. Acest rezultat sugerează că atunci când în solvent predomină apa, numai stările colorantului care generează fluorescența sunt implicate în generarea oxigenului singlet.

În cazul ZnPc dizolvat în amestecuri în DMSO/apă, dependența similară a marilor fotofizice în funcție de proporția cosolvenților - randament cuantic de generare și timp de viață al oxigenului singlet generat pe de-o parte, și intensitatea fluorescenței și randamentul cuantic al acesteia - sugerează că principalul factor implicat în această dependență este variația particulară a structurii microscopice a acestui amestec de solvenți. Aceasta afectează puternic atât fotofizica ftalocianinei solvatate cât și generarea și comportarea temporală a oxigenului singlet. Mai mult decât atât, evoluția timpului de viață a oxigenului singlet în funcție de proporția apei în solvent se corelează foarte bine cu variația vâscozității solventului. Aceste concluzii au fost verificate prin măsurarea duratei de viață a oxigenului

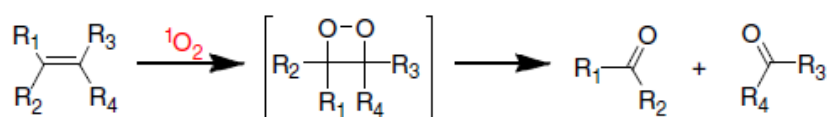
singlet fotogenerat de un fotosensibilizator diferit, verteoporfinul. Asa cum era de asteptat, a fost obtinuta o dependenta similara a timpului de viata al oxigenului singlet generat in functie de compozitia solventului.

Rate de reactie ale oxigenului singlet generat de verteoporfin cu diferiti linkeri de tip olefinic.

Identificarea compusilor de reactie prin spectroscopie FTIR.

Verteoporfinul (VP) este un fotosensibilizator deja aprobat de catre FDA pentru a fi utilizat in oftalmologie (produsul Visudin) si prezinta un randament mare de generare de oxigen singlet (0.77 in metanol deuterat). Cei noua compusi studiati, de tip olefinic, prezinta substitutii in lantul alchena, sunt bogati in electroni si se pot rupe prin reactie de cicloaditie 2+2 in produsi carbonilici.

Iradierea s-a facut cu o lampa cu Xe filtrata in domeniul 500-800 nm si putere 145 mW. Durata de iradiere a fost de 120 min. Reactia dintre oxigenul singlet produs de verteoporfin si compusii de tip olefinic are loc conform reactiei descrise de R. S. Murthy et al. Tetrahedron Letters 50 (2009), 1041–1044:

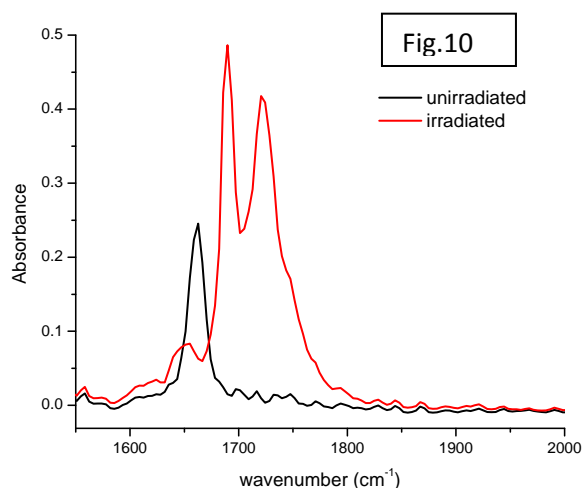
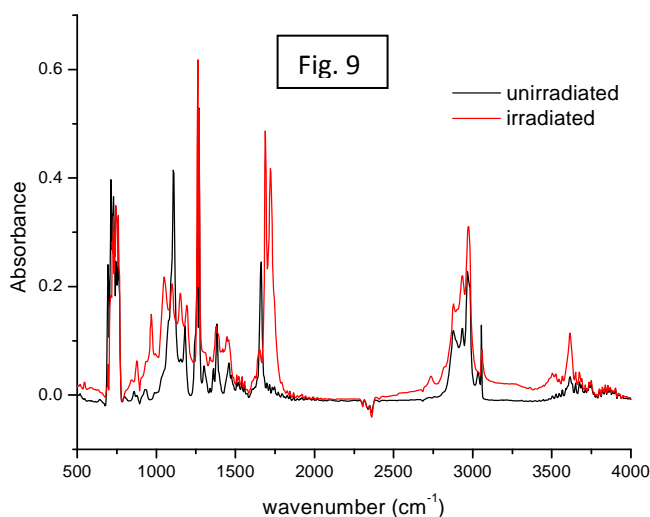


Formarea legaturilor de tip carbonil, in cazul scindarii moleculelor compusului 9, este evidentiata in spectrul IR prin benzi de absorbtie la 1724 cm^{-1} si 1690 cm^{-1} care indica vibratii de intindere a legaturii C=O. (Figura 9, 10).

Vibratiile de intindere ale legaturii C=O ale unei aldehide sau cetone sunt responsabile de aparitia unor benzi in domeniul $1710 - 1665\text{ cm}^{-1}$, iar in cazul unui acid carboxilic benzile de absorbtie apar in domeniul $1760-1690\text{ cm}^{-1}$.

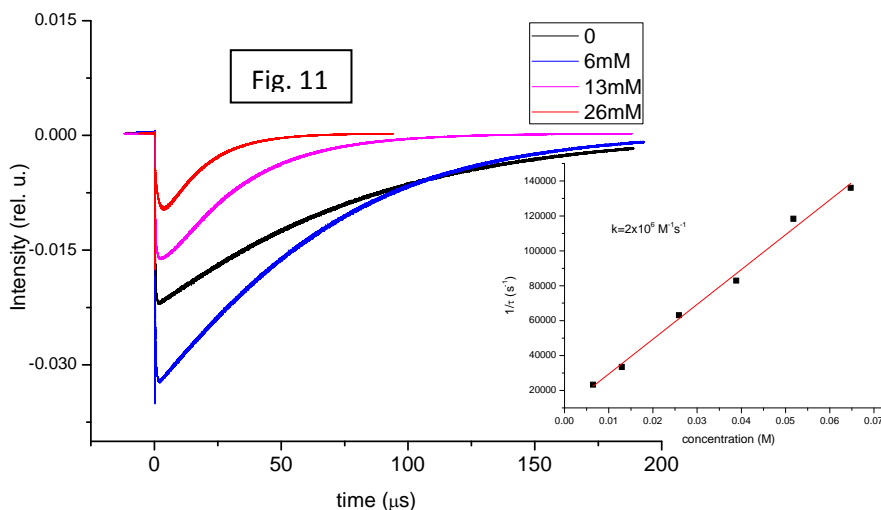
Astfel, banda de absorbtie de la 1690 cm^{-1} se poate datora unor vibratii de intindere ale legaturii C=O a propanalului, dar si acidului propionic, iar banda de la 1724 cm^{-1} se poate datora vibratiilor de intindere ale legaturii C=O a acidului propionic. Mai mult, formarea acidului propionic in urma reactiei dintre oxigenul singlet produs de VP si C9 este evidentiata si de aparitia unei benzi de absorbtie la 968 cm^{-1} , domeniul general pentru benzile de absorbtie datorate incovoierii legaturii O–H fiind $950 - 910\text{ cm}^{-1}$.

Benzile de absorbtie datorate vibratiilor de intindere a C=O apar in general in domeniul $1600 - 1800\text{ cm}^{-1}$. Acestea au putut fi observate in cazul tuturor olefinelor testate, cu exceptia compusilor cu nr. 1, nr. 4 si nr. 5 din tabel.



Obtinerea constantelor de rata pentru probele de VP si linkeri s-a facut la 532 nm pentru o concentratie de VP de $50\text{ }\mu\text{M}$. Rezultatele sunt sintetizate in tabelul de mai jos. In Figura 11 sunt

prezentate cineticile semnalului de foforescenta masurat pentru VP si compusul nr. 9 la diferite concentratii ale acestuia. De asemenea este data reprezentarea Stern Volmer din care se obtine constanta de stingere a oxigenului singlet.



Compus	Const. de stingere a oxigenului singlet
1	$1.7 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
2	$1 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
3	$0.66 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
4	-
5	$0.7 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
6	$7 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
7	$1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
8	$0.6 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
9	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Rezultatele obtinute arata eficienta reactiei de rupere a legaturii duble de C prin reactia cu oxigenul singlet fotogenerat pentru linkerii care contin atomi de O si S in proximitatea dublei legaturi. Studiul prin spectroscopie FTIR pune in evidenta modificarile foto-generate in moleculele de legatura. Studiul evolutiei cineticii oxigenului singlet (prin fosforescenta indusa laser) ne da informatii privind constanta de reactie a acestuia cu moleculele de linkerii, parametru fundamental care trebuie luat in considerare pentru stabilirea eficientei procesului de foto-scindare.