

Vilniaus universiteto  
Fizikos fakulteto  
Fotonikos ir nanotechnologijų institutas

Kamilė Tulaitė

SUŽADINIMŲ RELAKSACIJOS VYKSMŲ TYRIMAS TIRAPAZAMINŲ JUNGINIUOSE

Magistrantūros studijų baigiamasis darbas

Lazerinės fizikos ir optinių technologijų studijų  
programa

Studentas

Kamilė Tulaitė

Leista ginti

2022-05-25

Darbo vadovas

prof. Saulius Juršėnas

Instituto atstovas

prof. dr. Ramūnas Aleksiejūnas

Vilnius 2022

# TURINYS

ĮVADAS.....	3
1 TEORINIS ĮVADAS .....	4
1.1 Sužadavimo relaksacijos vyksmai molekulinėse sistemose .....	4
1.2 Tirapazaminų junginių veikimo principas.....	7
1.3 Tirapazaminų optinės savybės .....	9
2 BANDINIŲ PARUOŠIMO IR TYRIMO METODIKOS .....	11
2.1 Tiriamos medžiagos ir bandinių paruošimas.....	11
2.2 Sugerties spektrų matavimas.....	12
2.3 Fluorescencijos spektrų matavimas.....	14
2.4 Fluorescencijos kvantinių našumų nustatymas .....	14
2.4.1 Palyginamasis metodas.....	15
2.4.2 Integruojančios sferos metodas .....	15
2.5 Fluorescencijos gesimo trukmių nustatymas.....	16
2.5.1 Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodika .....	16
2.5.2 Žadinimo – zondavimo spektroskopija.....	18
2.5.3 Fotoelektronų kamera .....	20
3 REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	23
3.1 Sužadavimo relaksacijos vyksmai tirapazamino molekulėje.....	23
3.2 Pakaitų įtaka dezoksitirapazamino junginio fotofizikinėms savybėms.....	29
3.2.1 Halogeniniai pakaitai .....	29
3.2.2 Azoto heterociklo pakaitai.....	31
3.2.3 Deguoniniai pakaitai.....	32
3.2.4 Metilo grupės pakaitai .....	34
IŠVADOS .....	36
LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	37
SANTRAUKA .....	40
SUMMARY .....	41

## IVADAS

Tirapazaminas (TPZ) yra organinė molekulė iš citotoksinų klasės, pasižyminti selektyviu elgesiu hipoksinėje (žemo deguonies lygio) aplinkoje [1]. Hipoksija yra įprastas reiškinys aptinkamas piktybiniuose solidiniuose navikuose [2]. Būtent dėl šio reiškinio vėžio gydymas vis dar yra iššūkis, nes žemo deguonies lygio regionai silpnina spindulinės terapijos ar kitokių priešvėžinių vaistų poveikį [3]. Tirapazaminas atsidūręs tokioje biologinėje aplinkoje sudaro reaktyvų radikalą, kuris sukelia vėžinės ląstelės DNR grandinės pažeidimus, o patekęs į deguonies prisotintą terpę TPZ yra oksiduojamas atgal į pradinę neutralią molekulę [4].

Tirapazaminas, kaip perspektyvus vėžį gydantis junginys žinomas ir detalai tyrinėjamas jau kelis dešimtmečius biologijos bei medicinos srityse. Deja, detalios informacijos ir analizės apie šio junginio fotofizikines savybes bei jų valdymą gerokai mažiau. Yra žinoma, kad tirapazamino sužadinimo relaksacijos valdantis kanalas nespindulinis, tačiau vis dar diskutuojama, koks konkrečiai mechanizmas pasireiškia. Vieni šaltiniai teigia, kad pagrindinis nespindulinio kanalo gesimo mechanizmas yra elektrono pernaša [5], kiti mano, kad vyksta protono pernaša [6], taip pat dar nėra aišku, kokia dalimi sužadinimo relaksacijos vyksmai yra nulemti išorinių faktorių ir kokia – vidinių procesų. Norint sėkmingai suprasti šių medžiagų valdymo, modifikavimo ir pritaikymo galimybes, reikia atlikti daugiau TPZ molekulių optinių savybių tyrimų, modifikuojant tiek pačią molekulę, tiek aiškinantis vidinės relaksacijos mechanizmus.

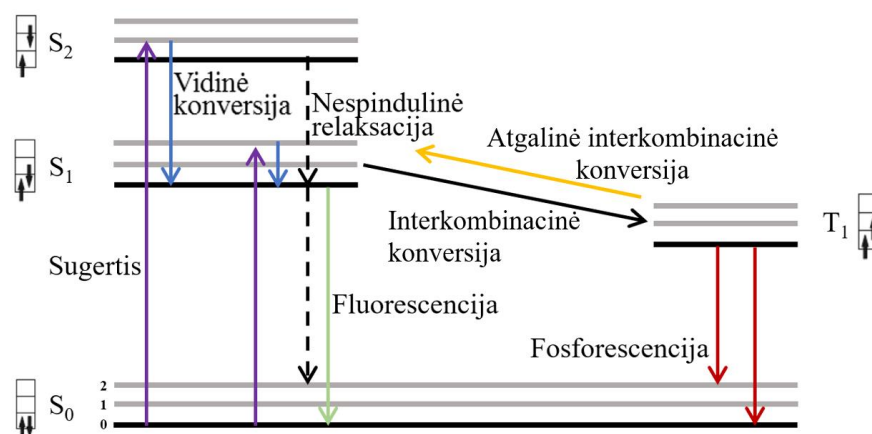
Šio darbo tikslas buvo ištirti polinių pakaitų įtaką fotocheminių reakcijų spartai, tirapazaminų bei dezoksitirapazaminų (dTPZ) junginiuose ir optimizuoti modifikuotų dTPZ junginių fluorescencijos savybes.

Šis darbas buvo atliktas bendradarbiaujant su Vilniaus universiteto Gyvybės ir mokslo centro prof. N. Čėno grupės mokslininkais, kurie susintetino keletą serijų modifikuotų tirapazamino junginių, sintezę atliko dr. J. Šarlauskas. Naujieji junginiai buvo orientuoti į tirapazamino optinių savybių valdymo galimybių paiešką nedideliais poliniais pakaitais. Naujai susintetintų darinių spektroskopiniai tyrimai atlikti pirmiausia siekiant detalai suprasti tirapazamino junginių sužadinimo relaksacijos mechanizmus, antra – optimizuoti modifikuotų dezoksitirapazamino junginių fluorescencijos savybių valdymą. Tirapazaminai pasižymintys našia fluorescencija, galėtų būti naudojami vėžio gydymo stadijų vaizdavime arba įvairių fermentinių reakcijų stebėjime.

# 1 TEORINIS ĮVADAS

## 1.1 Sužadavimo relaksacijos vyksmai molekulinėse sistemose

Molekulės optinis sužadimas vyksta kartu su optine sugertimi, kai molekulė pereina į aukštesnę sužadintą būseną po to kai sugeria šviesos kvantą. Jei sužadinto elektrono sukinių projekcija nepasikeičia, jis pereina į sužadintą būseną, kurią vadiname singuletine. Tokį lygmenį žymime  $S_n$ , čia indeksas  $n$  nurodo lygmens numerį. Jei sužadinto ir nesužadinto elektronų sukinių projekcijos tampa vienodos tai elektronas pereina į tokią sužadintą būseną, kurią vadiname tripletine ir ją žymime  $T_n$  [7]. Sužadavimo bei relaksacijos procesus patogiu nagrinėti pasinaudojant Jablonskio diagrama, kuri yra pavaizduota 8 paveikslėlyje.



8 pav. Jablonskio diagrama. Pagal [8].

Be elektroninių singletinių  $S_n$  bei tripletinių  $T_n$  lygmenų dar egzistuoja mažesnių energijų lygmenys, kurie atsiranda dėl molekulės atomų virpesių apie pusiausvyros padėtį. Jablonskio diagramoje virpesiniai lygmenys atvaizduoti pilkomis linijomis ir taip pat turi įtakos relaksacijos procesams. Diagramos kairėje bei dešinėje pusėse rodyklėmis pavaizduotos elektronų sukinių projekcijos esant atitinkamais singletiniais ir tripletiniais lygmenimis [9].

Procesas vadinamas sugertimi, 8 pav. atvaizduotas violetinėmis rodyklėmis, vyksta tuomet, kai elektronas persoka iš pagrindinės nesužadintos būsenos lygmens (žymimos  $S_0$ ) į pirmąjį  $S_1$  arba aukštesnės eilės singuletines būsenas  $S_n$ . Toliau sužadintas elektronas vidinės konversijos būdu relaksuoja iš aukštesnio virpesinio lygmens į žemesnį (mėlynos rodyklės), perteklinę energiją išspinduliuodamas šilumos pavidalu. Tai yra ultraspartus procesas trunkantis  $\sim 10^{-13}$  s [7]. Kadangi optinis sužadimas taip pat yra spartus procesas, elektronas pereidamas į sužadintą būseną nespėja pakeisti sukinių projekcijos [10]. Elektronas gali nespindulinės relaksacijos (punktyrinė rodyklė) keliu grįžti atgal į pagrindinę būseną, tačiau tokios relaksacijos tikimybė eksponentiškai mažėja didėjant HOMO-LUMO energijos trapui. Sužadintas elektronas būdamas  $S_1$  lygmenyje taip pat gali

relaksuoti fluorescencijos (žalia rodyklė) būdu išspinduliuodamas fotoną. Fluorescencijos gyvavimo trukmė įprastai siekia  $\sim 10^{-8}$  s [11]. Tokių fotonų energija yra mažesnė nei sugertų, nes dalis energijos yra perduodama virpesiniams atomo branduolių svyravimams. Atsiradęs energijų skirtumas tarp sugerties ir fluorescencijos yra vadinamas Stokso poslinkiu [12]. Jei sužadintos būsenos gyvuoja ilgai, tuomet elektronas gali pakeisti savo sukinio projekciją ir pereiti į tripletinę būseną interkombinacinės konversijos būdu (juoda rodyklė). Didžioji dalis molekulių nepasižymi efektyviu sukinio keitimu, tačiau jei yra didelė sukinio orbitos sanklota, tuomet interkombinacinė konversija gali tapti dominuojančiu sužadinimo relaksacijos mechanizmu.

Sukinio-orbitos sąveiką pagal kvantinę mechaniką galime įsivaizduoti kaip efektingą magnetinį lauką, į kurį reaguoja elektrono sukinytis [13]. Sukinio orbitos sąveika – reliatyvistinė sąveika tarp elektrono sukinio ir jo orbitinio judesio, kuri leidžia perėjimus tarp singuletinės ir tripletinės būsenų. Stipri sukinio-orbitos sąveika yra siekiama organinių molekulių savybė, kadangi ji sukelia interkombinacinę konversiją (IK) fotosensibilizatoriuose [14]. Bendruoju atveju sukinio apsisvertimo tikimybė priklauso nuo magnetinio momento dydžio kylančio iš elektrono orbitinio judesio branduolio elektriniame lauke, todėl sukinio orbitos sąveika yra proporcinga  $Z^4$  ( $Z$  žymi atominį skaičių) [15]. Gana didelė sukinio-orbitos sąveika gali būti pasiekta molekulėse, sudarytose iš lengvų elementų, kai sukinio apsisvertimas yra indukuotas pakankamai dideliu orbitiniu momentu, atsiradusiu dėl ortogonalinių molekulinėse orbitalių maišymosi [16].

Interkombinacinė konversija yra procesas, kurį lemia sąveika tarp elektrono sukinio ir molekulinės orbitalės magnetinio momento [17]. Interkombinacinės konversijos sparta proporcinga sukinio orbitos sąveikai ir atvirkščiai proporcinga draustinės energijos tarpui tarp singuletinės ir tripletinės būsenų. Iš sukinio orbitos operatoriaus yra išvedamos El-Sayed taisyklės, kurios teigia, kad sukinio pakitimas turi būti lydimas kampinio momento pokyčio [18]. Todėl tikėtini šuoliai tarp lokalių ir krūvio pernašos (angl. k. charge transfer, CT) būsenų, o šuoliai tarp tokių pačių būsenų – draustini.

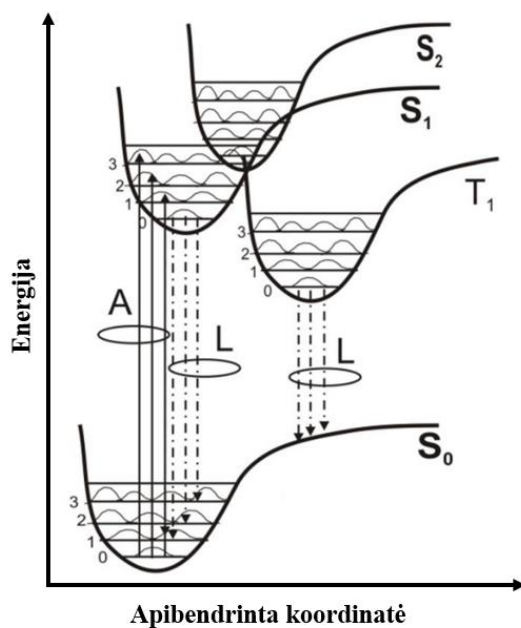
Per tripletinius lygmenis elektronas gali relaksuoti į pagrindinę nesužadintą būseną fosforescencijos (raudonos rodyklės) būdu, taip pat emituodamas fotoną. Kadangi  $T_n \rightarrow S_0$  šuolis yra draustas dėl elektrono sukinio projekcijos pasikeitimo, tripletinių lygmenų gyvavimo trukmės dažniausiai gana ilgos, todėl fosforescencija gali trukti dešimtis sekundžių arba net kelias minutes. Pagal sukinio atrankos principą šuoliai į  $T_2 \rightarrow T_n$  būsenas yra leistini, tačiau tripletiniai molekulių sužadinimai gerokai mažiau tikėtini nei singuletiniai sužadinimai. Taip yra todėl, kad elektronas pereidamas iš pagrindinės nesužadintos  $S_0$  būsenos į pirmą tripletinį  $T_1$  lygmenį turi pakeisti savo sukinio projekciją į priešingą [11]. Interkombinacinei konversijai atvirkščias procesas yra atgalinė interkombinacinė konversija (geltona rodyklė). Jos metu sužadintas elektronas iš tripletinio lygmens

grįžta į singuletinį lygmenį, tačiau kad įvyktų toks procesas  $S_1$  ir  $T_1$  būsenų energijos skirtumas turi būti mažas [19]. Dar vienas spindulinės relaksacijos būdas yra uždelstoji fluorescencija. Šio proceso metu šviesos kvanto emisija vyksta iš to paties  $S_1$  lygmens, bet vyksta lėčiau nei normali fluorescencija. Vienas iš kriterijų pastebėti uždelstąją fluorescenciją – elektrono šuolis iš sužadintos tripletinės būsenos  $T_1$  į pirmą sužadintą singuletinę būseną  $S_1$ . Jei  $T_1$  gyvuoja pakankamai ilgai, kad atsirastų tikimybė molekulei iš aplinkos gauti papildomos energijos, tada interkombinacinės konversijos būdu elektronas gali sugrįžti į  $S_1$  būseną. Iš čia elektronas toliau gali relaksuoti nespinduliniu būdu arba gali įvykti uždelstoji fluorescencija [20].

Organinių molekulių sužadinimo ir spindulinės (ar nespindulinės) relaksacijos procesus su empiriškai gautais sugerties bei fluorescencijos duomenimis padeda susieti potencialiniai paviršiai. Bendru atveju tai elektrono potencialinės energijos priklausomybė nuo koordinacių. Potencialiniams paviršiams sudaryti naudojamas Borno ir Openhaimerio artinys, kuris teigia, kad atomo branduoliai yra gerokai lėtesni už elektronus ir branduoliai kuria stacionarų energijos lauką. Šuolio momento kvadratas apibrėžia molekulės sužadinimo bei relaksacijos tikimybe ir yra išreiškiamas kaip trijų integralų kvadratų sandauga [10]:

$$M^2 \propto |\langle \psi_{eg} | \hat{M} | \psi_{ep} \rangle|^2 |\langle \chi_{vg} | \chi_{vp} \rangle|^2 |\langle \sigma_{sg} | \sigma_{sp} \rangle|^2 \quad (9)$$

Kaip matome iš (9) formulės, molekulinio šuolio tikimybe galime išskaidyti į tris dalis: elektrinę, virpesinę bei sukininę. Pirmasis narys aprašo elektroninio šuolio dipolinį momentą, antrasis narys nurodo virpesinių būsenų sanklotą, o trečiasis apibūdina sukininių būsenų indėlį. Jei nors viena iš šių trijų dalių tampa lygia nuliui, šuolio tikimybe iškart pasidaro nykstamai maža [21]. Vienas iš galimų pagrindinės ir sužadintos būsenų potencialinių paviršių tarpusavio išsidėstymas yra pateiktas 9 paveiksle. Iš klasikinio osciliatoriaus modelio yra išvedamas parabolinis elektrono potencinės energijos dėsnis. Plonos horizontalios linijos žymi virpesines būsenas.

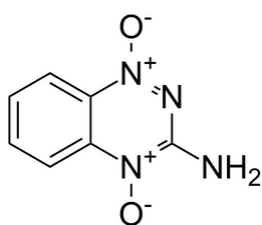


**9 pav.** Pagrindinės ir sužadintosios būsenų potencialiniai paviršiai. Pagal [22].

Kol molekulė yra nesužadintoje būsenoje, jos branduoliai yra arti potencialinės kreivės dugno, todėl yra pusiausviri. Sužadinus molekulę, gali įvykti elektroninis šuolis iš pagrindinės būsenos potencialinės kreivės dugno į sužadintosios būsenos kreivės kraštą, kadangi tokio proceso metu branduolio greitis ir padėtis negali pasikeisti, kaip teigia Franko ir Kondono principas, tad galimi tik vertikalūs šuoliai [20]. Sugerties spektro plotis, forma ir sandara stipriai priklauso nuo sužadinimo metu gautos perteklinės vibracinės energijos. Jei viršutinė ir apatinė kreivių minimumai yra tiesiai vienas virš kito, tai sugerties spektras yra siauras, asimetrinis ir vibracinės sandaros. Tokiu atveju molekulėse dominuoja nulinė virpesinė būsenos ir sužadinimo metu branduoliai lieka stacionarūs. Jei dominuoja intensyvesnės aukštesnės eilės virpesinės būsenos, tuomet molekulė tampa labilesnė ir branduoliai pasislenka. Organinėse molekulėse dažniau sužadinta potencialinė kreivė yra pastumta į dešinę, o tokiu atveju sugerties spektras yra išplitęs ir simetrinis [11]. Nespindulinių bei interkombinacinių šuolių atveju, vyksta horizontali energijos pernaša tarp persiklojančių būsenų, kurios susikerta skirtinguose potencialiniuose paviršiuose.

## 1.2 Tirapazaminų junginių veikimo principas

Tirapazaminas (TPZ arba 3-amino-1,2,4-benzotriazino1,4-di-N-oksidas) – organinė molekulė, kurios struktūrą vaizduoja 10 paveikslėlis ir kurios pagrindinis taikymas yra medicinos srityje kaip priešvėžinis vaistas [23].

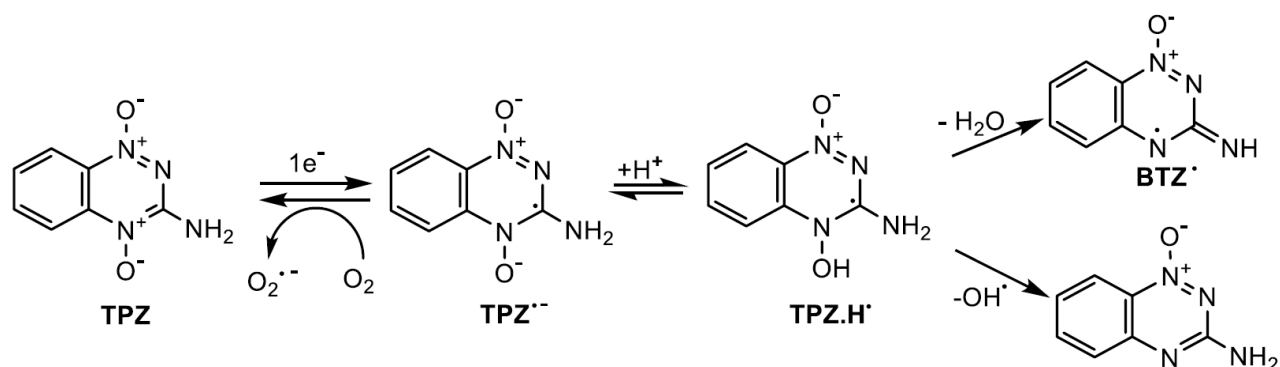


**10 pav.** Tirapazamino molekulė [24].

Daugumos solidinių piktybinių navikų bendras reiškinys yra hipoksija, kuri pasireiškia tose ląstelėse, kuriose žema deguonies koncentracija [25]. Būtent ši savybė riboja radiacinės terapijos gydymo efektyvumą, kadangi vėžinės ląstelės sugeba sėkminga regeneruotis po radiacinės terapijos sukkelto neigiamo poveikio [26]. Per pastaruosius dešimtmečius aktyviai buvo ieškoma junginių, kurių pagalbą galėtume panaudoti vėžinių ląstelių hipoksijos savybę gydymui. Viena iš tokių junginių klasių yra heterocikliniai aromatiniai N-oksidai, nes jie pasižymi selektyviu citotoksiškumu solidiniams navikams [27]. Ankstyvuosiuose Brown ir kit. [28] darbuose buvo aptiktas perspektyvus bioredukcinis junginys – tirapazaminas, o tolimesniuose klinikiniuose tyrimuose buvo nustatyta, kad jis yra žymeji jautresnis hipoksinei aplinkai nei kiti tos pačios klasės junginiai [29]. Taip pat klinikinių tyrimų rezultatai parodė, kad TPZ kombinuojant kartu su kitais preparatais galima padidinti jo citotoksines savybes galvos bei kaklo auglių ląstelėms [30].

Pagrindinis gydymo reakcijos mechanizmas yra pavaizduotas 11 schemeje. Gydymo metu biologinė terpė yra apšviečiama jonizuojančia spinduliuote ir susidaro lėtieji elektronai. TPZ molekulei patekus į tokią hipoksinę biologinę aplinką suformuojamas bioredukcinis radikalas [31]. Pirmiausiai laisvas elektronas jungiasi prie TPZ apatinio azoto, taip susilpnindamas deguonies ryšį, ir susiformuoja TPZ radikalo anijonas. Prie deguonies atomo jungiasi vandenilis, sudarydamas hidroksilo (OH) grupę. Tolimesni šios reakcijos keliai dar kelia daug diskusijų, tačiau yra du labiausiai tikėtini reakcijos pabaigos mechanizmai. Junnonato [32] Li ir kiti [33] savo darbuose tyrinėjo šį klausimą naudodamiesi kvantiniais cheminiais skaičiavimais bei masės spektrometrijos matavimais ir padarė išvadą, kad po TPZ molekulės protonacijos atskyla hidroksilo OH radiklas [34]. Tačiau kiti tyrimai, kurie rėmėsi elektronų sukinio rezonanso spektroskopija bei radiolizės gautais rezultatais, pasiūlė kitą reakcijos kelią. Jie mano, kad vietoje hidroksilo radikalo atskilimo, atitrūksta vandens molekulė ir susidaro benzotiazinylo (BTZ) radikalas [35]. Abu reakcijos produktai tiek OH tiek BTZ radikalai sukelia vėžinės ląstelės dvigubas DNR grandines pažeidimus [36]. Tirapazamino citotoksiškumui pasireikšti reikalinga hipoksinė aplinka, todėl toksiniam radikalui atsidūrus aplinkoje, kurioje yra daug deguonies, jis oksiduojamas atgal į pradinę molekulę, taip išvengiant sveikų ne vėžinių ląstelių pažeidimų [2].

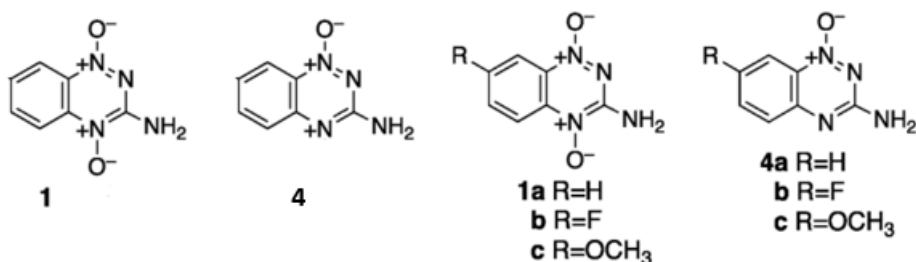




**11 pav.** Schema, vaizduojanti tirapazaminų veikimą esant hipoksinėmis aplinkos sąlygoms [37].

### 1.3 Tirapazaminų optinės savybės

Tirapazaminų junginiai yra gerai žinomi ir plačiai taikomi medicinoje ir biologijoje, tačiau šių junginių fotofizikinių savybių tyrimų literatūroje gana mažai [38]. Dažniausiai tyrinėtų šių organinių junginių struktūros pateiktos 12 paveiksle. Numeriu 1 žymima tirapazamino molekulė, o numeriu 4 – dezoksitirapazamino molekulė. Taip pat yra pateiktos šių dviejų molekulių cheminės modifikacijos, kai prie molekulės C7 pozicijos yra prijungiami atitinkami vandenilio H, fluoro F ir metoksi  $OCH_3$  pakaitalai.



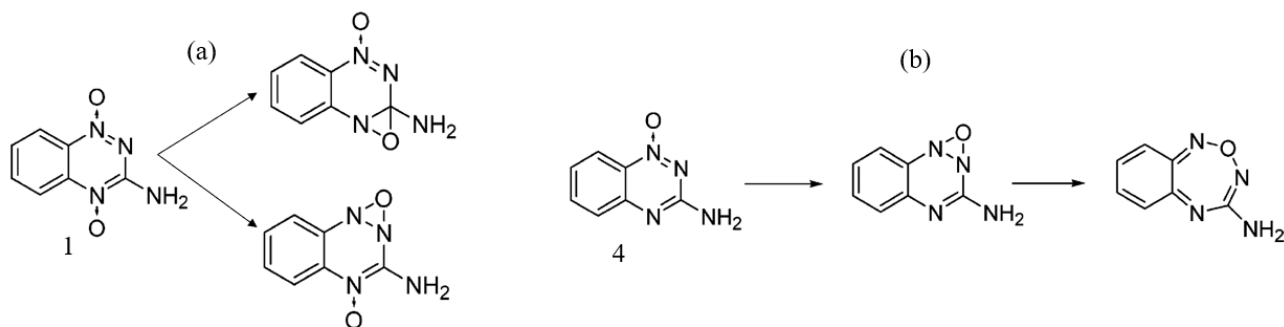
**12 pav.** Tyrinėtų tirapazaminų junginių molekulinės struktūros. Pagal [39].

Remiantis tankio funkcijos laikinės priklausomybės teorijos skaičiavimais žinoma, kad elektronų šuoliai vyksta tarp orbitalių  $\pi \rightarrow \pi^*$  [5]. Junginio 1 fotofizikinės savybės nustatytos naudojant tirpiklį vandenį, o atlikus spektroskopinius tyrimus apskaičiuota, kad šio junginio kvantinis našumas, gautas remiantis palyginamuoju metodu, yra mažiau nei 0,2%. Fluorescencijos gesimo trukmė yra lygi 98 ps. Šis tirapazaminas, ištirpintas vandenyje, gana stipriai sugeria UV srityje ties 266 nm, o silpnesnė sugertis stebima regimojoje zonoje ties 461 nm. Taip pat yra pastebėta, kad sugerties spektro maksimumo padėtis gana stipriai priklauso nuo tirpiklio poliškumo ir, esant aukštesnei pH vertei, regimas poslinkis į raudonąją spektro pusę [5]. Junginių 1 ir 4 savybių tyrimas taip pat buvo atliktas acetonitrilo tirpiklyje. 1 junginio fluorescencijos maksimumas užfiksuotas ties 432 nm, o 4 – 422 nm. Junginio 4 sugerties maksimumas nustatytas 404 nm acetonitrile, o vandenyje jis yra 413 nm. Taip

pat pastebėta, kad 4 junginio fluorescencija yra žymiai intensyvesnė nei 1, taip pat stipriai skiriasi kvantiniai našumai: 1 medžiagos našumas acetonitrilo tirpiklyje yra 0,2%, o 4 yra 12% [40].

Tolimesni tyrimai buvo vykdomi su 1abc ir 4abc medžiagomis. Pastebima, kad junginių, turinčių vieną deguonies atomą, kvantiniai našumai stipriai išauga acetonitrilo tirpiklyje [39]. Taip pat, kiekvieno junginio našumai kinta tiek acetonitrilo, tiek vandens tirpikliuose priklausomai nuo pakaito. Esant OCH<sub>3</sub> pakaitui, prijungtam C7 tirapazamino molekulės pozicijoje, našumas 4 ir 1 junginiams yra didesnis nei esant H arba F pakaitui. 1abc oksidų fluorescencijos kvantinės išeigos buvo silpnos ir atitinkamai kito intervaluose 0,6 – 2,2% acetonitrile bei 0,3 – 1,2% vandenyje. Mono-N-oksidai (4abc) pasižymėjo žymiai stipresne fluorescencija, tad jų našumai atitinkamai yra 16 – 47% acetonitrile ir 2 - 8% vandenyje. Be to, pastebimas didelis Stokso poslinkis: junginių 4abc sugerties ir emisijos spektrų maksimumų skirtumas yra 71, 76 ir 79 nm acetonitrile, o vandenyje 104, 106 ir 106 nm [39]. Matome, kad tirapazaminų junginių fotofizikinėms savybėms didelę įtaką turi deguonies atomų skaičius ir pakaitai.

Remiantis kvantiniais cheminiais skaičiavimais buvo argumentuojama, kad mažas kvantinis našumas gali būti nulemtas spartaus deguonies ciklizacijos proceso [40]. Šis procesas yra grįžtama reakcija, kai vienas iš 1 molekulės deguonies atomų pasidalina jungtimi su šalia esančiu anglies atomu, jei ciklizuojasi apatinis deguonis, arba su azoto atomu, jei ciklizacija vyksta per viršutinį deguonį. Žinoma, daug labiau tikėtinas procesas yra apatinio deguonies atomo ciklizacija, bet šis vyksmas gali pasireikšti ir 4 molekulei, kuri turi tik vieną deguonies atomą. Galimų deguonies ciklizacijos variantų schema pavaizduota 13 paveikslėlyje [40]



**13 pav.** Galimi deguonies ciklizacijos keliai tirapazamino (a) molekulėje ir dezoksitirapazamino (b) molekulėje. Pagal [40].

Šio darbo tikslas yra atskirti spindulinius ir nespindulinius relaksacijos vyksmus, ypatingą dėmesį skiriant nespindulinės relaksacijos kanalams. Apibendrinant apžvelgtą literatūrą galima padaryti išvadą, kad TPZ vidinės konversijos mechanizmai nėra iki galo suprasti, ypač stinga žinių apie relaksacijas per tripletines būsenas galimybes. Taip pat stinga darbų apie sužadavimo relaksacijos mechanizmo valdymo galimybes chemiškai modifikuotuose tirapazamino molekulėse.

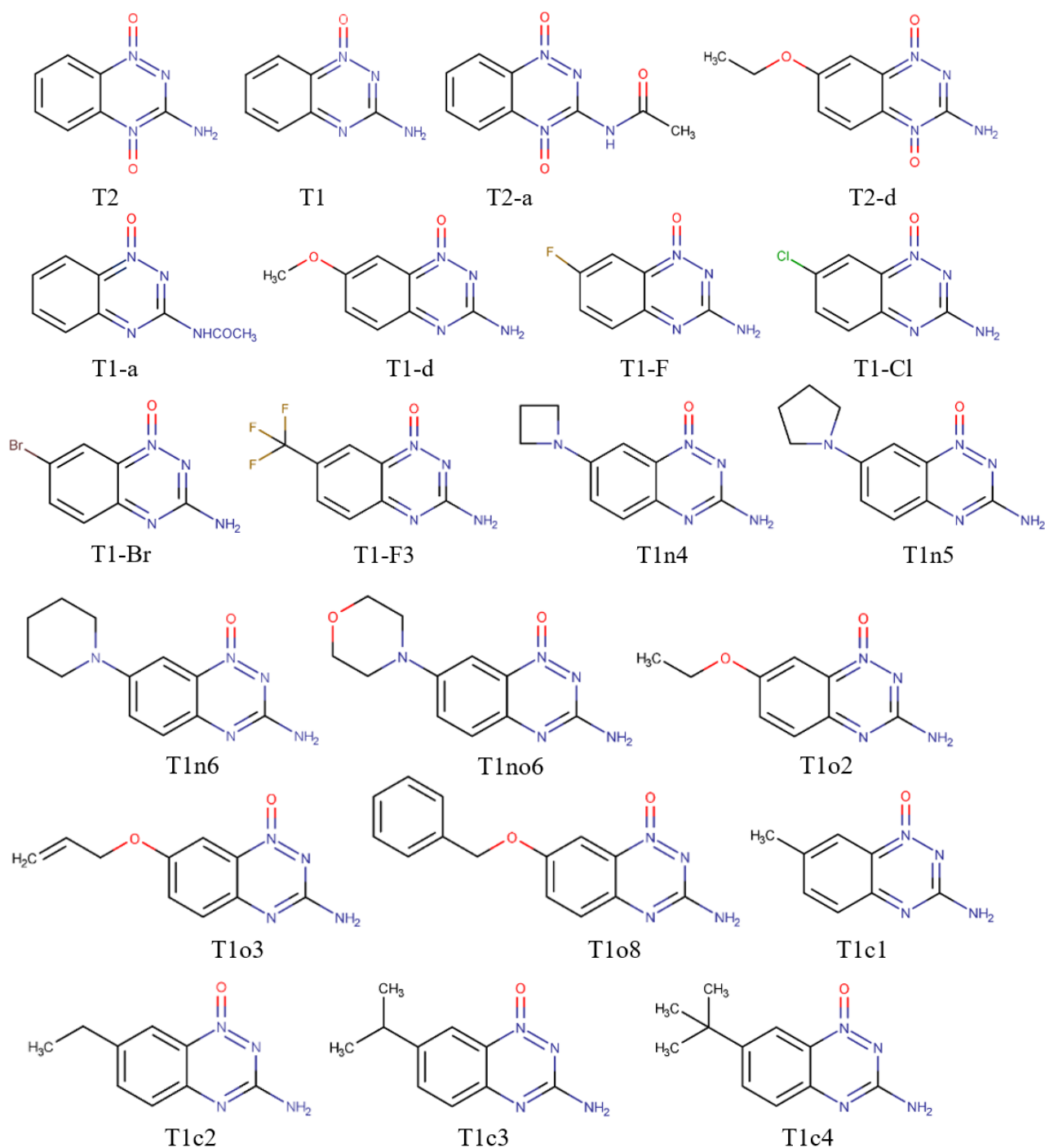
## 2 BANDINIŲ PARUOŠIMO IR TYRIMO METODIKOS

Sužadinių relaksacijos vyksmų tirapazaminų molekulėse tyrimui naudoti keli skirtingi spektroskopijos metodai. Mažos molinės koncentracijos tirpalų šviesos sugerties spektrai buvo išmatuoti *Perkin-Elmer* spektrometru *Lambda 950*. Fluorescencijos spektrai išmatuoti naudojant CCD spektrometrą *Hamamatsu PMA-12*, o junginių fluorescencijos kvantinis našumas apskaičiuotas naudojant du metodus: palyginamąjį ir integruojančios sferos. Fluorescencijos gyvavimo trukmės užfiksuotos dviem metodais - tai laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo (TCSPC) būdu su sistema *PicoQuant PicoHarp 300* ir fotoelektronų kamera *HAMAMATSU C10627*. Nustatyti atitinkamų junginių skirtuminės sugerties spektrai žadinimo-zondavimo metodika su *Harpia, Light conversion*. Gautų duomenų apdorojimas ir analizė atlikta su *OriginPro 8.5* ir *MATLAB* programomis.

### 2.1 Tiriamos medžiagos ir bandinių paruošimas

Šiame sužadinių relaksacijos vyksmų tiriamajame darbe buvo naudojami tirapazaminų junginiai, kurie buvo susintetinti Biochemijos institute, Gyvybės mokslų centre, dr. Jono Šarlausko. Nespindulinio relaksacijos mechanizmo, kuris kaip buvo išsiaiškinta ankstesniuose darbuose yra valdantysis kanalas, nustatymui ir detalesnei analizei buvo panaudotos T2, T2-d, T2-a, T1, T1-d ir T1-a molekulės. Iš likusių junginių buvo sudarytos atitinkamos serijos, su įvairių tipų pakaitais siekiant ištirti pakaitų įtaką dezoksitirapazamino fotofizikinėms savybėms ir išsiaiškinti nespindulinio kanalo valdymo ypatumus. Visų šių junginių molekulinės struktūros pateiktos 14 paveiksle.

Bandinių paruošimui buvo naudojami šie tirpikliai: etilacetatas EAT ( $\epsilon = 6.02$ ), acetonitrilas ACN ( $\epsilon = 37.5$ ) bei 1 v/v% dimetil-sulfoksido DMSO ( $\epsilon = 46.7$ ) ir vandens H<sub>2</sub>O ( $\epsilon = 80.1$ ) mišinys. Visi naudoti tirpikliai buvo gauti iš Sigma-Aldrich (dabartinis Merck). Skliausteliuose pateiktos  $\epsilon$  vertės – tai tirpiklių dielektrinės konstantos, nurodančios tirpiklių poliškumą. Medžiagų koncentracijos matuojant fluorescencijos kvantinius našumus buvo parinktos taip, kad optinis tankis OD būtų apytiksliai lygus tokiam intervalui 0.03 – 0.08. Bendrai naudotos koncentracijos neviršijo  $5 \cdot 10^{-5}$  M.



**14 pav.** Darbe tiriamų tirapazaminų junginių molekulinės struktūros.

## 2.2 Sugerties spektrų matavimas

Tiriamų bandinių sugerties spektrų registravimui buvo panaudotas UV-VIS-NIR spektrometras *PerkinElmer Lambda 950*. Šio spektrometro veikimo schema pavaizduota 15 paveikslėlyje. Prietaise naudojami du spinduliuotės šaltiniai, pasižymintys plataus spektro emisijos juostomis (schemoje žymimi 1): tai deuterio lempa, naudojama ultravioletinėje (UV) spektrinėje srityje, ir halogeninė volframo lempa, tinkama regimojoje (VIS) bei artimojoje infraraudonojoje (NIR) srityse. Principinis prietaiso veikimas paremtas pro bandinį praėjusios ir kritusios monochromatinių spinduliuočių

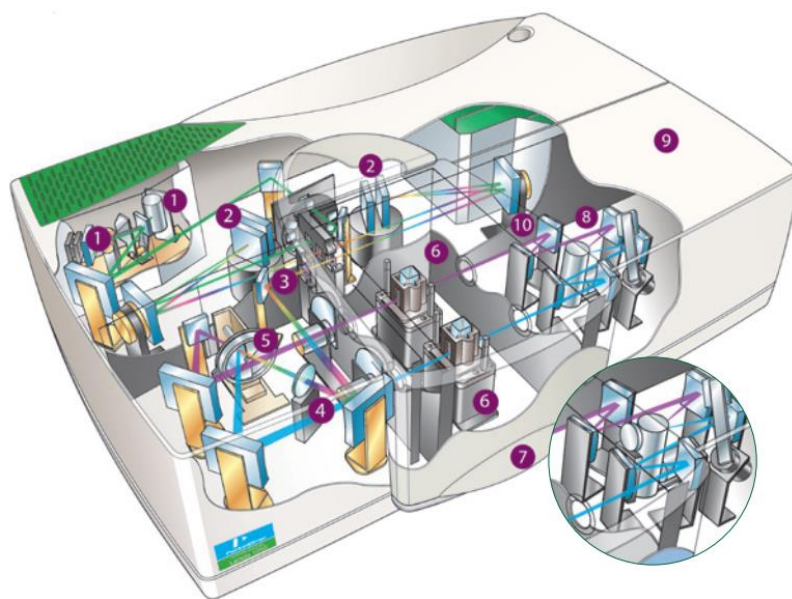
intensyvumo skirtumu. Tam tikra šaltinio spinduliuotė patenka į dviguba monochromatorių (2). Pagal reikiamą bangos ilgį parenkama UV, VIS ar NIR gardelė (3). Pasukant reikiamą gardelę atitinkamu kampu yra išskiriama tinkama spektrinė spinduliuotė, kuri galiausiai patenka į išėjimo plyšį. Šis plyšys apriboja išskirtą spinduliuotės sritį į artimą monochromatinei spinduliuotei (4). Toliau gauta spektrinė sritis patenka į sistemą, susidedančią, iš besisukančio veidrodžio, langelio bei dviejų juodų segmentų. Ši sistema vadinama segmentinio veidrodžio sistema (5, 6, 7). Kaip atraminė spinduliuotė naudojama ta spektrinės srities dalis, kuri praeina langelį, o atsispindėjusi nuo veidrodžio spinduliuotės dalis yra nukreipiama į bandinį. Bandinį praėjusios šviesos dalis patenka į vieną iš dviejų detektorių (8), tad 175 – 860 nm spektrinės srities signalas registruojamas fotodaugintuvu (PMT), o 860 – 3300 nm spinduliuotė fiksuojama švino sulfido (PbS) jutikliu. Taip yra užregistruojamas kiekvienas bangos ilgis praėjęs pro spektrometrą su bandiniu ir be jo. Tiriamo bandinio sugerties spektras gaunamas matematiškai nustčius gautų spektrų skirtumą ir eksperimentiškai matuojamas optiniu tankiu (angl. k. *optical density*, OD) [41]:

$$OD = \lg \left( \frac{I_0}{I} \right), \quad (10)$$

čia  $I_0$  – pradinis monochromatinės spinduliuotės intensyvumas, o  $I$  – pro bandinį praėjusios spinduliuotės intensyvumas. Išmatuota tirpalų optinė sugertis yra aprašoma Bero-Lamberto dėsnio [42]:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon c l}, \quad (1)$$

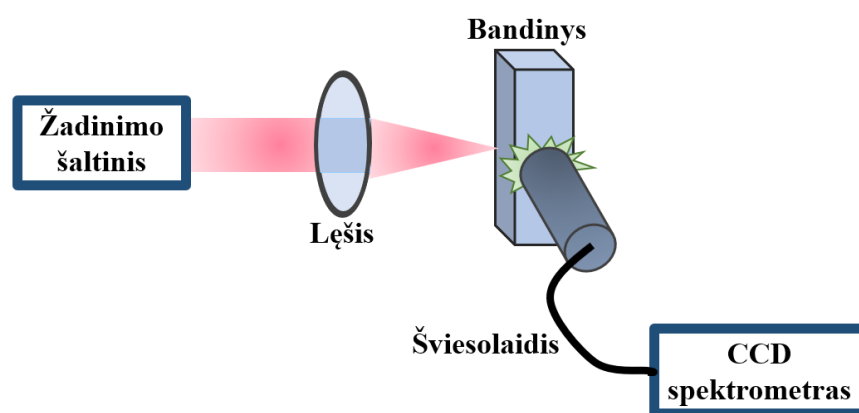
čia  $\varepsilon$  yra molinis sugerties koeficientas,  $c$  – molinė tirpalo koncentracija, matuojama moliais litre ( $1 M = 1 \text{ mol/l}$ ) ir  $l$  – bandinio storis, dažniausiai tai atitinka kiuvetės plotį.



15 pav. PerkinElmer Lambda 950 veikimo schema [43].

## 2.3 Fluorescencijos spektrų matavimas

Fluorescencijos matavimai atlikti parenkant tinkamiausią žadinimo bangos ilgį, pagal tiriamų bandinių sugerties spektrų maksimumą. Tirpalų fluorescencijos spektrai užfiksuoti naudojant susietų krūvių detektoriaus (angl. k. charged coupled device, CCD) spektrometru *Hamamatsu PMA-12*. Reikiamas bangos ilgis gaunamas naudojant plataus spektro ksenoninę (Xe) lempą ir monochromatorių. Kiuvetėje esantis bandinio tirpalas yra žadinamas statmenai į kiuvetę, o bandinio išspinduliuota šviesa surenkama šviesolaidžiu, kuris yra pastatomas  $90^\circ$  kampu nuo žadinančiojo spindulio, kad išvengtume žadinančios spinduliuotės patekimo į spektrometrą [8]. Fluorescencijos intensyvumas registruojamas santykiniais vienetais (s. v.) ir principinė šio matavimo schema pavaizduota 16 paveikslėlyje.



16 pav. Principinė fluorescencijos matavimo schema.

## 2.4 Fluorescencijos kvantinių našumų nustatymas

Tiriamos medžiagos fluorescencijos kvantinis našumas (angl. k. *quantum yield*, QY) yra fluorescencija charakterizuojantis dydis apibrėžiamas kaip išspinduliuotų  $N_{fl}$  ir sugertų  $N_S$  fotonų skaičiaus santykis [41]:

$$QY = \frac{N_{fl}}{N_S}, \quad (12)$$

Iš principo kvantinis našumas nurodo spindulinių ir nespindulinių procesų konkurencijos spartą [44]. Kvantinį našumą galima apskaičiuoti dviem metodais: palyginamuoju bei integruojančios sferos. Pirmasis metodas leidžia įvertinti bandinio tirpalų kvantinius našumus, o antrasis yra tinkamas ne tik tirpalų bet ir plonasluoksnių bandinių našumų nustatymui.

### 2.4.1 Palyginamasis metodas

Palyginamojo metodo principas remiasi tuo, kad pasirenkama etaloninė medžiaga, kurios kvantinis našumas yra gerai žinomas. Taip pat, matuojant tokiu metodu svarbu užtikrinti vienodus žadinančios spinduliuotės parametrus, matavimo sąlygas, o bandinių ir etaloninės medžiagos optiniai tankiai turi būti suderinti (atitinka intervalą 0,03-0,08) bei svarbu atsižvelgti į tirpiklių lūžio rodiklius. Išmatuojami etaloninės ir tiriamosios medžiagos sugerties ir fluorescencijos spektrai. Iš gautų matavimo duomenų kvantinis našumas apskaičiuojamas pagal šią formulę [44]:

$$QY = \frac{QY_R I O D_R n^2}{I_R O D n_R^2}, \quad (13)$$

kur  $I$  yra spektriškai integruojamas intensyvumas,  $n$  – lūžio rodiklis,  $OD$  – atitinkamas optinis tankis pagal žadinančio spindulio bangos ilgį,  $QY$  – kvantinis našumas, indeksas  $R$  žymi etaloninės medžiagos atitinkamą parametą [45].

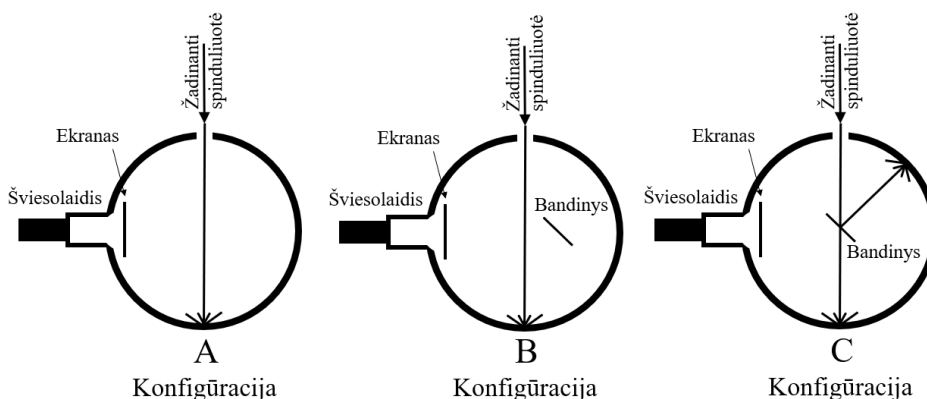
Šiame darbe medžiagų T2, T2o2, T2-a, T1-F, T1-Cl, T1-F3, T1-Br, T1c1, T1c2, T1c3, T1c4 fluorescencijos kvantiniams našumams nustatyti buvo pasirinkta etaloninė medžiaga chinino sulfatas, kurio kvantinis našumas 0,5 molių sieros rūgštyje yra 53%, o medžiagoms T1no6, T1o1, T1o2, T1o3 ir T1o8 – etalonas  $Ru(bpy)_3^{2+}$ , kurio našumas vandenyje - 4%, ir likusiems T1n4, T1n5, T1n6 junginiams naudotas fluoresceinas, kaip etaloninė medžiaga su 79% kvantiniu našumu etanolyje.

### 2.4.2 Integruojančios sferos metodas

Integruojančios sferos vidinis paviršius yra padengtas difuziškai atspindinčia bario sulfato ( $BaSO_4$ ) danga, kuri pasižymi ypatingai maža žadinančios spinduliuotės sugertimi, tad beveik visa šviesa plačiame spektriniame intervale (350 – 1000 nm) yra atspindima. Į šią sferą patekusi šviesa izotropiškai pasiskirsto po visą sferos tūrį, dėl to kad daugybę kartų atsispindi nuo jos vidinio paviršiaus sienelių, ir nepriklauso nuo žadinančios spinduliuotės šaltinio kampinių savybių. Kad į detektorių nepatektų vieną kartą atsispindėję fotonai, tarp šviesolaidžio ir bandinio yra įstatytas bario sulfato ( $BaSO_4$ ) ekranas. Prie vieną plyšį šviesa iš Ksenono (Xe) lempos yra nukreipiama į sferos vidų, o į kitą integruojančios sferos sienelėje esantį plyšį įstatomas spektrometro šviesolaidis. Žadinančios spinduliuotės bangos ilgis atitinka tiriamos molekulės sugerties sritį, tačiau būtina atsižvelgti į tai, kad žadinanti šviesa ir bandinio emisijos spektrai stipriai nepersiklotų. Šio eksperimento metu naudojama ta pati įranga, kaip ir fluorescencijos spektrų registravimo metu, tačiau šiuo atveju bandinys yra patalpinamas į integruojančios sferos vidų [46].

Sukonfigūravus integruojančią sferą, eksperimento metu vienam bandiniu yra atliekami trys matavimai, su visomis trejomis (A, B ir C) sferos konfigūracijomis, kurios yra pavaizduotos 17

paveikslėlyje. A konfigūracijos metu matuojama tuščia sfera ir gaunamas tik žadinančios spinduliuotės spektras. B konfigūracijos atveju į sferą įdėtą bandinį nukreipiame taip, kad į jį nepataikytų tiesioginė žadinančios spinduliuotės šviesa. Šiuo atveju šviesa pataiko į sferos sienelę ir užfiksuojame spektrą atsiradusį dėl bandinio sužadavimo nuo atspindžių sferoje. Trečiosios C konfigūracijos metu matuojame spektrą, kuris susidaro tuomet kai tiesiai į bandinį yra nukreiptas žadinimo bandos ilgis [46].



**17 pav.** Integruojančios sferos konfigūracijų schema.

Atliekant visus tris matavimus būtina užtikrinti vienodas eksperimento sąlygas, tai yra nekeisti žadinimo intensyvumo ar ekspozicijos trukmės. Kitu atveju negalėsime teigti, kad išmatuoti spektrų integralai yra proporcingi sugertų bei išspinduliuotų fotono skaičiui. Tiriamo junginio C konfigūracijos spinduliuotės matavimo metu gautas integralas  $P_C$  susideda iš tam tikrų komponentų, kurios atsiranda tiesioginės ir netiesioginės sugerties metu [46]:

$$P_C = (1 - A)P_B + AQYL_A, \quad (14)$$

čia  $A$  atitinka tiesiogiai sugertos spinduliuotės dalį,  $P_B$  – B konfigūracijos integralas atsiradęs dėl netiesioginės bandinio spinduliuotės sugerties,  $L_A$  – A konfigūracijos integralas. Tiriamos medžiagos fluorescencijos kvantinis našumas apskaičiuojamas pagal šią formulę [46]:

$$QY = \frac{P_C - (1 - A)P_B}{AL_A}, \quad (15)$$

## 2.5 Fluorescencijos gesimo trukmių nustatymas

### 2.5.1 Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo metodika

Fluorescencijos gesimo trukmių matavimai buvo atliekami naudojant laike koreliuoto pavienių fotonų skaičiavimo techniką (angl. k. *time-correlated single-photon counting*, TCSPC) [47]. Tokio metodo veikimas pagrįstas tuo, kad žadinant bandinį po kažkurio laiko yra emituojamas fotonas. Šį



veiksmą kartojant daug kartų ir stebint laiką iki fotono emitavimo, gaunamas fluorescencijos kitimas laike. Laike koreliuotų fotonų skaičiavimo technika padeda nustatyti fluorescencijos laikinę evoliuciją. 18 paveiksle yra pavaizduota tokio matavimo schema. Pirmiausiai bandinys yra sužadinamas trumpu lazerio impulsu, kuris įjungia matavimo laikmatį [48]. Tinkamam interferencinio filtro veikimui užtikrinti naudojantis pirmu lęšiu sukuriamas lygiagretus spindulių pluoštas. Spinduliuotės spektro ilgabangė dalis nukerpama su filtru, esančiu prieš bandinį, o antrojo lęšio pagalba sufokusuojamas į bandinį sklindantis šviesos srautas. Iš bandinio išspinduliuotų fotonų suformuojamas jų lygiagretus srautas, kuris keliauja į monochromatorių. Antras interferencinis filtras yra reikalingas tam, kad nepraleistų iš šviestuko atkeliaujančių fotonų į monochromatorių. Monochromatoriaus pagalba yra išskiriamas tiriamasis bangos ilgis, kuris patenka į detektorių. Prasidėjus šviesos impulsui keitiklyje įjungžiama įtampa, kuri didėja tiesiškai tol, kol sistema užfiksuoja fotoną, o tada įtampos augimas sustabdomas.[48] Gauta įtampos vertė patenka į daugiakanalį analizatorių, kuris rezultatus suskirsto į kanalus ir juos susumuoja pateikdamas duomenis kaip fotonų skaičiaus nuo laiko priklausomybę. Fotonai yra išspinduliuojami atsitiktinai, todėl fluorescencijos evoliuciją laike aprašo eksponentinis gesimas. Logaritminėje skalėje eksponentė yra tiesė, tad nustatčius tiesės parametrus galima sužinoti gesimo trukmę. Eksponentinį gesimą aprašo ši formulė:

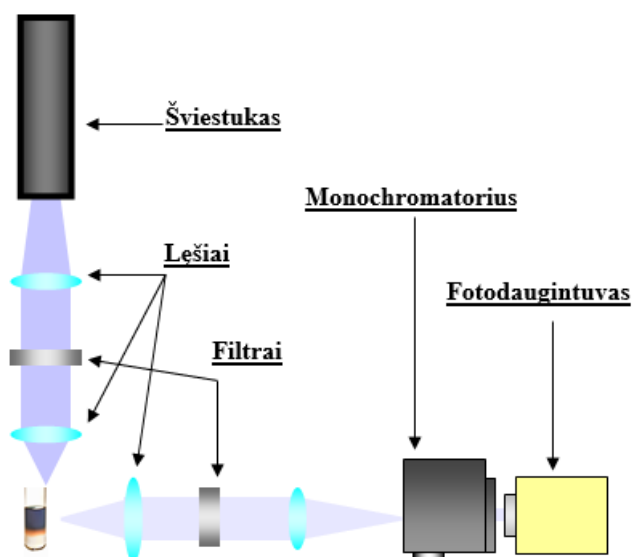
$$n(t) = Ae^{-\frac{t}{T}}, \quad (16)$$

kur  $n$  – fotonų skaičius tam tikru laiko momentu  $t$ ,  $A$  – pradinis fotonų skaičius,  $T$  – gesimo trukmė. Išlogaritnavus šią formulę, gausime kad  $T$  yra tiesės krypties koeficientas ir taip nustatome gesimo trukmę. Ši formulė tinka tada, kai gesimo trukmė yra žymiai ilgesnė nei žadinančios spinduliuotės (lazerio) impulso trukmė, bet jei  $T$  yra trumpa, tada reikia tarti, kad žadinančio signalo funkcija yra daug  $\delta$ -funkcijų kombinacija, kurios kiekviena atskirai sužadina bandinį, o gauta kreivė yra daugelio eksponenčių suma.[48] Norint nustatyti ieškomą funkciją reikia atlikti dekonvoliuciją. Tolimesnis duomenų apdorojimas ir gesimo trukmių skaičiavimas atliekamas *MATLAB* programa. Spindulinės ir nespindulinės gesimo trukmės suskaičiuojamos naudojantis šiomis formulėmis:

$$\tau_{rad} = \frac{\tau}{QY''}, \quad (17)$$

$$\tau_{nonrad} = \frac{\tau}{1 - QY''}, \quad (18)$$

kur  $QY$  yra medžiagos kvantinis našumas,  $\tau_{rad}$  – spindulinė gesimo trukmė,  $\tau_{nonrad}$  – nespindulinė gesimo trukmė,  $\tau$  atitinka gesimo trukmės vertę gautą iš matavimų.



18 pav. Laike koreliuotų pavienių fotonų skaičiavimo tyrimo metodikos principinė optinė schema.

## 2.5.2 Žadinimo – zondavimo spektroskopija

Siekiant ištirti ir užregistruoti labai sparčius vyksmus ( $<1\text{ps}$ ) nagrinėjamuose junginiuose buvo atlikti skirtuminės sugerties matavimai. Šiame darbe sugerties pokyčiams stebėti buvo pasitelkta ultrasparti kinetinė sugerties spektroskopija, kitaip dar vadinama žadinimo – zondavimo metodika (angl. k. *pump-probe*). Šis metodas remiasi plataus spektro (350 – 1030 nm) baltos šviesos zondo pralaidumo pokyčiu, kai tiriamoji medžiaga yra sužadinta [49].

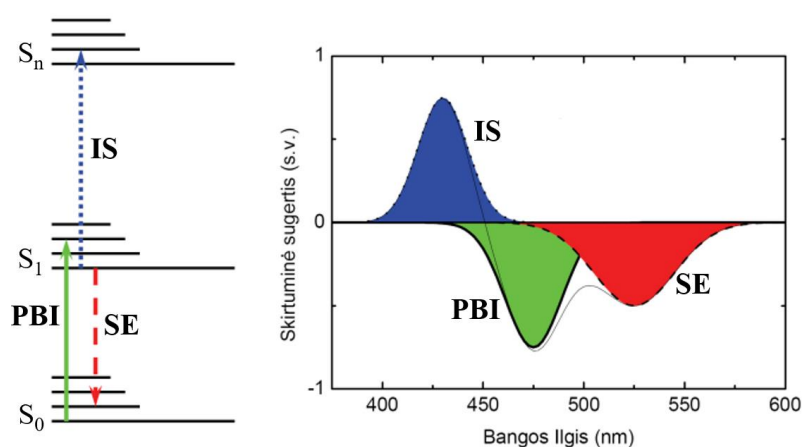
Eksperimento metu du kartus yra matuojama zonduojančio spindulio sugertis bandinyje, pirmu atveju, kai bandinys nėra optiškai sužadintas, ir antruoju atveju, kai tiriamas junginys yra sužadintas anksčiau praėjusios žadinančiojo spindulio. Kad gautume laikinę skirtuminės sugerties priklausomybę, turime keisti laiką  $t$  tarp žadinančio ir zonduojančio spindulių. Tada galime apskaičiuoti sugerties skirtumą  $\Delta OD$  tam tikru laiko momentu, atitinkamam bangos ilgiui pagal šią formulę [50]:

$$\Delta OD = \lg \frac{I_{NS} - I_{DNS}}{I_S - I_{DS}}, \quad (19)$$

čia  $I_S$  atitinka zonduojančios spinduliuotės, kuri praėjo pro sužadintą bandinį, intensyvumą, o laiko tarpas tarp žadinančio ir zonduojančio spindulių yra  $t$ ,  $I_{NS}$  yra pro nesužadintą bandinį praėjusios zonduojančios spinduliuotės intensyvumas,  $I_{DS}$  – bandinio žadinimo, bet ne zondavimo metu registruojamas foninis signalas,  $I_{DNS}$  – foninis signalas, kai bandinys yra nesužadintas ir nezonduojamas [50].

Šio eksperimento metu yra stebimi reiškiniai vykstantys optinio žadinimo metu tiriamojo junginio molekulėse, kurie yra pavaizduoti 19 schemeje. Pirmiausiai vyksta medžiagos sužadimas

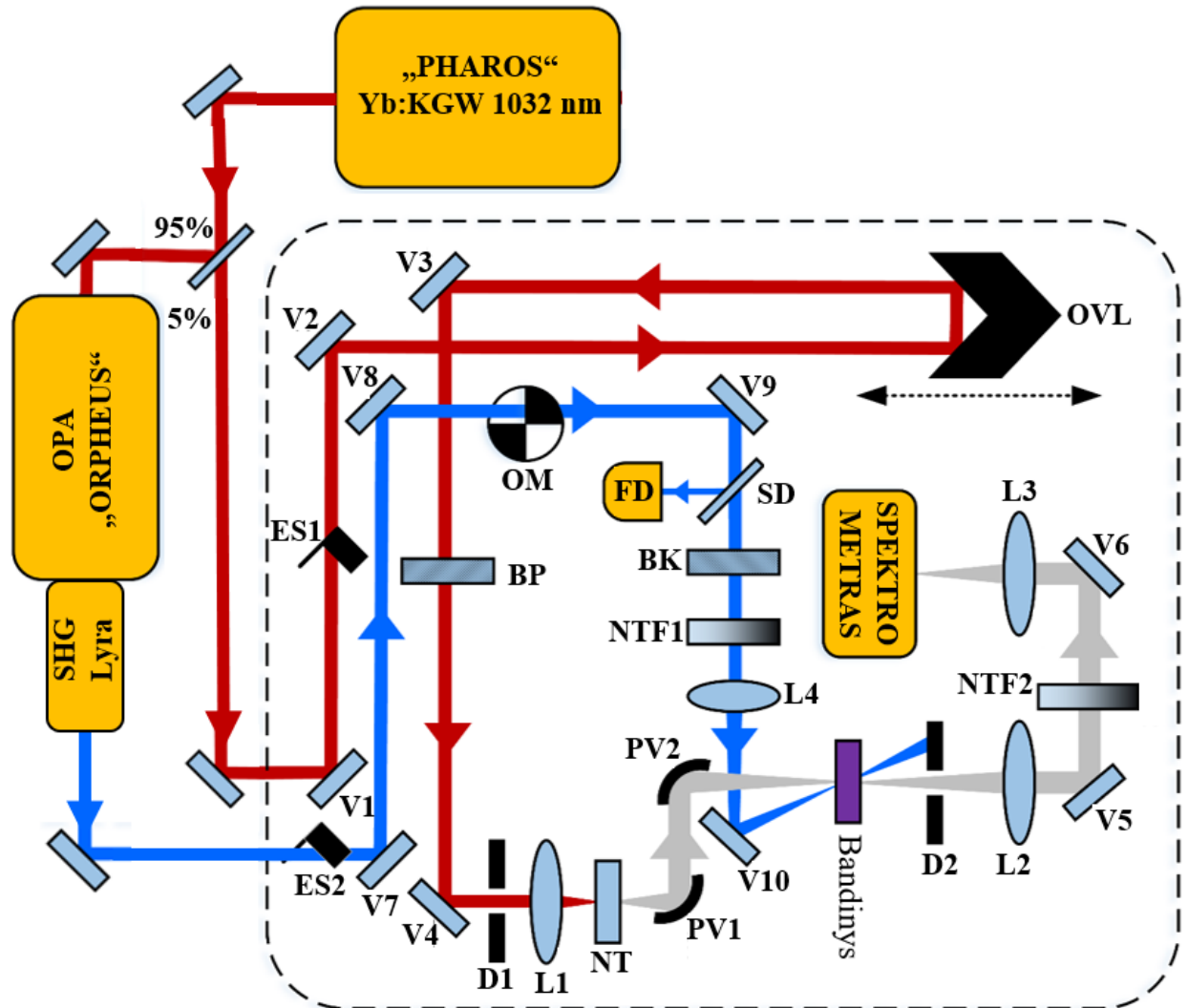
ir dalis molekulių iš pagrindinės elektroninės būsenos pereina į sužadintą būseną. Dėl to sumažėja molekulių esančių pagrindinėje būsenoje skaičius ir bandymo metu stebime šio proceso nulemtą sugerties mažėjimą, kuris skirtuminės sugerties grafike yra neigiamos vertės. Toks procesas vadinamas pagrindinės būsenos išblukimu (PBI). Kitas fiksuojamas procesas yra indukuota sugertis (IS), kuri atsiranda dėl molekulių esančių sužadintoje būsenoje kvantinių šuolių į aukštesnes sužadintas būsenas. Tokio vyksmo metu molekulių, esančių sužadintose būsenose, skaičius padidėja ir skirtuminės sugerties spektre atitinka teigiamą signalą. Trečiasis vyksmas, turintis neigiamą signalą, yra vadinamas stimuliuota emisija (SE), kuri susideda su pro bandinį praėjusia zonduojančia šviesa ir sukelia zonduojančios spinduliuotės intensyvumo ( $I_S$ ) padidėjimą. Be šių trijų aptartų procesų galimi ir kitokie vyksmai, kaip fotocheminių reakcijų produktų sugertis, kurie turi įtakos skirtuminės sugerties spektro pavidalui, tačiau jų poveikis nėra reikšmingas šio darbo rezultatams [51].



**19 pav.** Jablonskio diagrama su energetiniais lygmenimis ir kvantiniais šuoliais; jų įnašas į skirtuminės sugerties spektrą. Hipotetinio skirtuminės sugerties spektro schema. Pagal [51].

Tiriamų junginių skirtuminės sugerties spektrams gauti buvo naudojamas 1030 nm femtosekundinis „Šviesos konversijos“ (angl. k. *Light conversion*) *Pharos* lazeris, kurio spinduliuotė dalikliu buvo padalinta į dvi dalis. Pirmoji apie 95% dalis naudojama gauti žadinimo spindulį, o likusi 5% dalis skirta sukurti zonduojanči spindulį, kad gauti zondo ir žadinimo spindulius. Norint užtikrinti kuo didesnę žadinimo dinaminį diapozoną turime skirti kuo didesnę spinduliuotės dalį žadinimui, o zonduojančias impulsas turėtų būti gaunamas santykinai silpnesnis, kad išvengtume tiriamos medžiagos būsenos pakitimo matavimo metu. Toliau optiniame parametriniame stiprintuve *Orpheus*, *Light conversion* yra sugeneruojama keičiamo bangos ilgio žadinimo spinduliuotė (315-2600 nm). Balta zondo šviesa generuojama netiesinėje terpėje (safyras arba vanduo) sufokusuojant 1030 nm spinduliuotę. Vėlinimas žadinimo spinduliuotės atveju gautas mechaniškai ilginant zondo spindulio kelią stumdant retroprizmės tipo reflektorių. Naudojantis  $\lambda/2$  bangine plokšte bei Bereko poliarizaciniu kompensatoriumi galima keisti žadinimo ir zondavimo spindulių poliarizacijų kryptis. Žadinančio impulso energiją galima valdyti neutraliu tankio filtru, o bandinį pasiekiančios šviesos

galią išmatuojama galios matuokliu *OPHIR PD-300-UV*, pastatant jį tarp bandinio ir veidrodėlio V10 Žadinimo – zondavimo matavimai ir gautų duomenų analizė buvo atlikta naudojant žadinimo-zondavimo spektrometrą *Harpia, Light conversion* [49] [50]. Žadinimo-zondavimo spektroskopijos principinė veikimo schema pavaizduota 20 pav.

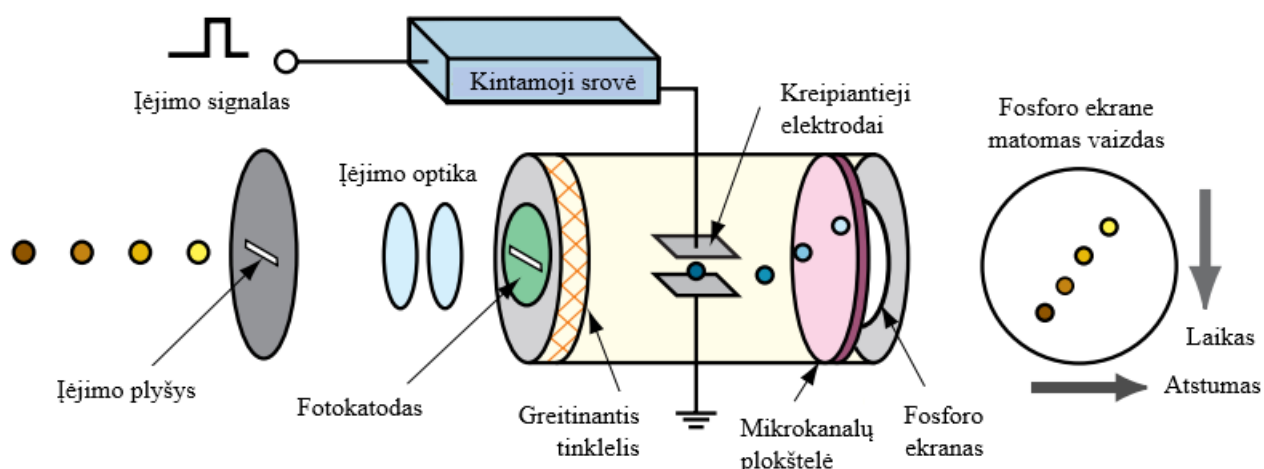


**20 pav.** Žadinimo-zondavimo metodikos principinė veikimo schema. Raudona linija vaizduoja 1030 nm lazerio spinduliuotę, mėlyna – žadinimui naudojamą spinduliuotę, pilka – baltos šviesos kontinuumą. BK – Bereko polarizacinis kompensatorius, BP – banginė plokštelė, D – diafragmos, ES – elektromechaninės sklendės, FD – fotodiodas, L – lęšiai, NT – netiesinė terpė, NTF – neutralaus tankio filtrai, OM – optinis moduliatorius, OVL – optinė vėlinimo linija, PV – paraboliniai veidrodžiai, SD – spindulio daliklis, V – veidrodžiai. Pagal [51].

### 2.5.3 Fotoelektronų kamera

Informacija apie medžiagoje vykstančius sužadavimo relaksacijos procesus gauta naudojant fotoelektronų kamerą (angl. streak camera). Šis metodas yra pranašesnis už anksčiau aptartą TCSPC metodą, nes leidžia išmatuoti žymiai trumpesnes gesimo trukmes. TCSPC metodu naudojamas nanosekundinis impulsas žadinimo signalui gauti, todėl jei tiriamos medžiagos gesimo trukmė yra

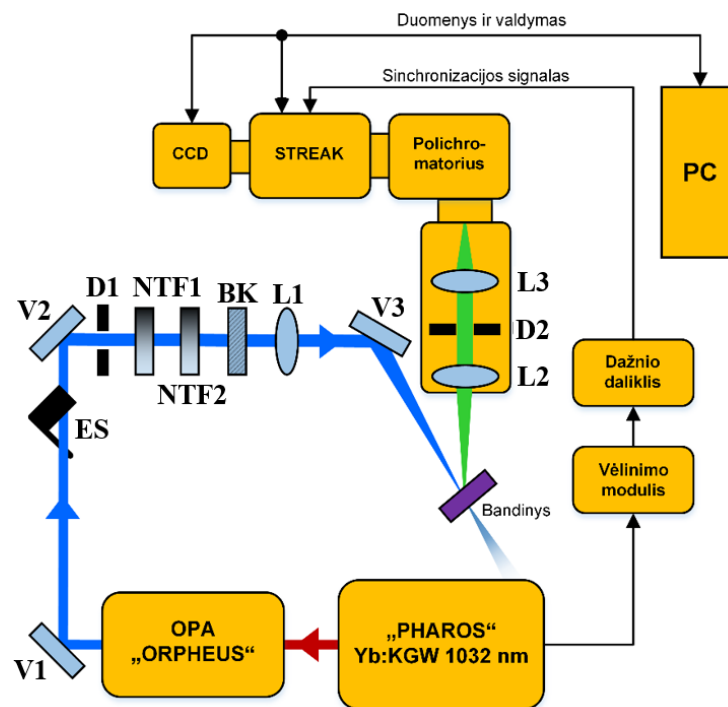
labai panaši arba trumpesnė nei žadinantis impulsas, tiksliai išmatuoti gesimo vertės negalime. Trumpesnių nei nanosekundžių fluorescencijos gesimo trukmių nustatymui naudojama fotoelektronų kamera, kadangi žadinantis impulsas yra generuojamas pikosekundiniais arba femtosekundiniais lazeriais [52]. Fotoelektronų kameros veikimo struktūrinė schema pateikta 21 pav.



**21 pav.** Fotoelektronų kameros struktūrinė schema. Pagal [52].

Polichromatorius išskleidžia bandinio išskiriamą šviesą horizontalia kryptimi. Išskleisti fotonai keliauja pro įėjimo optikos elementus, kol pasiekia fotokatodą. Jame fotonai išmuša elektronus iš katodo medžiagos, kurie yra įgreitinami ir juda link anodo. Kreipiančiuosiuose elektroduose sukuriama statmenas elektronų judėjimo kryptį kintantis elektrinis laukas. Elektronai skirtingu laiku praėję pro kreipiančiuosius elektrodus yra paveikiami skirtingo elektrinio lauko ir todėl skirtingai nukreipiami. Tokie išskleisti elektronai skrieja pro mikrokanalų plokštelę, yra padauginami ir galiausiai pataiko į fosforo ekraną.[52] Šiame ekrane sukuriama dvimatis vaizdas, kuris atspindi elektronų spektrinį ir laikinį pasiskirstymą. Toliau vaizdas užfiksuojamas CCD kamera ir perduodamas kompiuteriui, kuriame vyksta tolimesnis duomenų apdorojimas ir analizė.

Pagrindinę eksperimentinę įrangą ir eksperimento schema iliustruoja 22 paveikslėlis, kurią sudaro *Hamamatsu CI0627* fotoelektronų kamera su CCD kamera *C9300*. Bandinių žadinimui naudojamas femtosekundinis lazeris *Yb:KGW*, šviesos konversija *Pharos-SP*, lazerio spinduliuotės stiprintuvas (OPA) *Orpheus*. Lazerio poliarizaciją galima keisti Bereko poliarizaciniu konceptoriumi *BC1*. Polichromatorius – *Princeton instruments acton SP2300*. Žadinančios spinduliuotės galia matuojama *OPHIR PD-300-UV*.

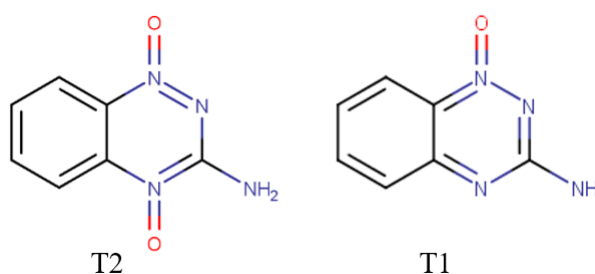


**22 pav.** Eksperimento, naudojančio fotoelektronų kamerą, principinė matavimo schema. Raudona linija vaizduoja 1030 nm lazerio spinduliuotę, mėlyna – žadinimui naudojamą spinduliuotę. BK – Bereko poliarizacinis kompensatorius, D – diafragmos, ES – elektromechaninės sklendės, L – lęšiai, NTF – neutralaus tankio filtrai, V – veidrodžiai. Pagal [51].

### 3 REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1 Sužadavimo relaksacijos vyksmai tirapazamino molekulėje

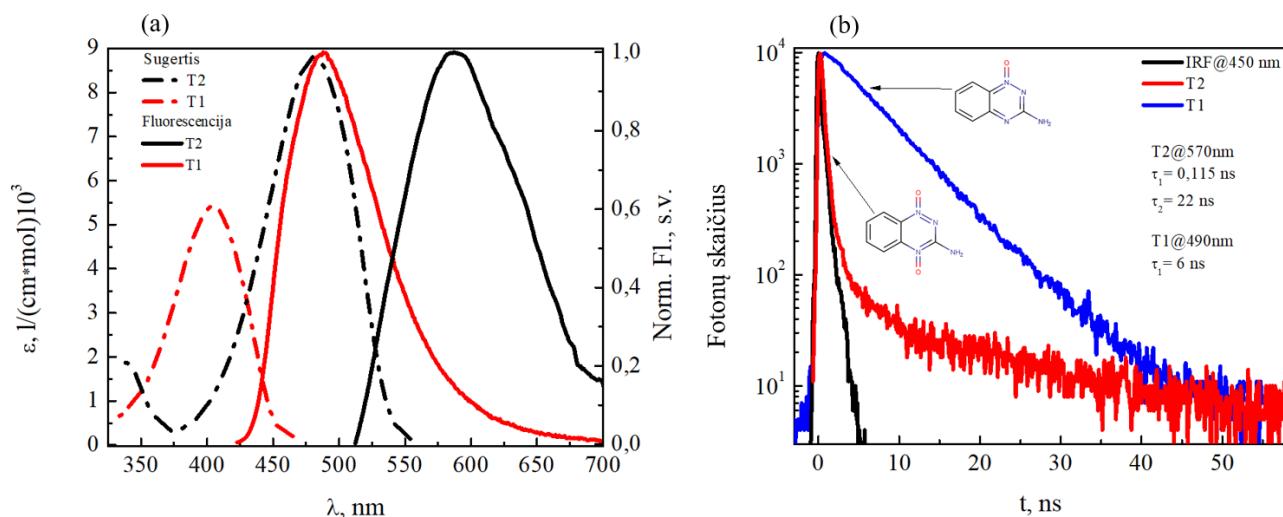
Tirapazaminas, šiame darbe žymimas kaip T2 molekulė, yra vaistas, iš kurio fotocheminės gydymo reakcijos metu dalyvaujant lėtiems elektronams yra atplečiamas deguonis. Pastarasis sudaro reaktyvų hidroksilo OH radikalą ir sąlygoja vėžinių ląstelių pažeidimą. Šios reakcijos produktas yra dezoksitirapazaminas, kuris čia yra žymimas kaip T1 molekulė, besiskiriantis nuo T2 molekulės sąlyginai našia fluorescencija, todėl jį galima būtų pritaikyti reakcijos spartai stebėti. Abu junginiai yra pavaizduoti 23 paveiksle.



**23 pav.** Tirapazamino (T2) ir dezoksitirapazamino (T1) junginių molekulinės struktūros.

Iš sugerties bei fluorescencijos spektrų, kurie yra pavaizduoti 24 (a) paveikslėlyje, matome, kad tirapazaminas T2 pasižymi sugerties juosta ties 480 nm ir emisijos juosta ties 570 nm. Lyginant su T2 molekulė dezoksitirapazamino T1 sugerties maksimumas yra pasislinkęs į mėlynąją pusę apie 75 nm, kaip ir fluorescencijos spektras (atitinkamai yra 405 nm bei 490 nm).

Iš 1 lentelėje ir 22 paveiksle pateiktų duomenų svarbu pastebėti, kad T2 junginio fluorescencija yra labai silpna, o kvantinis našumas siekia vos 0,2 – 0,3% atitinkamuose tirpikliuose. Tuo tarpu T1 molekulės kvantinis našumas acetonitrilo tirpiklyje siekia net 16%, tai yra net 57 kartus aukščiau nei T2. Pastebėtas ir neįprastas reiškinys T1 molekulėje: mažiau polinis etilacetato tirpiklis sumažina fluorescencijos kvantinį našumą iki 7,4%. Bendrai aplinkos poliškumas turi menką įtaką šių junginių sugerties bei fluorescencijos spektrams. 24 paveikslėlio (b) dalyje yra pateiktos šių junginių fluorescencijos gesimo kinetikos acetonitrilo tirpiklyje. Aiškiai matomas skirtumas tarp šių molekulių, kadangi T1 molekulės atveju užfiksuotas vienksoponentis gesimas apie 4,3 – 5,6 ns atitinkamuose tirpikliuose. Tai parodo, kad dezoksitirapazamino molekulėje egzistuoja vienas pagrindinis sužadintos būsenos relaksacijos kanalas, o T2 junginio sužadavimo relaksacijos mechanizmas sudėtingesnis. Matome dvi eksponentinio gesimo komponentes, vieną sparčią dalį, trunkančią 110 – 115 ps, ir kitą, ilgąją 22 ns dalį.



**24 pav.** Junginių T2 ir T1 sugerties (punktyrinės linijos) bei normuoti fluorescencijos spektrai (vientisos linijos) acetonitrilo tirpiklyje (a). Šalia esantis (b) spektras vaizduoja šių junginių fluorescencijos gesimo kinetikas acetonitrilo tirpiklyje, taip pat yra pateiktos įvertintos gesimo trukmės.

Toliau 25 paveiksle pavaizduoti tirapazamino bei dezoksitirapazamino skirtuminės sugerties spektrai acetonitrilo tirpiklyje. T2 junginio atveju matome, kad pagrindinės būsenos išblyškimas sutampa su sugertimi (ties 480 nm), taip pat matosi stimuliuotų šuolių signalas ties 625 nm, kuris persidengia su indukuotų šuolių teigiamu signalu ties 540 nm. Stimuluotų šuolių gesimo kinetika sutampa su stebėtu fluorescencijos gesimu. Tačiau indukuotų šuolių srityje galime pastebėti naujas būsenas, praskaidrėjimo signalo išplitimą, kuris auga vėlyvuose laikuose (nuo 500 iki 1500 ps). Šis naujas produktas gali būti siejamas su ciklintomis būsenomis, tačiau neatmestina ir ilgai gyvuojančių tripletinių būsenų galimybė.

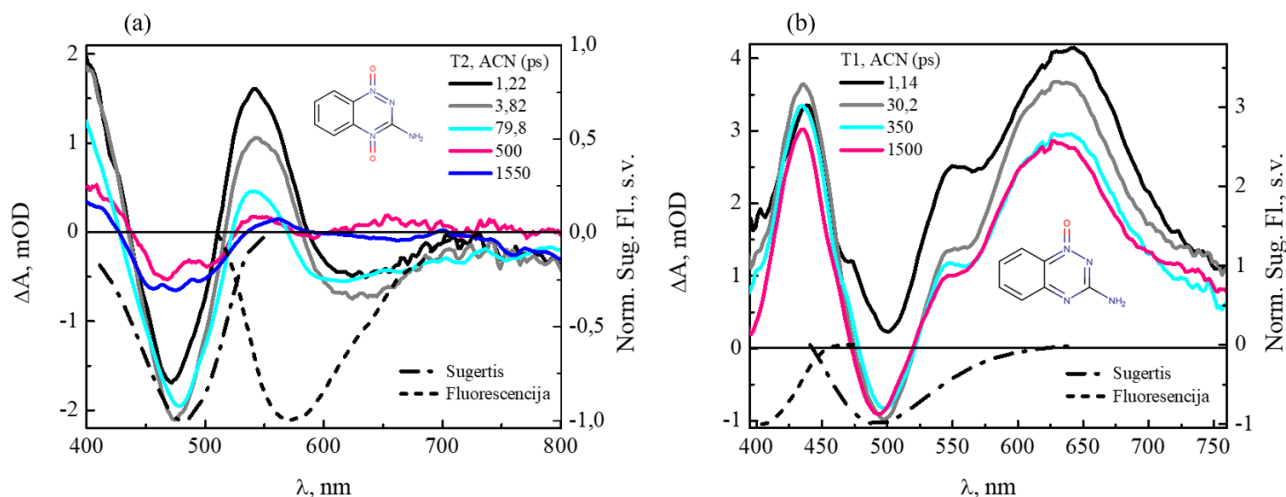
**1 lentelė.** T2 ir T1 tirapazaminų junginių fotofizikinių savybių charakteristikos.

Medž.	Tirpk.	$\epsilon^1$ l/(mol*cm)	$\lambda_{sug.}^2$ nm	$\lambda_{fl}^3$ nm	QY <sup>4</sup> %	$\tau^5$ ns	f %	$\tau_{rad}^7$ ns	$\tau_{nonrad}^8$ ns
T2	ACN	8895	480	570	0,28	0,115 22	87 13	- -	- -
	EAT	7418	490	580	0,23	0,110 22	85 13	- -	- -
T1	ACN	5538	405	490	16,2	5,6	100	36,79	6,61
	EAT	4599	405	490	7,42	4,3	100	57,95	4,64

<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.

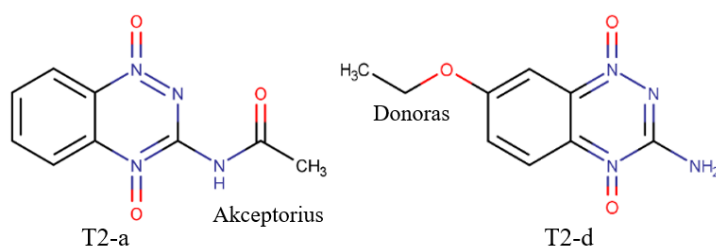


Dezoksitirapazamino T1 molekulės indukuotoje sugertyje neradome sparčios relaksacijos ir ilgai gyvuojančių būsenų. Yra stebimas įprastas vaizdas su indukuotais šuoliai ties 430 nm, 540 nm ir 620 nm bei stimuliuota emisija ties 570 nm. Indukuoto praskaidrėjimo šuolio signalas sutampa su fluorescencijos spektru, o laikinė eiga yra panaši. Lėta sužadinimo relaksacija 5,6 ns trukmės atspindi krūvio pernašos būsenos relaksaciją.



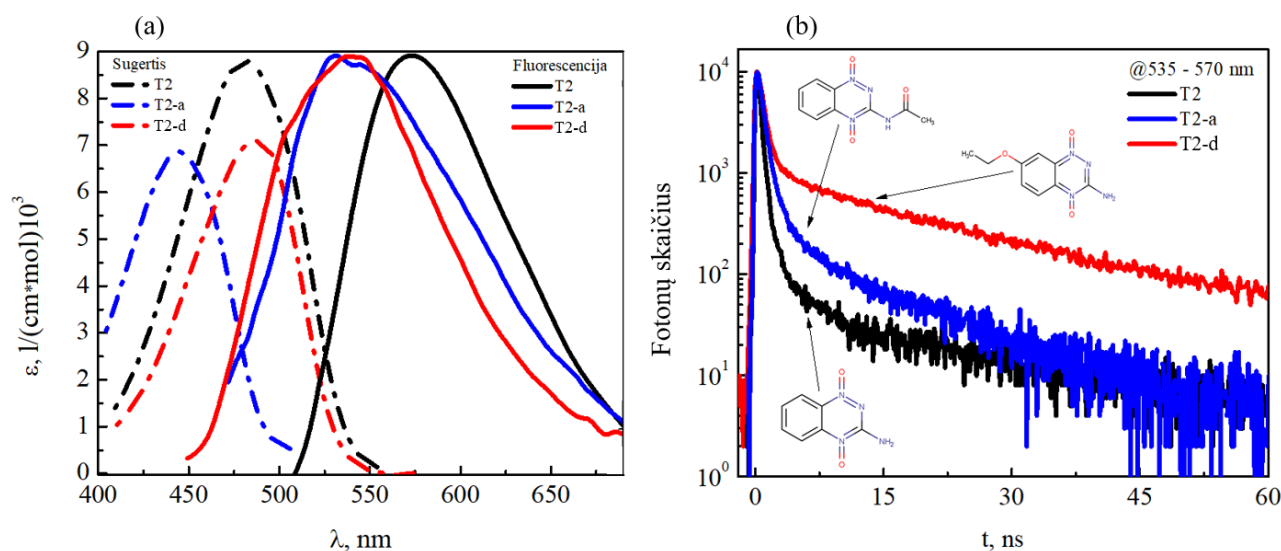
**25 pav.** Junginių T2 ir T1 skirtuminės sugerties spektrai acetonitrilo tirpiklyje. Taip pat yra pateikti normuoti sugerties bei fluorescencijos spektrai.

Siekiant išsiaiškinti vykstančių procesų prigimtį ir parodyti jų valdymo galimybes buvo susintetintos donorinius ir akceptorinius pakaitus turinčios tirapazamino ir dezoksitirapazamino molekulės. Jų struktūros yra pateiktos 26 paveikslėlyje.



**26 pav.** T2-a ir T2-d junginių molekulinės struktūros.

Tirapazamino T2 molekulė yra silpnos krūvio pernašos junginys, kur aromatinė grupė sudaro akceptorių, o amino grupė – donorą. Acetilo grupė esanti T2-a junginyje yra akceptorinė grupė, todėl prijungus ją prie amino grupės susilpninamos jo donorinės savybės ir bendrai toks junginys yra mažesnio krūvio pernašos pobūdžio. Todėl jos sugerties spektras, kuris yra pavaizduotas 27 paveiksle, yra paslinktas į mėlynąją pusę per 40 nm, o fluorescencijos kvantinis našumas, pateiktas 2 lentelėje, sumažėja iki 0,07%, lyginant su pakaito neturinčia T2 molekule. Pažymėtina, kad pakaitas pakeičia tiek greitosios tiek lėtosios dalies sužadinimo relaksacijos gesimo trukmes.



**27 pav.** Junginių T2-a ir T2-d sugerties (punktyrinės linijos kairėje) bei normuoti fluorescencijos spektrai (vientisos linijos dešinėje) acetonitrilo tirpiklyje (a), taip pat pateikti T2 molekūlės duomenys palyginimui. Šalia esantis (b) spektras vaizduoja šių junginių fluorescencijos gesimo kinetikas acetonitrilo tirpiklyje.

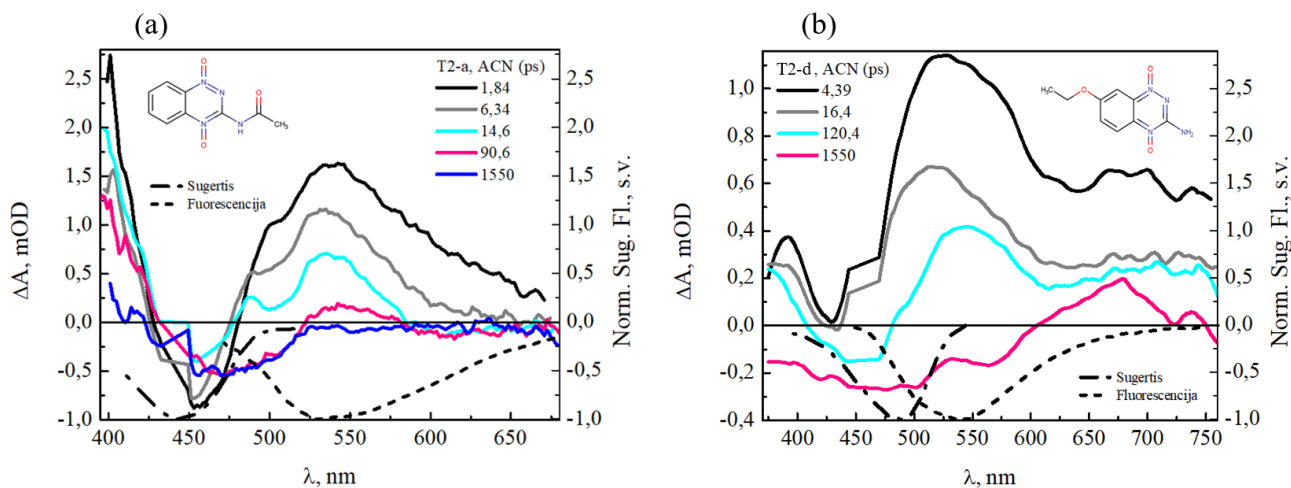
Stiprus donorinis pakaitas C7 pozicijoje pakeičia krūvio pernašos kryptį iš etoksi grupės į tirapazamino aromatinę dalį. Sugerties spektras pasislenka į raudoną pusę apie 10 nm, o lėto proceso gyvavimo trukmė pailgėja, atspindėdama stipresnę krūvio pernašą. Šios molekūlės fluorescencijos našumas išauga iki 3%. Prijungiant skirtingų tipų pakaitus galime keisti krūvio pasiskirstymą šioje molekulinėje sistemoje ir valdyti sužadavimo relaksacijos spartas.

**2 lentelė.** T2, T2o2 ir T2-a tirapazaminų junginių fotofizikinių savybių charakteristikos.

Medž.	Tirpk.	$\epsilon^1$ l/(mol*cm)	$\lambda_{\text{sug.}}^2$ nm	$\lambda_{\text{fl}}^3$ nm	QY <sup>4</sup> %	$\tau^5$ ns	f %
T2	ACN	8895	480	570	0,28	0,115 22	87 13
	EAT	7418	490	580	0,23	0,110 22	85 13
T2-d	ACN	7013	490	540	2,99	0,253 24	63 37
	EAT	6538	495	540	2,64	0,168 16	60 40
T2-a	ACN	6823	445	535	0,07	0,203 19	53 47
	EAT	6980	450	525	0,04	0,134 13	62 38

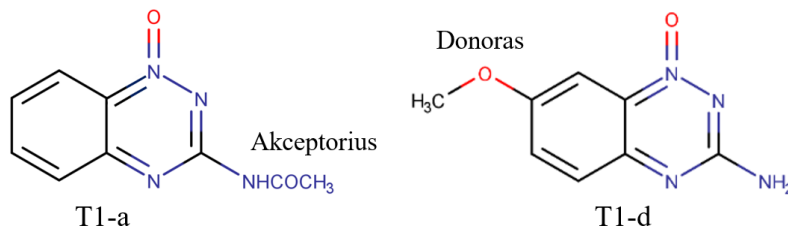
<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.

Šių dviejų molekulių modifikuotų poliniais pakaitais skirtuminės sugerties spektrai pavaizduoti 28 paveiksle acetonitrilo tirpiklyje. Matome, kad T2-a darinys pasižymi pagrindinės būsenos išblyškimu, kuris sutampa su sugertimi. Tiek T2-a, tiek T2-d turi greitai nugęstančius teigiamus signalus ir vieną ilgai gyvuojančią būseną, kaip ir aukščiau aptartu T2 atveju. Pažymėtina, kad mažesnės krūvio pernašos pakeistasis T2-a junginys taip pat rodo ilgai gyvuojančias būsenas ir praskaidrėjimo spektro išplatėjimą ties 470 nm. Panašų sugerties išplitimą stebime ir T2 molekulėje.



**28 pav.** T2-a ir T2-d junginių skirtuminės sugerties spektrai acetonitrilo tirpiklyje. Skirtuminės sugerties spektruose taip pat nurodyti normuoti sugerties bei fluorescencijos spektrai.

Ši nauja būseną gali būti siejama su ciklikuota molekulės forma arba sparčia relaksacija į tripletų būsenas. Stiprus fluorescencijos išaugimas ir lėta vienksoponentė sužadavimo relaksacija rodo, kad dezoksitirapazaminuose nestebimi anksčiau minėti procesai. Todėl ištyrėme akcentorinių ir donorinių pakaitų įtaką šio junginio fotofizikinėms savybėms. Modifikuotų T1 darinių molekulinės struktūros pavaizduotos 29 paveikslėlyje.



**29 pav.** T1-a ir T1-d junginių molekulinės struktūros.

Iš 3 lentelėje pateiktų duomenų matome, kad, kaip ir pirmuoju atveju, acetilo akceptorinis pakaitas (T1-a junginys) lemia sugerties spektro poslinkį į mėlynąją pusę apie 30 nm, fluorescencijos našumo ženklų kritimą ir gesimo kinetikos paspartėjimą. Tuo tarpu metoksi donorinis pakaitas C7 pozicijoje (T1-d junginys) lemia raudoną sugerties spektro poslinkį apie 25 nm, gyvavimo trukmės

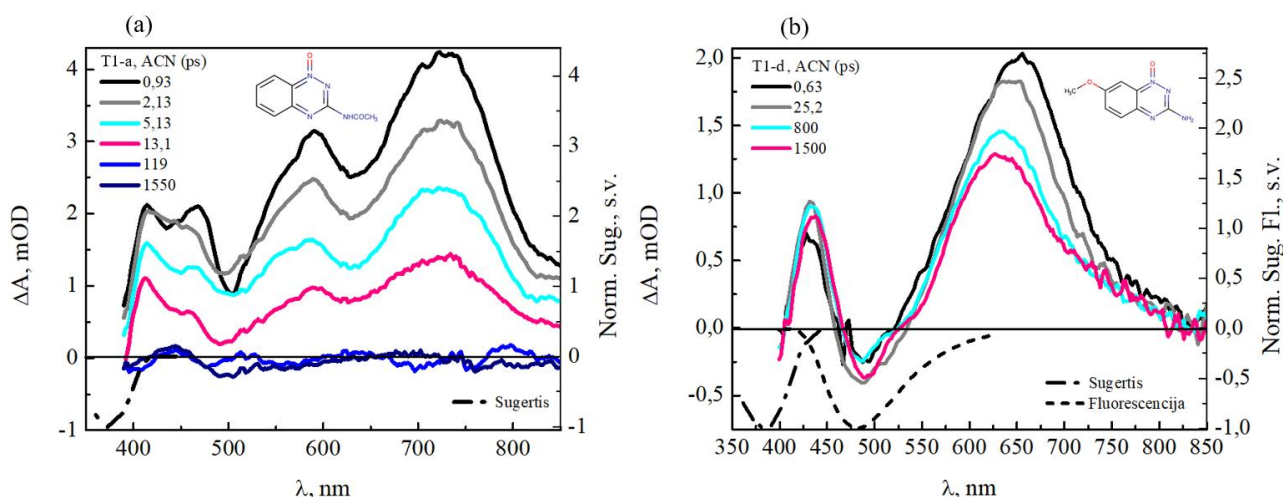
pailgėjimą ir fluorescencijos kvantinio našumo išaugimą iki 61 %. Tokiu būdu parodyta galimybė donoriniais pakaitais C7 pozicijoje valdyti fluorescencijos našumą ir ženkliai sumažinti nespindulinius vyksmus.

**3 lentelė.** T1, T1-d ir T1-a tirapazaminų junginių fotofizikinių savybių charakteristikos.

Medž.	Tirpk.	$\epsilon^1$ l/(mol*cm)	$\lambda_{\text{sug.}}^2$ nm	$\lambda_{\text{fl}}^3$ nm	QY <sup>4</sup> %	$\tau^5$ ns	f %	$\tau_{\text{rad}}^7$ ns	$\tau_{\text{nonrad}}^8$ ns
T1	ACN	5538	405	490	16,2	5,6	100	36,79	6,61
	EAT	4599	405	490	7,42	4,3	100	57,95	4,64
T1-d	ACN	5592	430	510	61,38	18,6	100	30,3	48,16
	EAT	5145	430	505	57,57	15,5	100	26,92	36,53
T1-a	ACN	4721	375	-	-	-	-	-	-
	EAT	4428	375	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.

Kadangi dezoksitirapazamino molekulėms nėra būdinga deguonies ciklizacija, galimas kitas sparčios nespindulinės relaksacijos aiškinimas – tripletinių būsenų susidarymas. Poliniai pakaitai iššaukia ženklų aukštesnių singuletinių ir tripletinių būsenų energijos persiskirstymą, kuris palankios konfigūracijos atveju gali lemti stiprią interkombinacinę konversiją. Nespindulinių vyksmų prigimtis reikalauja tolimesnių išsamių tyrimų.



**30 pav.** T1-a ir T1-d junginių skirtuminės sugerties spektrai acetonitrilo tirpiklyje. Skirtuminės sugerties spektruose taip pat nurodyti normuoti sugerties bei fluorescencijos spektrai.

30 paveikslėlis rodo ultrasparčios dinamikos žadinimo zondavimo spektrus, dezoksitirapazamino junginiams su pakeistais donoriniais ir akceptoriniais pakaitais. Donorinio metoksi pakaito atveju stebime įprastą vaizdą, kai spektre dominuoja indukuotų šuolių ir stimuliuotų

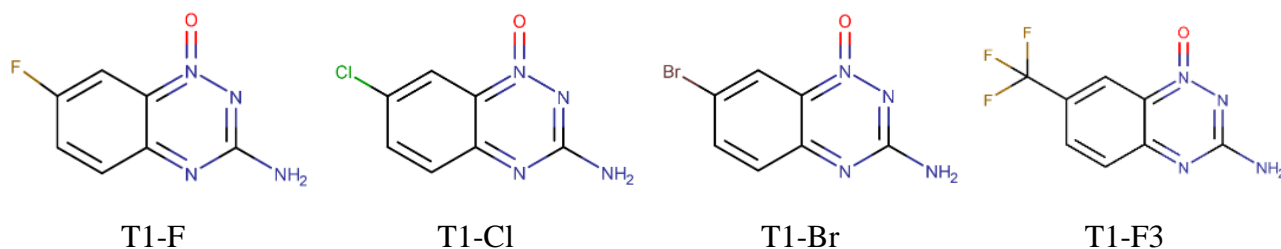
šiuolių juostos atitinkamai ties 425 nm, 635 nm ir 490 nm. Jų dinamika dera su lėtu fluorescencijos gesimu, nestebime jokių papildomų ilgai gyvuojančių būsenų. Tuo tarpu akceptoriniu pakaitu indukuotos sugerties spektras išsiskiria indukuotų šuolių gausa ties 410 nm, 470 nm, 590 nm ir 730 nm, sparčia sužadavimo relaksacija bei likutine sugertimi ties 450 nm, kurią galime sieti su ilgai gyvuojančių tripletinių būsenų pasireiškimu.

## 3.2 Pakaitų įtaka dezoksitirapazamino junginio fotofizikinėms savybėms

Kitą tyrimų dalį sudarė junginiai dezoksitirapazamino T1 molekulės pagrindu su C7 pozicijoje prijungtais skirtingų donorinių ir akceptorinių tipų pakaitais. Toliau tiriami junginiai buvo suskirstyti į grupes pagal pakaitų tipą. Visų šiose grupėse nagrinėjamu darinių fotofizikinės savybės buvo ištirtos skirtingo poliškumo tirpikliuose: etilacetate (EAT,  $\epsilon = 6,02$ ), acetonitrile (ACN,  $\epsilon = 37,5$ ) ir kai kurių molekulių atveju 1 v/v% dimetil-sulfoksido DMSO ( $\epsilon = 46.7$ ) ir vandens H<sub>2</sub>O ( $\epsilon = 80.1$ ) mišinyje. Taip pat prie gautų duomenų yra pridėti T1 junginio, kuris neturi pakaito, duomenys palyginimui.

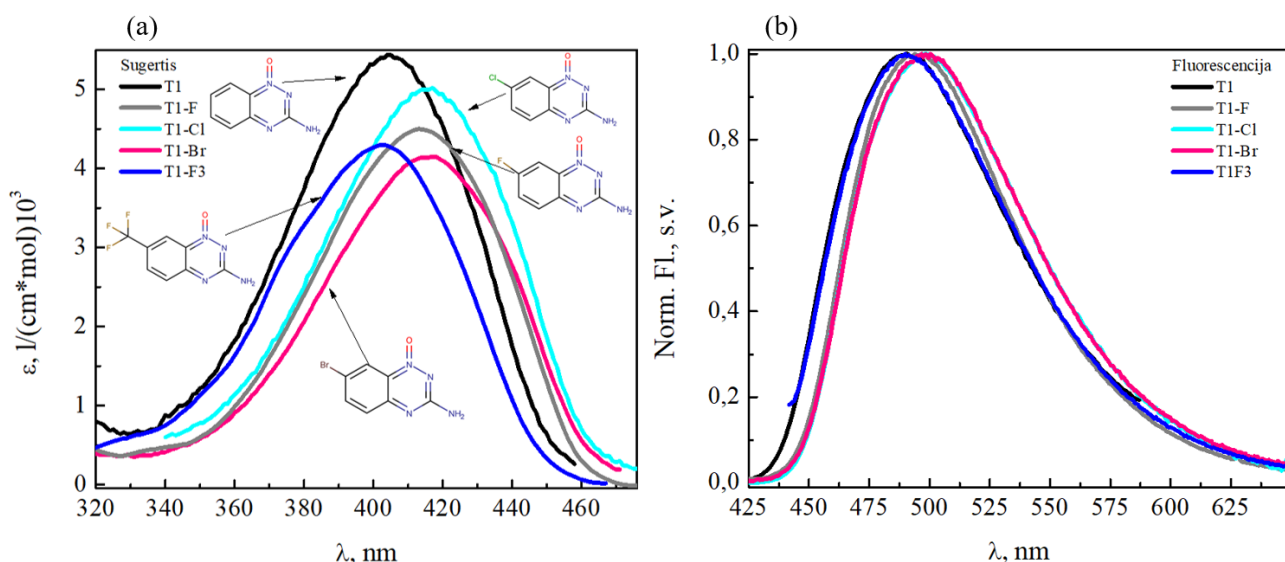
### 3.2.1 Halogeniniai pakaitai

Pirmąją junginių grupę sudarė molekulės, turinčios halogeninius pakaitus, kurių struktūros bei žymėjimas yra pavaizduotos 31 paveikslėlyje.



**31 pav.** Dezoksitirapazaminų junginių su halogeniniais pakaitais molekulinės struktūros.

Nagrinėjant šios grupės junginių sugerties bei fluorescencijos spektrus, kurie yra pavaizduoti 32 paveiksle, buvo pastebėta, kad halogenų grupės pakaitai paslenka sugerties spektrus apie 10 nm į ilgujų bangų pusę. Fluorescencijos spektrų tendencijos atitinka sugerties spektrus. Ryškios priklausomybės sugerties bei fluorescencijos spektruose nuo naudotų tirpiklių poliškumo nebuvo užfiksuota, tačiau apskaičiuoti kvantiniai našumai buvo didesni labiau poliniame acetonitrilo tirpiklyje. Halogenų grupės junginių fotofizikinės charakteristikos yra pateiktos 4 lentelėje.



**32 pav.** Junginių T1, T1-F, T1-Cl, T1-F3 ir T1-Br sugerties (a) bei fluorescencijos (b) spektrai acetonitrilo tirpiklyje.

Halogeninių akceptorinių pakaitų atveju fluorescencijos kvantinis našumas kinta nuo 15% iki 29 %. Didžiausias našumas šioje grupėje buvo pasiektas T1-Cl junginio, su chloro pakaitu, 29% acetonitrilo tirpiklyje. Taip pat ir 4 lentelėje pateiktų duomenų matome, kad halogeninių junginių grupės spindulinė gesimo trukmė mažai kinta, tačiau nespindulinio kanalo trukmė išauga bent du kartus. O T1-Br, junginio su bromo pakaitu, kurio našumas siekia 27%, nespindulinė gesimo trukmė sulėtėja net 7 kartus.

**4 lentelė.** T1, T1-F, T1-Cl, T1-F3 ir T1-Br junginių fotofizikinių savybių charakteristikos.

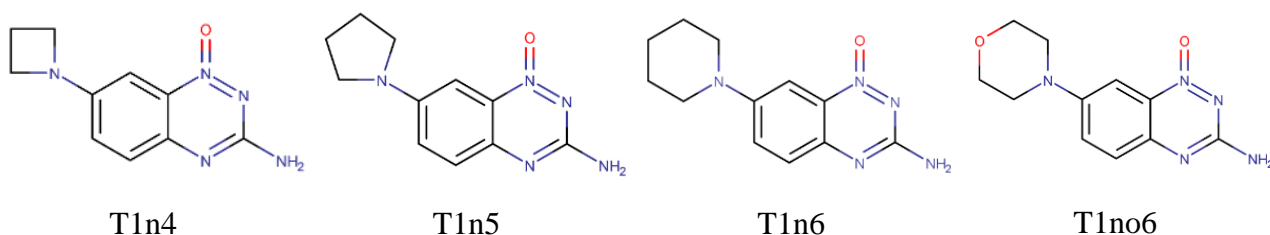
Medž.	Tirpk.	$\epsilon^1$ , l/(mol*cm)	$\lambda_{\text{sug.}}^2$ , nm	$\lambda_{\text{fl}}^3$ , nm	QY <sup>4</sup> , %	$\tau^5$ , ns	f, %	$\tau_{\text{rad}}^7$ , ns	$\tau_{\text{norad}}^8$ , ns
T1	ACN	5538	405	490	16,22	5,6	100	36,79	6,61
	EAT	4599	405	490	7,42	4,3	100	57,95	4,64
T1-F	ACN	4382	415	495	22,31	11,9	100	53,34	15,32
	EAT	4382	415	495	15,92	9,5	100	69,67	11,30
T1-Cl	ACN	4935	420	500	29,01	11,6	100	39,89	16,36
	EAT	4935	420	500	15,51	9,3	100	56,33	11,14
T1-F3	ACN	4415	400	490	28,35	7,1	100	25,04	9,91
	EAT	4415	400	490	22,25	5,4	100	24,26	6,95
T1-Br	ACN	4100	415	495	27,12	18,6	100	30,3	48,16
	EAT	4803	415	495	24,53	15,5	100	26,92	36,53

<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.



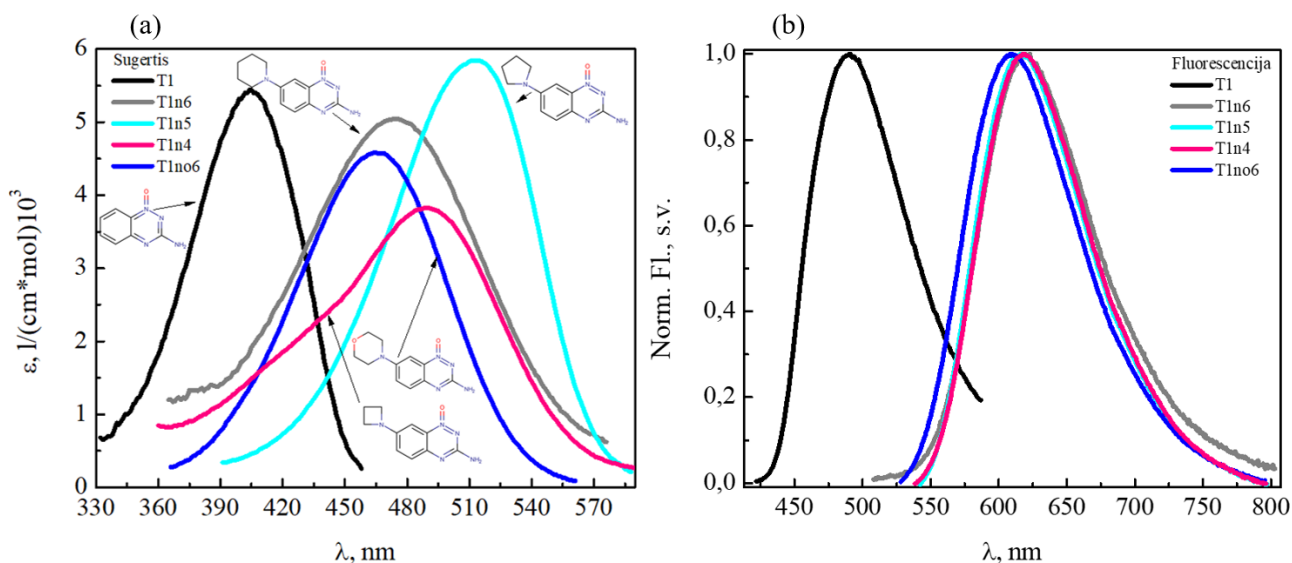
### 3.2.2 Azoto heterociklo pakaitai

Antrąją junginių grupę sudarė molekulės, turinčios azoto heterociklo donorinius pakaitus, kurių struktūros bei žymėjimas yra pavaizduotos 33 paveikslėlyje.



**33 pav.** Dezoksitirapazamino junginių su azoto heterociklo pakaitais molekulinės struktūros.

Nagrinęjant šios grupės junginių sugerties bei fluorescencijos spektrus, kurie yra pavaizduoti 34 paveiksle, buvo pastebėta, kad halogenų grupės pakaitai paslenka sugerties spektrus į ilgą bangę spektro pusę daug stipriau nei halogeniniai pakaitai (apie 55 - 110 nm). O fluorescencijos spektrai pasislenka apie 90 – 130 nm į raudonesnę regimojo spektro pusę, lyginant su pakaito neturinčia dezoksitirapazamino T1 molekule.



**34 pav.** Junginių T1, T1n4, T1n5, T1n6 ir T1no6 sugerties (a) bei fluorescencijos (b) spektrai acetonitrilo triplikyje.

Didelės priklausomybės sugerties bei fluorescencijos spektruose nuo naudotų tirpiklių poliškumo nėra, tačiau T1n6 ir T1n5 atveju sugertis acetonitrilo tirpiklyje pasislenka apie 15 nm labiau, nei etilacetato tirpiklyje. Fluorescencija acetonitrilo tirpiklyje taip pat yra ilgesnių bangų srityje (apie 25 – 35 nm) nei etilacetato tirpiklyje. Azoto heterociklų grupės junginių fotofizikinės charakteristikos yra pateiktos 5 lentelėje.

**5 lentelė.** T1, T1n4, T1n5, T1n6 ir T1no6 junginių fotofizikinės charakteristikos.

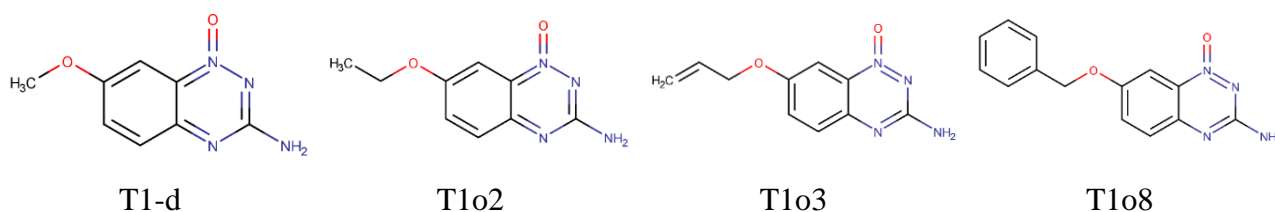
Medž.	Tirpk.	$\epsilon^1$ , l/(mol*cm)	$\lambda_{\text{sug}}^2$ , nm	$\lambda_{\text{fl}}^3$ , nm	QY <sup>4</sup> , %	$\tau^5$ , ns	f, %	$\tau_{\text{rad}}^7$ , ns	$\tau_{\text{norad}}^8$ , ns
T1	ACN	5538	405	490	16,22	5,6	100	36,79	6,61
	EAT	4599	405	490	7,42	4,3	100	57,95	4,64
T1n6	ACN	5145	480	620	41,21	13,3	100	32,27	22,62
	EAT	4508	465	585	20,55	21,2	100	103,16	26,68
T1n5	ACN	5843	515	615	35,98	17,4	100	48,36	27,18
	EAT	5440	500	580	43,43	17,8	100	40,99	31,47
T1n4	ACN	3839	490	615	34,34	15,8	100	46,01	24,06
	EAT	5291	490	590	45,48	17	100	37,38	31,18
T1no6	ACN	4528	470	610	43,01	18,5	100	43,01	32,46
	EAT	4528	460	580	51,02	19	100	37,24	38,79

<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.

Azoto heterociklo atvejų tik T1n6 molekulės našumas buvo didesnis acetonitrilo tirpiklyje nei etilacetate. Dėl šių donorinių pakaitų fluorescencijos kvantinis našumas kinta 20 – 51 % ruože. Didžiausias našumas šioje grupėje buvo gautas T1no6 junginio, su morfolino pakaitu, 51% etilacetate. Taip pat iš 5 lentelėje pateiktų duomenų matome, kad azoto heterociklo junginių grupės spindulinė gesimo trukmės taip pat mažai kinta kaip ir halogeninių pakaitų atveju, tačiau nespindulinio kanalo trukmė dar daugiau išauga. Nespindulinio kanalo sparta sumažėja 4 – 8 kartus lyginant su pakaito neturinčia T1 molekulės nespinduline gyvavimo trukme.

### 3.2.3 Degoniniai pakaitai

Trečiąją junginių grupę sudarė molekulės turinčios stiprius donorinius metoksi, etoksi, aliloksi bei benziloksi pakaitus, kurių molekulinės struktūros bei žymėjimas yra pavaizduotos 35 paveikslėlyje.

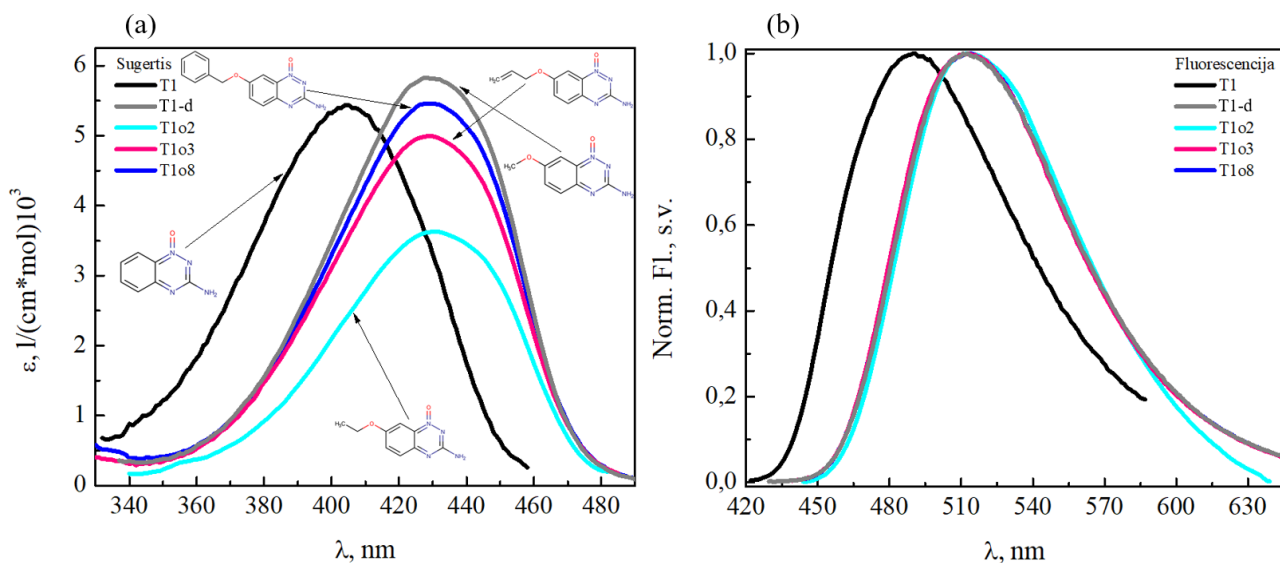


**35 pav.** Dezoksitirapazamino junginių su stipriai donoriniais pakaitais molekulinės struktūros.

Analizuojant šios grupės junginių sugerties bei fluorescencijos spektrus, kurie yra pavaizduoti 36 paveiksle, galime matyti, kad degonį turintys pakaitai paslenka sugerties spektrus šiek tiek mažiau nei azoto heterociklo pakaitai, bet daugiau nei halogeniniai pakaitai, apie 25 - 50 nm į ilgujį



bangų pusę lyginant su T1 junginiu. Fluorescencijos spektrai taip pat patiria batochrominį poslinkį apie 15 – 65 nm.



**36 pav.** Junginių T1, T1-d, T1o2, T1o3 ir T1o8 sugerties (a) bei fluorescencijos (b) spektrai acetonitrilo triplikyje.

Kaip ir anksčiau aptartais atvejais, priklausomybės sugerties bei fluorescencijos spektruose nuo naudotų tirpiklių poliškumo nepastebėjome, tačiau apskaičiuoti kvantiniai našumai buvo gauti didesni labiau poliniame acetonitrilo tirpiklyje.

**6 lentelė.** T1, T1-d, T1o2, T1o3 ir T1o8 junginių fotofizikinės charakteristikos.

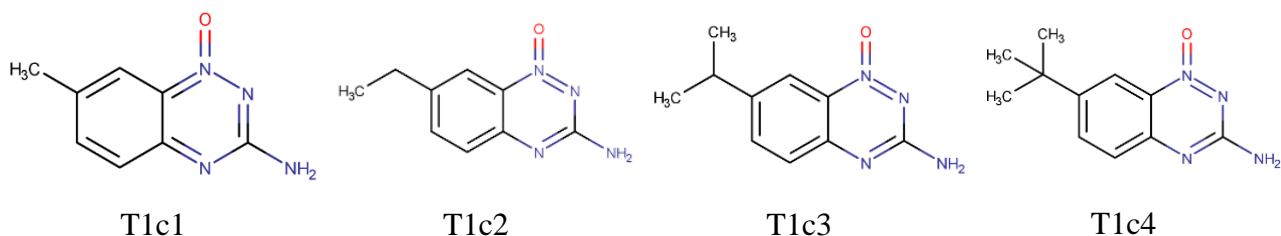
Medž	Tirpk.	$\epsilon^1$ , l/(mol*cm)	$\lambda_{\text{sug}}^2$ , nm	$\lambda_{\text{fl}}^3$ , nm	QY <sup>4</sup> , %	$\tau^4$ , ns	f, %	$\tau_{\text{rad}}^7$ , ns	$\tau_{\text{norad}}^8$ , ns
T1	ACN	5538	405	490	16,22	5,6	100	36,79	6,61
	EAT	4599	405	490	7,42	4,3	100	57,95	4,64
T1-d	ACN	5592	430	510	61,38	18,6	100	30,3	48,16
	EAT	5145	430	505	57,57	15,5	100	26,92	36,53
T1o2	ACN	3622	430	505	43,19	18,7	100	43,30	32,92
	EAT	5018	435	510	26,31	15,5	100	58,91	21,03
	DMSO+H2O	4903	445	555	18,62	6,2	100	33,29	7,62
T1o3	ACN	4969	430	515	51,71	18,5	100	35,78	38,31
	EAT	5652	425	510	31,47	15,3	100	48,62	22,32
	DMSO+H2O	5274	440	555	24,55	6,1	100	24,85	8,08
T1o8	ACN	5567	430	510	54,3	18,6	100	34,06	40,7
	EAT	3439	430	510	47,85	15,5	100	32,29	29,72
	DMSO+H2O	5585	455	550	7,43	5,9	100	79,41	6,37

<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.

Šios grupės junginių su donoriniais pakaitais fotofizikinės charakteristikos pateiktos 6 lentelėje. Matome, kad čia fluorescencijos kvantinis našumas kinta nuo 26% iki 61%. Didžiausias našumas šioje grupėje buvo pasiektas T1-d junginio su metoski grupės pakaitu 61% acetonitrilo tirpiklyje. Taip pat, trijų molekulių fotofizikinės savybės buvo ištirtos ir dimetilsulfoksido bei vandens mišinyje, dėl galimų biologinių taikymų, ir geriausias našumas, kurį pavyko gauti, buvo T1o3 junginio su aliloksi grupės pakaitu 24%. Dar galime pastebėti tas pačias tendencijas kaip ir kitų pakaitų atveju, tai nespindulinio gesimo kanalo trukmė padidėja apie 2 – 8 kartus, lyginant su pakaito neturinčia T1 medžiaga.

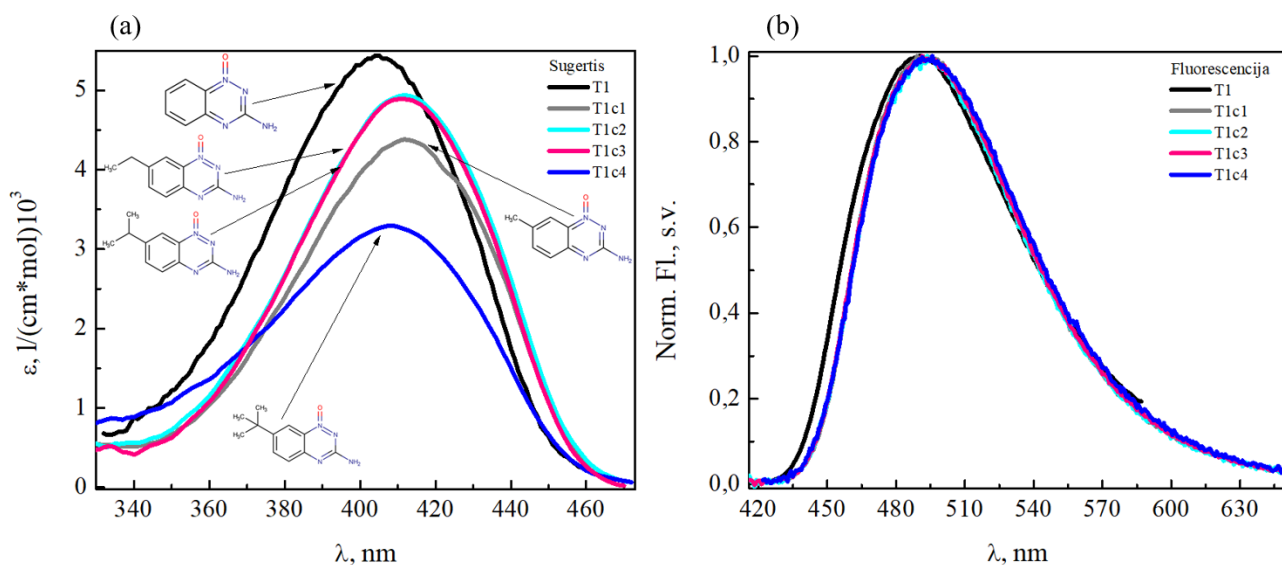
### 3.2.4 Metilo grupės pakaitai

Paskutinę dezoksitirapazamino junginių grupę sudarė molekulės, turinčios metilo grupės pakaitus, kurių molekulinės struktūros bei žymėjimas yra pavaizduotos 37 paveikslėlyje.



**37 pav.** Dezoksitirapazamino junginių su metilo pakaitais molekulinės struktūros.

Metilo grupės pakaitai pastumia, kaip ir kiti pakaitai, sugerties ir fluorescencijos spektrus, kurie yra pavaizduoti 38 paveiksle į raudonąją pusę, bet gana nežymiai, o priklausomybė nuo aplinkos poliškumo nepasireiškia.



**38 pav.** Junginių T1, T1c1, T1c2, T1c3 ir T1c4 sugerties (a) bei fluorescencijos (b) spektrai acetonitrilo tirpiklyje.

Kvantiniai našumai, kurie kaip ir kiti duomenys yra pateikti 7 lentelėje, gauti šiek tiek didesni nei su halogeniniais pakaitais (kinta 16 – 31 % ruože). Didžiausias našumas gautas su T1c1 molekule acetonitrilo tirpiklyje 31%, o dimetilsofoksido ir vandens mišinyje jis siekė tik 7%, tiek pat kiek su molekule neturinčia pakaito T1 etilacetato tirpiklyje. Čia nespindulinė gesimo trukmė sulėtėja gana nedaug tik iki 2 kartų.

**7 lentelė.** T1, T1c1, T1c2, T1c3 ir T1c4 junginių fotofizikinės charakteristikos

Medž.	Tirpk.	$\epsilon^1$ , l/(mol*cm)	$\lambda_{\text{sug}}^2$ , nm	$\lambda_{\text{fl}}^3$ , nm	QY <sup>4</sup> , %	$\tau^5$ , ns	f, %	$\tau_{\text{rad}}^7$ , ns	$\tau_{\text{norad}}^8$ , ns
T1	ACN	5538	405	490	16,22	5,6	100	36,79	6,61
	EAT	4599	405	490	7,42	4,3	100	57,95	4,64
T1c1	ACN	5332	416	494	31,89	8,9	100	18,43	17,21
	EAT	4027	412	491	25,15	6,7	100	18,06	10,05
	DMSO+H2O	4555	425	530	7,64	3,7	100	48,43	4,01
T1c2	ACN	4918	410	495	25,86	8,5	100	32,87	11,46
	EAT	4918	410	495	20,76	6,4	100	30,83	8,08
T1c3	ACN	4766	410	495	24,95	8,1	100	32,46	10,79
	EAT	5004	410	490	20,21	6,1	100	30,18	7,65
	DMSO+H2O	4652	420	530	7,04	3,5	100	49,72	3,77
T1c4	ACN	3327	410	495	21,83	8,1	100	37,1	10,36
	EAT	3129	410	490	16,59	5,7	100	34,36	6,83

<sup>1</sup> Molinis ekstinkcijos koeficientas, <sup>2</sup> sugerties intensyviausia vertė, <sup>3</sup> fluorescencijos intensyviausia vertė, <sup>4</sup> fluorescencijos kvantinis našumas, <sup>5</sup> fluorescencijos gesimo trukmė, <sup>7,8</sup> spindulinė bei nespindulinė fluorescencijos gesimo trukmės.

Išanalizavus visų šių pakaitų grupių atvejus parodėme fluorescencijos kvantinio našumo išaugimo galimybes ir sužinojome, kad didžiausią kvantinį našumą, siekiantį 61%, duoda stipriai donorinė metoksi grupė, prijungta C7 dezoksitirapazamino padėtyje.

## IŠVADOS

1. Tirapazamino (T2) sužadavimo relaksaciją sudaro sparčioji dalis (1 – 100 ps ruožė), kuri susijusi su deguonies ciklizacija arba su tripletinių būsenų susidarymu, bei lėtoji dalis, susijusi su pagrindinės krūvio pernašos (CT) būsenos relaksacijos vyksmais 2 – 20 ns ruožė. Parodėme šių procesų valdymą poliniais pakaitais.
2. Parodyta, kad galima padidinti dezoksitirapazamino (T1) fluorescencijos kvantinį našumą 4 kartus, lyginant su pakaito neturinčio T1 junginiu, įvedant stiprias donorines grupes C7 pozicijoje. Tokie pakeisti T1 junginiai gali būti naudojami deguonies redukcijos reakcijai stebėti fluorescencijos detekcijos būdu.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

- [1] J. M. Brown, "SR 4233 (Tirapazamine): A new anticancer drug exploiting hypoxia in solid tumours," *Br. J. Cancer*, vol. 67, no. 6, pp. 1163–1170, 1993, doi: 10.1038/bjc.1993.220.
- [2] M. J. Done and J. M. Brown, "Tumor-specific, Schedule-dependent Interaction between Tirapazamine (SR 4233) and Cisplatin," *Cancer Res.*, vol. 53, no. 19, pp. 4633–4636, Oct. 1993.
- [3] W. A. Denny and W. R. Wilson, "Tirapazamine: A bioreductive anticancer drug that exploits tumour hypoxia," *Expert Opin. Investig. Drugs*, vol. 9, no. 12, pp. 2889–2901, 2000, doi: 10.1517/13543784.9.12.2889.
- [4] D. Rischin *et al.*, "JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY Tirapazamine, Cisplatin, and Radiation Versus Cisplatin and Radiation for Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck (TROG 02.02, HeadSTART): A Phase III Trial of the Trans-Tasman Radiation Oncology Group," vol. 28, no. 18, pp. 2989–2996, 2010, doi: 10.1200/JCO.2009.27.4449.
- [5] J. S. Poole *et al.*, "Photochemical Electron Transfer Reactions of Tirapazamine," *Photochem. Photobiol.*, vol. 75, no. 4, pp. 339–345, May 2007, doi: 10.1562/0031-8655(2002)0750339petrot2.0.co2.
- [6] J. Yin, R. Glaser, and K. S. Gates, "On the reaction mechanism of tirapazamine reduction chemistry: Unimolecular N-OH homolysis, stepwise dehydration, or triazene ring-opening," *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 25, no. 3, pp. 634–645, Mar. 2012, doi: 10.1021/tx200546u.
- [7] H. Lin and F. Bai, "Electronic Process in Organic Solids," *Wiley-VCH Verlag GmbH Co. KGaA*, 2013.
- [8] T. Edition, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. .
- [9] H. C. W. M. Schworer, *Organic molecular solids*. John Wiley & Sons, 2007.
- [10] S. Juršėnas, *Organiniai puslaidininkiai*. Vilnius: Vilniaus Universitetas, 2008.
- [11] A. Undzėnas, *Organinių junginių fotonikos pagrindai*. Vilnius, 1999.
- [12] S. Juršėnas, *Organinės optoelektronikos prietaisai*. Vilniaus universitetas: ProgreTus, 2008.
- [13] M. B. J. S. G. Tan, "Nanoscale physics and electronics, Introduction to the Physics of Nanoelectronics," 2012.
- [14] A. Wang, Z.; Huang, L.; Yan, Y.; El-Zohry, A. M.; Toffoletti and O. F. H. Zhao, J.; Barbon, A.; Dick, B.; Mohammed, "G. Elucidation of the Intersystem Crossing Mechanism in a Helical BODIPY for Low-Dose Photodynamic Therapy.," *Angew. Chem., Int. Ed*, 2020.
- [15] M. H. D. Sasikumar, A. T. John, J. Sunny, "Access to the triplet excited states of organic chromophores," *Chem. Soc. Rev.*, 2020.
- [16] Z. ai, M.; Auffray, M.; Zhang, D.; Zhang, Y.; Nagata, R.; Lin, Y. Tang, X.; Chan, C.-Y.; Lee, Y.-T.; Huang, T.; Song, X.; Tsuchiya, and L. Adachi, C.; Duan, "Enhancing Spin-Orbital Coupling in Deep-Blue/ Blue TADF Emitters by Minimizing the Distance from the Heteroatoms in Donors to Acceptors," *Chem. Eng. J.*, 2021.
- [17] C. M. M. T. J. Penfold, E. Gindensperger, C. Daniel, "Spin-Vibronic Mechanism for

- Intersystem Crossing,” *Chem. Rev.*, 2018.
- [18] M. A. El-Sayed, “The Radiationless Processes Involving Change of Multiplicity in the Diazenes,” *J. Chem. Phys.*, 1962.
- [19] E. T. Stewart, *Quantum Chemistry*, vol. 226, no. 5243. 1970.
- [20] V. Gulbinas, *Šviesos sukelti molekuliniai vyksmai ir jų lazerinė spektroskopija*. Vilnius: TEV, 2008.
- [21] B. Valeur, *Related Titles from WILEY-VCH Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas Handbook of Analytical Techniques Single-Molecule Detection in Solution. Methods and Applications*, vol. 8. 2001.
- [22] A. Köhler, *Related Titles Physics of Organic Self-Organized Organic OLED displays fundamentals The Photophysics behind Photovoltaics and Photonics*. .
- [23] S. B. Reddy and S. K. Williamson, “Tirapazamine: A novel agent targeting hypoxic tumor cells,” *Expert Opinion on Investigational Drugs*, vol. 18, no. 1. Taylor & Francis, pp. 77–87, Jan. 2009, doi: 10.1517/13543780802567250.
- [24] J. C. Mason and G. Tennant, “Heterocyclic N-oxides. Part VI. Synthesis and nuclear magnetic resonance spectra of 3-aminobenzo-1,2,4-triazines and their mono- and di-N-oxides,” *J. Chem. Soc. B Phys. Org.*, no. 0, p. 911, Jan. 1970, doi: 10.1039/j29700000911.
- [25] A. M. P. Vaupel, “Cancer Metastasis Rev.,” no. 26, pp. 225–239, 2007.
- [26] W. R. W. J. M. Brown, “Nat. Rev. Cancer,” no. 4, pp. 437–447, 2004.
- [27] X. D. Z. H. Wang, X. Mu, H. He, “Trends Pharmacol. Sci.,” no. 39, pp. 24–48, 2018.
- [28] B. J. J. M. Brown, “Cancer,” no. 67, pp. 1163–1170, 1993.
- [29] K. S. G. X. Shen, “Chem. Res. Toxicol.,” no. 32, pp. 348–361, 2019.
- [30] M. P. Hay *et al.*, “Tricyclic [1,2,4]triazine 1,4-dioxides as hypoxia selective cytotoxins,” *J. Med. Chem.*, vol. 51, no. 21, pp. 6853–6865, Nov. 2008, doi: 10.1021/jm800967h.
- [31] S. T. T. Moriwaki, S. Okamoto, H. Sasanuma, H. Nagasawa and K. T. S. Masunaga, “Chem. Res. Toxicol.,” no. 30, pp. 699–704, 2017.
- [32] J. A. V. Junnotula, U. Sarkar, S. Sinha, K. S. Gates, “Chem. Soc.,” no. 131, pp. 1015–1024, 2009.
- [33] N. B. W. L. C. Li, D. Zha, Y. Q. Zhu, M. H. Xu, “Chem. Phys. Lett.,” no. 408, pp. 329–334, 2005.
- [34] K. S. D. Zagorevskii, M. Song, C. Breneman, Y. Yuan, T. Fuchs and J. A. Gates, C. M. Greenlief, “Soc. Mass Spectrom.,” no. 14, pp. 881– 892, 2003.
- [35] R. S. S. Shinde, A. Maroz, M. P. Hay, A. V Patterson, W. A. Denny and J. A. F. Anderson, “Chem. Soc. 2010, 132, 2591–2599.,” no. 132, pp. 2591–2599, 2010.
- [36] J. M. Brown and W. R. Wilson, “Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment,” *Nature Reviews Cancer*, vol. 4, no. 6. Nature Publishing Group, pp. 437–447, 2004, doi: 10.1038/nrc1367.
- [37] E. Arthur-Baidoo, J. Ameixa, P. Ziegler, F. Ferreira da Silva, M. Ončák, and S. Denifl,

- “Reactions in Tirapazamine Induced by the Attachment of Low-Energy Electrons: Dissociation Versus Roaming of OH,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 59, no. 39, pp. 17177–17181, 2020, doi: 10.1002/anie.202006675.
- [38] G. Brunton and K. U. Ingold, “On the mechanism of reaction of tert-butoxyl radicals with dialkylphosphites,” *Org. Magn. Reson.*, vol. 7, no. 10, pp. 527–528, 1975, doi: 10.1002/mrc.1270071014.
- [39] X. Shen *et al.*, “Exploiting the Inherent Photophysical Properties of the Major Tirapazamine Metabolite in the Development of Profluorescent Substrates for Enzymes That Catalyze the Bioreductive Activation of Hypoxia-Selective Anticancer Prodrugs,” *J. Org. Chem.*, vol. 83, no. 6, pp. 3126–3131, 2018, doi: 10.1021/acs.joc.7b03035.
- [40] X. Shi, J. S. Poole, I. Emenike, G. Burdzinski, and M. S. Platz, “Time-resolved spectroscopy of the excited singlet states of tirapazamine and desoxytirapazamine,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 109, no. 8, pp. 1491–1496, 2005, doi: 10.1021/jp0457040.
- [41] V. J. Bagdonas Saulius, Rotomkis Ričiardas, *Biofotonika*. Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla, 2007.
- [42] D. F. Swinehart, “The Beer-Lambert law,” *J. Chem. Educ.*, vol. 39, no. 7, pp. 333–335, 1962, doi: 10.1021/ed039p333.
- [43] PerkinElmer, “LAMBDA UV/Vis and UV/Vis/NIR Spectrophotometers,” 2012.
- [44] J. G. Highfield, “Determination of the absolute quantum efficiency of luminescence of solid materials employing photoacoustic spectroscopy Determination of the absolute quantum efficiency of luminescence of solid materials employing photoacoustic spectroscopy,” no. July 1980, 2018, doi: 10.1021/ac50058a024.
- [45] “Recording Fluorescence Quantum Yields.” [https://www.horiba.com/en\\_en/applications/materials/material-research/quantum-dots/recording-fluorescence-quantum-yields/](https://www.horiba.com/en_en/applications/materials/material-research/quantum-dots/recording-fluorescence-quantum-yields/) (accessed Mar. 23, 2020).
- [46] J. C. De Mello, H. F. Wittmann, and R. H. Friend, “An improved experimental determination of external photoluminescence quantum efficiency,” *Adv. Mater.*, vol. 9, no. 3, pp. 230–232, 1997, doi: 10.1002/adma.19970090308.
- [47] I. Science, D. Phillips, and R. L. Christensen, “Time Correlated Single-Photon Counting (Tcspc) Using Laser Excitation,” no. September 1985, 2014, doi: 10.1080/10739148508543581.
- [48] G. Boas, “Time-correlated single-photon counting on a chip,” *Biophotonics Int.*, vol. 14, no. 11, pp. 15–16, 2007.
- [49] Baronas Paulius, *Exciton dynamics in bifuorene crystals for laser applications*. Vilnius, 2020.
- [50] L. Conversion, *HARPIA User’s manual*. .
- [51] V. Mikas, *Kinetinė spektroskopija: paskaitų konspektas*. Vilnius, 2008.
- [52] D. J. Lebbin, M. J. Parr, G. H. Fenwick, and G. H. Fenwick, “Preface,” *The American Bird Conservation Guide to Bird Conservation*, pp. iv–v, 2010, doi: 10.2307/book6.3.

## SANTRAUKA

Kamilė Tulaitė

### Sužadinių relaksacijos vyksmų tyrimas tirapazaminų junginiuose

Tirapazaminas (TPZ) yra perspektyvus vėžį gydantis citotoksinų klasės junginys, pasižymintis selektyviu elgesiu hipoksinėje aplinkoje, žinomas ir detaliam tyrinėjimui jau kelis dešimtmečius biologijos bei medicinos srityse. Deja, detalios informacijos ir analizės apie šio junginio fotofizikinės savybės bei jų valdymą yra gerokai mažiau. Norint sėkmingai suprasti šių medžiagų valdymo, modifikavimo ir pritaikymo galimybes, reikia atlikti daugiau TPZ molekulių optinių savybių tyrimų, modifikuojant tiek pačią molekulę, tiek aiškinantis vidinės relaksacijos mechanizmus.

Šio darbo tikslas buvo ištirti polinių pakaitų įtaką fotocheminių reakcijų spartai, tirapazaminų bei dezoksitirapazaminų (dTPZ) junginiuose ir optimizuoti modifikuotų dTPZ junginių fluorescencijos savybes.

Šis darbas buvo atliktas bendradarbiaujant su Vilniaus universiteto Gyvybės ir mokslo centro prof. N. Čėno grupės mokslininkais, kurie susintetino keletą serijų modifikuotų tirapazamino junginių, sintezę atliko dr. J. Šarlauskas. Naujieji junginiai buvo orientuoti į tirapazamino optinių savybių valdymo galimybių paiešką nedideliais poliniais pakaitais. Atlikti naujai susintetintų darinių spektroskopiniai tyrimai: pirmiausia siekiant detaliam suprasti tirapazamino junginių sužadimo relaksacijos mechanizmus, antra – optimizuoti modifikuotų dezoksi-tirapazamino junginių fluorescencijos savybių valdymą. Tirapazaminai, pasižymintys našia fluorescencija, galėtų būti naudojami vėžio gydymo stadijų vaizdavime arba įvairių fermentinių reakcijų stebėjime.

Ištirta tirapazamino (T2) sužadimo relaksacijos dinamika, kurią sudaro sparčioji relaksacijos dalis (1 – 200 ps ruože), susijusi su deguonies ciklizacija arba su tripletinių būsenų susidarymu, bei lėtoji dalis, susijusi su pagrindinės krūvio pernašos (CT) būsenos relaksacijos vyksmais (2 – 20 ns ruože). Parodėme šių procesų valdymą poliniais pakaitais. Ištirta didelė imtis dezoksitirapazamino (T1) junginių modifikuotų poliniais pakaitais. Parodyta, kad su šiais pakaitais galima padidinti dezoksitirapazamino (T1) fluorescencijos kvantinį našumą 4 kartus, lyginant su pakaito neturintčio T1 junginiu, įvedant stiprias donorines grupes C7 pozicijoje. Tokie pakeisti T1 junginiai gali būti naudojami deguonies redukcijos reakcijai stebėti fluorescencijos detekcijos būdu.



## SUMMARY

Kamilė Tulaitė

### **Excitation relaxation processes in tirapazamine compounds**

One of the main compounds of the cytotoxin class suitable for cancer treatment is tirapazamine (TPZ), which exhibits selective behavior in a hypoxic environment. The use of tirapazamine derivatives in medicine has been widely investigated for several decades. However, the photophysical examination of these compounds remains scarce. In order, to successfully understand their usability, control, modification, and application more studies of tirapazamine optical properties need to be performed both by modifying the molecule itself and by explaining the relaxation mechanisms.

The aim of this study was to investigate the influence of polar substituents on the rate of photochemical reactions in tirapazamine and deoxytirapazamine (dTPZ) and to optimize the fluorescence properties of modified dTPZ.

This work was carried out in collaboration with Vilnius University Life Science Center prof. N. Čėno group, synthesis of tirapazamine based compounds was performed by dr. J. Šarlauskas. We focused the possibilities to control optical properties of tirapazamine with small polar substituents. In this work, spectroscopic studies of newly synthesized derivatives were performed, firstly to understand in detail the excitation relaxation mechanisms of tirapazamine compounds and secondly to optimize the control of the fluorescence properties of modified desoxytirapazamine compounds. Tirapazamines with intense fluorescence could be used to visualize the stages of cancer treatment or to monitor various enzymatic reactions.

The relaxation dynamics of tirapazamine (T2) excitation, which consists of the rapid part of the relaxation (in the range of 1 to 200 ps) related to oxygen cyclization or the formation of triplet states, and the slow part related to the relaxation events of charge transfer (CT) state (2 - 20 ns). We have shown the control of these processes by polar substituents. A large series of modified polar substituents of desoxytirapazamine (T1) compounds was investigated. These substituents have been shown to increase the fluorescence quantum yield of desoxytirapazamine (T1) by 4 times compared to the T1 compound by introducing strong donor groups at the C7 position. Such substituted T1 compounds can be used to monitor the oxygen reduction reaction by fluorescence detection.