

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra anorganické chemie

---

# Studium nových zdrojů singletového kyslíku

Bakalářská práce

studijního programu Klinická a toxikologická analýza

Praha 2008

Veronika Hrdinková

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Jiřího Mosingera Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne.....

.....

podpis

Ráda bych poděkovala mému školiteli RNDr. Jiřímu Mosingerovi, Ph.D za laskavou pomoc a poskytnutí mnoha cenných rad při vedení mé bakalářské práce.

<b>1 Úvod</b> .....	8
1.1 Singletový kyslík a fotosensitizované reakce.....	8
1.1.1 Vlastnosti singletového kyslíku a způsoby jeho generování.....	8
1.1.2 Fotosensitizované reakce.....	9
1.1.3 Reakce singletového kyslíku.....	10
1.1.4 Detekce singletového kyslíku.....	11
1.2 Endoperoxidy jako sekundární zdroje $^1\text{O}_2$ .....	13
1.3 Fotosensitizery.....	14
1.3.1 Obecné vlastnosti sensitizerů.....	14
1.3.2 Porfyriny a ftalocyaniny.....	15
1.4 Nanotkaniny.....	16
<b>2 Cíl práce</b> .....	18
<b>3 Experimentální část</b> .....	19
3.1 Použité chemikálie a roztoky.....	19
3.1.1 Chemikálie.....	19
3.1.2 Roztoky.....	19
3.2 Přístroje a metody.....	20
3.2.1 Kinetika vzniku endoperoxidu.....	20
3.2.2 Hmotnostní detekce endoperoxidu.....	20
3.2.3 Závislost $t_{1/2}$ na teplotě a $E_a$ reakce.....	21
3.2.4 Porovnání fotoprodukce $^1\text{O}_2$ u nanotkanin s enkapsulovaným sensitizerem jodidovou metodou.....	21
3.2.5 Porovnání fotoprodukce $^1\text{O}_2$ u nanotkanin s enkapsulovaným sensitizerem metodou odbarvování sodné soli kyseliny močové.....	23
3.2.6 Závislost produkce $^1\text{O}_2$ na intenzitě světla.....	23
<b>4 Výsledky a diskuse</b> .....	24
4.1 Kinetika vzniku a dekompozice endoperoxidu $\text{DMNO}_2$ .....	24

4.2	Závislost $t_{1/2}$ endoperoxidu na teplotě a $E_a$ reakce .....	28
4.3	Porovnání fotoprodukce $^1\text{O}_2$ u nanotkanin s enkapsulovanými sensitizery.....	30
4.4	Závislost produkce $^1\text{O}_2$ na intenzitě světla.....	37
<b>5</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>44</b>

## SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

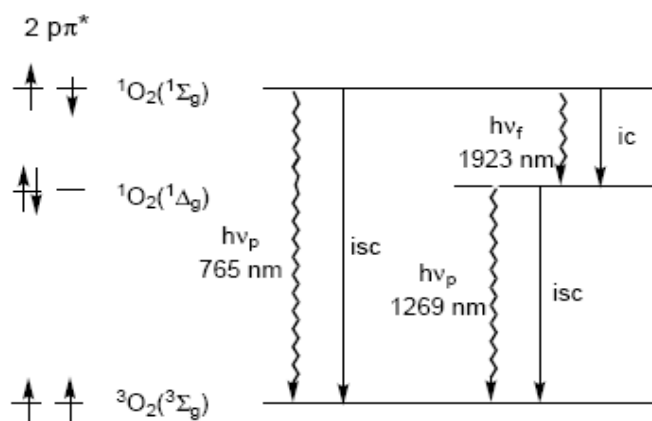
A	Absorbance
$A_{291}$	Absorbance při 291 nm
DMN	1,4-dimethylnaftalen
DMNO <sub>2</sub>	endoperoxid 1,4-dimethylnaftalenu
H <sub>2</sub> TPP <sup>2+</sup>	diprotonizovaná forma 5, 10, 15, 20- <i>meso</i> -tetrafenylporfyriu
$h\nu_f$	fluorescence
$h\nu_p$	fosforescence
$\bar{I}$	jodidový anion
$I_3^-$	trijodidový anion
ic	interní konverze („internal conversion“)
isc	mezisystémový přechod („intersystem crossing“)
k	rychlostní konstanta (s <sup>-1</sup> )
Pc	ftalocyanin
PUR	polyurethan
PDT	fotodynamická terapie („photodynamic therapy“)
pHm	plošná hmotnost (g/ m <sup>2</sup> )
S	sensitizer
T	teplota (°C)
$t_{1/2}$	poločas dekompozice (s)
TPP	5, 10, 15, 20 - <i>meso</i> - tetrafenylporfyrin
UV/VIS	ultrafialové / viditelné záření
UA	sodná sůl kyseliny močové
ZnTPP	zinečnatý komplex 5, 10, 15, 20 - <i>meso</i> - tetrafenylporfyriu
ZnPc	zinečnatý komplex ftalocyaninu
$\lambda$	vlnová délka (nm)
$\Phi_{\Delta}$	kvantový výtěžek singletového kyslíku
$\epsilon_{417}$	molární absorpční koeficient při 417 nm (M <sup>-1</sup> ×cm <sup>-1</sup> )
<sup>3</sup> O <sub>2</sub>	kyslík v tripletovém stavu
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	kyslík v singletovém stavu

# 1 Úvod

## 1.1 Singletový kyslík a fotosensitizované reakce

### 1.1.1 Vlastnosti singletového kyslíku a způsoby jeho generování

Molekulární kyslík se běžně vyskytuje v základním tripletovém stavu  $^3\text{O}_2$  ( $^3\Sigma_g^-$ ), kde obsahuje v nejvyšších antivazebných orbitalech  $\pi^*$  dva nepárové elektrony s paralelními spiny, multiplicita spinu je tedy 3 (triplet). Termínem singletový kyslík  $^1\text{O}_2$  jsou označovány molekuly kyslíku v nejnižších excitovaných stavech  $^1\Sigma_g^+$  a  $^1\Delta_g$  [1, 2]. Pokud mají dva elektrony, které zůstávají v jednotlivých  $\pi^*$  orbitalech nespárovány, opačný spin, dochází ke vzniku singletového excitovaného stavu  $^1\Sigma_g^+$ . Jestliže jsou v jednom  $\pi^*$  orbitalu dva elektrony s opačnými spiny, vzniká singletový stav  $^1\Delta_g$  [2, 3]. Na obrázku 1 je znázorněn energetický diagram přechodů mezi základním a excitovanými stavy kyslíku. Vodorovné čáry na obrázku naznačují energetické hladiny, rovné šipky značí nezářivé přechody a vlnité šipky přechody zářivé (Obr. 1).



**Obr.1: Energetický diagram zářivých a nezářivých přechodů mezi základním a excitovanými stavy kyslíku**

(*ic* = interní konverze, *isc* = mezisystémový přechod, *hv<sub>f</sub>* = fluorescence, *hv<sub>p</sub>* = fosforescence)

Protože jsou podle spinového pravidla elektronové přechody se změnou spinu zakázány, má kyslík v základním tripletovém stavu dlouhou dobu života a omezenou reaktivitu s většinou běžných látek, které jsou ve stavu singletovém (např. org. sloučeniny, anorganické anionty, obecné plyny, nepřechodné kovy) [1]. Reakce probíhají jen za omezených podmínek a mají vysokou aktivační energii ( $E_a$ ). Bez spinového pravidla by vzdušný kyslík většinu organické hmoty na Zemi zoxidoval na oxid uhličitý a vodu [1].

Singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ) je naopak velmi reaktivní částicí, protože jeho reakce s většinou látek jsou spinově dovolené. Pro tuto jeho vlastnost a s ní spojenou oxidativní cytotoxicitou je  $^1\text{O}_2$  předmětem mnoha vědeckých studií [1]. Z důvodu krátké doby života (ps až ns)  $^1\Sigma_g^+$  nebyla prokázána jeho účast ve fotooxidačních reakcích, většinou se tedy ve spojitosti s oxidativními a cytotoxickými vlastnostmi singletového kyslíku hovoří o  $^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ ), která je o 3-6 řádů déle žijící formou  $^1\text{O}_2$  [1, 4, 5].

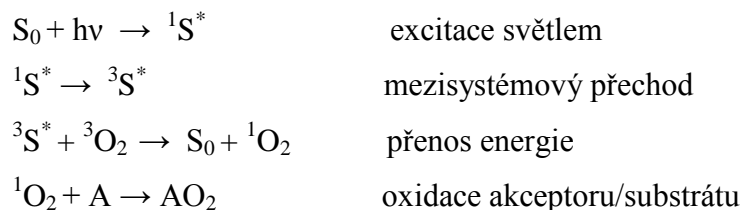
Singletový kyslík vzniká řadou fyzikálních, chemických, fotochemických nebo biologických reakcí [6]. Příkladem fyzikálního procesu pro generování  $^1\text{O}_2$  je mikrovlnný výboj v kyslíkové atmosféře [1]. Častou metodou chemické generace  $^1\text{O}_2$  je použití směsi  $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{MoO}_4^{2-}$  nebo  $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{ClO}^-$  [1, 7]. Metody jsou založeny na disproportionaci peroxidu vodíku na vodu a kyslík v jeho singletovém stavu. V živých organismech se  $^1\text{O}_2$  může vytvářet tzv. „tmavými“ reakcemi (chemickou excitací), které jsou často katalyzovány enzymy, jako např. peroxidasami nebo oxygenasami [1]. Bylo prokázáno, že v biologických systémech se takto generovaný singletový kyslík podílí na ochranných mechanismech proti bakteriím a virům [1].

Zvláštní význam pro vznik  $^1\text{O}_2$  mají fotosensitizované reakce – světlem iniciované reakce sloučenin obsahujících chromofory, po jejichž excitaci se přenáší absorbovaná energie na kyslík za vzniku  $^1\text{O}_2$  [8].

### 1.1.2 Fotosensitizované reakce

Fotosensitizované reakce jsou založeny na schopnosti tzv. sensitizeru zprostředkovat fotooxidaci různých látek [7, 8]. Sensitizer (S) absorbuje viditelné světlo, excituje se a přechází ze základního stavu ( $S_0$ ) přes krátce žijící excitovaný singletový stav ( $^1S^*$ ) do stavu déle žijícího excitovaného tripletového stavu ( $^3S^*$ ). Tripletový stav může být zhasen přenosem energie na molekulu kyslíku v základním tripletovém stavu ( $^3\text{O}_2$ ) za vzniku singletového kyslíku ( $^1\text{O}_2$ ). Sensitizer se přenosem energie vrací zpět do základního stavu [1, 4]. Průběh fotosensitizované reakce lze popsat následujícím schématem.

### Schéma: *Reakční schéma fotodynamické reakce*



Je-li sensitizer v excitovaném tripletovém stavu ( ${}^3S^*$ ), k jeho zhášení nemusí dojít pouze přenosem energie na molekulární kyslík, ale může přímo reagovat s molekulami substrátu nebo rozpouštědla např. mechanismem přenosu náboje. Produktem reakcí jsou volné radikály nebo ion-radikály, které mohou následně reagovat s molekulárním kyslíkem za vzniku různých oxidačních produktů, především superoxidového anion-radikálu ( $O_2^-$ ). Oba typy zhášecích reakcí sensitizeru probíhají současně a jejich zastoupení závisí na použitém sensitizeru, koncentraci kyslíku a substrátu a na způsobu interakce sensitizeru se substrátem [1, 4, 7].

Fotosensitizované reakce nalézají široké uplatnění ve fotobiologii, fotomedicíně při léčbě rakoviny nebo aterosklerozy, při inaktivaci bakterií a virů, v nových insekticidech a herbicidech [8]. Velmi sledovanou oblastí využití cytotoxicity  ${}^1O_2$  a jeho „*in situ*“ působení je tzv. „fotodynamická terapie rakoviny“ („Photodynamic therapy“, PDT), která spočívá v aplikaci sensitizeru většinou intravenózní formou a jeho selektivní akumulaci v tumorech [1, 6, 8]. Poté je postižená oblast ozářena viditelným světlem za fotogenerace  ${}^1O_2$  a případně i dalších reaktivních částic přímo v neoplastických tkáních. Vzhledem ke krátké době života  ${}^1O_2$  (v řádu  $\mu s$ ) a tedy krátkému difúznímu dosahu, cytotoxický  ${}^1O_2$  především destruuje blízké okolí místa, kde byl fotogenerován, tedy vlastní tumorovou tkáň [1].

#### 1.1.3 Reakce singletového kyslíku

Jak již bylo řečeno, singletový kyslík je mnohem reaktivnější než kyslík v základním tripletovém stavu. Má silné oxidační vlastnosti, z toho důvodu je často používán v organické syntéze jako silné a selektivně působící oxidační činidlo [6]. Typickými reakcemi  ${}^1O_2$  jsou adice na dvojná vazby  $C=C$ , izolované nebo konjugované, u olefinů, aromatických sloučenin

či heterocyklů [1, 6-9]. Základními a charakteristickými adicemi jsou především tyto tři reakce:

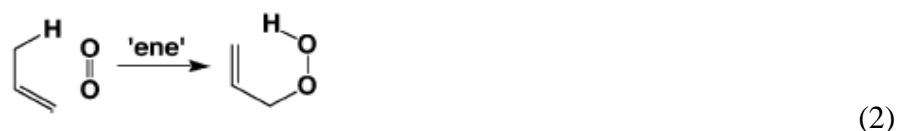
1) Přímá 2+2 cykloadice

Reakce probíhá na elektronově bohatých olefinech nebo olefinech se stericky nepřístupnými allylickými vodíky. Produkty 2+2 cykloadice jsou 1,2-dioxetany (viz rov. 1).



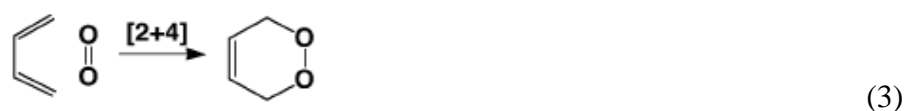
2) Schenckova "ene" reakce

Reakci podléhají alkeny s alespoň jedním allylovým vodíkem a vznikají hydroperoxy s posunutou dvojnou vazbou do přilehlé polohy (viz rov. 2).



3) Diels-Alderova 4+2 cykloadice

Reakce probíhá na acyklických, cyklických i aromatických 1,3-dienech a produktem jsou různě stabilní endoperoxidy (viz rov. 3).



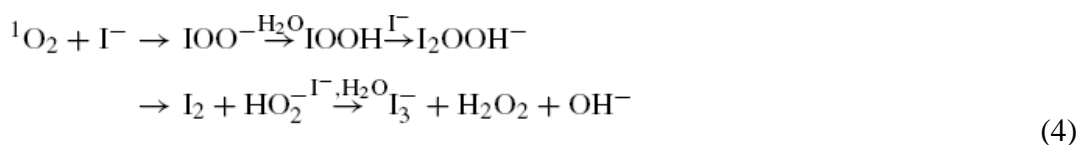
### 1.1.4 Detekce singletového kyslíku

Charakteristické reakce  $^1\text{O}_2$  lze využít pro jeho detekci a určení generovaného množství. Důkazem, že fotosensitizované reakce zahrnuje produkci  $^1\text{O}_2$ , slouží její porovnání s průběhem reakce, kde je  $^1\text{O}_2$  generován jiným způsobem za použití stejných substrátů (reakce peroxidu vodíku s alkalickým chlornanem, tepelný rozklad endoperoxidu atd). Vychází se z důkladné znalosti reakce s daným substrátem, pak je možné přítomnost i množství  $^1\text{O}_2$  určit na základě tvorby charakteristických primárních či sekundárních produktů fotooxidace [1].

Nejběžnějšími metodami detekce jsou tzv. odbarvovací metody, především pro reakce v roztocích [10]. Barevný substrát (akceptor) se během reakce odbarvuje úměrně množství generovaného  $^1\text{O}_2$ , což lze dobře pozorovat spektrofotometricky jako pokles absorpčních pásů akceptoru. Chromofory akceptoru jsou většinou tvořeny konjugovaným systémem dvojných vazeb, se kterými  $^1\text{O}_2$  reaguje za vzniku endo- či hydroperoxidů [1]. Tyto metody bývají velmi citlivé a jednoduché, ale je třeba zohlednit jistá omezení. Ty se týkají především toho, že během reakce může nastat nežádoucí donor-akceptorový přenos elektronů či energie mezi excitovaným sensitizérem a akceptorem v základním stavu. Je-li sensitizér i akceptor rozpuštěn ve stejném rozpouštědle, musí mít i podobnou polaritu. Důležitou podmínkou je, aby se absorpční pásy sensitizéru a akceptoru nepřekrývaly z důvodu filtrového efektu během excitace a obtížím při vyhodnocování absorpčního spektra.

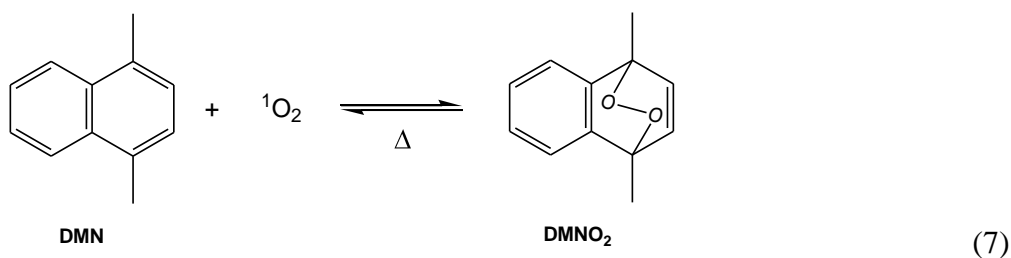
Při stanovení  $^1\text{O}_2$  ve vodném prostředí se doporučuje využít například odbarvovací „bleaching“ reakce s kyselinou močovou, kde odbarvování nastává při  $\lambda = 292 \text{ nm}$  [10]. V nevodném prostředí se používá například reakce s 1,3-difenylisobenzofuranem (odbarvování při  $\lambda = 440 \text{ nm}$ ) [1, 7, 11, 12].

Pro detekci  $^1\text{O}_2$  ve vodném prostředí se též používá tzv. jodidová metoda. Ta je založena na reakci singletového kyslíku s jodidovým anionem, přičemž vzniká trijodidový anion ( $\text{I}_3^-$ ), jehož množství je přímo úměrné singletovému kyslíku. Trijodidový anion absorbuje v blízké ultrafialové oblasti a jeho tvorbu lze sledovat spektrofotometricky za vysokého přebytku substrátu ( $\text{I}^-$ ) [6]. Reakce je velmi citlivá, její reakční mechanismus vystihují rov. 4 – 6.



## 1.2 Endoperoxidy jako sekundární zdroje $^1\text{O}_2$

Další výhodnou metodou generování  $^1\text{O}_2$  je termolýza endoperoxidů polycyklických aromatických sloučenin, kterou se získá příslušný prekurzor endoperoxidu a molekulární kyslík částečně v singletovém stavu, na základě vratné reakce k 4+2 cykloadici (viz rov.7) [7,11, 12].



Aromatické endoperoxidy je proto možné nazývat sekundárními zdroji singletového kyslíku [7]. Sloučeniny absorbují ve viditelné nebo ultrafialové oblasti a je proto možné je sledovat spektrofotometricky. Termické stability endoperoxidů jsou různé, termální dekompozice trvají různou dobu, pro jejich charakterizaci se používá poločas dekompozice ( $t_{1/2}$ ), tj. čas, za který se z poloviny rozloží [8]. Nejpoužívanějšími prekurzory pro tvorbu endoperoxidů jsou deriváty naftalenu a anthracenu. Deriváty těchto sloučenin absorbují v rozmezí 200 – 400 nm s maximy kolem 288 nm (naftalenové deriváty) a 268 nm (anthracenové deriváty) [11]. Absorbance vznikajících endoperoxidů je v této oblasti naopak zanedbatelná, takže se jejich vznik a dekompozice dají dobře pozorovat jako pokles a nárůst absorpčních pásů prekurzorů. Anthracenové endoperoxidy jsou stabilní přibližně v rozmezí 60 - 100°C [6]. Naftalenové endoperoxidy jsou obecně méně stabilní než anthracenové, teploty potřebné k jejich dekompozici a uvolnění  $^1\text{O}_2$  jsou nižší, v rozmezí 30 - 50°C [12]. Velice perspektivním naftalenovým derivátem je 1,4-dimethylnaftalen (DMN), u kterého se předpokládá, že zpětná termická dekompozice příslušného endoperoxidu zpět na DMN probíhá takřka ze 100 % [7].

## 1.3 Fotosensitizery

### 1.3.1 Obecné vlastnosti sensitizerů

V souvislosti s aplikacemi ve fotobiologii a fotomedicíně, zejména v oblasti „fotodynamické terapie rakoviny“, se rozvinulo studium sensitizerů produkujících  $^1\text{O}_2$ . K této skupině látek patří velký počet barviv, aromatických a heterocyklických organických sloučenin a barevných kovových komplexů [2]. Jak již bylo uvedeno, zhášení tripletových stavů sensitizeru kyslíkem může probíhat buď přenosem elektronu za vzniku  $\text{O}_2^-$  nebo přenosem energie vedoucí ke vzniku  $^1\text{O}_2$ . Sensitizery typu  $n\pi^*$ , jejichž excitovaný elektron pochází z ne vazebného orbitalu n, poskytují především  $\text{O}_2^-$ . Sensitizery  $\pi\pi^*$ , jejichž excitovaný elektron pochází z  $\pi$  orbitalu, poskytují  $^1\text{O}_2$  [1]. K těmto typům sensitizerů patří barviva jako např. eosin, akridin, anthracen, methylenová modř, dále pak porfyriny, ftalocyaniny, expandované porfyriny a jejich metalokomplexy [4]. Látky s porfyrinoidní strukturou (tetrapyrrolové resp. oligopyrrolové makrocykly) nalézají uplatnění právě ve fotobiologických a fotomedicinských aplikacích [1, 6, 13].

Důležitými charakteristikami sensitizerů jsou:

- 1) Kvantový výtěžek singletového kyslíku  $\Phi_\Delta$

$$\Phi_\Delta = (\text{počet molekul } ^1\text{O}_2 / \text{počet světelných kvant absorbovaných sensitizerem})$$

- 2) Fotostabilita sensitizeru

Sensitizer musí být dostatečně stabilní vůči přímé fotodegradaci a oxidaci vznikajícím  $^1\text{O}_2$ , případně dalšími reaktivními formami kyslíku.

- 3) Pro medicínské aplikace (především PDT) jsou důležité následující vlastnosti:

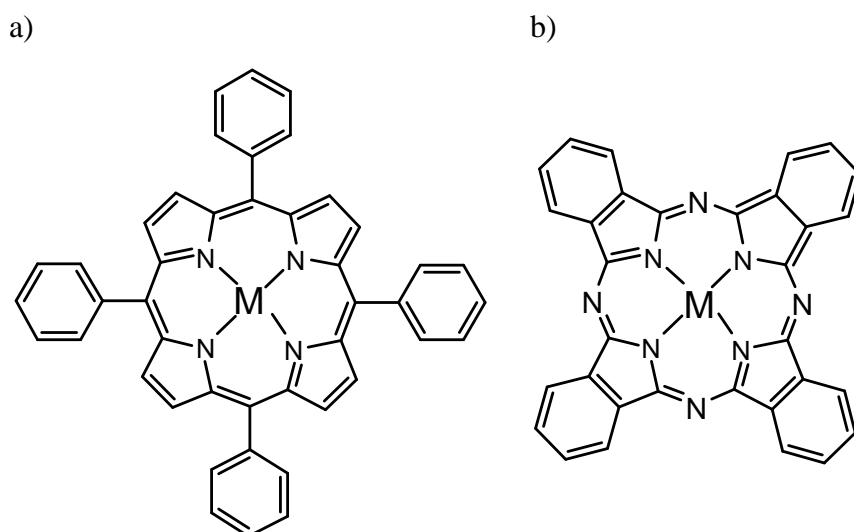
- a) Nízká „temná toxicita“ sensitizeru
- b) Selektivita sensitizeru k cílové tkáni
- c) Vhodná absorbance sensitizeru, především v červené oblasti VIS, neboť excitační záření v červené oblasti VIS dobře prochází tkání
- d) Fluorescence (pro možnost fluorescenčního sledování sensitizeru v tkáních)

Sensitizer se obvykle používají v homogenních roztocích, velmi výhodné je však sensitizer „ukotvit“ na vhodné heterogenní nosiče. Výhodou je fakt, že např. pro chemické reakce lze sensitizer po proběhnutí reakce bez problémů odstranit, popř. použít znovu, narozdíl od reakcí v homogenních roztocích [8].

### 1.3.2 Porfyriny a ftalocyaniny

Typickými sensitizer jsou různě substituované porfyriny, volné ligandy, ale i metalokomplexy s centrálními ionty Al, Zn, Mg, Ga, Si, Ge, Sn nebo lanthanoidy [2, 4]. Komplexy s přechodnými kovy jsou jako senzitizer neúčinné, protože jejich doby života v tripletových stavech jsou v řádu ps až ns, což nestačí k proběhnutí reakce s bimolekulárním kyslíkem. V UV/VIS oblasti mají porfyriny charakteristické spektrum s intenzivním tzv. Soretovým pásem (kolem 400 nm) a sérii méně intenzivních Q-pásů (500-700 nm). Velmi účinným sensitizerem je 5,10,15,20-*meso*-tetrafenylporfyrin (TPP), který poskytuje fotosensitizovanou reakci  $^1\text{O}_2$  s kvantovým výtěžkem 0,62 - 0,74 [5, 14]. Ftalocyaniny (Pc) jsou odvozeny od základního skeletu tetraazoporfyriu (porfyrinu) a mají velmi vhodnou absorpci v červené oblasti VIS spektra [1, 4].

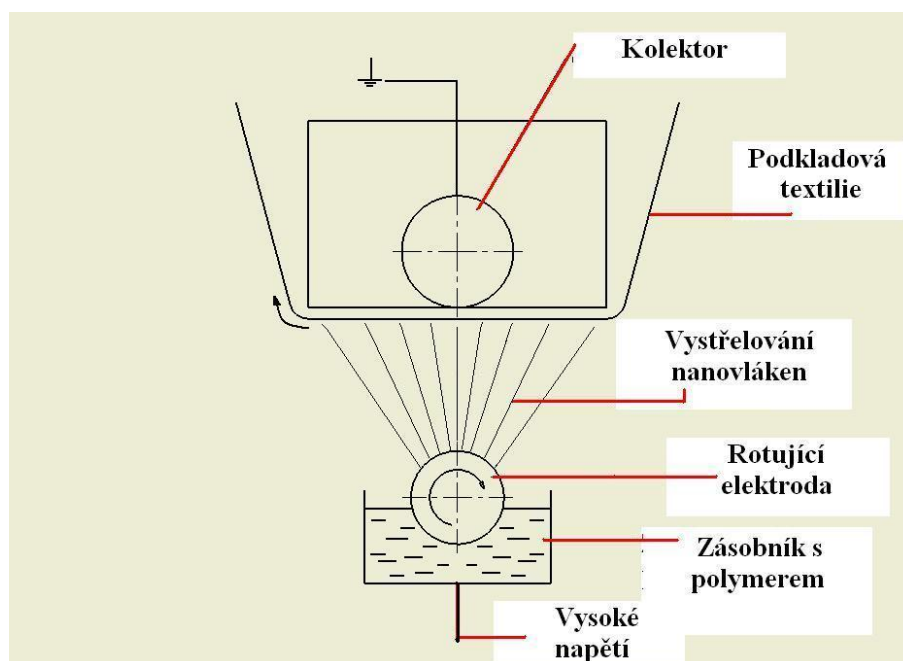
V této práci byly jako sensitizer použity zinečnatý komplex ftalocyaninu (ZnPc) a zinečnatý komplex tetrafenylporfyriu (ZnTPP) (Obr.2).



Obr. 2: a) *Strukturní vzorec ZnTPP (M=Zn<sup>2+</sup>); TPP (M=2H<sup>+</sup>)*  
 b) *Strukturní vzorec ZnPc (M= Zn<sup>2+</sup>)*

## 1.4 Nanotkaniny

Tkaniny tvořené z polymerních nanovláken se staly široce užívaným materiálem díky jejich výjimečným vlastnostem, jako je vysoká prodyšnost, velký specifický povrch a nízká hmotnost, nízká cena, atd. Oblast aplikace zahrnuje využití nanotkanin jako filtračního materiálu, nosiče katalyzátorů, podpůrného materiálu pro buněčnou kultivaci, materiál pro krytí ran v medicíně atd [5]. Nanotkaniny lze především připravit metodou „electrospinning“ [5]. Průmyslovou výrobu nanotkanin jako první na světě zvládla Technická univerzita v Liberci ve spojení s firmou Elmarco s.r.o [15]. Princip technologie průmyslové výroby nanotkanin je uveden na obrázku 3. Nabitá elektroda ve formě rotujícího válečku je částečně ponořena do zásobníku s roztokem daného polymeru. Z povrchu rotujícího válečku jsou vystřelována nanovlákna obvykle o průměru cca 200 – 500 nm k opačně nabitě plošné elektrodě (kolektoru) překryté polypropylenovou podkladovou textilií. Podkladová textilie se rovnoměrně pohybuje jedním směrem po uzemněném kolektoru a dopadá na ni vrstva utvořených nanovláken. Tloušťka nanotkaniny je řízena lineární rychlostí podkladové textilie, obvykle je plošná hmotnost vrstvy nanovláken přibližně 1-2 g/m<sup>2</sup> a podpůrné textilie 20 g/m<sup>2</sup> [5].



**Obr. 3:** Princip technologie výroby nanotkanin metodou „electrospinning“

Ve spolupráci s TU Liberec a firmou Elmarco s.r.o byly v naší laboratoři testovány sensitizery enkapsulované do polyurethanových vláken nanotkanin [5]. Porfyrinové sensitizery enkapsulované v nanotkaninách prokazovaly silný oxidační a cytotoxický efekt a jsou předmětem dalšího bádání. S úspěchem byly zatím testovány dva typy polyurethanových nanotkanin PUR Larithane a PUR Tecophilic. V obou případech se jedná o alifatické elastomery se střední molekulovou hmotností  $M_v \approx 50\ 000$ . Tecophilic je podstatně více smáčivou a hydrofilní verzí a narozdíl od Larithanu je schválen pro medicinské použití [5].

Cytotoxické vlastnosti  $^1O_2$  v kombinaci s velkým specifickým povrchem, dobrou prodyšností a průsvitností polymerních nanovláken mohou vést k vytvoření jedinečných sterilních a auto-dezinfekčních materiálů [5].

Zajímavou možností využití nanotkanin fotogenerujících  $^1O_2$  je enkapsulovat do vláken nanotkanin společně se sensitizerem aromatické uhlovodíky, které po reakci s  $^1O_2$  tvoří příslušné endoperoxidy (nosiče singletového kyslíku). Po zahřátí je singletový kyslík z nosičů opět uvolněn a tím by mohla být zajištěna produkce  $^1O_2$  i po skončení ozařování.

## 2 Cíl práce

Cílem práce bylo získání podrobnějších poznatků i) o aromatických kondenzovaných uhlovodících, tvořících s  $^1\text{O}_2$  endoperoxidy, jako možných sekundárních zdrojích  $^1\text{O}_2$  ii) o nanotkaninách s více enkapsulovanými sensitizery. Práce byla proto rozdělena do dvou dílčích cílů:

1. Studium vlastností DMN jako možného akceptoru a případně sekundárního zdroje  $^1\text{O}_2$ .
2. Studium možností kvantitativního hodnocení produkce  $^1\text{O}_2$  u nanotkanin obsahujících porfyrinoidní sensitizery

## 3 Experimentální část

### 3.1 Použité chemikálie a roztoky

#### 3.1.1 Chemikálie

1,4-dimethylnaftalen 95% (Aldrich)

Chloroform  $\geq 99,8\%$  (Fluka)

Chloroform-d (min. 99,96 atom % D) (Aldrich)

Nanotkanina PUR Larithane s 0,1% ZnTPP, pHm =  $2\text{g/m}^2$  (Elmarco s.r.o)

Nanotkanina PUR Larithane s 0,1% ZnPc, pHm =  $2\text{g/m}^2$  (Elmarco s.r.o)

Nanotkanina PUR Larithane s 0,1% ZnTPP a 0,1% ZnPc, pHm =  $2\text{g/m}^2$  (Elmarco s.r.o)

Nanotkanina PUR Tecophilic s 0,1% ZnTPP, pHm =  $2\text{g/m}^2$  (Elmarco s.r.o)

Nanotkanina PUR Tecophilic s 0,1% ZnPc, pHm =  $2\text{g/m}^2$  (Elmarco s.r.o)

Nanotkanina PUR Tecophilic s 0,1% ZnTPP a 0,1% ZnPc, pHm =  $2\text{g/m}^2$  (Elmarco s.r.o)

Sodná sůl kyseliny močové (Sigma)

TPP (poskytnuto RNDr. Jiřím Mosingerem, Ph.D.)

$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$  99,9% (Sigma-Aldrich)

NaOH p.a. (Penta)

$\text{KH}_2\text{PO}_4$   $> 99,5\%$  (Fluka)

KI  $> 99,0\%$  (Fluka)

#### 3.1.2 Roztoky

##### $7 \times 10^{-4}$ M DMN s $7 \times 10^{-6}$ M TPP v chloroformu

Zásobní roztok (4×koncentrovaný) byl připraven smícháním 43  $\mu\text{l}$  DMN s chloroformem a doplněn do 100 ml. Do roztoku bylo přidáno takové množství TPP, aby po naředění roztoku 1:3 byla absorbance TPP rovna 2,1. To odpovídá koncentraci  $7 \times 10^{-6}$  M ( $\epsilon_{417} = 3,03 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ )

##### 0,1 M jodidové detekční činidlo

0,02M sodno-draselný fosfátový pufr byl připraven rozpuštěním 2,7241 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  v deionizované vodě, pH upraveno NaOH na hodnotu 6,2 a doplněno na 1l. V pufru bylo rozpuštěno 19,92 g KI a 0,002 g  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ .

### **$1 \times 10^{-4}$ M sodná sůl kyseliny močové**

Roztok byl připraven rozpuštěním 0,0019 g sodné soli kyseliny močové v deionizované vodě a doplněno do 100 ml.

## **3.2 Přístroje a metody**

Absorpční spektra (UV/VIS) byla měřena na přístroji UV-VIS spektrofotometr UV 300 Unicam (UK) v 1 cm křemenných kyvetách.

Ozařovací experimenty byly prováděny pomocí 300 W halogenové lampy Kaiser Videolight 8 (Německo) umístěné na optické hlavici.

### **3.2.1 Kinetika vzniku endoperoxidu**

Ze zásobních roztoků DMN s a bez sensitizeru TPP (viz kap. 3.1.2.) byly připraveny pracovní roztoky naředěním chloroformem 1:3. Do zúžené křemenné kyvety se zátkou bylo odpipetováno 1200  $\mu$ l roztoku DMN s TPP nebo DMN bez TPP a změřeno příslušné absorpční spektrum. Kyveta se vzorkem byla umístěna do kovového kyvetového držáku chlazeného vodou a vzorek byl ozařován ze vzdálenosti 18 cm 300 W bílým světlem halogenové žárovky v 10-ti minutových intervalech po dobu 60 minut. Po skončení intervalu ozařování bylo vždy změřeno absorpční spektrum. Stejný postup byl opakován s roztokem DMN s TPP pouze s tím rozdílem, že vzorek byl 10 minut před a v průběhu celého ozařování syčen plynným dusíkem pro odstranění kyslíku z roztoku. U všech tří experimentů byla porovnána časová změna absorbance DMN při  $\lambda = 291$  nm.

Kinetika reakce byla též sledována v nedeuterovaném ( $\text{CHCl}_3$ ) a deuterovaném ( $\text{CDCl}_3$ ) chloroformu. Zásobní roztok DMN s TPP byl naředěn deuterovaným chloroformem 1:3 a dále bylo postupováno stejně jako v předešlém případě. Průběh obou reakcí byl porovnán.

### **3.2.2 Hmotnostní detekce endoperoxidu**

K detekci endoperoxidu v ozařovaném roztoku DMN s TPP v chloroformu byla použita metoda hmotnostní spektrometrie. Hmotnostní spektrum bylo změřeno u měrného

roztoku  $7 \times 10^{-4}$  M DMN s  $7 \times 10^{-6}$  M TPP v chloroformu ozařovaného po dobu 60 minut. Jako rozpouštědlo byl použit methanol. Hmotnostní spektra byla měřena na přístroji Esquire 3000 (Bruker) metodou ESI

### 3.2.3 Závislost $t_{1/2}$ na teplotě a $E_a$ reakce

Roztok  $7 \times 10^{-4}$  M DMN s  $7 \times 10^{-6}$  M TPP v chloroformu byl ozařován po dobu 60 minut ze vzdálenosti 18 cm 300 W bílým světlem halogenové žárovky a poté byla sledována dekompozice vzniklého endoperoxidu při teplotě  $45^\circ\text{C}$  ve vyhřívaném kyvetovém prostoru použitého UV/VIS spektrofotometru. Absorpční spektrum bylo měřeno v intervalech 10 minut, dokud nedošlo k zastavení vzrůstu absorpce DMN při  $\lambda = 291$  nm. Absorbance DMN byla vynesena v závislosti na čase dekompozice a z rovnice hyperboly byl vypočítán poločas dekompozice  $t_{1/2}$  pro který platí:

$$t_{1/2} = \ln 2 / k \quad (8)$$

k... rychlostní konstanta ( $\text{s}^{-1}$ )

Termická dekompozice endoperoxidu byla sledována při teplotách 23, 30, 35, 40, 50 a  $60^\circ\text{C}$ . Poločasy dekompozice ( $t_{1/2}$ ) při uvedených teplotách byly spočítány z rychlostních konstant reakcí a vyneseny v závislosti na teplotě dekompozice. Z lineárního tvaru Arrheniovy rovnice (viz rov. 9) byla určena aktivační energie dekompozice endoperoxidu ( $E_a$ ). Směrnice lineární regrese závislosti  $\ln k$  na  $1/T$  odpovídá výrazu  $-E_a / R$

$$\ln k = \ln A \times \exp^{(-E_a / R)} \quad (9)$$

### 3.2.4 Porovnání fotoprodukce $^1\text{O}_2$ u nanotkanin s enkapsulovaným sensitizerem jodidovou metodou

Do 1cm křemenné kyvety bylo napipetováno 2,5 ml jodidového činidla a do něj byl ponořen výstřížek nanotkaniny o rozměrech  $5 \times 5$  cm. Vzorek v kyvetě byl ozařován ze vzdálenosti 18 cm 300 W bílým světlem halogenové žárovky ve 2 minutových intervalech po dobu 10 minut. Průběžně mezi intervaly ozařování byla sledována absorbance  $\text{I}_3^-$  při 287 nm, vždy po vyjmutí nanotkaniny. Směrnice B závislosti změny absorbance  $\text{I}_3^-$  na době ozařování, odpovídající rychlostní konstantě fotogenerace  $^1\text{O}_2$ , byla porovnávána. Jako slepý pokus byla použita nanotkanina bez enkapsulovaného sensitizeru. Rovněž byl proveden srovnávací pokus

ve tmě.

### **3.2.5 Porovnání fotoprodukce $^1\text{O}_2$ u nanotkanin s enkapsulovaným sensitizerem metodou odbarvování sodné soli kyseliny močové**

Do 1 cm křemenné kyvety bylo napipetováno 2,5 ml  $1 \times 10^{-4}$  M sodné soli kyseliny močové (UA) a do roztoku bylo vloženo křemenné sklíčko (1,3 x 4,5 cm) omotané oboustranně jednou vrstvou výstřížku nanotkaniny. Vzorek v kyvetě byl ozařován ze vzdálenosti 18 cm 300 W bílým světlem halogenové žárovky ve 2 minutových intervalech po dobu 10 minut a mezi jednotlivými intervaly bylo měřeno absorpční spektrum roztoku, vždy po vyjmutí nanotkaniny. Závislost klesající absorbance UA na době ozáření byla porovnávána. Jako slepý pokus byla použita nanotkanina bez enkapsulovaného sensitizeru a rovněž byl sledován průběh reakce ve tmě.

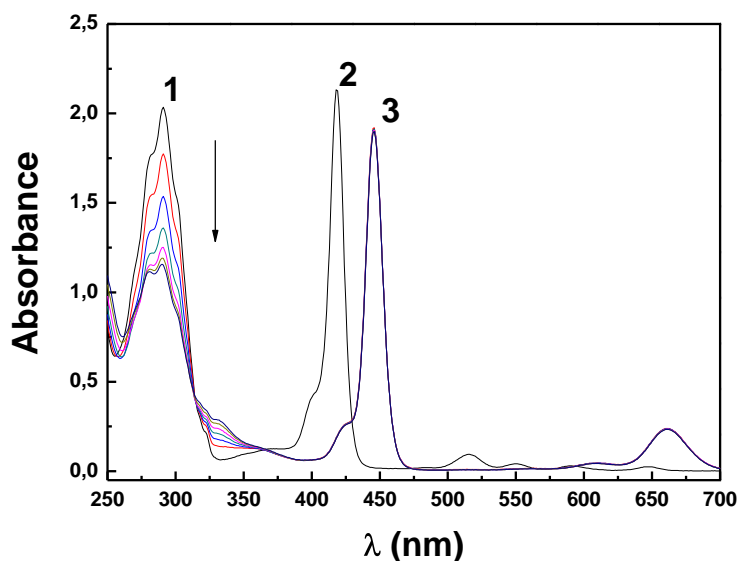
### **3.2.6 Závislost produkce $^1\text{O}_2$ na intenzitě světla absorbovaného sensitizerem**

Pro porovnání produkce  $^1\text{O}_2$  při různých intenzitách světla působících na nanotkaninu byl jako vzorek nanotkaniny použit PUR Larithane s 0,1% ZnPc a k detekci  $^1\text{O}_2$  jodidové činidlo. Do 1 cm křemenné kyvety bylo napipetováno 2,5 ml jodidového činidla a do něj vložen výstřížek nanotkaniny o rozměrech 5x5 cm. Vzorek v kyvetě byl ozařován ve 2 minutových intervalech po dobu 10 minut ze vzdálenosti 18 cm 300 W bílým nefiltrovaným světlem halogenové žárovky, postup byl proveden i s dalšími vzorky nanotkanin a zeslabovacími filtry umístěnými před kyvetovým držákem. K experimentům byly použity zeslabovací filtry s transmitancí  $T = 0,5$  ;  $0,2$  a  $0,02$ . Odpovídající rychlostní konstanty  $B$  fotogenerace  $\text{I}_3^-$  (viz kap. 3.2.4.) byly vyneseny v závislosti na transmitanci zeslabovacího filtru, která je úměrná intenzitě prošlého záření.

## 4 Výsledky a diskuse

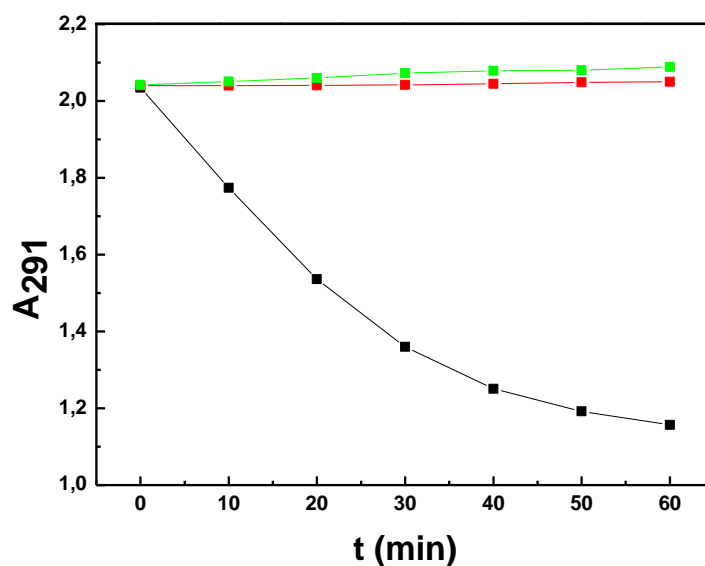
### 4.1 Kinetika vzniku a dekompozice endoperoxidu DMNO<sub>2</sub>

Jedním z cílů této práce bylo sledovat kinetiku vzniku endoperoxidu DMNO<sub>2</sub> generovaného prostřednictvím fotosensitizované reakce. Během ozařování  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  roztoku DMN (substrát) s  $7 \times 10^{-6} \text{ M}$  TPP (sensitizer) v  $\text{CHCl}_3$  (viz kap. 3.2.1.) dochází k fotosensitizované reakci, při níž vzniká  $^1\text{O}_2$  a reaguje s DMN za vzniku jeho endoperoxidu DMNO<sub>2</sub>. V absorpčním spektru se průběh reakce projevuje snížením absorpčního pásu DMN, které je úměrné množství vznikajícího endoperoxidu (Obr.4). Je známo, že ozařováním halogenovaných organických rozpouštědel dochází k okyselení roztoku [7]. Proto TPP během ozařování roztoku přechází na diprotonovanou formu ( $\text{H}_2\text{TPP}^{2+}$ ) s absorpčním maximem při  $\lambda = 446 \text{ nm}$  (Soret).



**Obr. 4:** Absorpční spektrum  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN +  $7 \times 10^{-6} \text{ M}$  TPP v  $\text{CHCl}_3$  během ozařování 300 W halogenovou žárovkou 0-60 min; (1) Absorpční pás DMN ( $\lambda_{\text{max}} = 291 \text{ nm}$ ), šipka naznačuje fotodegradaci DMN během ozařování; (2) Soretův pás TPP ( $\lambda_{\text{max}} = 417 \text{ nm}$ ); (3) Soretův pás  $\text{H}_2\text{TPP}^{2+}$  ( $\lambda_{\text{max}} = 446 \text{ nm}$ )

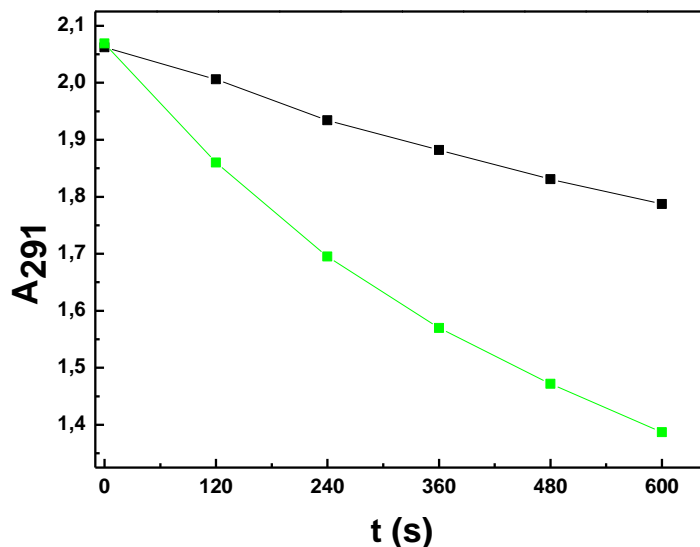
K důkazu, že fotodegradace DMN je závislá na přítomnosti senzitizeru a kyslíku, byl proveden následující experiment. Kinetika degradace DMN byla sledována v přítomnosti a nepřítomnosti kyslíku a TPP senzitizeru. Kinetiku fotodegradace ilustruje obr. 5.



**Obr. 5:** Kinetika fotodegradace  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN v  $\text{CHCl}_3$  při ozáření 300 W halogenovou lampou 0-60 min;  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN +  $7 \times 10^{-6} \text{ M}$  TPP (černá),  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN bez TPP (červená),  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN +  $7 \times 10^{-6} \text{ M}$  TPP při syčení  $\text{N}_2$  (zelená)

Při použití TPP jako sensitizeru dochází k degradaci pásu DMN a ke vzniku jeho endoperoxidu (viz kap. 3.2.2.). Pokud se z výchozího roztoku odstraňuje v průběhu celého ozařování kyslík syčením plynným dusíkem, singletový kyslík produkovaný není a nevzniká ani  $\text{DMNO}_2$ . Při syčení roztoku dusíkem se nepodařilo upravit experimentální podmínky tak, aby se zároveň v malém množství nevypařovalo rozpouštědlo. Docházelo tedy k postupnému zakoncentrování roztoku a absorbance DMN mírně stoupala. Při ozařování samotného DMN v roztoku bez TPP nedocházelo k degradaci DMN, jeho absorbance zůstávala po celou dobu měření konstantní. Porovnáním výsledků bylo zjištěno, že DMN je na světle stabilní a neperoxiduje se, pokud je z roztoku odstraněn kyslík. Endoperoxid tedy vzniká pouze jako produkt reakce fotosensitizované s použitím TPP jako sensitizeru.

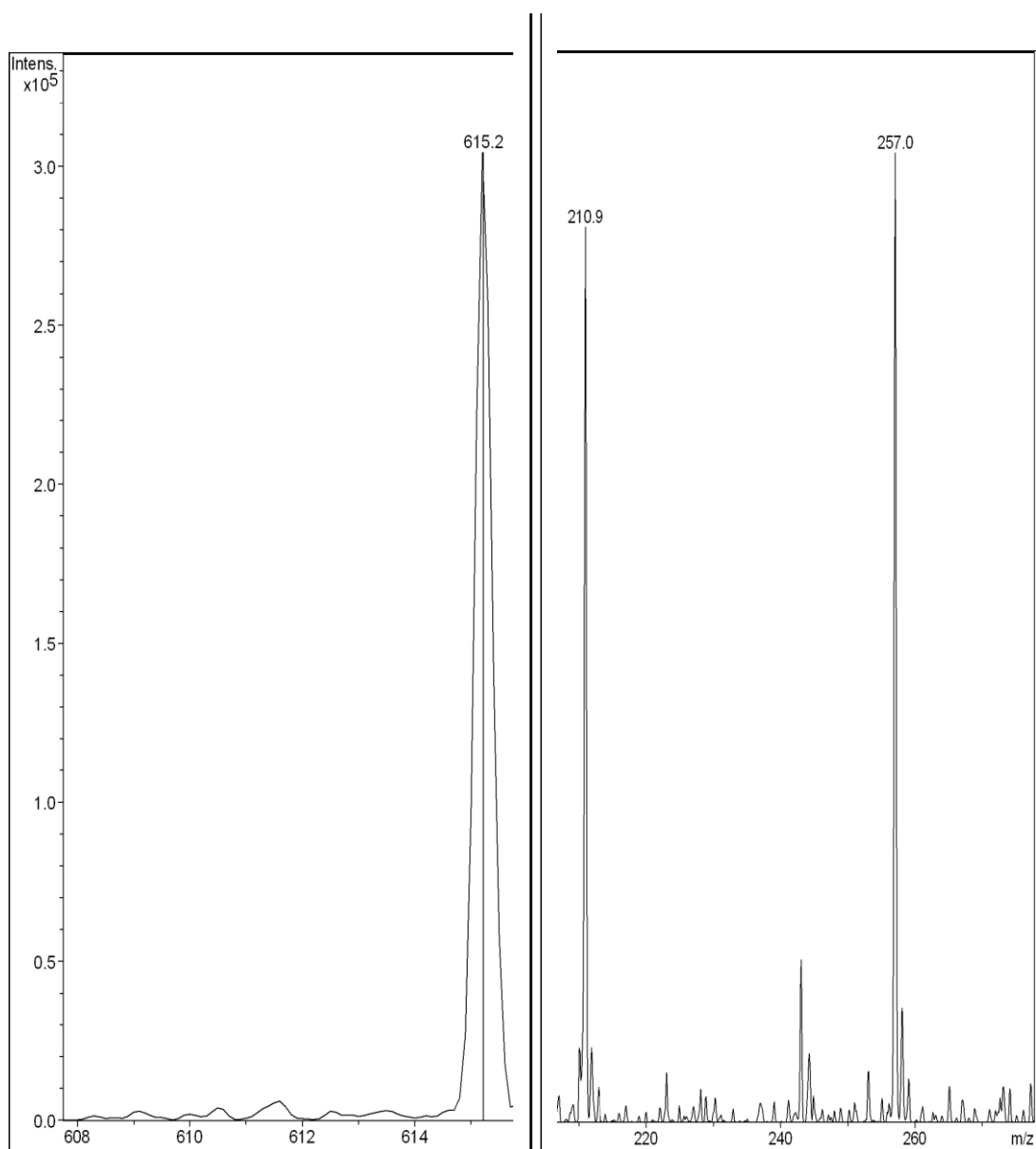
Z literatury je známo, že doba života singletového kyslíku výrazně závisí na prostředí (rozpuštědle), ve kterém je generován. Nejkratší doby života  $^1\text{O}_2$  byly pozorovány v rozpouštědlech obsahujících O-H a C-H vazby [6]. Na tom jsou založené i diagnostické metody důkazu  $^1\text{O}_2$  v daném prostředí. Doby života singletového kyslíku v deuterovaných rozpouštědlech jsou mnohokrát delší a pravděpodobnost chemické reakce s příslušným substrátem je vyšší.



**Obr. 6:** Kinetika fotodegradace  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN s  $7 \times 10^{-6} \text{ M}$  TPP v chloroformu (černá) a v deuterovaném chloroformu (zelená)

Porovnáním kinetiky fotodegradace DMN v chloroformu a v deuterovaném chloroformu (Obr.6) bylo zjištěno, že průběh fotodegradace v  $\text{CDCl}_3$  je výrazně rychlejší než v  $\text{CHCl}_3$ . Tímto experimentem bylo ověřeno, že při reakci vzniká kyslík v singletovém stavu.

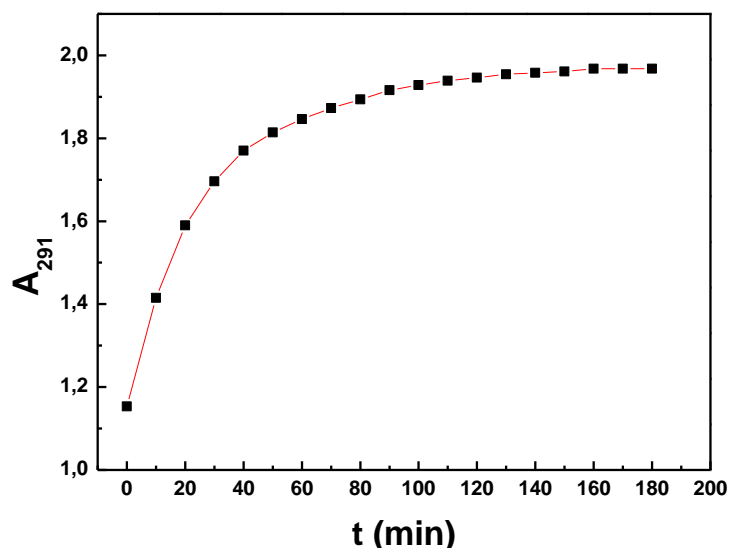
Fotosensitizovanou reakcí DMN s TPP v chloroformu vzniká  $\text{DMNO}_2$ , který je možné termicky rozložit zpět na DMN a  $\text{O}_2$  z části v singletovém stavu. Metodou hmotnostní spektrometrie byla provedena identifikace látek přítomných v roztoku  $7 \times 10^{-4} \text{ M}$  DMN s  $7 \times 10^{-6} \text{ M}$  TPP v  $\text{CHCl}_3$  po 60 minutách ozáření. V hmotnostním spektru roztoku po ozáření (Obr. 7) odpovídá hmotnostní pík 257,0 molekule  $\text{DMNO}_2$  s jedním sodíkovým iontem a hmotnostní pík 210,9 molekule DMN s jedním sodíkovým iontem. DMN byl nalezen v hmotnostním spektru na základě rozkladu  $\text{DMNO}_2$  po skončení ozařování.



**Obr. 7:** Hmotnostní spektrum roztoku  $7 \times 10^{-4} M$  DMN s  $7 \times 10^{-6} M$  TPP v  $CHCl_3$  po 60 minutách ozáření

## 4.2 Závislost $t_{1/2}$ endoperoxidu na teplotě a $E_a$ reakce

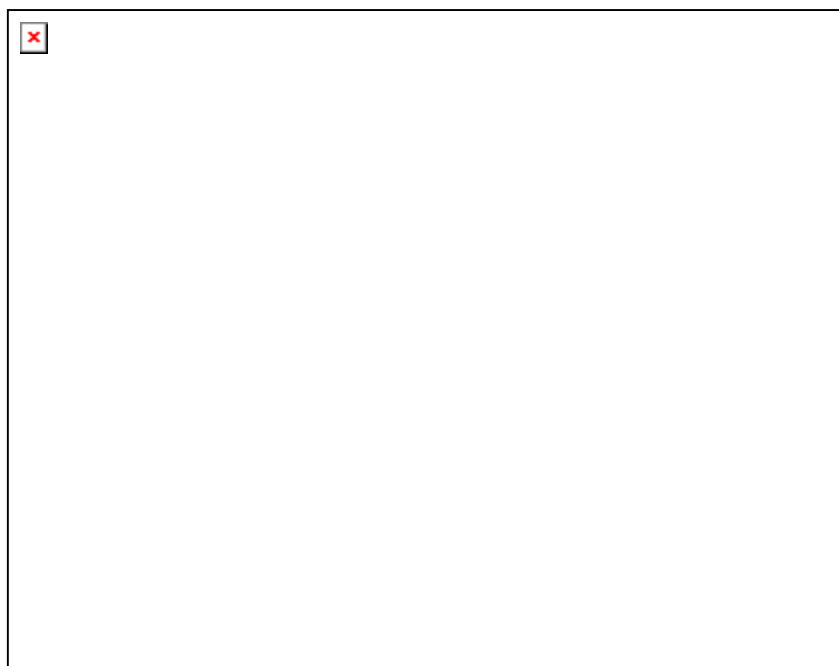
Pro posouzení vlastností a praktického využití  $DMNO_2$  jako sekundárního zdroje  $^1O_2$  bylo třeba podrobně prozkoumat kinetiku jeho termické dekompozice a určit aktivační energii reakce. K tomuto účelu byl produkován  $DMNO_2$  fotosensitizovanou reakcí  $7 \times 10^{-4} M$  roztoku DMN s  $7 \times 10^{-6} M$  TPP v chloroformu a poté provedena termická dekompozice za různých teplot (3.2.3.) Na obr.8 je znázorněn příklad kinetiky termické dekompozice endoperoxidu při  $45^\circ C$ , která má hyperbolický průběh.



**Obr. 8:** Kinetika termické dekompozice  $DMNO_2$  při  $45^\circ C$

Dekompozice byla sledována, dokud nedošlo k zastavení vzrůstu absorbance DMN, tj. prekurzoru  $DMNO_2$ , při  $\lambda = 291$  nm. Z hodnot absorbance DMN dekompozicí z  $DMNO_2$  vyplynulo, že dekompozice neprobíhá stoprocentně, ale maximálně z 93 %. To je v dobré shodě s literaturou, která uvádí hodnotu 95% [7].

Na obr. 9 je ukázána závislost  $t_{1/2}$  na teplotě dekompozice. Závislost má zjevně exponenciální průběh.



**Obr. 9:** *Závislost poločasu termické dekompozice ( $t_{1/2}$ ) endoperoxidu na teplotě*

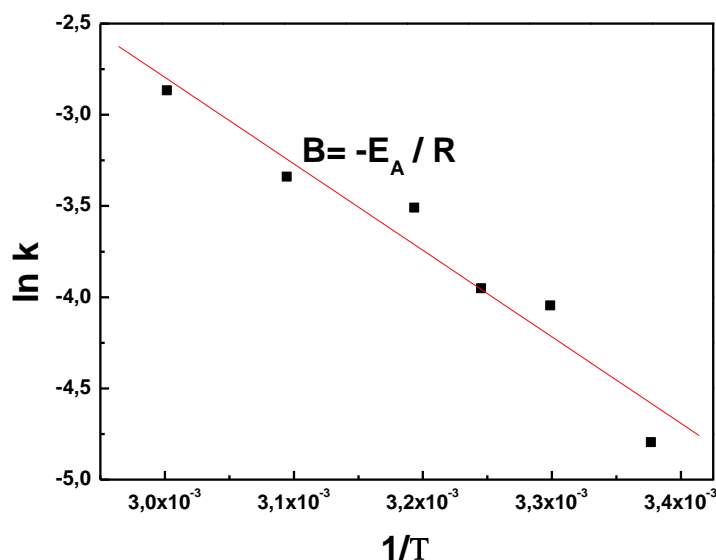
Následující tab. 1 ukazuje hodnoty  $t_{1/2}$  a odpovídajících rychlostních konstant  $k$  v závislosti na teplotě dekompozice.

**Tab. 1 :** *Teplota dekompozice ( $T$ ), rychlostní konstanta reakce ( $k$ ) a poločas dekompozice ( $t_{1/2}$ ) DMNO<sub>2</sub> při dané teplotě*

$T$ (°C)	$k$ (s <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (s)
23	$1,38 \times 10^{-4}$	5029
30	$2,92 \times 10^{-4}$	2377
35	$3,20 \times 10^{-4}$	2163
40	$4,98 \times 10^{-4}$	1391
50	$5,91 \times 10^{-4}$	1173
60	$9,48 \times 10^{-4}$	731

Aby bylo možno vypočítat aktivační energii  $E_a$  z logaritmické formy Arrheniovy rovnice (viz. rov.9), byla vynesena závislost  $\ln k$  na  $1/T$ , jak ukazuje obr. 10. Směrnice regresní přímky je rovna členu  $-E_a / R$ . Vypočtená aktivační energie dekompozice je rovna

39 kJ×mol<sup>-1</sup>. Obdobné hodnoty aktivačních energií jsou známy u publikovaných endoperoxidů aromatických sloučenin [7].



**Obr. 10:** Závislost  $\ln k$  na  $1/T$  k určení aktivační energie  $E_a$

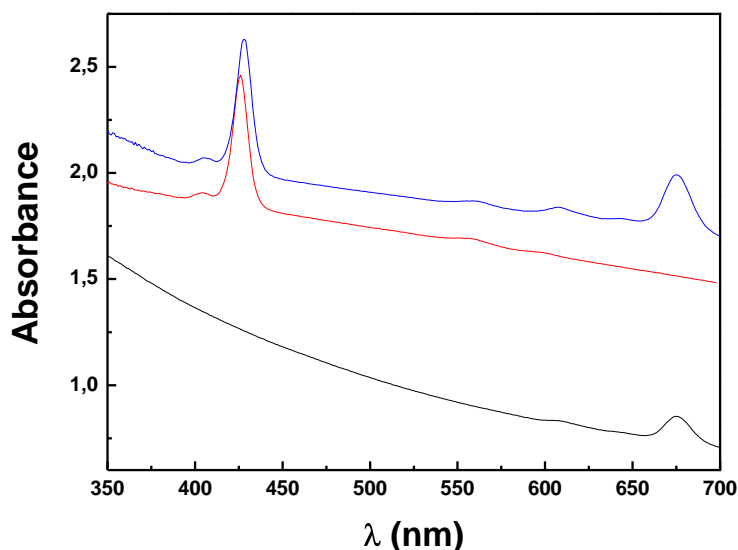
Je velice pravděpodobné, že DMNO<sub>2</sub> termickou dekompozicí generuje DMN a O<sub>2</sub> částečně v singletovém stavu, ale tato skutečnost zatím nebyla ověřena a bude předmětem dalšího studia.

### 4.3 Porovnání fotoprodukce <sup>1</sup>O<sub>2</sub> u nanotkanin s enkapsulovanými sensitizery

Dalším z dílčích cílů práce bylo zjistit, zda lze porovnat fotoprodukcí <sup>1</sup>O<sub>2</sub> u polyurethanových nanotkanin, které jsou dopované různými porfyrinoidními sensitizery. Důležitou otázkou bylo též zjistit, jaká detekční metoda je pro nanotkaniny generující <sup>1</sup>O<sub>2</sub> vhodná. K testům byly použity nanotkaniny PUR Larithane a PUR Tecophilic, oba typy s enkapsulovanými sensitizery 0,1% ZnPc, 0,1% ZnTPP a směsí obou sensitizerů v uvedených koncentracích. Jako detekční metody byly použity jodidová metoda a metoda odbarvování UA.

Nanotkaniny dopované uvedenými sensitizery byly v jedné vrstvě omotány na křemenné sklíčko a změřena jejich absorpční spektra metodou „na průchod“. Spektra jsou zobrazena na obr. 11. Nanotkanina s ZnPc má absorpční maximum při  $\lambda = 468$  nm,

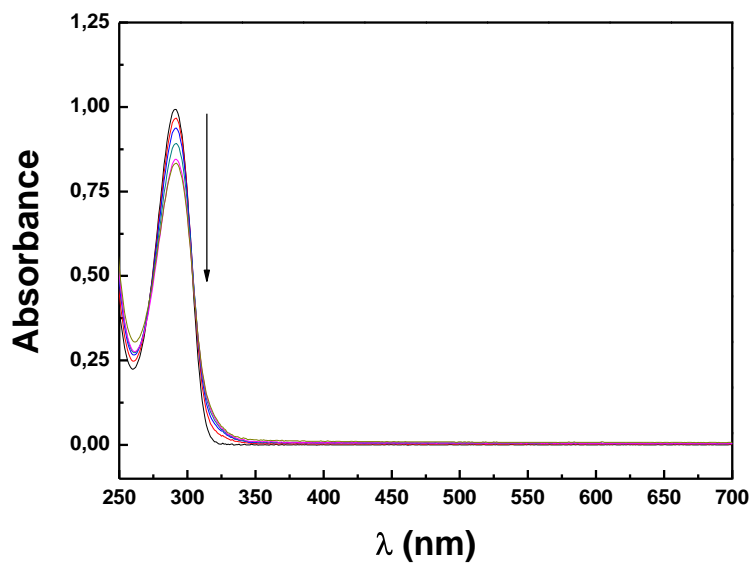
nanotkanina s ZnTPP při  $\lambda = 428$  nm a nanotkanina se směsí ZnPc+ZnTPP vykazuje kombinaci obou absorpčních pásů, tedy při  $\lambda = 468$  nm i  $\lambda = 428$  nm.



**Obr. 11:** Absorpční spektra sensitizérů v nanotkanině PUR Tecophilic; (A) 0,1% ZnPc ( $\lambda_{max}=468$  nm ), (B) 0,1% ZnTPP ( $\lambda_{max}=428$  nm), (C) 0,1% ZnPc+0,1% ZnTPP ( $\lambda_{max}=468$  nm a  $\lambda_{max}=428$  nm)

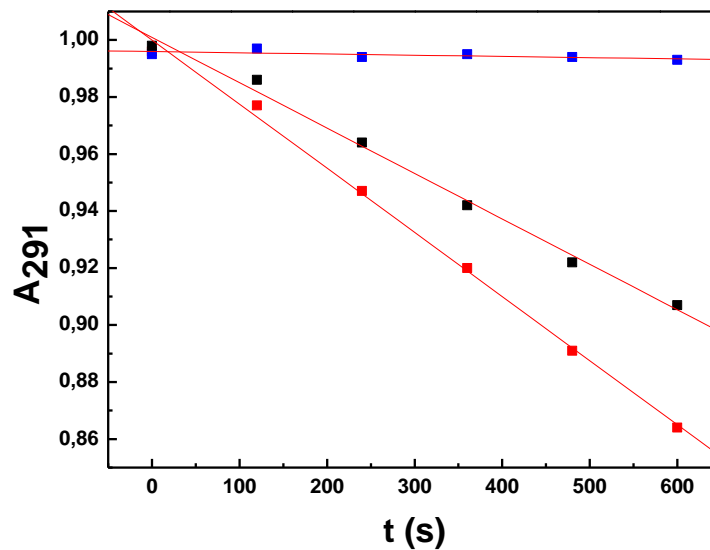
Absorpční pásy enkapsulovaných sensitizérů ZnTPP a ZnPc v nanotkaninách jsou obdobné absorpčním pásům uvedených sensitizérů v organických rozpouštědlech typu  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Charakter absorpčního spektra ukazuje spíše na monomerní formu enkapsulovaných sensitizérů [4].

Metodou odbarvování UA (viz kap. 3.2.5.) byla testována fotoprodukce  $^1\text{O}_2$  u nanotkanin s enkapsulovanými sensitizéry (0,1% ZnPc, 0,1% ZnTPP nebo směsí 0,1% ZnPc+0,1% ZnTPP) enkapsulovaných ve dvou typech nanotkanin (PUR Larithane a PUR Tecophilic). Obr. 12 ukazuje odbarvování UA v průběhu ozařování detekčního roztoku UA v přítomnosti křemenného sklíčka omotaného nanotkaninou PUR Larithane s 0,1% ZnPc. Obr. 12 poukazuje také na to, že v absorpčním spektru UA nejsou přítomny žádné absorpční pásy sensitizérů, z čehož vyplývá, že použité sensitizéry se nevytlučují do vodného prostředí.



Obr. 12 : Absorpční spektra detekčního činidla UA v průběhu ozařování bílým světlem v přítomnosti nanotkaniny PUR Larithane s 0,1% ZnPc; šipka značí pokles absorpčních pásů v průběhu ozařování 0-10 min

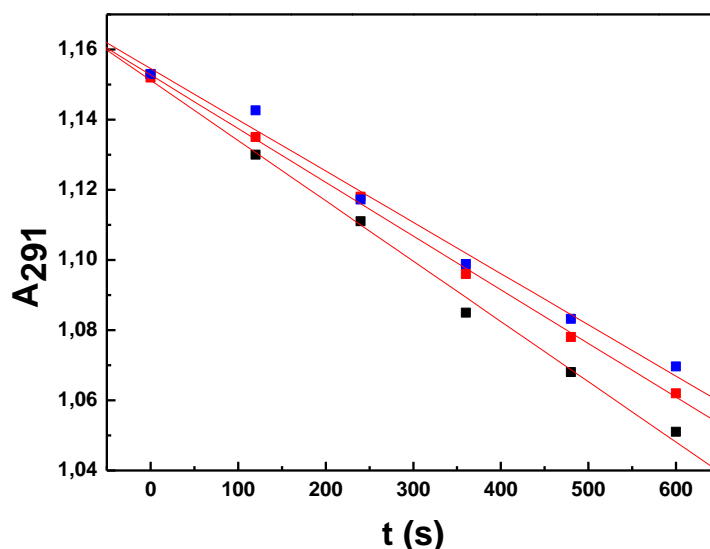
Na dalším obrázku (Obr. 13) je vidět kinetiku odbarvování detekčního roztoku UA v případě nanotkanin PUR Larithane enkapsulované různými sensitizery v průběhu ozařování.



**Obr. 13 :** Kinetika odbarvování detekčního činidla UA během ozařování bílým světlem v přítomnosti nanotkaniny PUR Larithane: s 0,1% ZnPc (červená), s 0,1% ZnPc + 0,1% ZnTPP (černá), s 0,1% ZnTPP (modrá)

Žádný pokles absorbance UA nebyl pozorován v případě ozařování samotného detekčního roztoku za shodných experimentálních podmínek.

Na obr. 14 je znázorněna kinetika odbarvování detekčního činidla UA v případě použití nanotkaniny PUR Tecophilic s enkapsulovanými sensitizery.



**Obr. 14:** Kinetika odbarvování detekčního činidla UA během ozařování bílým světlem v přítomnosti nanotkaniny PUR Tecophilic: s 0,1% ZnPc (červená), s 0,1% ZnPc + 0,1% ZnTPP (černá), s 0,1% ZnTPP (modrá)

Obr. 13 ukazuje na rozdílnou fotogeneraci  $^1\text{O}_2$  u nanotkanin PUR Larithane dopované ZnPc, ZnTPP a jejich směsí. Výsledky jsou překvapivé, neboť oba senzitizery (ZnPc a ZnTPP) mají zhruba stejný kvantový výtěžek  $^1\text{O}_2$  a jsou dle výrobce ve stejné koncentraci enkapsulovány do nanotkanin stejného chemického složení, stejné plošné hmotnosti ( $\text{pHm} = 2\text{g/m}^2$ ), stejnou technologií. Ještě překvapivější je skutečnost, že nanotkanina enkapsulovaná oběma senzitizery vykazuje nižší fotogeneraci  $^1\text{O}_2$  než nanotkanina enkapsulovaná pouze ZnPc. Je přitom zřejmé, že fotogenerace  $^1\text{O}_2$  je závislá na množství pohlceného světla, a podle obr.11 nejvíce světla pohlcuje nanotkanina se směsí senzitizerů. Skutečnost že nejvíce  $^1\text{O}_2$  není produkována nanotkaninou se směsí senzitizerů lze vysvětlit jedním či kombinací těchto faktorů:

- i) k ozařování nanotkanin bylo použito bílé nefiltrované světlo s nezjištěným vyzařovacím spektrem (výrobce zatím tyto údaje neposkytl). Již bylo uvedeno, že fotoreakce jsou především řízeny intenzitou pohlceného světla. Je jasné, že pro přesnější hodnocení fotoreakce je údaj o emisním spektru použitého světelného zdroje nezbytný.
- ii) jak je vidět z absorpčního pozadí na obr. 11, nanotkaniny nejvíce rozptylují záření při kratších vlnových délkách, kde má absorpční pásy ZnTPP. Naopak v červené oblasti, kde absorbuje ZnPc, jsou rozptylové efekty daleko slabší. Tím lze částečně vysvětlit ztlačení

vyšší fotogeneraci  $^1\text{O}_2$  u nanotkaniny s ZnPc oproti nanotkanině s ZnTPP.

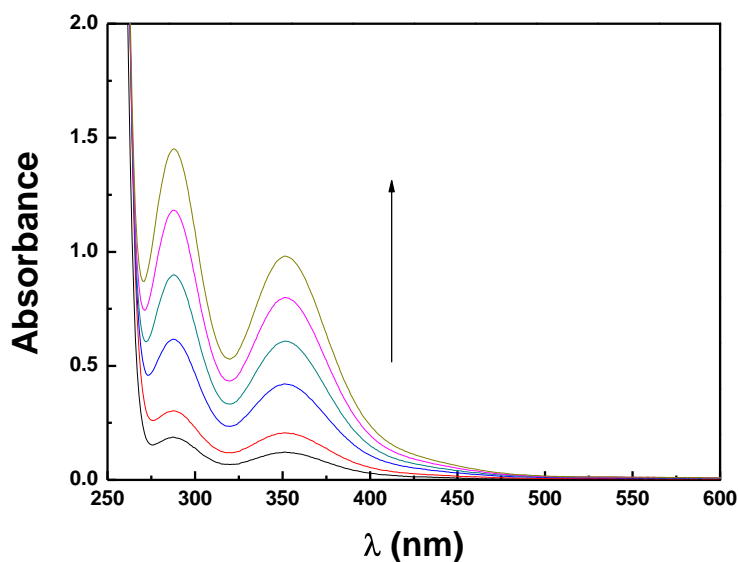
iii) konkurující fotofyzikální procesy, např. přenos energie mezi sensitizery v případě nanotkanin obsahujících směs sensitizerů kombinovaný s tzv. zpožděnou fluorescencí, mohou ovlivnit fotoprodukcí  $^1\text{O}_2$  [5].

iv) fotogenerace  $^1\text{O}_2$  může být řízena množstvím kyslíku přístupujícího k enkapsulovanému sensitizeru

iv) rozdíly v připravených nanotkaninách z hlediska tloušťky a plošné hmotnosti nanotkanin mohou způsobit rozdíly jak v celkovém množství generovaného  $^1\text{O}_2$ , tak jeho schopnosti oxidovat externí substrát.

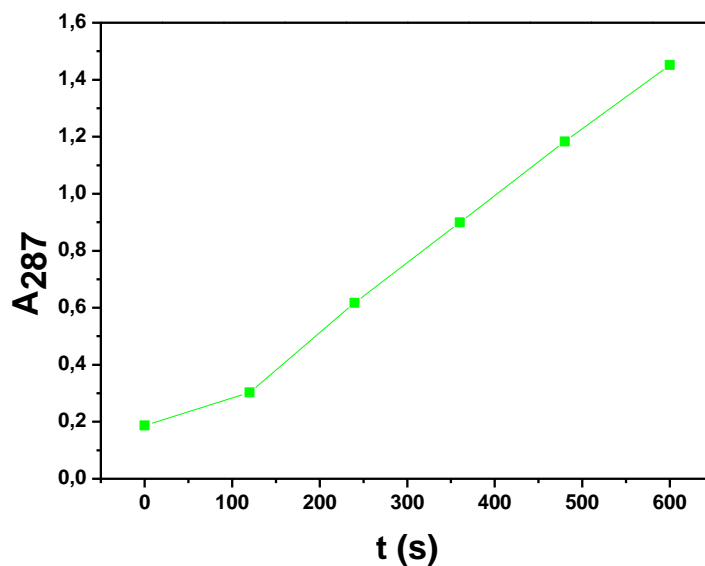
Při použití nanotkaniny PUR Tecophilic byl pozorován podobný trend jako v případě nanotkanin PUR Larithane, ale s menšími absorpčními změnami v detekčním činidle (viz obr.14).

Fotoprodukce  $^1\text{O}_2$  u nanotkanin typu PUR Larithane a PUR Tecophilic s enkapsulovaným sensitizerem 0,1% ZnPc byla rovněž testována jodidovou metodou (viz kapitola 3.2.4.). Obr. 15 ukazuje fotogeneraci  $\text{I}_3^-$  v průběhu ozařování jodidového detekčního činidla v přítomnosti výstřížku nanotkaniny (5×5 cm) PUR Larithane s 0,1% ZnPc.



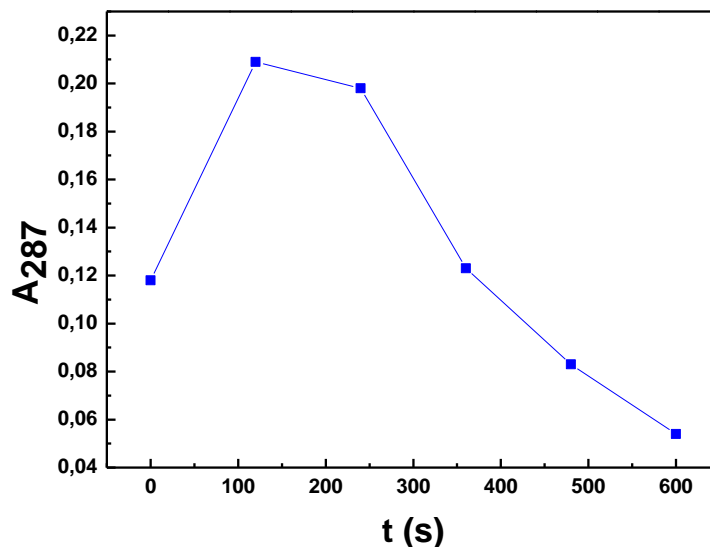
**Obr. 15:** Absorpční spektrum jodidového činidla se vzorkem tkaniny PUR Larithane s 0,1% ZnPc při ozařování 0-10 min bílým světlem., šipka naznačuje časový průběh produkce  $\text{I}_3^-$

Kinetiku fotogenerace  $I_3^-$  ukazuje obr. 16, kde je vidět, že počátek fotogenerace není lineární. Pozorování bylo ověřeno opakovaným měřením více vzorků. Nanotkaniny částečně adsorbují vznikající  $I_3^-$ , po vyndání z jodidového detekčního činidla jsou žlutě zbarveny a jejich absorpční spektra vykazují typické pásy  $I_3^-$ .



**Obr. 16:** Kinetika fotogenerace  $I_3^-$  v roztoku jodidového činidla se vzorkem tkaniny PUR Larithane s 0,1% ZnPc při ozařování 0-10 min bílým světlem

Stejným způsobem byly testovány i nanotkaniny PUR Tecophilic s 0,1% ZnPc. U tohoto typu tkanin docházelo k nárůstu pásů  $I_3^-$  v menší míře a po prvních 2-3 minutách ozařování se absorpční pásy  $I_3^-$  začaly snižovat (Obr. 17). Vysvětlením je opět adsorpce  $I_3^-$  na povrch vláken, která je v tomto případě většího rozsahu než u tkanin PUR Larithane.



**Obr. 17:** Kinetika fotoprodukce  $I_3^-$  v jodidovém čínidle u nanotkaniny PUR Tecophilic s 0,1% ZnPc během ozařování 0-10 min

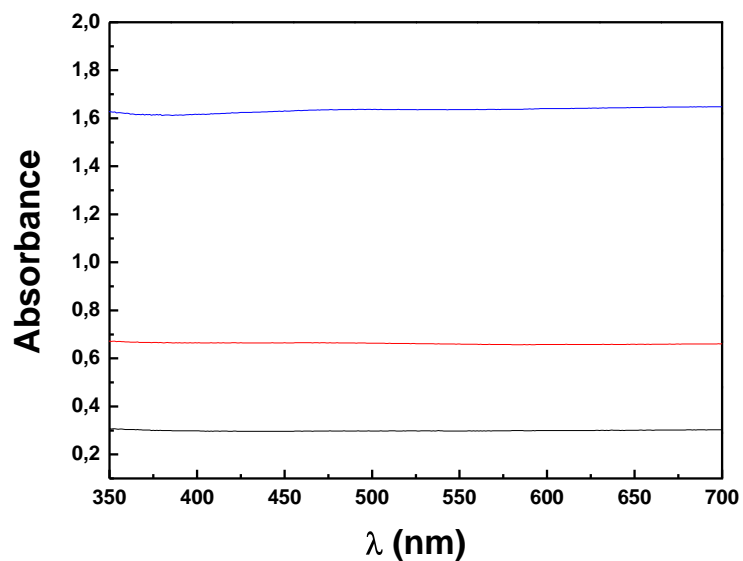
Na základě výše uvedených adsorpčních efektů je jasné, že jodidovou detekční metodu nelze použít na testování fotoprodukce  $^1O_2$  u nanotkanin PUR Tecophilic.

U nanotkanin PUR Larithane a PUR Tecophilic s enkapsulovanými sensitizery bylo ověřeno, že ve tmě nedochází k oxidaci UA ani  $\Gamma$  substrátů. Rovněž ozařované nanotkaniny bez sensitizerů nevykazovaly oxidaci UA ani  $\Gamma$ . K oxidaci UA a  $\Gamma$  tedy dochází pouze na základě fotosensitizované reakce (generace  $^1O_2$ ) nanotkanin se sensitizery. Toto je v souladu s experimenty, kde na základě časově rozlišené spektroskopie byla u těchto nanotkanin zjištěna charakteristická fosforescence  $^1O_2$  při 1270 nm [16].

#### 4.4 Závislost produkce $^1O_2$ na intenzitě světla absorbovaného sensitizérem

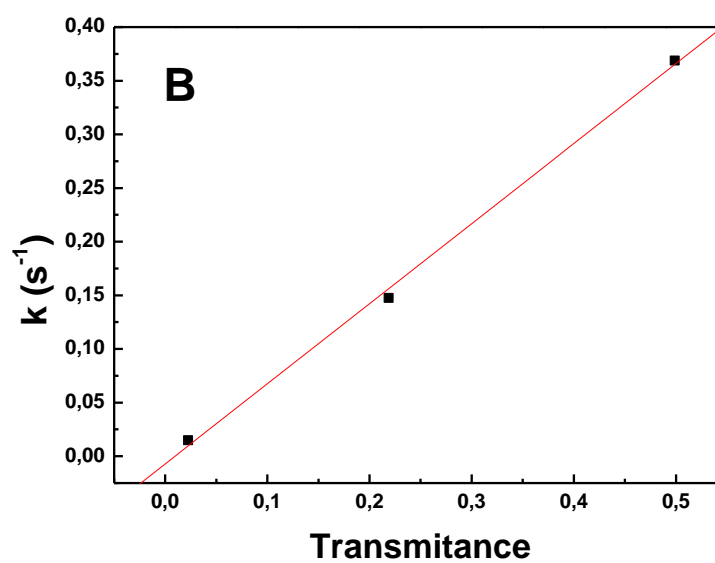
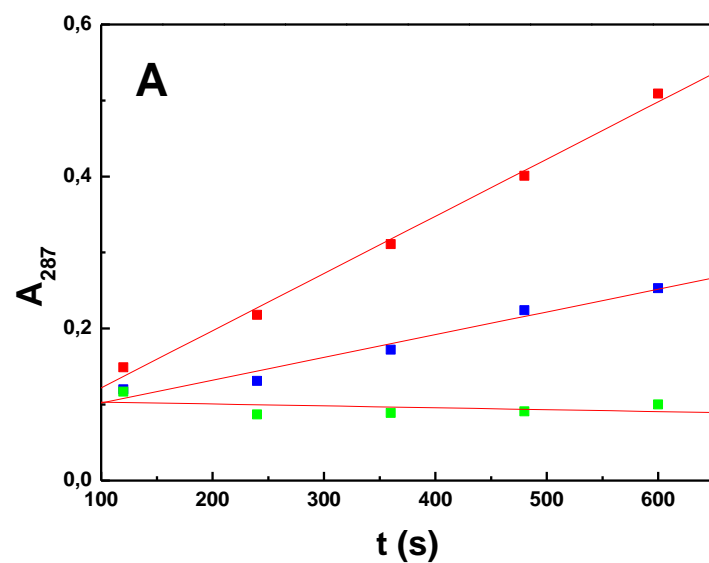
Z důvodu zjištění, že nanotkanina se směsí sensitizeru produkuje méně  $^1O_2$  než nanotkanina s jedním sensitizérem ZnPc (viz kap. 4.3.), bylo provedeno měření s cílem zjistit, zda fotogenerace  $^1O_2$  je lineárně závislá na intenzitě záření. K experimentu byly použity zeslabovací filtry s transmitancí 0,5; 0,2 a 0,02, umístěné před ozařovaný květový prostor (viz kap. 3.2.6.). Absorpční spektra filtrů viz. obr.18.





**Obr. 18:** Absorpční spektrum zeslabovacích filtrů; s transmitancí=0,5 (černá), s transmitancí=0,2 (červená), s transmitancí=0,02 (modrá)

K detekci  $^1\text{O}_2$  byla použita jodidová metoda. Fotogeneraci  $\text{I}_3^-$  na době ozáření filtrovaným zdrojem záření s použitím tří zeslabovacích filtrů ilustruje obr. 19A. Směrnice uvedených závislostí odpovídají rychlostním konstantám fotogenerovaného  $\text{I}_3^-$ . Na obr. 19B je znázorněna závislost rychlostní konstanty fotogenerace  $\text{I}_3^-$  na transmitanci použitých zeslabovacích filtrů.



**Obr. 19:** (A) Kinetika fotoprodukce  $I_3^-$  v jodidovém činidle při použití nanotkaniny PUR Larithane s 0,1% ZnPc během ozařování 300 W halogenovou lampou; se zeslabovacím filtrem s  $T=0,5$  (červená), s  $T=0,2$  (modrá) a s  $T=0,02$  (zelená);  
 (B) Závislost rychlostní konstanty fotoprodukce  $I_3^-$  na transmittanci zeslabovacích filtrů

**Tab. 2:** Absorbance při  $\lambda = 675 \text{ nm}$  ( $A_{675\text{nm}}$ ) a transmittance zeslabovacích filtrů a odpovídající rychlostní konstanty fotogenerace  $I_3^-$

Zeslabovací filtr	Označení <b>0,5</b>	Označení <b>0,2</b>	Označení <b>0,02</b>
$A_{675\text{nm}}$	0,302	0,660	1,647
<b>Transmittance</b>	0,499	0,219	0,022
<b>k (s<sup>-1</sup>)</b>	$7,52 \cdot 10^{-4}$	$2,99 \cdot 10^{-4}$	$-2,5 \cdot 10^{-5}$

Z obr. 19B a tab.2 vyplývá, že fotogenerace  $^1\text{O}_2$ , respektive  $I_3^-$ , je lineárně závislá na intenzitě dopadajícího záření.

## 5 Závěr

1) Hmotnostní spektra a experimenty v  $\text{CHCl}_3$  a  $\text{CDCl}_3$  ukázaly, že DMN je vhodným akceptorem  $^1\text{O}_2$  za tvorby  $\text{DMNO}_2$ . Singletový kyslík potřebný k reakci je možno generovat na základě fotosensitizované reakce. V UV/VIS spektrech se tvorba  $\text{DMNO}_2$  projeví poklesem absorpčních pásů DMN.

2)  $\text{DMNO}_2$  je termicky labilním endoperoxidem, termicky se rozkládá zpětnou reakcí na DMN a  $\text{O}_2$ . Kinetiku této reakce je možné snadno spektrofotometricky sledovat. V UV/VIS spektrech se tvorba DMN projeví nárůstem absorpčních pásů DMN. Poločas ( $t_{1/2}$ ) a rychlostní konstanta ( $k$ ) dekompozice závisejí na teplotě. Vypočtena byla aktivační energie ( $E_a$ ) této reakce.

3) Porfyrinoidní senzitizery ZnTPP a ZnPc enkapsulované v nanotkaninách PUR Tecophilic a PUR Larithane se nevytluhují do vodného prostředí a zůstávají v nanotkanině.

4) Nanotkaniny PUR Larithane a PUR Tecophilic s enkapsulovanými senzitizery vykazují po ozáření bílým světlem fotooxidaci organického (UA) i anorganického ( $\text{I}^-$ ) substrátu. Uvedené substráty jsou typickými akceptory  $^1\text{O}_2$ . Ve tmě za shodných experimentálních podmínek nedochází k oxidaci UA či  $\text{I}^-$  substrátu. Rovněž nanotkaniny bez senzitizeru nevykazují oxidaci UA či  $\text{I}^-$  substrátu. Z toho lze usuzovat, že nanotkaniny se senzitizerem fotogenerují  $^1\text{O}_2$  a že k oxidaci substrátů dochází na základě fotosensitizované reakce.

5) Experimenty se zeslabovacími optickými filtry prokázaly, že kinetika fotooxidace substrátu je přímo úměrná intenzitě dopadajícího záření na nanotkaninu v roztoku detekčního činidla.

6) Metodou odbarvování UA bylo zjištěno, že nanotkaniny obsahující směs 0,1% ZnPc a 0,1% ZnTPP mají při ozáření bílým světlem za daných experimentálních podmínek překvapivě nižší fotoprodukcí  $^1\text{O}_2$  než nanotkaniny obsahující pouze 0,1% ZnPc. Fotoprodukce  $^1\text{O}_2$  u nanotkanin s 0,1% ZnTPP je výrazně nižší než u nanotkanin s 0,1% ZnPc či směsí senzitizerů. Důvod této okolnosti se zatím nepodařilo objasnit, možné příčiny jsou diskutovány v textu.

7) Nanotkaniny PUR Tecophilic vykazují značnou adsorpci  $I_3^-$ , u těchto materiálů tedy nelze aplikovat jodidovou metodu detekce  $^1O_2$ .

## 6 Seznam použité literatury

1. Lang, K., J. Mosinger, and D.M. Wagnerová, *Pokroky ve fotochemii singletového kyslíku*. Chem. Listy, 2005. **99**: p. 211-221.
2. DeRosa, M.C. and R.J. Crutchley, *Photosensitized singlet oxygen and its applications*. Coordination Chemistry Reviews, 2002. **233-234**: p. 351-371.
3. Schweitzer, C. and R. Schmidt, *Physical Mechanism of Generation and Deactivation of Singlet oxygen*. Chem. Rev., 2003. **103**: p. 1685-1757.
4. Lang, K., J. Mosinger, and D.M. Wagnerová, *Photophysical properties of porphyrinoid sensitizers non-covalently bound to host molecules; models for photodynamic therapy*. Coordination Chemistry Reviews, 2004. **248**: p. 321-350.
5. Mosinger, J., et al., *Bactericidal nanofabrics based on photoproduction of singlet oxygen*. Journal of Materials Chemistry, 2007. **17**: p. 164–166.
6. Slavětínská, L., J. Mosinger, and P. Kubát, *Supramolecular carriers of singlet oxygen: Photosensitized formation and thermal decomposition of endoperoxides in the presence of cyclodextrins*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2008. **195**: p. 1-9.
7. Packer, L. and H. Sies, *Singlet Oxygen, UV-A, and Ozone*. Methods in Enzymology, 2000. **319**.
8. Lang, K., J. Mosinger, and D.M. Wagnerová, *Singletový kyslík v praxi - současnost a perspektiva*. Chem. Listy, 2006. **100**: p. 169-177.
9. Clennan, E.L. and J.P. Sram, *Photochemical Reactions in the Interior of a Zeolite. Part 5: The Origin of the Zeolite Induced Regioselectivity in the Singlet Oxygen Ene Reaction*. TETRAHEDRON, 2000. **56**: p. 6945 - 6950.
10. Fischer, F., et al., *A chemical dosimeter for the determination of the photodynamic activity of photosensitizers*. Clinica Chimica Acta, 1998. **274**(1): p. 89-104.
11. Aubry, J.-M., et al., *Reversible Binding of Oxygen to Aromatic Compounds*. Accounts of Chemical Research, 2003. **36**(9): p. 668-675.
12. Klein, A., M. Kalb, and M.S. Gudipati, *New Assignment of the Electronically Excited states of Anthracene-9,10-endoperoxide and Its derivatives*. J. Phys. Chem A, 1999. **103**: p. 3843-3853.

13. Wetzler, D.E., D. García-Fresnadillo, and G. Orellana, *A clean, well-defined solid system for photosensitized  $^1O_2$  production*. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2006. **8**: p. 2249-2256.
14. Mosinger, J., et al., *Light-induced aggregation of cationic porphyrins*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2006. **181**: p. 283-289.
15. Elmarco, s.r.o. , URL: [www.elmarco.com](http://www.elmarco.com)
16. Osobní sdělení - RNDr. Jiří Mosinger, Ph.D. -PřF UK, Praha