

Małgorzata Cyza

Streszczenie pracy doktorskiej pt.

**WŁAŚCIWOŚCI SPEKTROSKOPOWE I FOTOCHEMICZNE NOWYCH
FOTOSENSYBILIZATORÓW DLA POTRZEB TERAPII
FOTODYNAMICZNEJ**

Terapia fotodynamiczna (PDT) jest techniką leczniczą bazującą na oddziaływaniu specjalnej formy leku zwanego fotosensybilizatorem, światła oraz tlenu. Fotosensybilizator wprowadzony do tkanki nowotworowej poddawany jest działaniu promieniowania elektromagnetycznego z zakresu widzialnego lub podczerwonego. Na skutek absorpcji światła cząsteczki fotosensybilizatora wzbudzone są do wyższych stanów elektronowych. Przeniesienie energii do obecnych w tkance cząsteczek tlenu skutkuje generowaniem aktywnych form tlenu (ROS), głównie tlenu singletowego. Oddziaływanie ROS z komórkami nowotworowymi powoduje ich niszczenie na drodze apoptozy lub nekrozy. Terapia ta jest małoinwazyjną metodą leczenia, która może być stosowana w przypadku wielu typów nowotworów. Zdolność do efektywnego generowania ROS, głównie tlenu singletowego jest podstawową i niezbędną cechą wszystkich fotouczulaczy, które mają znaleźć zastosowanie w PDT.

W ramach rozprawy doktorskiej oceniono zdolności fotosensybilizacyjne ftalocyjanin: $MgPcI_4$, $ZnPc(t-Bu)_4I_4$, $ZnPc(t-Bu)_4(CF_3)_4$ i subftalocyjaniny $SubPc(t-Bu)_3I_3$, a także określono ich fotostabilność i zbadano oddziaływanie z błonami lipidowymi. W trakcie badań, jako związku porównawczego, pozwalającego na określenie wpływu podstawników na właściwości fotofizyczne i fotochemiczne badanych połączeń używano $ZnPc(t-Bu)_4$.

W pierwszym etapie badań przeprowadzono analizę spektralną wszystkich fotouczulaczy, pozwalającą na identyfikację położenia pasm absorpcji badanych związków, w użytych rozpuszczalnikach, względem okna terapeutycznego PDT. Wyznaczono wartości molowych współczynników absorpcji i zbadano właściwości emisyjne użytych substancji. Wysokie wartości molowych współczynników absorpcji badanych połączeń mają szczególne znaczenie dla PDT, ponieważ pozwalają one na minimalizację wprowadzanej do organizmu pacjenta dawki preparatu.

Jednym z często spotykanych problemów związanych z zastosowaniem fotouczulaczy jest ich tendencja do agregacji w rozpuszczalnikach polarnych. Zjawisko to badano szczegółowo dla ftalocyjaniny $MgPcI_4$, dla której wyznaczono stałą agregacji w metanolu.

Następnie określono wydajność kwantową fluorescencji i zbadano wpływ podstawników $-I$ oraz $-CF_3$, na jej wartość. Pomiary te potwierdziły istotny wpływ efektu ciężkiego atomu na wydajność fluorescencji. Niskie wartości wydajności kwantowej fluorescencji wskazywały na możliwość wystąpienia w tych cząsteczkach efektywnego przejścia międzysystemowego ze stanu singletowego S_1 do stanu trypletowego T_1 , a tym samym na możliwość efektywnego generowania przez nie tlenu singletowego.

Wydajność kwantową generowania tlenu singletowego przez fotosensybilizatory w wybranych rozpuszczalnikach określono przy użyciu dwóch metod. Pierwszą z zastosowanych metod było wygaszanie chemiczne z użyciem 9,10-dimetyloantracenu (DMA) lub 1,3-difenyloizobenzofuranu (DPBF), jako akceptorów tlenu singletowego. Metoda ta jednak nie pozwala na selektywną ocenę wydajności generowania tlenu singletowego - przy jej zastosowaniu można ocenić efektywność generowania nie tylko tlenu singletowego, ale i innych reaktywnych form tlenu. Drugą z zastosowanych technik była bezpośrednia detekcja luminescencji tlenu singletowego. Polega ona na bezpośrednim pomiarze fosforescencji tlenu singletowego przy długości fali 1270 nm. Wyniki otrzymane obiema metodami dowiodły wysokich zdolności generowania tlenu singletowego przez wszystkie badane barwniki, świadcząc o ich dobrych właściwościach fotosensybilizacyjnych. Ponadto, określono wpływ podstawników $-I$ oraz $-CF_3$ na wydajność kwantową generacji tlenu singletowego, otrzymując wyniki potwierdzające wpływ efektu ciężkiego atomu na aktywność fotochemiczną fotosensybilizatorów.

W kolejnym etapie dokonano oceny fotostabilności zastosowanych fotouczulaczy. Zauważono, że pod wpływem światła ulegają one fotodegradacji i określono kinetykę fotodegradacji. Cecha ta ze względu, na możliwość szybkiego usunięcia leków z organizmu, może zostać uznana za dodatkowy atut tych połączeń, jako potencjalnych fotosensybilizatorów w PDT, ponieważ związki ulegające szybkiej fotodegradacji szybciej ulegają eliminacji z ciała pacjenta, nie narażając go na uciążliwe skutki długotrwałej fototoksyczności po zakończeniu leczenia.

Częstym problem dotyczącym fotosensybilizatorów używanych w badaniach związanych z PDT jest ich niska rozpuszczalność w wodzie. Dlatego też, podjęto badania nad możliwością otrzymywania ich formułacji liposomalnych. W tym celu przeprowadzono badania oddziaływań używanych barwników z błoną lipidową. Przeprowadzono eksperymenty mające na celu określenie wnikania badanych połączeń do membrany zbudowanej z L- α -fosfatydylocholino (EYPC). Ftalocyjaniny $ZnPc(t-Bu)_4I_4$, $ZnPc(t-Bu)_4(CF_3)_4$ wykazały niską zdolność penetracyjną błony. Problem ten rozwiązano poprzez modyfikację dwuwarstwy polietylenoglikolem (PEG). Wnikanie badanych substancji do warstwy lipidowej liposomów zostało dodatkowo potwierdzone za pomocą skaningowej mikroskopii konfokalnej (LSCM) oraz skaningowej kalorymetrii mikro różnicowej (microDSC). Nośniki fotosensybilizatorów oparte na liposomach pozwalają na zmniejszenie ich toksyczności w organizmie pacjenta, umożliwiając jednocześnie efektywne dostarczanie użytych hydrofobowych fotosensybilizatorów do tkanki nowotworowej.