

Streszczenie

Istotą zagadnienia naukowego, który podejmuje niniejsza rozprawa doktorska jest ustalenie: czy nowe, funkcjonalizowane pochodne fulerenu - BB6 i BB11 oraz modyfikowane powierzchniowo TiO_2 - Hmx@TiO_2 i Brp@TiO_2 wykazują odpowiednio wysoką reaktywność fotochemiczną i aktywność fotodynamiczną, jakie wymagane są od fotosensybilizatorów o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej nowotworów i niektórych innych schorzeń.

Analizowane w niniejszym projekcie nanocząstki charakteryzuje duża fotostabilność, umożliwiającą względnie długotrwałe wzbudzenie fotosensybilizatorów w wybranych układach modelowych i komórkach *in vitro*, bez znacznego fotobłaknięcia.

Fotoreaktywność badanych materiałów określana była poprzez pomiar ich zdolności do generowania tlenu singletowego oraz produkcji wolnych rodników, które mogą powodować oksydacyjną modyfikację potencjalnych targetów komórkowych, zwłaszcza w warunkach obniżonego stężenia tlenu cząsteczkowego. Pomiary te prowadzone były przy użyciu komplementarnych metod, w tym tlenometrii EPR (z ang. Electron Paramagnetic Resonance) i pułapkowania spinowego EPR. Fotoreaktywność badanych związków oceniano również na podstawie ich efektywności fotosensybilizowanej peroksydacji nienasyconych lipidów w liposomach i komórkach *in vitro*. Ponadto analizowano mechanizmy fotosensybilizowanego utleniania, w szczególności udział w procesach fotochemicznych Typu I lub Typu II poprzez detekcję specyficznych dla tlenu singletowego lub zależnych od wolnych rodników wodoronadtlenków cholesterolu. W pomiarach tych stosowano cholesterol, jako mechanistyczną sondę molekularną oraz metodę HPLC-EC(Hg). Efektywność fotodynamiczną funkcjonalizowanych fulerenów oraz modyfikowanych TiO_2 testowano *in vitro* na linii nowotworowej czerniaka B16. Przeżywalność komórek kontrolnych i poddanych działaniu fotodynamicznemu oceniano przy pomocy testu MTT i barwienia jodkiem porpidyny. Badane nanocząstki nie wykazują znaczącej cytotoksyczności w ciemności, natomiast podczas naświetlania aktywnym światłem indukują efektywne zabijanie komórek nowotworowych.

Zarówno w przypadku prostych układów modelowych jak i na modelu komórkowym, analizowany był wpływ melaniny na właściwości fotosensybilizujące

i efektywność fotodynamiczną badanej grupy związków. Analiza taka była konieczna w związku z obecnością melaniny w większości czerniaków oraz przypisywanych melaninie właściwościach przeciwutleniających i fotoprotekcyjnych, które mogą modyfikować przebieg zjawisk fotodynamicznych. Melanina w istotny sposób modyfikuje właściwości fotosensybilizujące kationowej pochodnej fulerenu BB6. Jest to wynikiem kompleksowania BB6 przez melaninę, które umożliwia bardzo wydajne przeniesienie energii wzbudzenia elektronowego fotosensybilizatora na melaninę, zmniejszając jego fotoreaktywność. W przypadku fulerenu BB11 oraz modyfikowanych TiO_2 wpływ melaniny nie jest tak silny i ma związek z jej oddziaływaniem z tlenem singletowym i „zmiataniem” wolnych rodników w reakcjach fotosensybilizowanych przez te związki.

Funkcjonalizowane fulereny, w szczególności BB6, wydajnie generują tlen singletowy, a w środowisku zawierającym donor elektronu produkują również anionorodnik ponadtlenkowy oraz rodnik hydroksylowy. Mogą więc brać udział w obu reakcjach fotosensybilizowanego utleniania (zarówno Typu I jak i II). Natomiast modyfikowane powierzchniowo TiO_2 , Hmx@TiO_2 i Brp@TiO_2 przede wszystkim wykazują zdolność udziału w procesach fotosensybilizowanego utleniania Typu I. W tym przypadku ma miejsce przeniesienie elektronu z pasma przewodnictwa TiO_2 na cząsteczki substratów, czego konsekwencją jest generowanie anionorodnika ponadtlenkowego oraz rodnika hydroksylowego. W takich warunkach Typ II PSO praktycznie nie zachodzi.

Wyniki uzyskane w pracy pozwalają sformułować wniosek, iż pomimo braku intensywnych pasm absorpcji badanych nanocząstek w zakresie długofalowym, względnie duża fotoreaktywność takich fotosensybilizatorów i zdolność generowania wolnych rodników uzasadniają nadzieję zastosowania nanocząstek w terapii fotodynamicznej niektórych nowotworów skóry oraz powierzchniowych infekcji bakteryjnych. Ewentualne wykorzystanie nanocząstek, jako fotosensybilizatorów w terapii fotodynamicznej wymaga szczegółowej wiedzy o właściwościach fotochemicznych i fotobiologicznych tych związków. Dlatego potrzebne są dalsze specjalistyczne badania w tym zakresie.