

Vilniaus universiteto

Fizikos fakulteto

Lazerinių tyrimų centras

Ignas Kamarauskas

**TPPS₄ AGREGATŲ POLIVINILO ALKOHOLIO MATRICOJE SPEKTRINIŲ IR
ERDVINIŲ SAVYBIŲ APŽVALGA**

Bakalauro studijų baigiamasis darbas

Moderniųjų technologijų fizikos ir vadybos

studijų programa

Studentas

Ignas Kamarauskas

Darbo vadovas

prof. habil. dr. Ričardas Rotomskis

Pavaduojantis darbo vadovas

prof. dr. Saulius Bagdonas

Instituto direktorius

doc. Aidas Matijošius

Vilnius 2020

TURINYS

1.	Įvadas	3
2.	Teorija	4
2.1.	Porfirinai.....	4
2.2.	TPPS ₄ molekulė.....	4
2.3.	TPPS ₄ agregatai.....	6
2.4.	TPPS ₄ spektrinės charakteristikos	10
2.5.	TPPS ₄ erdvinės charakteristikos.....	13
2.6.	Polivinilalkoholis (PVA).....	14
2.7.	Polivinilalkoholio ir TPPS ₄ junginiai	16
3.	Eksperimentinė dalis	21
3.1.	Bandinių paruošimas	21
3.2.	Aparatūra ir darbo metodika	22
3.3.	Eksperimentinės dalies rezultatai	22
4.	Išvados.....	25
5.	Literatūros ir šaltinių sąrašas.....	26
6.	Summary	30

1. Įvadas

Pastaraisiais dešimtmečiais daug dėmesio pradėta skirti nanotechnologijoms, apimančiomis tyrimus su ypatingai mažais nanometrų dydžio eilės dariniais. Taip siekiama atrasti naujus, dar neištirtus ir niekam nežinomus būdus gydyti sunkias ligas. Vėžiniai susirgimai – daug klausimų mokslininkams keliantys piktybiniai pakitimai organizme. Siekiant geresnio pažeistų audinių kontrasto atliekant operacijas, į organizmą įterpiamos medžiagos vadinamos fotosensibilizatoriais, dėl kurių savybių galima tiek vaizdinti, tiek inicijuoti fotochemines reakcijas, taip sukeliant ląstelių žūtį. Šis naujas gydymo būdas pagrįstas į organizmą įterptos medžiagos žadinimu šviesa, sukeliant norimą atsaką.

Darbo objektas – nanometrų dydžio J-agregatai, susidarantys iš mezo-tetra-(4-sulfonatofenil)porfirino (TPPS₄) molekulių tam tikromis aplinkos terpės sąlygomis ir įterpti į hidrogelį. Hidrogeliai – tai hidrofilinės polimerų molekulių matricos, kurių viena pagrindinių pritaikymo sričių, paremta jų savybe laikyti savyje didelius vandens kiekius, yra vaistų išnešiojimas ir kontroliuojamas aktyviosios medžiagos išleidimas į audinius.

Tyrimo metu apžvelgsime J-agregatų sudarytų iš mezo-tetra(sulfonatofenil)porfirino (TPPS₄) molekulių elgseną polimerinėse plėvelėse. Iki šiol atlikta labai nedaug tyrimų, nagrinėjančių šio porfirino savybes kitos medžiagos matricoje, panaudojant ją kaip kapsulę, efektyvesniam terapiniam poveikiui pasiekti. Apžvalgoje aptarsime, kokią įtaką tetrapirolinių sensibilizatorių agregacijai ir jų fotosensibilizavimo savybėms turi jų įkapsuliavimas hidrogelyje – stabilizavimas polivinilalkoholio (PVA) matricoje.

Darbo tikslas

Atlikti TPPS₄ agregatų polivinilo alkoholio matricoje spektrinių ir erdvinių savybių apžvalgą ir palyginti nagrinėtus mokslinius tyrimus, jų matavimų duomenis su gautais šio tyrimo eigoje.

Pagrindiniai darbo uždaviniai

- Atlikti teorijos apžvalgą nagrinėjančią TPPS₄ porfirino agregatų ir polivinilo alkoholio matricos spektrines ir erdvines savybes
- Aptarti straipsnius aprašančius tetrapirolinių sensibilizatorių įkapsuliavimą PVA hidrogelyje
- Trumpai pristatyti gautų matavimų rezultatus ir palyginti juos su literatūroje pateiktais duomenimis

2. Teorija

2.1. Porfirinai

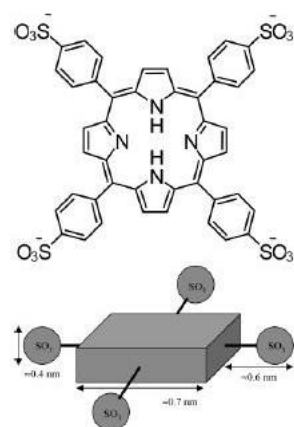
Porfirinai – organiniai junginiai, kurie yra sintetinami beveik visuose gyvuose organizmuose ir sudaryti iš keturių pirolo subvienetų sujungtų pe metino tiltelius[1]. Biologinėse sistemose ypatingai svarbūs yra tie, kurie prisideda prie gamtoje vykstančių ciklų, dalyvauja tokiuose procesuose kaip biocheminė energijos konversija gyvūnuose, deguonies pernešimas kraujyje ar fotosintetinės energijos gamyba augaluose[2]. Šio tipo molekulės yra pritaikytos atlikti gyvybiškai svarbius cheminius virsmus sudėtingose biocheminėse ar biofizikinėse sistemose, be jų sutriktų gamtoje egzistuojantys ciklai.

Šios molekulės pasižymi daugybe cheminių ir fizikinių savybių, kurios priklauso nuo konkrečios porfirino molekulės struktūros. Viena iš porfirinams būdingų savybių yra sugerti elektromagnetines bangas regimojoje šviesos spektro dalyje. Kai kurie iš jų liuminescuoja, pasižymi paramagnetizmu ar fotolaidumu. Tokios savybės jiems būdingos dėl to, nes porfirinai turi labai ilgą konjuguotą π ryšių sistemą, kuri gali sugerti šviesos bangos kvantą. Taip molekulė įgauna energijos fluorescencijai. Energijos išspinduliavimas vyksta elektromagnetinių bangų pavidalu. Išspinduliuota šiesa būna mažesnio dažnio (mažesnės energijos) ir ilgesnio bangos ilgio.

Porfirinų fotofizikinės savybės, didelė singletinio deguonies kvantinė išeiga ir mažas toksiškumas in vivo atkreipė mokslininkų dėmesį ir leido atrasti naujus panaudojimo būdus biomedicinoje[3]. Skirtingos mezo grupės gali būti įterptos į sintetinių porfirinų junginį, tai reiškia, jog, pakeitus dalį molekulės struktūros, ir jos savybės gali iš esmės pakisti. Vienas svarbiausių sintetinių porfirinų panaudojimo būdų yra terapiniai vaistai kitaip vadinami fotosensibilizatoriais.

2.2. TPPS₄ molekulė

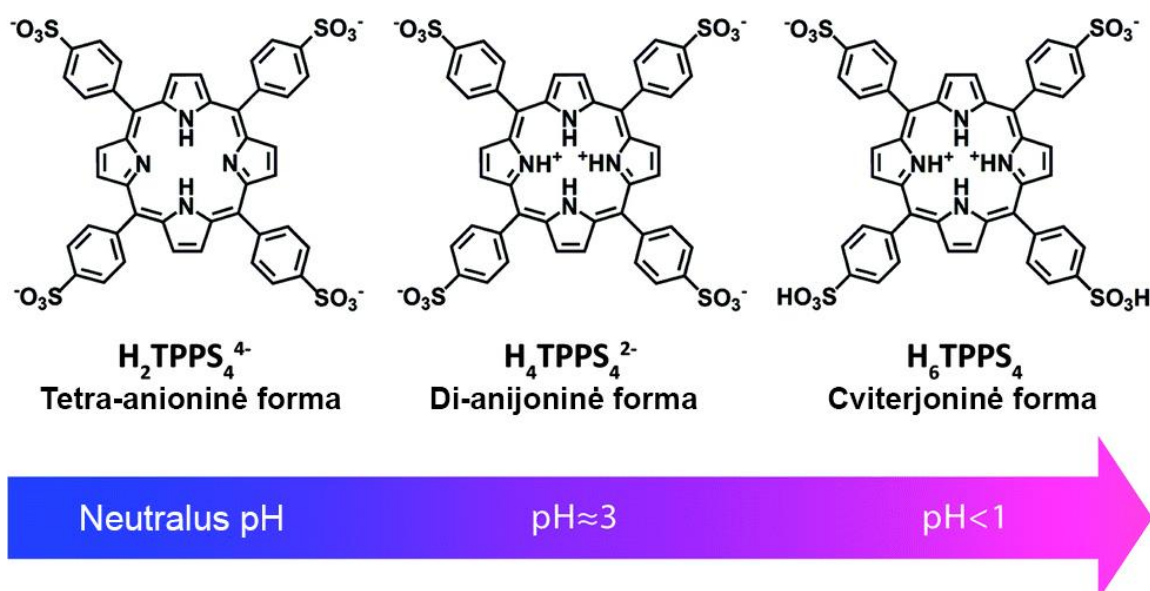
Mezo-tetra(4-sulfonatofenil)porfinas (TPPS₄) (pav. 1) yra sintetinis porfirininės prigimties dažiklis, pasižymintis geru tirpumu vandenyje[4]. TPPS₄ sudarytas iš porfirino žiedo, kurio mezo-padėtyse vandenilio atomai yra pakeisti fenilo grupėmis su sulfonato (SO_3^-) grupėmis para-padėtyse. Erdviškai TPPS₄ molekulės apytikslis dydis yra 2.0 x 2.0 x 0.5 nm [5]. TPPS₄ molekulės vandeniniuose tirpaluose gali būti monomerinės arba dviejų skirtingų joninių formų, priklausomai nuo terpės



Paveikslas 1. TPPS₄ molekulės struktūra ir jos dydis neutraliame pH 7 tirpale. [5]

rūgštingumo (pav. 2). Tirpalo pH yra vandenilio jonų koncentracijos – rūgštingumo matas.

Grynas vanduo disocijuoja ir turi tiek pat vandenilio (H^+) ir hidroksilo (OH^-) jonų. Vandenilio jonų perteklius tirpalą padaro rūgštų, o H^+ jonų trūkumas arba hidroksilo jonų perteklius padaro jį baziniu. Norint tirpalą padaryti rūgštinį, įterpiame į vandenį HCl ir taip didiname vandenilio (H^+) jonų koncentraciją tirpale, šis procesas vadinamas makrociklo įsotinimu vandeniliu. Monomerinėje formoje, neutraliame vandeniniame tirpale (pH 7), TPPS₄ molekulė yra tetra-aniono pavidalo ($H_2TPPS_4^{4-}$) ir yra raudonos spalvos. Didėjant rūgštingumui (ties pH 4), tirpalas pasidaro žalias, du papildomi protonai jungiasi su azoto atomais porfirino žiedo centre, sukeldami dalinį teigiamą krūvį šioje srityje ir sudarydami anijoninę ($H_4TPPS_4^{2-}$), kai kurių autorių [6] įvardinamą, kaip di-anijoninę formą. Esant dar didesniai rūgštingumui (pH 2 ir žemesnis), du papildomi protonai jungiasi prie dviejų SO_3^- grupių[7]. Vyrauja cviterjoninė forma (H_6TPPS_4) (pav. 2).



Paveikslas 2. Mezo-tetra(4-sulfonatofenil)porfino molekulinė (TPPS₄) struktūra skirtinguose pH. Adaptuota iš [6].

Priklausomai nuo tirpiklio pH fenilo žiedo orientacija porfino žiedo plokštumos atžvilgiu gali keistis nuo statmenos (neutraliam ir šarminiam pH) iki plokščios porfirino žiedui (rūgštinėms pH vertėms). Kaip ir kitų porfirinų, TPPS₄ spektrinės savybės yra nulemtos porfirino makrociklo centre esančių azotų atomų gebėjimu prisijungti ir atiduoti protonus. Šie TPPS₄ struktūros pokyčiai turi reikšmės tolesniam molekulės tyrimui biologinėse sistemose, nes porfirinų struktūros (plokštuminės arba neplokštuminės) gali stipriai paveikti jų sąveiką su kitomis biomolekulėmis.

Septintojo dešimtmečio pradžioje pastebėta, kad šis junginys labiau linkęs kauptis navikuose nei aplinkiniuose organuose [8], [9]. Įprastai sintetiniai porfirinai yra netirpūs ar mažai tirpūs didžiojoje dalyje organinių tirpiklių, tai TPPS₄ nebūdinga savybė. Įprastai pageidautina, kad

tirpumas vandenyje būtų kuo didesnis, tai galima pasiekti sintetinant porfiriną, kuriame yra prijungtos teigiamai arba neigiamai įkrautos grupės [10], [11]. Dėl savo gero tirpumo vandenyje, stabilumo, unikalios simetrinės struktūros ir dėl to, kad biologiniai audiniai yra santykinai skaidresni raudonai šviesai, TPPS₄ tyrinėjamas kaip galimas sensibilizatorius fotosensibilizuotų navikų terapijai.

Nustatyta, kad sensibilizuojančių medžiagų pernešimas organizme gali vykti dviem būdais: prisijungiant lipoproteinus arba baltymą serumo albuminą. Atlikti tyrimai pagrindžia, kad TPPS₄ gali patekti į žmogaus kraują ir būti išnešiotas[12].

Gausu tyrimų nagrinėjančių ir kitokių sulfonato grupių skaičių turinčias TPPS molekules: TPPS₁, TPPS_{2a} (dvi sulfonato grupės esančios kaimyniniuose fenilo žieduose), TPPS_{2o} (grupės viena priešais kitą esančiuose fenilo žieduose) ir TPPS₃. Kiekviena iš šių molekulių kaupiasi skirtingose ląstelių ir audinių vietose ir yra skirtingai tirpios, vandenyje sudaro vandenilinius ryšius. Šie fizikiniai skirtumai lemia skirtingą terapinį efektyvumą[13].

In vivo eksperimentai parodė, jog mažiau sulfonato grupių turintys, labiau lipofiliniai TPPS₁ ir TPPS_{2a} santykinai labiau kaupiasi ląstelių viduje, o hidrofiliniai TPPS_{2o} ir TPPS₄ linkę skverbtis į piktybinio naviko stromą[14]. Fluorescencinės mikroskopijos metodais nustatyta, kad TPPS_{2a}, TPPS_{2o} ir TPPS₄ neišplinta ir yra apriboti lizosomose, o TPPS₁ vidinėse ląstelės membranose[15]. Žinant, jog įprastai navikams būdinga mažesnė negu įprasta audiniams pH vertė[16] ir TPPS₄ kaupiantis ląstelių lizosomose[15], kur organelių užpildas yra rūgštinis (pH 4,5–5)[17], galime teigti, kad esant tokiam rūgštingumui molekulė yra diprotonuotos formos.

2.3. TPPS₄ agregatai

Agregacija (aglomeracija) – tai procesas, kurio metu dalelės išsisklaidžiusios skystoje fazėje, prilimpa viena prie kitos ir savaime formuoja netaisyklingus dalelių junginius – plokšteles ar aglomeratus.

Dažiklio molekulių savaiminė junginių agregacija – dažnas reiškinys dažų chemijoje vykstantis dėl stiprių tarp molekulinų jėgų. Tirpale esančius agregatus galima atpažinti iš sugerties juostų pokyčių, lyginant jas su monomerų spektru. Savaiminis agregatų formavimasis didelės koncentracijos organinių dažų tirpaluose pirmiausia buvo atrastas cianino dažuose[18], o tik vėliau pastebėta, kad jie formuojasi ir porfirino tipo molekulių tirpaluose.

Priklausomai nuo spektro poslinkio buvo išskirti du pagrindiniai agregacijos modeliai susidarantys skirtingomis sąlygomis. Batochromiškai pasislinkusios J [19], [20] ir hipsochromiškai

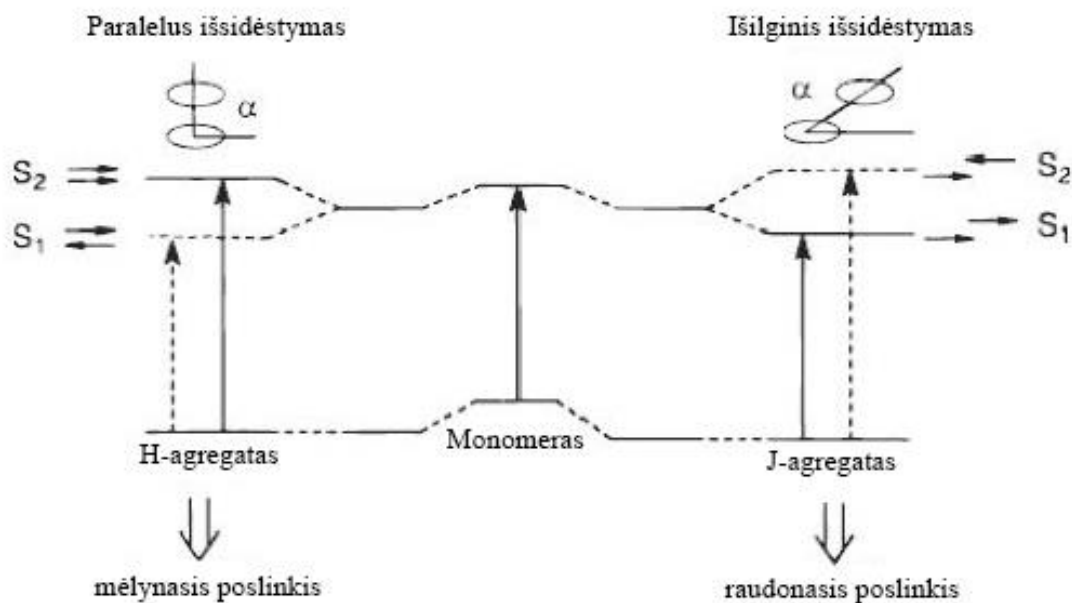
H agregatų juotos[18], kurių susidarymas aiškinamas remiantis molekulių eksitonų jungimosi teorija[21]. Minėtieji J tipo agregatai susidaro atskiroms molekulėms jungiantis su postūmiu viena kitos atžvilgiu, lyg zigzagu ir atitinka laiptelių formą, o H tipo agregatai - jungiantis vienai virš kitos be postūmio (plokštuma į plokštumą), šis tipas atitinka išskleistos kortų kaladės vaizdą[7], [22].

2.3.1. Eksitonų teorija

Energinių lygmenų sužadavimo molekulinuose agregatuose paaiškinimo konceptas kilo ukrainiečių chemiko Michaelio Kasha ir jo kolegų rusų fizikų bendrų projektų metu[23]. M. Kasha ir jo darbai turėjo didelę įtaką mokslininkų bendruomenei, paaiškino tarpmolekulinės energinės sąveikos tipų skirtumus[24]. Šie tyrimai leido atskleisti H ir J sancaupų terminologiją, kuri dažniausiai siejama su hipochromiškai (H) ir batochromiškai (J) pasislinkusiomis agreguotų dažų sugerties juostomis lyginant jas su monomerų formos spektru[25].

Batochrominis poslinkis - tai spektro juostos maksimumo padėties pokytis molekulės absorbcijos, atspindžio, pralaidumo ar emisijos spektre į ilgesnių bangų spektro pusę. Atvirkščias jam hipsochrominis poslinkis yra poslinkis į trumpesniųjų bangų pusę. Šių pokyčių priežastis – medžiagų agregacija dėl pasikeitusių aplinkos sąlygų, pavyzdžiui, pakitus poliškumui. Tokiu atveju gali kisti tirpalo spalva, ir šis procesas – vadinamas solvatochromizmu. Neigiamas solvatochromizmas atitinka hipsochrominį poslinkį, o teigiamas solvatochromizmas analogiškai batochrominį poslinkį. Solvatochromizmas priklauso nuo dažų molekulės dipolio momento skirtumo tarp jo pagrindinės ir sužadintos būsenos[18]. Ši teorija apibūdina tik idealius atvejus, tad nepaaiškina daugumos sutinkamų molekulinų junginių[26].

Remiantis eksitono teorija, dažiklio molekulės laikomos taškiniu dipoliu ir eksitoninėje būsenoje agregatas dėl dipolinių šuolių sąveikos skyla į du energinius lygmenis (S_1 ir S_2). Kai du dipoliai (chromoforai) rikiuojasi lygiagrečiai (H-agregatas), jie atstumia vienas kitą ir taip gaunama didesnės energijos būseną, tuo tarpu nelygiagrečiai išsirikiavę dipoliai traukia vienas kitą ir sumažina būsenos energiją. Priešingai veikia, kai du dipoliai išsirikiuoja vienas šalia kito ir formuojamas J-agregatas. Be to, šuolis leidžiamas tik tada, kai dipolio šuolio momentas yra didesnis nei nulis (t.y. S_2 – H-agregatui ir S_1 – J-agregatas)[27].



Paveikslas 3 . Schemoje pavaizduotas ryšys tarp chromoforų išdėstymo ir spektrinio poslinkio, remiantis molekulių eksitono teorija. Adaptuota iš [28].

J-agregatams jungiantis vienas prie kito (zigzagu), sąveika tarp dipolinių šuolių, gali būti apibūdinta kaip identiškų kolinarių svyruojančių dipolių junginys. Šis išdėstymas reiškia, kad eksitono juostos, susiformavusios kaip agregacijos padarinys, apačioje visi dipoliai virpa vienoje fazėje ir sukelia rezonansinę spindulinę (angl. *superadiation*) būseną.

Kito tipo molekulinė sąveika, tai H-agregatai. Jų molekulės yra išsidėsčiusios lygiagrečiai viena kitai (išskleistos kortų kaladės principu). Esant tokiam geometriniam išsidėstymui, eksitono juostos apačia susidaro iš šuolių ne vienoje fazėje esančių dipolių momentų sąveikos. Kadangi bendras pereinamasis dipolio momentas nyksta, H-agregatai paprastai laikomi prastai spinduliuojančiais sugertą energiją[29].

Pagrindinis H ir J agregatų struktūros skirtumas, tai posvyrio kampas tarp ilgosios ašies (linijos, einančios per agregatų centrus arba lygiagrečios jai) ir vienos linijų lygiagrečių molekulių. Šis kampas vadinamas „slydimo kampu“ ir paveiksle 3 pavaizduotas kaip „ α “. Mažas kampas ($\alpha < 36.2^\circ$ mūsų nagrinėjamosioms TPPS₄ molekulėms), nuožulnūs „laipteliai“ lemia batochrominį poslinkį (J-agregatas), o didelis kampas ($\alpha > 36.2^\circ$), statūs „laipteliai“ [30] sukelia hipsochrominį poslinkį (H-agregatas). Svarbu pažymėti, kad eksitono teorija galioja tik yra tada, kai sudedamųjų molekulių orbitų sąveika nereikšminga[7]. Chromoforų išdėstymo poveikis agregatų orbitos energijos lygiams nėra įrodytas. Taip yra dėl to, kad eksperimento metu kyla sunkumų ruošiant dažų agregatą, kuriame būtų tiksliai apibrėžtas sudedamųjų molekulių skaičius ir chromoforų struktūros formos.[31]

Be jau aptartų dimerų jungimosi modelių yra dar keletas. Pavyzdžiui, manoma, kad porfirinai gali sudaryti H tipo agregatus, bet stabilizuotus ne π elektronų sąveikos, bet šoninėmis kovalentinėmis jungtimis. Tokio tipo dimero savybės skiriasi tuo, jog mažinant tirpalo koncentraciją, junginiai neskyla į monomeras[32].

J-agregatuose energijos šuoliai leidžiami į mažesnius eksitoninius energijos lygmenis, todėl J-agregatams būdingas mažas Stokso poslinkis su didele fluorescencijos kvantine išeiga. Jų juostos padėtį galime tiksliai nustatyti iš teorijos, jei nekreipsime dėmesio į tarpmolekulinius virpesius.

H-agregatuose žemiausia energinė būsena yra stabili. Taigi perėjimas iš sužadintos būsenos į pagrindinę būseną vyksta labai greitai ir dažniausiai tarp eksitoninių juostų, kurių dipolio momentai nyksta, todėl didžioji dalis energijos nuostolių yra nespinduliniai, jų metu nepatiriami šiluminiai nuostoliai. Dėl šios priežasties H-agregatai turi labai mažą fluorescenciją, kurią sunku išmatuoti įprastomis metodikomis. Jiems būdingas didelis Stokso poslinkis ir maža kvantinė fluorescencijos išeiga.

Kitaip nei J – juosta, atitinkanti J-agregatus spektre, H pasižymi vibracine struktūra, ir jos plotis panašus į monomero Soret juostos plotį[33].

2.3.2. TPPS₄ molekulių agregacija

Tetrapirolių molekulių agregacijai įtakos turi aplinkos sąlygos ar tiriamosios sistemos parametrai. Tokie kaip terpės rūgštingumas, temperatūra, priemonių kiekis bandinyje, molekulių koncentracija, medžiagos molekulinė masė, ir dar daugelis kitų sąlygų, o nuo agregacijos laipsnio priklauso jos fotofizikinės savybės. Joms keičiantis, kinta ir fotosensibilizuotoje navikų terapijoje naudojamų sensibilizatorių efektyvumas.

TPPS₄ molekulei esant neutraliam pH 7, tetra-aniono pavidalo, medžiaga neagreguoja dėl elektrostatinių jėgų stumiančių vienas nuo kito neigiamas sulfonato grupes.

Agregatams palankių sąlygų sudarymas priklauso nuo pradinio tirpalo paruošimo. Tirpalo koncentracijai mažesnei nei 5×10^{-5} M, rūgštinėje terpėje (optimaliausia ties pH ~1.1) yra optimalios sąlygos formotis J – agregatams.

TPPS₄ J-agregatai susidaro sąveikaujant teigiamai įkrautoms porfirino žiedų ir neigiamai įkrautoms TPPS₄ cviterjoninėms SO₃⁻ grupėms. J-agregatuose galimi keletas skirtingų molekulių išdėstymų variantų [34]. Sulfonato grupių sąveika taip pat prisideda prie bendro agregato sistemos stabilumo.

Stipri J-agregato molekulių sąveika sukelia optinį atsaką – susidaro eksitono juosta (J-juosta). Tirpaluose be priemaišų J-agregatų formavimasis inicijuojamas padidėjus koncentracijai, rūgštingumui ar tarpmolekulinių jėgų stipriui. J-agregatų susidarymą galima paskatinti sąveika su aktyviosiomis medžiagomis, kurios mažina paviršiaus įtempimą ar, baltymais [35], [36].

H-agregatų formavimuisi reikalinga šiek tiek didesnė molekulių koncentracija.

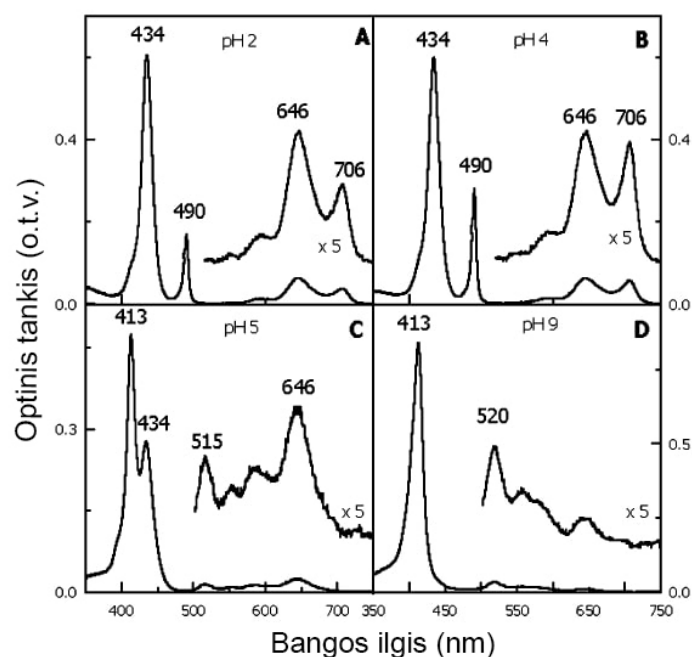
Svarbu paminėti, jog mažesnėse koncentracijose (mažiau nei 4×10^{-6} M), tirpalų agregacijos laipsniui įtakos gali turėti dimerizacija, cheminė reakcija, kurios metu du monomerai reaguoja sudarydami dimerą. Tirpaluose egzistuoja dinaminė pusiausvyra tarp ten esančių monomerų ir dimerų [13].

2.4. TPPS₄ spektrinės charakteristikos

2.4.1. Būdingos sugerties spektrų juostos vandeniniuose tirpaluose

Porfirinų tipo molekulių sugerties spektruose UV srityje matoma juosta ties 400 nm, tai didelio intensyvumo absorbcijos juosta, vadinama Soret, o regimosios šviesos srityje mažesnio intensyvumo (apie 1/10 Soret) juostos, vadinamos Q-juostomis [37].

Dėl centre esančių azoto atomų, kurie geba atiduoti arba prisijungti protonus, porfirinai kintant tirpalo pH reaguoja į terpės aplinkos pokyčius. Centre esantys du laisvi azoto atomai prisijungia protonus, o likę du gali juos ir atiduoti ir prisijungti. Neutraliame tirpale (pH 7) sulfonato grupės yra jonizuotos, o mažinant tirpalo pH porfirino žiedo centro azoto atomai prisijungia protonus. Tirpalui pasiekus pH 1 molekulės yra cviterjoninėje būsenoje, todėl neigiamą krūvį turinčios sulfonato grupės gali sąveikauti su teigiamą krūvį turinčiomis porfirino žiedo grupėmis ir taip sudaryti agregatus[38].



Paveikslas 4. TPPS₄ ($c=3 \times 10^{-5}$ M) sugerties spektras keičiant rūgštingumą terpėje. Atitinkamas pH pasiektas naudojant 5% HCl tirpalą. Adaptuota iš [39].

Kaip ir minėta TPPS₄ sugerties spektras vandeniniame tirpale labiausiai priklauso nuo rūgštingumo (pH). Neutraliame pH 7, TPPS₄ absorbcijos spektrą sudaro intensyvi Soret juosta ties 413 nm ir keturios silpnos Q juostos – 515, 550, 578 ir 631 nm.

Rūgščiame mažos koncentracijos tirpale (kur pH mažesnis nei 5) TPPS₄ absorbcijos spektras pakinta, ir matomas tik trijų juostų spektras, sudaryta iš intensyvios juostos ties 645 nm ir santykinai silpnesnių - 597 ir 550 nm. Soret juosta pasislenka į ilgesnių bangų pusę ties 435 nm, palyginus su neutraliu pH 7. Šiuos pokyčius lemia H₄TPPS₄²⁻ katijonų susiformavimas tirpale.

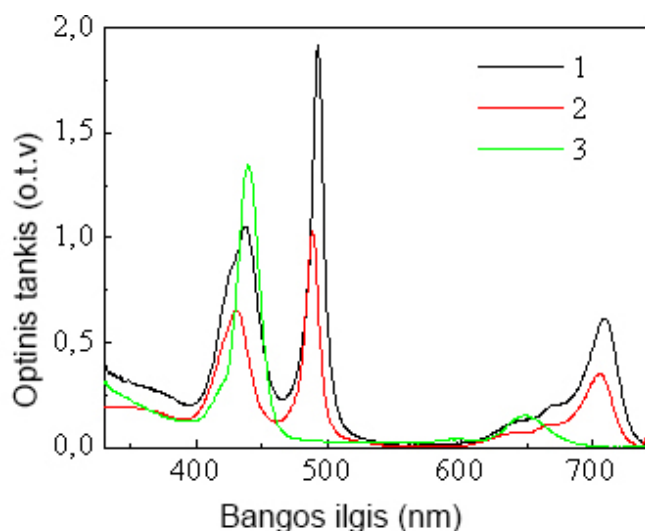
Tolygiai mažinant tirpalo pH, atsiranda naujos absorbcijos juostos ties 490 ir 706 nm. Soret juosta nedaug pasislenka į trumpabangę (mėlynąją) spektro pusę ir sumažėja intensyvumas. Prie pH 1.1 TPPS₄ sugerties spektrą sudaro Soret juosta, esanti ties 430 nm, dvi intensyvios juostos, esančios ties 490 ir 709 nm, ir trys silpnos juostos – 560, 640 ir 670 nm. Šių juostų intensyvumas santykinai priklauso nuo bendros TPPS₄ koncentracijos rūgštiniuose tirpaluose[40]. Tokiose sąlygose molekulės yra cviterjoninėje formoje (bendras molekulių krūvis lygus nuliui, tačiau atskiros molekulės dalys turi krūvį). Šioje formoje sąveikaujant molekulių neigiamai įkrautoms SO₃⁻ grupėms su teigiamu porfirino žiedu molekulės gali jungtis ir sudaryti agregatus.

Iš TPPS₄ molekulių tirpalo sugerties spektro pokyčių galime spręsti apie agregatų kiekį ir tipą. Protonuoti TPPS₄ monomerai formuoja J-agregatus vandeniniuose tirpaluose, žemo pH tirpale arba stipriam joniniui ryšiui [41], [42], [43]. Jų susidarymą rodo batochrominio poslinkio aštrios eksitoninės absorbcijos juostos, ties 490 nm ir 706 nm. Didelės koncentracijos rūgščioje terpėje TPPS₄ molekulės sudaro ir H tipo agregatus. H-agregatams priskiriama absorbcijos juosta yra hipsochrominio poslinkio, ties maždaug 423 nm [36], lyginant su protonų TPPS₄ monomerų Soret juosta.

Sugerties spektre esama izosbestinių taškų ties 420 ir 620 nm. Tai tam tikras bangos ilgis kuriame, vykstant cheminei reakcijai ar keičiant terpės parametrus, jų sugerties intensyvumas nesikeičia [39].

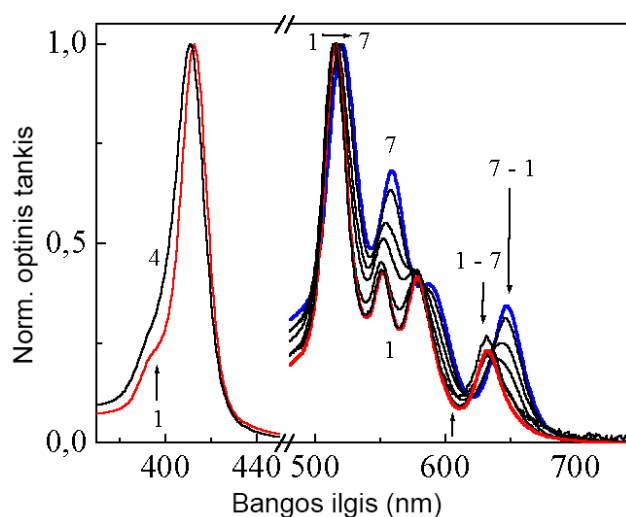
2.4.2. Sugerties spektrų pokyčiai priklausomai nuo terpės ar jos parametru

Kaip ir jau buvo minėta šio skyriaus pradžioje, didžiulę įtaką TPPS₄ absorbcijos spektrui turi terpės rūgštingumas, tad pakeitus tirpiklį taip pat matomi akivaizdūs pokyčiai. Grafike (pav. 5) palyginti sugerties spektrai, kreivės atitinka TPPS₄ porfirino skirtingas koncentracijas HCl ir stiprios rūgšties H₂SO₄ terpę. Pakitus terpei, rūgštingumui esant < pH 1 dėl sulfono grupių protonavimo J-agregatai išyra. Tokiomis sąlygomis išlieka dimerinė diprotonuota TPPS₄ forma [44].



Paveikslas 5. TPPS₄ sugerties spektro priklausomybė nuo pH: kreivės 1 ir 2 atitinka pH 1.1 (0.1 M HCl), kreivė 3 - pH 1 (40% H₂SO₄ vandeniniame tirpale). TPPS₄ koncentracijos kreivėje 1 - 10⁻⁵ M, 2 ir 3 – 5 x 10⁻⁶ M, optinis kelias - 10 mm. [40]

Įtaką tirpalo sugerties spektrui turi ir porfirino koncentracija. Galime stebėti žymius pakitimus sugerties spektre, kuriame pavaizduoti skirtingų koncentracijų TPPS₄ bandiniai vandeniniame tirpale. Padidėjus koncentracijai Soret juostos padėtis pakinta nežymiai, tačiau juosta išplatėja, santykinai daugiau trumpų bangų pusėje. Regimojo spektro dalyje Q juostos pasislenka į ilgabangę spektro pusę, analogiškai pasiskirsto intensyvumai vidurinėse juostose.



Paveikslas 6. TPPS₄ sugerties spektro priklausomybė nuo tirpalo koncentracijos. [40]

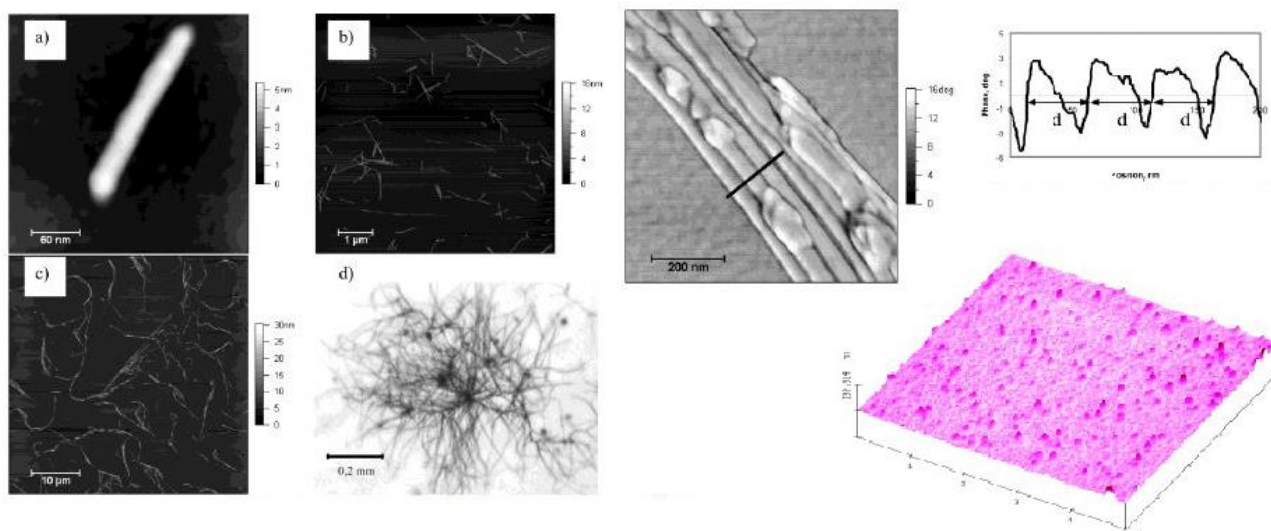
Agregacijai ir patiems molekuliniais dariniams didelę įtaką daro ir temperatūros pokyčiai. Agregatai gali būti suardyti keliant terpės temperatūrą. Tuomet agregatų jungtys yra nutraukiamos.

2.5. TPPS₄ erdvinės charakteristikos

Nagrinėjant agregatų charakteristikas labai svarbūs yra erdvinių charakteristikų tyrimai, nes dažniausiai iš spektrų negalima žinoti tikslios molekulių junginių struktūrų formos. Yra keletas tyrimų metodų, naudojamų vaizdinti tokius nanometrų eilės dydžio junginius, pavyzdžiui, atominės jėgos (AFM), skenuojančioji elektroninė (SEM) ar transmisinė elektroninė mikroskopijos.

Fluorescencinės anizotropijos tyrimais patvirtinta, jog J-agregato tūris yra maždaug 22 kartus didesnis nei monomero, o tai reiškia, kad vidutiniškai J-agregatą sudaro 22 monomerų molekulės. Ši struktūra buvo tyrinėta ir sužadintos energijos relaksacijos metodu, ir tyrimas patvirtino iš fluorescencinės anizotropijos rezultatų padarytas išvadas, jog agregatą sudaro mažiausiai 20 monomerinių molekulių [22].

Paruošus TPPS₄ pH 1 bandinį (naudojant HCl) ant silicio plokštelės, galime nagrinėti jį atominių jėgų mikroskopu ir iš rezultatų spręsti apie J-agregatų erdvinės charakteristikas. Atlikti eksperimentai rodo, kad pavienės struktūros dydis svyruoja apie $(4,5 \times 40 \times 200 - 1000) \text{ nm}^3$ (aukštis $\times$ plotis $\times$ ilgis). Iš to galime spręsti, jog TPPS₄ koncentracija ir tirpalo paruošimo būdas daro įtaką agregatų ilgiui, bet ne pločiui ar storiui.



Paveikslas 7. Kairėje paveiklo pusėje matote, stripelio pobūdžio struktūras susiformavusias iš TPPS₄ J-agregatų $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ tirpale pH 1. Skiriasi mastelis ir struktūrų kiekis. Paskutinis paveikslėlis d optinio mikroskopo J-agregatų vaizdas TPPS₄ tirpale. Dešinėje pusėje: Fazinis kontrastinis pluošto vaizdas, vaizdinant sulipusius į sferą TPPS₄ mezo-agregatus. Agregatų plotis išliko tas pats ($d = 50 \text{ nm}$). Taip pat pateiktas AFM silicio plokštelės bandinio vaizdas paruoštas išdžiovinus TPPS₄ pH 1 tirpalą [22], [45].

Remdamiesi atliktais eksperimentais [22], galime teigti, jog diprotonuotos TPPS₄ molekulės vandeniniame tirpale sudaro strypelio formos agregatus (pav. 7a), kurie suformuoja apytiksliai 20

nm skersmens žiedus (pav. 7b). Žiede turėtų būti ~60 TPPS₄ molekulių. Toliau žiedai jungiasi tarpusavyje ir kartu sudaro nanovamzdelius (pav. 7c), o šie į vamzdelių tinklus.

2.6. Polivinilalkoholis (PVA)

Polivinilalkoholis (PVA) yra sintetinis polimeras. Jo apibendrinta cheminė formulė $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})]_n$. Polivinilo alkoholis (PVA) pirmą kartą pagamintas hidrolizuojant iš polivinilo acetatą [46], [47].

PVA yra bekvapiai ir beskoniai, permatomi, balti arba kreminės spalvos granuliuoti milteliai. Tirpsta vandenyje, mažiau etanolyje, o visai netirpsta kituose organiniuose tirpikliuose. Paprastai 5% polivinilo alkoholio tirpalo pH yra 5,0–6,5. Tai komerciškai svarbiausias vandenyje tirpus plastikas. Fizinės savybės ir jo funkcinis panaudojimas priklauso nuo polimerizacijos ir hidrolizės laipsnio. Polivinilo alkoholis skirstomas į dvi klases: iš dalies hidrolizuotas ir visiškai hidrolizuotas. Dažniausiai jį galima rasti tokiose formose kaip lakai, dervos, chirurginiai siūlai ir medžiagos, kurios liečiasi su maistu. PVA yra plačiai naudojamas termoplastinis polimeras, netoksiškas biologiniams objektams. PVA yra biologiškai skaidomas polimeras, jo skaidomumas padidėja apdirbus jį hidrolizės būdu, nes anglies atomai susijungia su hidroksilo grupėmis.

Jis taip pat lengvai sumaišomas su daugybe natūralių medžiagų ir gali pasižymėti savybėmis, kurios pritaikomos įvairiems panaudojimo būdams. Natūralių pluoštų ir užpildų įtraukimas gali dar labiau pagerinti mechanines savybes, nepakenkiant optiniam sklaidomumui [48]. Taip pat pasižymi dideliu atsparumu tempimui ir lankstumu, didelėmis deguonies barjerinėmis savybėmis, tačiau šios savybės priklauso nuo drėgmės. Didėjant drėgmei, daugiau vandens yra sugerama, todėl pasikeičia kai kurios savybės: sumažėja PVA įtempimas, padidėja jo tūsumas ir atsparumas plyšimui.

2.6.1. Tirpumas

Hidrolizės laipsnis daro didelę įtaką PVA tirpumui vandenyje. Pirminis hidrofobinis PVA hidrolizės reakcijos metu paprastai tampa hidrofilinis, tai įvyksta dėl didėjančio giminingumo vandeniui.

Tirpumas vandenyje pirmiausia priklauso nuo PVA hidrolizės laipsnio. Dažniausiai PVA tampa tirpus vandenyje pasiekus 80% hidrolizės laipsnį, o tirpumas vandenyje šiek tiek sumažėja, jam didėjant. Tirpumas vandenyje taip pat priklauso nuo temperatūros, kambario temperatūroje hidrolizuotas produktas tirpsta gerai, tačiau norint jį visiškai ištirpdyti, reikia pašildyti iki 85 °C. Aukštesnio hidrolizės laipsnio produktai ištirpsta palaipsniui, jiems reikia daugiau energijos, nes jų kristališkumas yra didesnis [49].

2.6.2. Spektrinės savybės

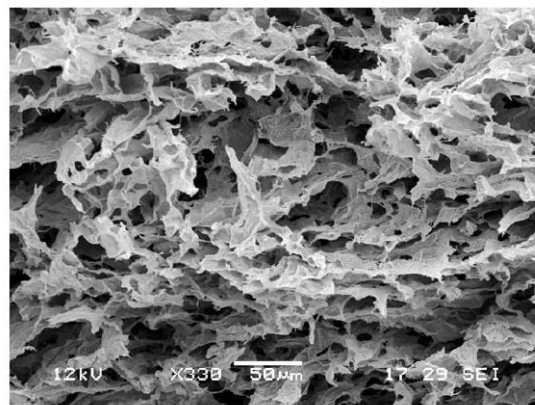
PVA plėvelės nėra liuminescencinės, jei žadinama didesne nei 420 nm bangos ilgio šviesa, todėl šią medžiagą galima naudoti kaip optiškai skaidrią pagrindinę matricą, skirtą liuminescencinėms ar neliuminescencinėms medžiagoms įterpti, jei nagrinėjama net ir UV sritis. Kadangi PVA molekulinėje struktūroje nėra benzeno žiedo, jo lūžio rodiklis yra mažesnis, palyginus su polimerais, kurių molekulinės struktūros turi benzeno žiedus [50].

2.6.3. Erdinės savybės

Morfologinės hidrogelio charakteristikos yra svarbi informacija, kuri atskleidžia jo panaudojimo būdus. Iš šios informacijos galime spręsti apie gelio struktūrą, porų dydį ir jų formą paviršiuje. Šie parametrai svarbūs, kad būtų galima įsivertinti hidrogelio tinkamumą vaistų išnešiojimui. Erdviniai vaizdai dažniausiai analizuojami skenuojančių elektronų mikroskopija (SEM).

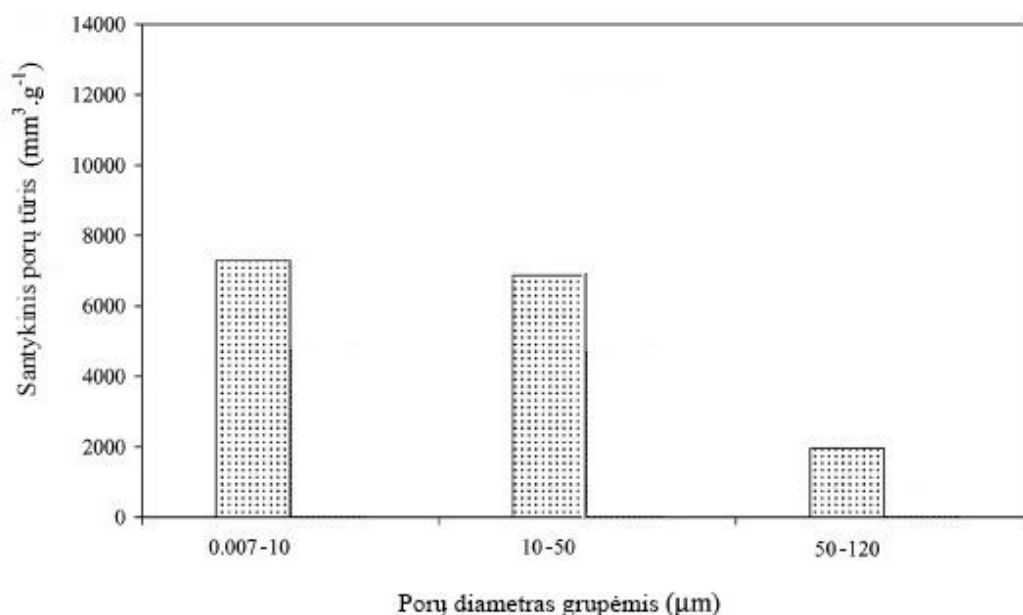
Poros dydis svyruoja nuo kelių mikrometrų iki nanometrų. SEM vaizduose galima matyti porėtą struktūrą, kurioje porų dydis kinta priklausomai nuo PVA koncentracijos ir gamybos metu vykdomų (užšaldymo ir atšildymo) ciklų skaičiaus. Mažesnė PVA koncentracija atitinka mažesnius polimero kiekius tūrio vienetu, tai leidžia teigti, jog porų tūris bus didesnis. Vykdam daugiau kriostato ciklų hidrogelio struktūra pakinta – padidėja porų dydis, atsiranda daugiau tarpusavyje apjungtų ertmių.

Šaldymo - atšildymo technika yra fizinis molekulių sujungimo metodas, kurio metu galime suformuoti hidrogelį. Jis turi keletą pranašumų lyginant su kitais, pavyzdžiui, cheminiu sujungimu ar radiacijos sukeltu kryžminimu: yra paprastas, nereikia jokių papildomų cheminių medžiagų ar aukštos temperatūros [51].



Paveikslas 8. SEM gryo PVA hidrogelio porų vaizdas [53].

SEM tyrimo metu gauti rezultatai PVA 90-98 (90-98% hidrolizuoto) parodė porėtą tarpusavyje susijungiančią hidrogelio struktūrą. Jo porų diametro pasiskirstymas yra 80-950 nm diapazone [52].



Paveikslas 9. Bendro porų tūrio pasiskirstymas pagal jų dydį. PVA 99% hidrolizuotas (vidutinė molekulinė masė MW 85.000-146.000). [53]

2.7. Polivinilalkoholio ir TPPS₄ junginiai

Hidrogečiai viena iš polimerų formų, kuri dėl hidrofilinių savybių geba trimatėse stuktūrose laikyti didelius kiekius vandens. Jų charakteristikos priklauso nuo hidrogečio sintezės technikos ir naudojamos polimero rūšies. Be jau anksčiau minėtų polimerų savybių, kurios taip pat galioja ir hidrogečiui, yra dar keletas, kurias vertėtų paminėti. Susiformavusios cheminės jungtys tarp polimerinių grandinių (kryžminių jungčių) padidina junginio stabilumą, o į hidrogečį įkapsuliuota medžiaga apsaugoma nuo aplinkos poveikio, pavyzdžiui oksidacijos.

Visų pirma, dėl savo tinkamų savybių, hidrogečiai pradėti tyrinėti kaip vaistų išnešiojimo įrankis. Ši medžiaga gali būti panaudojama kaip kapsulė – matrica, kurioje įkapsuliuosime aktyviąją medžiagą. Hidrogečiai gali būti susintetinami taip, jog vaisto išskyrimas būtų kontroliuotas, atitinkamoje vietoje ir tam tikra sparta. Esama keletas išleidimo mechanizmų: difuzijos sąlygotas, tikslinį – nukreiptą į tam tikrą vietą, išbrinkimu kontroliuojamą arba bimodalinį išsiskyrimą[54]. Egzistuoja ir tam tikra hidrogečių grupė, kuri geba reaguoti į aplinkos pokyčius (dirigiklius). Pavyzdžiui, pH ar temperatūros pokyčio sąlygotas vaistų išskyrimas. Ši savybė taip pat naudojama

naudojama medicinos prietaisuose, implantuose, kontaktiniuose lęšiuose, biosensoriuose. Išmanūs hidrogeliai geba išskirti įkapsulinius vaistus dėl cheminių (pH, elektrolitų ir tirpiklių), fizikinių (temperatūros) veiksnių ar pakitus magnetiniui laukui. Ši technologija leido sukurti antigenams jautrius hidrogelius, kurie tam tikram dirgikliui paveikus sistemą, gali atpalaiduoti specifinę terapinę antikūną [55].

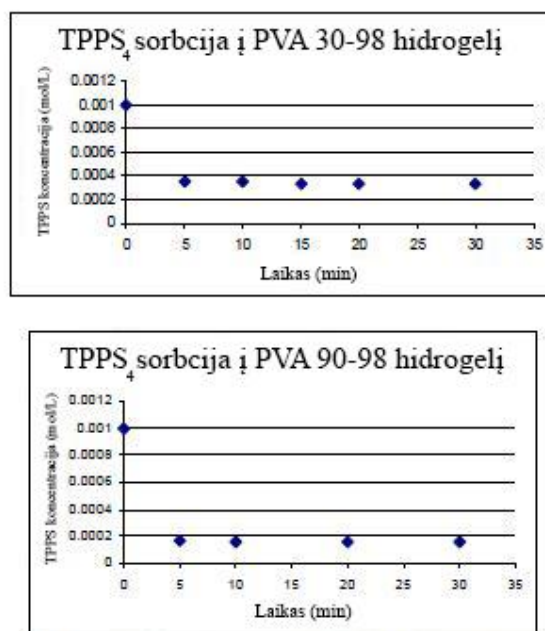
Kapsulės įrimas (išsiskyrimo greitis) ir vaisto kiekis gali būti tiksliai nustatytas sintetinant gelio matricą (pvz., keičiant molekulinę masę, koncentraciją ir kitus parametrus), sukuriant nehomogeniškumą (asimetriją) matricoje arba sukuriant skirtingos geometrijos gelius (pvz. naudojant daugiasluoksnę sistemą).

Yra keletas technologinių būdų, kaip galima įterpti porfirinus į hidrogelio matricą. Vienas iš jų – sorbcijos mechanizmas yra skirstomas į fizikinę sorbciją ir cheminę sorbciją. Fizikinės sorbcijos metu porfirinas yra įkapsuliuojamas pasinaudojant difuzijos reiškiniu. Kita vertus, naudojant cheminės sorbcijos metodą, sudaromi vandenilio ryšiai tarp PVA OH⁻ grupių ir porfirino molekulės pirolinio azoto. Šios sorbcijos intensyvumas priklauso nuo molekulės struktūros ir naudojamo tirpiklio.

Kad galėtume PVA hidrogelio matricoje įkapsuliuoti tirpias tyrinėjamo objekto fotosensibilizatorius TPPS₄ molekules, reikia įsitikinti, jog PVA hidrogelio porėtumas yra pakankamas. Konstrukciniai elementai PVA matricoje neturi aiškos erdvinės orientacijos, bet atsižvelgiant į PVA porų SEM mikroskopijos tyrimus, didžioji dalis ertmių, esančių hidrogelyje, yra tarpusavyje susisiekiančios ir 10 μm, ar ilgesnės [53]. Kaip anksčiau buvo minėta, porų dydis skiriasi dėl hidrogelio polimero charakteristikų (hidrolizės laipsnio, molekulinės masės) ir paruošimo metodo. Tyrinėjant TPPS₄ ant tolygaus paviršiaus, AFM eksperimentai rodo, jog 5x10⁻⁵ M koncentracijos tirpale pasiekus pH 1 atskirų J-agregato junginių struktūrų dydis svyravo 0.2-1 μm [22]. Šie gauti rezultatai leidžia teigti, jog tinkamai parinkus polimerinės matricos medžiagą, iš jos sudaryto hidrogelio matricoje galima įmobilizuoti TPPS₄ porfirino molekules ar jų junginius.

Porfirino įkapsuliavimas hidrogelių nanostruktūrose taip pat priklauso nuo matricos savybių. Matrica turi gebėti lengvai įsisavinti medžiagą ir po to kontroliuoti ją išskirti. Remiantis atliktu tyrimu[52], kurio metu buvo palyginti dviejų skirtingų molekulinų masių PVA hidrogeliai galima sužinoti ar matricos molekulinė masė turi įtakos sorbcijos savybėms. Hidrogeliai buvo paruošti užšaldymo - atšildymo metodu, naudojant du skirtingus PVA. PVA 90-98 ir PVA 30-98 (pirmasis skaičius reiškia polimerizacijos, o antrasis hidrolizės laipsnį). Naudojant sorbcijos metodą į PVA hidrogelius buvo įterpti TPPS₄ ir TPP bei TpyP (netirpūs vandenyje, tad jiems įterpti panaudotas

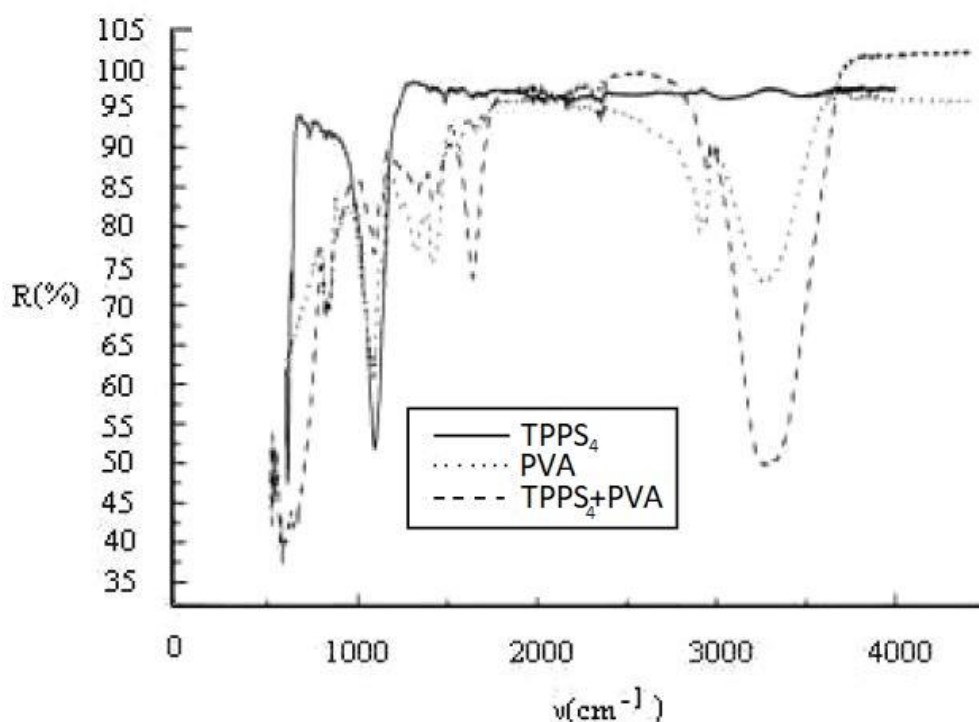
DMSO tirpalas). Visi šie porfirinai pasižymi giminiskumu PVA, dėl sąveikos vandenilio ryšiais. TPPS₄ porfirino atveju sorbcija PVA 90-98 (pirmasis skaičius reiškia polimerizacijos, o antrasis hidrolizės laipsnį) yra daug stipresnė nei PVA 30-98 hidrogelyje, tai galima pastebėti iš grafikos (pav. 10). Kitų porfirinu atveju matomos tokios pačios proporcijos, tad galime daryti išvadą, kad gelis, kurio molekulinė masė yra didesnė, gali lengviau įkapsuliuoti porfirinus. Šis sorbcijos proporcingumas gali būti paaiškinama hidrogelių, turinčių didesnę molekulinę masę, savybe savyje kaupti didesnius vandens tūrius [52].



Paveikslas 10. Skirtingų PVA hidrogelių molekulių masių sorbcijos palyginimo grafikai. [49]

Įvaldant kapsuliavimo technologiją svarbu užtikrinti, jog aktyvioji medžiaga, kuri bus naudojama paveikti audinius, nebūtų paveikta pačios kapsulės ir galėtų efektyviai atlikti savo funkciją. Įterpiant TPPS₄ agregatus į PVA matricą, sugerties spektro savybės būdingos J-agregatams išlieka. Iš atliktų Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos (FT – IR) matavimų [56] galima spręsti apie PVA ir porfirino funkcinių grupių sąveiką. Gryno PVA hidrogelio FT – IR spektre galima matyti OH⁻ grupei būdinga absorbcijos juosta, kuri yra ties 3270 cm⁻¹. PVA įkapsuliuotos TPPS₄ porfirinu matricos atveju ši smailė pasislenka 3273 cm⁻¹, be šio pakitimo galime pastebėti juostos išplatėjimą į didesnių dažnių pusę. Poslinkiai priskiriami PVA molekulių OH⁻ grupės ir pirolinio makrociklo centre esančio azoto sąveikai (dėl vandenilinių jungčių).

Šio eksperimento rezultatai rodo, jog įkapsuliavimo metu TPPS₄ sąveikauja su PVA, sudaro vandenilinius ryšius, bet naujų absorbcijos juostų neatsiranda. Nepaisant labai skirtingų fizikinių ir cheminių vandens ir PVA savybių, pagrindinės absorbcijos juostos nepasislenka ir lieka tose pačiose spektro vietose. Tai leidžia teigti, kad tarp porfirino ir polimero matricos nevyksta cheminės reakcijos, tad įkapsulius medžiagą kambario temperatūroje, TPPS₄ savybės nepasikeičia [57].



Paveikslas 11. FT-IR gauti sugerties spektrai. [56]

Iš anksčiau vykdytų eksperimentų ir nagrinėtų FT-IR sugerties spektrų, galime teigti, jog porfirinų molekulės, įkapsuliuotos ar sudarančios agregatus, mažiau sąveikauja su aplinka, o tarpmolekulinės jėgos yra sukonzentruotos į struktūrų išlaikymą. Sugerties spektruose 490 nm absorbcijos juosta PVA terpėje yra platesnė nei vandeniniame tirpale. Šis išplitimas gali reikšti sumažėjusią eksitoninę molekulių sąveiką, tačiau tuomet būtų matomas ir bangų poslinkis į trumpųjų bangų spektro dalį. Todėl yra juostos išplitimą reiktų priskirti sistemos nevienalytiškumui (homogeniškumo trūkumui). Plėvelės ar hidrogelio formavimosi metu džiovinimas, garavimas, ar kitoks vandens netekimas, molekuliniame lygmenyje sukelia agregatų mechaninius įtempius ir deformacijas, kurie eksitoninės sąveikos energijų pokyčius ir atitinkamai absorbcijos juostos išplitimą platesnėse ribose [58].

Kitas procesas, kuris svarbus įkapsuliavimo procese, tai kontroliuotas vaistų išskyrimas į audinius FNT metu. Atliktas tyrimas[56], kurio metu tiriama PVA hidrogelių (sintetintų šaldymo – atšildymo ciklą metodu) įkapsuliavimas TPPS₄ porfirinu.

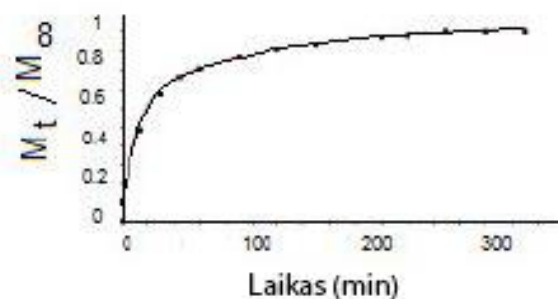
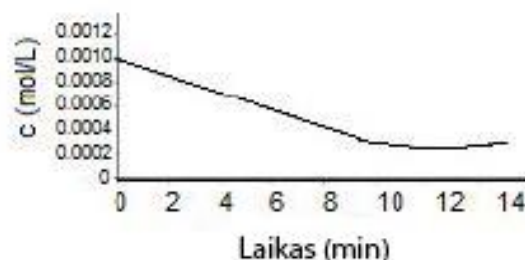
Iš grafiko (pav. 12) galima matyti, jog per 10 min sorbcijos metu TPPS₄ koncentracija sumažėja nuo 10⁻³ mol/L iki 0,3x10⁻³ mol/L, tai reiškia, jog daugiau nei pusė TPPS₄ buvo įkapsuliuota į PVA hidrogelį.

Išsiskyrimas į audinius buvo matuotas įvertinant TPPS₄ kiekį skirtingais laiko tarpais (M_t) ir pasiektą pusiausvyrą, kuri žymima (M_∞). Ji buvo įvertinta VIS spektrometrijos būdu. M_t / M_∞ santykis reiškia dalį, kuri yra įsisavinta. Santykinė dalis pavaizduota grafike kaip priklausomybė nuo laiko. Iš grafiko 7 galime įsivertinti difuzijos tiesiškumą. Ji ne tiesinė, nes laikui bėgant sorbcijos sparta kinta, tad galima teigti, jog kinetika neatitinka Fiko difuzijos apibrėžimo. Tai, jog kinetika yra netiesinė, galima paaiškinti joninės TPPS₄ formos poveikiu PVA matricai ir papildomo vandens įterpimu įkapsuliuojant TPPS₄ į gelį. Galiausiai, sorbcijos procesui sustojus, 68% viso įkapsuliuoto TPPS₄ hidrogelyje išsiskyrė į audinį[58].

Pastebėta, jog po porfirino įkapsuliavimo PVA yra labiau porėtas – poros tampa didesnės. Šio pakitimo dydis priklauso nuo molekulės dydžio, tad TPPS₄ atveju jis žymus, nes molekulė palyginus didelė.

Nors pastaruoju metu hidrogeliai buvo viena iš labiausiai nagrinėjamų sričių FNT, bet vis dar yra keletas problemų, kurias reikia išspręsti. Viena iš jų – fotosensibilizatoriaus įkapsuliuoto į hidrogelį efektyvumas. Jam polimero matrica daro įtaką, tad reiktų ištirti singletinio deguonies sintezės efektyvumą, palyginus su įprasta, neįkapsuliuota, porfirino forma. Antra, reikia susintetinti, pritaikyti daugiau unikalių savybių turinčių hidrogelių, tokių, kurie galėtų veikti kaip biojutikliai, ar turėtų kitų savybių. Taip pat reikia įsitikinti, ar hidrogeliai yra visiškai pilnai suderinami biologiškai ir išanalizuoti jų terapinį veiksmingumą in vivo metodais [59].

Nors pastaruoju metu hidrogeliai buvo viena iš labiausiai nagrinėjamų sričių FNT, bet vis dar yra keletas problemų, kurias reikia išspręsti. Viena iš jų fotosensibilizatoriaus įkapsuliuoto į hidrogelį efektyvumas. Jam polimero matrica daro įtaką, tad reiktų ištirti energijos konversijos į singletinį deguonį efektyvumą ir palyginti įkapsuliuotas porfirino molekules ir neįterptomis į matricą.



Paveikslas 12 Aukščiau pateikta hidrogelio įkapsuliavimo TPPS₄ molekulėmis kinetika; žemiau TPPS₄ išskyrimo iš hidrogelio santykinė dalis per laiko vienetą (normalizuota pagal įkapsuliuoto porfirino kiekį. [59]

PASTABA DĖL APLINKYBIŲ

Šis baigiamasis darbas parašytas 2020 metų I ketvirtyje, kai pasaulį sukretė COVID-19 infekcinė liga, virusui išplitus visame pasaulyje, kilo pandemija. Lietuvoje buvo paskelbtas karantinas ir uždaryti universitetai ir mokslinės laboratorijos. Tai sutrukdė vykdyti suplanuotus darbus laboratorijoje, tad teko keisti darbo pobūdį.

3. Eksperimentinė dalis

3.1. Bandinių paruošimas

Eksperimento tikslas buvo įvaldyti technologiją, kuria siekiama suformuoti skaidrią polivinilalkoholio matricą (hidrogelio pavidalu), į kurią būtų įterpta J-agregatų formos TPPS₄ molekulės. Taip pat įsitikinti ar J-agregatai yra įterpiami į matricą, ar įkapsuliavimo metu nepakinta J-agregatų spektrinės charakteristikos ir jų išsidėstymas matricoje yra homogeniškas.

Bandinių paruošimo procesą galima suskirstyti į du etapus, pirmasis – hidrogelio matricos sintezė, o antrasis – pasirinktos TPPS₄ tirpalo formos įterpimas į polimerinę matricą (hidrogelį). Hidrogelio gamybos proceso metu antrajam etapui įgyvendinti pasirinkti du technologiškai skirtingi įterpimo būdai ir keletas jų variacijų:

TPPS įterpiamas hidrogelio formavimosi metu:

- a. kai įterpiama TPPS₄ monomerinė forma ir po to hidrogelio terpės pH keičiamas į rūgštinį iki pH 1, inicijuojant molekulių agregaciją joms esant matricoje.
- b. kai hidrogelis formuojamas terpėje (optimalu prie pH 1-2) ir įterpiamas TPPS₄ yra joninės formos, kuriame jau yra agregatų.
 - Formavimosi metu į dar nesusidariusį hidrogelį įterpiama TPPS₄
 - Suformavus hidrogelį sorbcijos būdu įterpian TPPS₄

Suplanuota ruošiant bandinius naudoti polivinilalkoholio (PVA) polimerinę matricą. Kaip jau aptarėme, šis polimeras aprašytas kaip inertiškas ir nesąveikaujantis su dažikliu, tad tinka mūsų eksperimentui. Pasirinkta naudoti tris skirtingas PVA tipo miltelių rūšis: **PVA M_w 89 - 98k** molekulinės masės ir **99+ %** hidrolizuotas; **M_w 31 – 50k 98–99 %** ir **M_w 13-23k 98+ %**, tam kad įsivertinti molekulinės masės daromą įtaką įkapsuliavimo procesui.

Pirmajame etape pasirinkta pradėti bandymus nuo agregatų įterpimo hidrogelio formavimosi metu. Norint suformuoti tvarkingą PVA hidrogelio matricą, polimero milteliai tirpinami distiliuotame vandenyje, nuolat maišant ir kaitinant (80-90° C). Po to seka šaldymo-atšildymo procesas (angl. *freeze-thaw procedure*), kurio metu naudojant kriostatą bandinys cikliška po 12 valandų tris kartus yra atšaldomas iki -20° C ir atšildomas iki +20° C. Šiam etapui sėkmingai įgyvendinti, reikia žinoti, ar TPPS₄ J-agregatų fizikinės ar spektrinės charakteristikos nekinta atlikus temperatūrinius pokyčius pagal aprašytą eksperimentą.

Pasiruošti 4 bandiniai TPPS₄, kurio pradinė koncentracija buvo 10⁻⁶ M, (2 - distiliuotame vandenyje; 2 - HCl 0.1M). Išmatuoti bandinių sugerties spektrai (pavadintas „pradinis +20° C“). Pagal hidrogelio gamybos instrukcijas inicijuojami temperatūros pokyčiai. Kaitinama vonelėje iki +85° C. Tada pakartotas sugerties spektrų matavimas po kaitinimo neleidus atvėsti (pavadintas „kaitinant +85° C“). Po kaitinimo du bandiniai paliekami kambario temperatūroje, du iš jų dedami į -20° C. Po 24h atliekamas matavimas (pavadintas „laikant +20° C“; „laikant -20° C“). Sugerties matavimai pakartoti po savaitės laikant bandinius kambario temperatūroje ir šaldytuve.

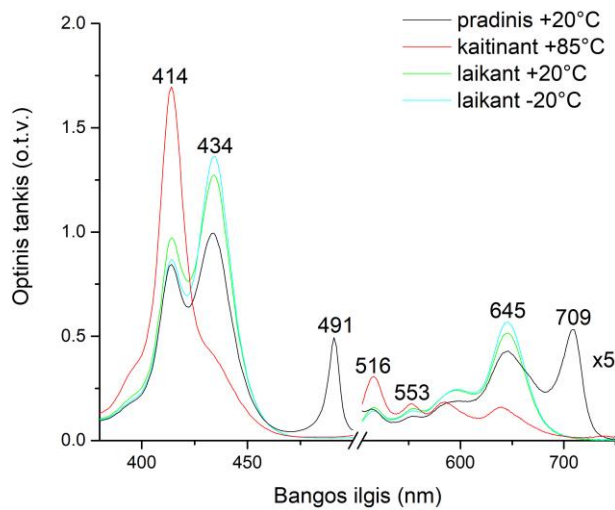
3.2. Aparatūra ir darbo metodika

Sugerties spektras matuotas Varian Cary 50 UV – VIS spektrofotometru skirtu matuoti tirpalų sugertį kiuvetėse.

3.3. Eksperimentinės dalies rezultatai

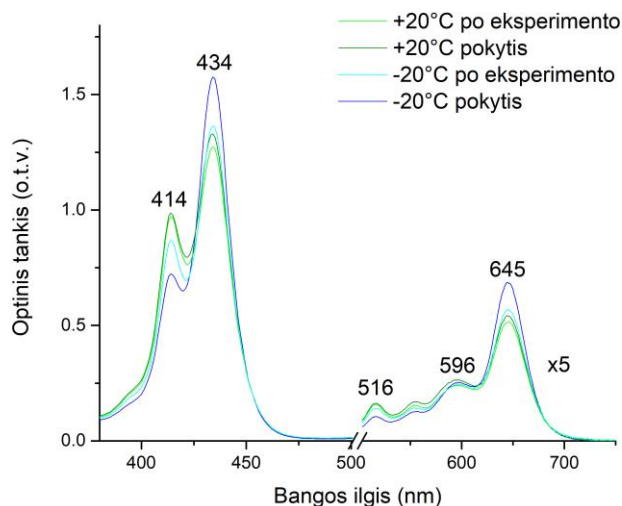
Paruošiamojo eksperimento metu buvo tikimasi atlikti bandinių sugerties spektro matavimus ir išsiaiškinti, kokią įtaką jų spektrinėms savybėms turi skirtingos temperatūros. Matavimus atlikome tokia eilės tvarka: išmatuotas pradinis tirpalas kambario temperatūroje - „pradinis +20 °C“; pakaitinus vonelėje matavimas pakartotas (neleista atšalti) - „kaitinant +85 °C“; po 30min bandinius atvėsinus laikant kambario temperatūroje „laikant +20 °C“ arba atvėsinus šaldiklyje „laikant -20 °C“.

TPPS₄ sugerties spektras monomerinėje (neutralioje būsenoje) tyrimuose[40] apibūdinamas intensyvia Soret juosta ties 413 nm ir daug mažesnio intensyvumo Q juostomis, esančiomis ilgų bangų srityje. Šiuo atveju, vandeniniame TPPS₄ tirpale, grafike (pav. 13) matome būdingas porfirino sugerties spektro juostas. Iš absorbcijos spektro matome, jog TPPS₄ molekulės aukštoje temperatūroje linkusios iširti ir lieka jų monomerinė forma, tai parodo intensyvus 413 nm maksimumas ir Q juostos – 516, 553 nm. Atvėsinus ši juosta išnyksta ir tirpalo spektre matome junginių formavimosi procesus. Daugelis molekulių vėl tampa anijoninės formos 434nm.

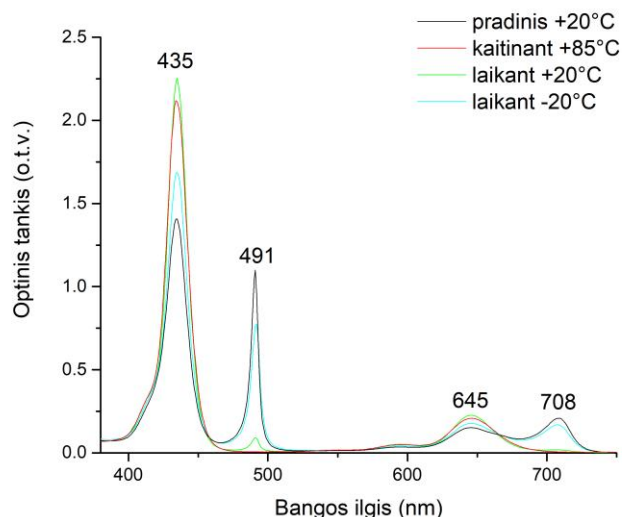


Paveikslas 13. TPPS₄ bandinio sugerties spektras distiliuotame vandenyje

Po 2 savaitių spektriniai matavimai buvo pakartoti. Bandinių laikymo sąlygos taip pat skyrėsi, vieni buvo laikyti šaldytuve, kiti kambario temperatūroje. Į santykinai mažus spektrinius intensyvumo pokyčius dėmesio nekreipsime, nes, nors ir sandariai uždaryti, bandiniai galėjo garuoti ir pakisti vandens santykis bendrame tūryje. Iš sugerties spektrų matoma, jog vandeniniuose TPPS₄ tirpaluose matomi silpni pokyčiai. Esant žemoms temperatūroms, gardelė susidėlioja tvarkingai. Kambario temperatūroje žymių pokyčių nėra.

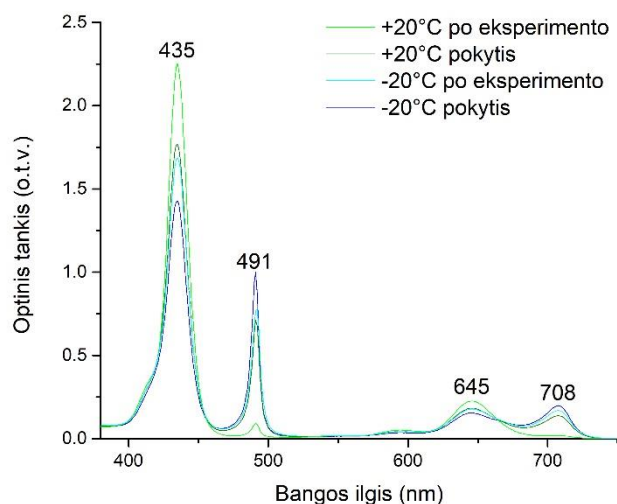


Paveikslas 14. TPPS₄ bandinio sugerties spektro pokytis distiliuotame vandenyje 2 savaitių.



Paveikslas 15. TPPS₄ bandinio sugerties spektras HCl 0.1M tirpale.

Nagrinėdami bandinius, kurių terpė yra HCl 0.1M tirpalas (pH ~1), matome panašius kreivių pokyčius kaip ir jau aptartuose vandeniniuose bandiniuose, J-agregatai keliant bandinių temperatūrą linkę suirti į joninę formą. Bandiniui atvėsus kambario temperatūroje molekuliniai junginiai (agregatai) suformuojami iš naujo – atsistato. Tai įvyksta, nes bandinio rūgštingumas nepakinta.



Paveikslas 16. TPPS₄ bandinio sugerties spektro pokytis HCl 0.1M tirpale po 2 savaitių.

Temperatūrai nukritus po eksperimento matome žymų skirtumą, tarp juostų priklausančių bandinio J-agregatams ir anijoninei formai, laikyto šaldiklyje ir kambario temperatūroje. Jos santykinai pasiskirsto tolygiai. Žema temperatūra padeda bandiniui lengviau atstatyti molekulinės struktūras, tai galime pastebėti iš aiškiai pakitusį intensyvumą ties 491 nm ir 709 nm.

4. Išvados

Darbe aptarta porfirino molekulių įkapsuliavimo į hidrogelius technologija. Metodas pagrįstas skaidrios polivinilalkoholio (PVA) matricos suformavimu, į kurią įterpiama TPPS₄ molekulė ar jos junginiai.

Iš apžvelgtų tyrimų rezultatų galima daryti išvadą, kad hidrogeliai, sudaryti iš PVA, yra efektyvus porfirinų įkapsuliavimo būdas. Didesnės molekulinės masės PVA turi geresnes savybes, nes geba įkapsuliuoti didesnius aktyviosios medžiagos kiekius, o hidrogelio porėtumas priklauso nuo tiesiogiai koncentracijos ir atvirkščiai nuo kriostato ciklų skaičiaus sintezės metu.

Tiriant paruoštų bandinių spektrines charakteristikas nustatyta, jog keliant temperatūrą esama žymaus poveikio TPPS₄ J-agregatams. Bandinį paveikus aukšta temperatūra (+85° C), jame esantys junginiai suyra, bet atvėsinus, geba atsistatyti ir suformuoti junginius - agregatus iš naujo. J-agregatų kaitinimas gali turėti įtakos jų fluorescencijai, tad tai reiktų ištirti, nes ši savybė yra jų panaudojimo pagrindas.

5. Literatūros ir šaltinių sąrašas

- [1] “Porphyrin,” *Wikipedia*. May 20, 2020, Accessed: May 27, 2020. [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Porphyrin&oldid=957779613>.
- [2] R. Lemberg, “Porphyrins in Nature,” in *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products / Progrés dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles*, A. Albert, K. Brückner, R. B. Corey, K. Freudenberg, H. H. Inhoffen, R. Lemberg, L. Pauling, S. Peat, H. Schmid, W. A. Schroeder, and L. Zechmeister, Eds. Vienna: Springer, 1954, pp. 299–349.
- [3] M. Imran, M. Ramzan, A. K. Qureshi, M. A. Khan, and M. Tariq, “Emerging Applications of Porphyrins and Metalloporphyrins in Biomedicine and Diagnostic Magnetic Resonance Imaging,” *Biosensors (Basel)*, vol. 8, no. 4, Oct. 2018, doi: 10.3390/bios8040095.
- [4] Z. Song, A. O. Adeyemo, J. Baker, S. M. Traylor, and M. L. Lightfoot, “Structure of Porphyrin TPPS4 and its Interaction With Metal Ions as Elucidated by ¹H NMR And UV-Visible Spectra,” *Ga J Sci*, vol. 69, no. 2–3, pp. 89–101, 2011.
- [5] R. Rubires, J.A. Farrera, J.M. Ribó “Stirring Effects on the Spontaneous Formation of Chirality in the Homoassociation of Diprotonated meso-Tetraphenylsulfonato Porphyrins,” in *A European Journal*, January 2001.
- [6] T. Kim, S. Ham, S. H. Lee, Y. Hong, and D. Kim, “Enhancement of exciton transport in porphyrin aggregate nanostructures by controlling the hierarchical self-assembly,” *Nanoscale*, vol. 10, no. 35, pp. 16438–16446, 2018, doi: 10.1039/C8NR05016C.
- [7] Takayoshi Kobayashi, “J-Aggregates,” vol. 2, p. 157. ISBN: 9814-36-574-2
- [8] D. A. Musser, J. M. Wagner, N. Datta-Gupta, “Distribution of Tetraphenylporphinesulfonate and Tetracarboxyphenylporphine in Tumor-Bearing Mice,” *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 61, 1978.
- [9] J. Winkelman, “The Distribution of Tetraphenylporphinesulfonate in the Tumor-bearing Rat,” *Cancer Res*, vol. 22, no. 5 Part 1, pp. 589–596, Jun. 1962.
- [10] R. J. Fiel *et al.*, “Proton relaxation enhancement by manganese(III)TPPS4 in a model tumor system,” *Magn Reson Imaging*, vol. 5, no. 2, pp. 149–156, 1987, doi: 10.1016/0730-725x(87)90044-0.
- [11] G. Gasparyan *et al.*, “In vitro testing of cyto- and genotoxicity of new porphyrin water-soluble metal derivatives,” *Int. J. Toxicol.*, vol. 26, no. 6, pp. 497–502, Dec. 2007, doi: 10.1080/10915810701707056.
- [12] J. Bartosová, I. Kalousek, and Z. Hrkál, “Binding of meso-tetra(4-sulfonatophenyl)porphine to haemopexin and albumin studied by spectroscopy methods,” *Int. J. Biochem.*, vol. 26, no. 5, pp. 631–637, May 1994, doi: 10.1016/0020-711x(94)90162-7.
- [13] K. Berg, A. Western, J. C. Bommer, and J. Moan, “Intracellular localization of sulfonated meso-tetraphenylporphines in a human carcinoma cell line,” *Photochem. Photobiol.*, vol. 52, no. 3, pp. 481–487, Sep. 1990, doi: 10.1111/j.1751-1097.1990.tb01789.x.
- [14] Q. Peng, J. Moan, G. Farrants, H. E. Danielsen, and C. Rimington, “Localization of potent photosensitizers in human tumor LOX by means of laser scanning microscopy,” *Cancer Letters*, vol. 53, no. 2, pp. 129–139, Sep. 1990, doi: 10.1016/0304-3835(90)90205-C.
- [15] Berg K., J.C. Western, J.C. Bommer, J. Moan, “Cellular uptake and relative efficiency in cell inactivation by photoactivated sulfonated meso-tetraphenylporphines” in *Photochem. Photobiol.*, 1990.
- [16] A. J. Thistlethwaite, D. B. Leeper, D. J. Moylan, and R. E. Nerlinger, “pH distribution in human tumors,” *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 11, no. 9, pp. 1647–1652, Sep. 1985, doi: 10.1016/0360-3016(85)90217-2.
- [17] Y. Ishida, S. Nayak, J. A. Mindell, and M. Grabe, “A model of lysosomal pH regulation,” *J Gen Physiol*, vol. 141, no. 6, pp. 705–720, Jun. 2013, doi: 10.1085/jgp.201210930.

- [18] A. Mishra, R. K. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, and G. B. Behera, "Cyanines during the 1990s: A Review," *Chem. Rev.*, vol. 100, no. 6, pp. 1973–2012, Jun. 2000, doi: 10.1021/cr990402t.
- [19] E. E. Jelley, "Spectral Absorption and Fluorescence of Dyes in the Molecular State," *Nature*, vol. 138, no. 3502, pp. 1009–1010, Dec. 1936, doi: 10.1038/1381009a0.
- [20] Scheibe, G., "Variability of the Absorption Spectra of Some Sensitizing Dyes and Its Cause," vol. 49, p. 563, 1936.
- [21] E. G. McRae and M. Kasha, "Enhancement of Phosphorescence Ability upon Aggregation of Dye Molecules," *Journal of Chemical Physics*, vol. 28, pp. 721–722, Apr. 1958, doi: 10.1063/1.1744225.
- [22] R. Rotomskis, R. Augulis, V. Snitka, R. Valiokas, and B. Liedberg, "Hierarchical Structure of TPPS₄ J-Aggregates on Substrate Revealed by Atomic Force Microscopy," *J. Phys. Chem. B*, vol. 108, no. 9, pp. 2833–2838, Mar. 2004, doi: 10.1021/jp036128v.
- [23] M. Schwoerer and H. C. Wolf, *Organic Molecular Solids*. John Wiley & Sons, 2007.
- [24] M. Kasha, "Energy Transfer Mechanisms and the Molecular Exciton Model for Molecular Aggregates," *Radiation Research*, vol. 20, no. 1, p. 55, Sep. 1963, doi: 10.2307/3571331.
- [25] M. Kasha, H. R. Rawls, and M. Ashraf El-Bayoumi, "The exciton model in molecular spectroscopy," *Pure Appl. Chem.*, vol. 11, no. 3, pp. 371–392, 1965, doi: 10.1351/pac196511030371.
- [26] N. J. Hestand and F. C. Spano, "Molecular Aggregate Photophysics beyond the Kasha Model: Novel Design Principles for Organic Materials," *Acc. Chem. Res.*, vol. 50, no. 2, pp. 341–350, 21 2017, doi: 10.1021/acs.accounts.6b00576.
- [27] N. J. Hestand and F. C. Spano, "Expanded Theory of H- and J-Molecular Aggregates: The Effects of Vibronic Coupling and Intermolecular Charge Transfer," *Chem. Rev.*, vol. 118, no. 15, pp. 7069–7163, Aug. 2018, doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00581.
- [28] G. B. Behera, P. K. Behera, and B. K. Mishra, "Cyanine Dyes: Self Aggregation and Behaviour in Surfactants A Review," *Journal of Surface Science and Technology*, vol. 23, no. 1/2, pp. 1–32, 2007.
- [29] A. Davydov, *Theory of Molecular Excitons*. Springer US, 1971.
- [30] Q. Zhao, Y. Wang, Y. Xu, Y. Yan, and J. Huang, "Out-of-Plane Coordinated Porphyrin Nanotubes with Enhanced Singlet Oxygen Generation Efficiency," *Sci Rep*, vol. 6, no. 1, pp. 1–8, Aug. 2016, doi: 10.1038/srep31339.
- [31] T. Katoh, K. Ogawa, Y. Inagaki, and R. Okazaki, "Influence of Molecular Arrangements on the Properties of Polymethine Dye Aggregates," p. 4, 2000.
- [32] "BLD6.pdf." Accessed: May 06, 2020. [Online]. Available: <http://www.biofotonika.ff.vu.lt/wp-content/uploads/2013/12/BLD6.pdf>.
- [33] A. Eisfeld and J. S. Briggs, "The J- and H-bands of organic dye aggregates," *Chemical Physics*, vol. 324, no. 2–3, pp. 376–384, May 2006, doi: 10.1016/j.chemphys.2005.11.015.
- [34] R. Augulis, J. Tamulienė, A. Tamulis, and R. Rotomskis, "Theoretical Modeling of TPPS₄ J-Aggregates," *SSP*, vol. 97–98, pp. 225–228, Apr. 2004, doi: 10.4028/www.scientific.net/SSP.97-98.225.
- [35] S. M. Andrade and S. M. B. Costa, "Spectroscopic studies on the interaction of a water soluble porphyrin and two drug carrier proteins.," *Biophys J*, vol. 82, no. 3, pp. 1607–1619, Mar. 2002.
- [36] J. Valanciunaite, V. Poderys, S. Bagdonas, R. Rotomskis and A. Selskis "Protein induced formation of porphyrin (TPPS₄) nanostructures" *Journal of Physics: Conference Series*, vol. 61, Apr. 2007.
- [37] Rotomskis, S. Bagdonas ir J. Valančiūnaitė, *Biofotonika*. VU leidykla, 2007. ISBN 978-9955-33-072-1.
- [38] R. Augulis, R. Valiokas, B. Liedberg, and R. Rotomskis, "Atomic Force Microscopy of Self-Assembled Nanostructures of TPPS₄ on SAM Substrates," *SSP*, vol. 97–98, pp. 195–200, Apr. 2004, doi: 10.4028/www.scientific.net/SSP.97-98.195.

- [39] I. Hanyż and D. Wróbel, "The influence of pH on charged porphyrins studied by fluorescence and photoacoustic spectroscopy," *Photochem. Photobiol. Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 126–132, Feb. 2002, doi: 10.1039/B108837H.
- [40] R. Rotomskis, V. Vaicaitis, D. Frolov, S. Bagdonas, "TPPS4 spectroscopy: investigations of aggregation and protonation properties," pp. 249–240, Jul. 1998.
- [41] E. B. Fleischer, J. M. Palmer, T. S. Srivastava, and A. Chatterjee, "Thermodynamic and kinetic properties of an iron-porphyrin system," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 93, no. 13, pp. 3162–3167, Jun. 1971, doi: 10.1021/ja00742a012.
- [42] R. F. Pasternack *et al.*, "Aggregation of meso-substituted water-soluble porphyrins," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 94, no. 13, pp. 4511–4517, Jun. 1972, doi: 10.1021/ja00768a016.
- [43] O. Ohno, Y. Kaizu, and H. Kobayashi, "J-aggregate formation of a water-soluble porphyrin in acidic aqueous media," *J. Chem. Phys.*, vol. 99, no. 5, pp. 4128–4139, Sep. 1993, doi: 10.1063/1.466109.
- [44] D. Frolov, S. Bagdonas, L. Kelbauskas, W. Dietel, G. Streckyte, R. Rotomskis, *Lithuanian J. Phys.*, vol. 41, p. 484, 2001.
- [45] R. Rahimi, M. Jeddi, S.A. Ravanfar "Characterization of Nano Tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrin Aggregation Through Atomic Force Microscopy and UV-Vis Spectroscopy Methods" in *Asian Journal of Chemistry*, May 2009.
- [46] M. L. Hallensleben, "Polyvinyl Compounds, Others," in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000, p. a21_743.
- [47] X. Tang and S. Alavi, "Recent advances in starch, polyvinyl alcohol based polymer blends, nanocomposites and their biodegradability," *Carbohydrate Polymers*, vol. 85, no. 1, pp. 7–16, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.carbpol.2011.01.030.
- [48] T. S. Gaaz, A. B. Sulong, M. N. Akhtar, A. A. H. Kadhum, A. B. Mohamad, and A. A. Al-Amiery, "Properties and Applications of Polyvinyl Alcohol, Halloysite Nanotubes and Their Nanocomposites," *Molecules*, vol. 20, no. 12, pp. 22833–22847, Dec. 2015, doi: 10.3390/molecules201219884.
- [49] A. Aina *et al.*, "Dissolution Behavior of Poly Vinyl Alcohol in Water and its Effect on the Physical Morphologies of PLGA Scaffolds," *UK Journal of Pharmaceutical Biosciences*, vol. 2, no. 1, p. 1, Feb. 2014, doi: 10.20510/ukjpb/2/i1/91124.
- [43] "Preparation and Characterization of Chitosan-Poly(vinyl alcohol) Nanocomposite Films Embedded with Functionalized Multi-Walled Carbon Nanotube," in *Carbohydrate Polymers*, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.02.086
- [51] C. Vasile, D. Pamfil, E. Stoleru, and M. Baican, "New Developments in Medical Applications of Hybrid Hydrogels Containing Natural Polymers," *Molecules*, vol. 25, no. 7, p. 1539, Jan. 2020, doi: 10.3390/molecules25071539.
- [45] S. Patachia, R. M. Ion "Porphyrin encapsulation in nanostructured hydrogels," in *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, Jul. 2007._
- [53] M. G. Cascone, L. Lazzeri, E. Sparvoli, M. Scatena, L. P. Serino, and S. Danti, "Morphological evaluation of bioartificial hydrogels as potential tissue engineering scaffolds," *J Mater Sci: Mater Med*, vol. 15, no. 12, pp. 1309–1313, Dec. 2004, doi: 10.1007/s10856-004-5739-z.
- [54] A. Streubel, J. Siepmann, N. A. Peppas, and R. Bodmeier, "Bimodal drug release achieved with multi-layer matrix tablets: transport mechanisms and device design," *Journal of Controlled Release*, vol. 69, no. 3, pp. 455–468, Dec. 2000, doi: 10.1016/S0168-3659(00)00334-5.
- [55] C. M. Hassan and N. A. Peppas, "Structure and Morphology of Freeze/Thawed PVA Hydrogels," *Macromolecules*, vol. 33, no. 7, pp. 2472–2479, Apr. 2000, doi: 10.1021/ma9907587.
- [56] S. Varga, S. Patachia, and R. Ion, "Development of controlled-release devices for photodynamic therapy of cancer," *Pollack Periodica*, vol. 2, no. 2, pp. 131–140, Aug. 2007, doi: 10.1556/Pollack.2.2007.2.11.

- [57] L. Kelbauskas, S. Bagdonas, W. Dietel, and R. Rotomskis, “Excitation relaxation and structure of TPPS4 J-aggregates,” *Journal of Luminescence*, vol. 101, no. 4, pp. 253–262, Apr. 2003, doi: 10.1016/S0022-2313(02)00547-1.
- [58] R. M. Ion and S. C. F. Patachia, “TPPS4 Controlled Release from PVA Hydrogels in Photodynamic Therapy of Cancer,” in *International Conference on Advancements of Medicine and Health Care through Technology; 5th – 7th June 2014, Cluj-Napoca, Romania*, vol. 44, S. Vlad and R. V. Ciupa, Eds. Cham: Springer International Publishing, 2014, pp. 307–310.
- [59] X. Zhang, L.-Y. Xia, X. Chen, Z. Chen, and F.-G. Wu, “Hydrogel-based phototherapy for fighting cancer and bacterial infection,” *Sci. China Mater.*, vol. 60, no. 6, pp. 487–503, Jun. 2017, doi: 10.1007/s40843-017-9025-3.

6. Summary

Ignas Kamarauskas

REVIEW OF SPECTRUM AND SPATIAL PROPERTIES OF TPPS₄ AGGREGATES FORMATION IN POLYVINYL ALCOHOL MATRIX

For half of the century, light has been used for the diagnostics and treatment of various diseases. The origins of this technology in medicine and surgery are traced from antique times to nowadays. Phototherapy began in ancient east countries but disappeared for many centuries, only being found by modern civilization century ago. The discovery of the tumor-localizing ability of hematoporphyrin, together with its phototoxic effect on tumor cells led to the development of photodynamic therapy, a promising tool in modern cancer treatment.

The interaction of light with living cells is vital for their survival and yet under certain circumstances can lead to their destruction. Photosensitizers are a type of molecule that initiates a chemical type of change in another molecule during a photochemical process. It allows doctors to find accurate margins of tumors, initiate necrosis, and after removal can be used as a tool for further scientific research. Therefore various investigations are carried out to understand the effects of photosensitizers and their accumulation in biological tissue.

In this scientific review, the meso-tetra(4-sulfonatophenyl)porphine (TPPS₄) spectral characteristics in polyvinyl alcohol hydrogel has been investigated. Hydrogels are hydrophilic polymer networks whose applications are based on their ability to retain large amounts of water. They can be used as drug carriers' structures with applications in the controlled release of the active substance. Using this method we can make sure that healthy human tissue won't be affected.

The controlled release of TPPS₄ from the PVA hydrogel has been discussed. Also, the influence of TPPS₄ forms on hydrogel properties was analyzed.

In conclusion, J – aggregates in polymeric matrix exhibit much higher photostability. This is because PVA acts as barrier and there is low porphyrin interaction with oxygen. From FT-IR spectrum we can declare that there is no chemical reaction between PVA and porphyrin TPPS₄, because new bands are not formed. Also higher molecular weight of PVA, improves properties of encapsulation and higher amounts of active substances can be transported.

In the future we should investigate the temperature stability of TPPS₄ J-aggregates. In case of unfavorable results, it's possible to use another encapsulation method that doesn't include heating.