



UNIwersytet JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Badania spektroskopowe chiralnych ksantofili oraz ich supramolekularnych agregatów

mgr Grzegorz Zając

Głównym celem naukowym pracy doktorskiej jest analiza spektroskopowa chiralnych ksantofili oraz ich struktur supramolekularnych, przy zastosowaniu różnych metod spektroskopowych: spektroskopia ramanowska, spektroskopia absorpcyjna UV-Vis, ramanowska aktywność optyczna – ROA (ang. *Raman Optical Activity*) i elektronowy dichroizm kołowy – ECD (ang. *Electronic Circular Dichroism*). Ze względu na właściwości badanych układów szczególnie skupiono się na ramanowskiej aktywności optycznej ze wzmocnieniem rezonansowym (RROA) oraz na zgłębieniu nowo odkrytego, efektu – rezonansowego wzmocnienia sygnału ROA indukowanego agregacją ksantofili (AIRROA – ang. *Aggregation-Induced Resonance Raman Optical Activity*). Efekt AIRROA daje nadzieję na pomiary ROA układów chiralnych o bardzo niskim stężeniu, nawet kilka rzędów wielkości niższym niż w przypadku konwencjonalnej spektroskopii ROA bez wzmocnienia rezonansowego. Przedmiotem badań w trakcie doktoratu są związki chemiczne z grupy ksantofili będące naturalnymi, żółto-czerwonymi barwnikami organicznymi, które ze względu na swoje wysokie właściwości przeciwutleniające, pełnią rolę ochronną przeciw chorobom układu sercowo-naczyniowego, układu odpornościowego oraz

przeciwko stanom zapalnym i chorobom neurodegeneracyjnym. Ksantofile w odpowiednich warunkach, również biologicznych, ulegają zjawisku agregacji tworząc struktury supramolekularne o nie do końca poznanej budowie, co prowadzi do zmiany ich właściwości, takich jak trwałość, biodostępność, czy właściwości przeciwutleniające. Dlatego badania procesu agregacji ksantofili są bardzo istotne.

W ramach doktoratu zrealizowano trzy zadania badawcze. 1/ Pomiary spektroskopowe monomerów chiralnych ksantofili oraz ich analiza strukturalna. 2/ Synteza i pomiary spektroskopowe agregatów wybranych ksantofili. 3/ Opis i interpretacja wyników w oparciu o modele teoretyczne, wykorzystujące obliczenia kwantowo-chemiczne oraz symulacje metodami dynamiki molekularnej. Najważniejszym osiągnięciem prowadzonych badań jest odkrycie nowego efektu rezonansowego wzmocnienia sygnału ROA (AIRROA), zarejestrowanego po raz pierwszy dla agregatów astaksantyny (AXT) oraz potwierdzonego dla innych ksantofili (luteiny i pochodnych). Wykazano, że aby doszło do rejestracji tego efektu, niezbędne jest aby długość fali przejścia elektronowego znajdowała się w pobliżu długości fali linii lasera spektrometru ROA (warunki rezonansowe bądź warunki pre-rezonansowe), co więcej, chromofor (lub układ chromoforów) biorący udział w rezonansowym przejściu elektronowym musi być chiralny lub współtworzyć supramolekularną strukturę chiralną. Kolejnym osiągnięciem jest usystematyzowanie znanych w literaturze markerów spektroskopowych na widmach ramanowskich różnych typów agregatów ksantofili oraz zaproponowanie nowych, bardziej subtelnych zmian widmowych charakterystycznych dla poszczególnych struktur supramolekularnych. W trakcie pracy dokonano również analizy struktury agregatów AXT w oparciu o obliczenia dynamiki molekularnej oraz obliczenia kwantowo-chemiczne widm absorpcyjnych UV-Vis oraz ECD agregatów H i J oraz AXT w formie monomerycznej. Obliczenia dynamiki molekularnej agregatów AXT pokazały analogiczne trendy w zmianach strukturalnych oraz widmowych, jakie można zaobserwować w pomiarach eksperymentalnych agregatów H i J.

Pierwszym markerem spektroskopowym obserwowanym w trakcie pomiarów poszczególnych agregatów były przesunięcia oraz zmiany w szerokościach połówkowych pasm absorpcji UV-Vis. W zależności od typu agregatów, obserwowano przesunięcia hipsochromowe, zwężenie głównego pasma absorpcji oraz brak struktury elektronowo-oscylacyjnej (o ile taka występowała) – agregaty H, bądź przesunięcie batochromowe, poszerzenie pasma absorpcji oraz

zachowanie struktury subtelnej – agregaty J. Spektroskopia ECD również pozwala na identyfikację i analizę strukturalną supramolekularnych agregatów ksantofili i jest użyteczna przede wszystkim w ocenie ich chiralności i struktury przestrzennej. Na widmach ECD agregatów ksantofili, w zakresie absorpcji głównego przejścia elektronowego, pojawiają się intensywne pasma ECD, świadczące o indukcji chiralności w łańcuchu polienowym. Jednocześnie, zarejestrowane widma ECD pokazują, że mamy do czynienia z chiralnością ekscytonową (dwuznakowe efekty Cottona dla jednego pasma absorpcji), wynikającą z chiralnego (helikalnego) ułożenia w przestrzeni dwóch (lub więcej) nie sprzężonych ze sobą chromoforów. Widma ECD enancjomerów poszczególnych agregatów AXT, charakteryzują się sygnałami będącymi odbiciami lustrzanymi, co świadczy, że struktury tych agregatów również są swoimi odbiciami lustrzanymi. Dodatkowo, kolejność znaków pasm w dwuznakowym efekcie Cottona (idąc od fal dłuższych do fal krótszych) pozwala ocenić skrętność helisy (helikalność) badanych układów supramolekularnych. Znak efektów Cottona w kolejności dodatni-ujemny oznacza helisę prawoskrętną (dodatnia chiralność ekscytonowa) z kolei ujemny-dodatni, lewoskrętną (ujemna chiralność ekscytonowa).

Spektroskopia ramanowska również pozwala na badanie procesu agregacji oraz identyfikację struktur supramolekularnych. W trakcie pomiarów wszystkich agregatów ksantofili zaobserwowano zmianę położenia pasma ν_1 (drżanie rozciągające C=C), w stosunku do położenia tego pasma dla monomerów poszczególnych ksantofili. Dla każdego badanego związku po agregacji zaobserwowano przesunięcie położenie pasma ν_1 w kierunku niższych częstości. W przypadku agregatów J AXT pasmo ν_1 przesuwa się o 5 cm^{-1} , natomiast jeśli chodzi o agregaty H1 przesunięcie jest nieco niższe i wynosi około 3 cm^{-1} . Dla agregatów H i J AXT zauważyć można również obniżenie linii bazowej, co związane jest ze zmniejszeniem intensywności fluorescencji.

Zarejestrowane po raz pierwszy dla AXT rezonansowe widma ROA agregatów ksantofili (AIRROA) charakteryzują się jednoznakowością pasm a ich znak jest przeciwny do pasma ECD związanego z rezonansowym przejściem elektronowym. Co więcej, widma enancjomerów AXT są swoimi idealnymi odbiciami lustrzanymi a dla mieszaniny racemicznej oraz dla AXT w formie niezwiązanej nie zaobserwowano żadnego sygnału ROA, co świadczy, że otrzymane widma AIRROA nie są artefaktami. Ponadto, wartości CID (ROA/Raman) i czynnika g (ECD/UV-Vis) dla przeważającej większości badanych układów, są porównywalne, a więc intensywność zarejestrowanych widm RROA jest dwukrotnie wyższa niż wynikałoby to z teorii Nafiego,

dotyczącej rezonansowej spektroskopii ROA ze wzbudzeniem na pojedynczy stan elektronowy. Zatem agregacja ksantofili jest powodem jeszcze większego wzmocnienia sygnału, niż wynikałoby to z podstawowej teorii RROA. Zarejestrowane widma AIRROA są tak intensywne, że możliwa staje się obserwacja nadtonów oraz pasm kombinacyjnych, co jest raczej rzadkością dla spektroskopii ROA. Kolejnym interesującym zjawiskiem, obserwowanym dla większości badanych agregatów jest nieprzefiltrowane, bardzo intensywne, pasmo rozpraszania Rayleigha (poniżej 300 cm^{-1}), które jest odbiciem lustrzanym dla enancjomerów AXT. Otrzymane wyniki, mogą być pierwszą eksperymentalną obserwacją chiralnooptycznego efektu RayOA, czyli aktywności optycznej pasma Rayleigha (ang. *Rayleigh Optical Activity*). Dla agregatów J AXT, zaobserwowano również indukcję chiralności acetonu – składnika roztworu będącego w bliskim kontakcie z chiralną strukturą agregatu. Jak pokazują obliczenia dynamiki molekularnej, aceton skupia się wokół powstającego agregatu AXT. Kontakt chiralnych agregatów AXT poprzez wiązania wodorowe z achiralnym rozpuszczalnikiem powoduje, że on również staje się chiralny, co obserwować można w postaci pojawiających się na widmie ROA pasm acetonu.