



БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО
ФИТОХИМИЯ

Мелиха Бахри Алиосман

Zn (II) - ФТАЛОЦИАНИНОВИ КОМПЛЕКСИ С
АМИНОКИСЕЛИНИ КАТО ЗАМЕСТИТЕЛИ ЗА
ФОТОДИНАМИЧНИ ПРИЛОЖЕНИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

На дисертационен труд
за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

Специалност: „Биоорганична химия, химия на природните и
физиологично активни вещества“, шифър 01.05.10

Научен ръководител: доц. Ваня Николова Мантарева

София, 2019 г.

Дисертационният труд съдържа 207 страници текст, 67 схеми, 101 фигури и 7 таблици. Списъкът на литературата включва 154 заглавия, от които 1 на кирлица.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на колоквиума „Функционални материали, компютърно моделиране и технологии“ на Института по органична химия с Център по фитохимия – БАН на 16. 04. 2019 г. (Протокол №/16.04.19 г.).

Защитата на дисертационния труд ще се състои на07. 2019 г. от часа в аудитория 111 на блок 9 на БАН, кв. „Гео Милев“ ул. „Акад. Г. Бончев“, на открито заседание пред Научно жури, назначено със Заповед на Директора на ИОХЦФ, БАН №/..... 2019 г., в състав:

Вътрешни членове:

Доц. Снежана Бакалова

Доц. Ваня Мантарева – научен ръководител

Външни членове:

Проф. дн. Цонко Колев, ПУ „Паисий Хилендарски“

Доц. Емилия Чернева, ФФ, МУ - София

Доц. Анифе Ахмедова, ФХФ, СУ „Св. Климент Охридски“

Материалите по защитата са на разположение на интересувашите се в канцеларията на ИОХЦФ - БАН, блок 9, ет. II, София 1113.

ВЪВЕДЕНИЕ

Понастоящем фотодинамичната терапия (ФДТ) е утвърден терапевтичен метод за лечение на редица туморни образувания, на заболявания като псориазис, дегенерация на очната макула, атеросклероза и други [1]. Методът се състои във въздействието върху фоточувствително съединение (фотосенсибилизатор, Фс) на специфична светлина в присъствие на молекулен кислород [2]. Фотодинамичният процес протича при облъчване на Фс със светлина от видимата до близката инфрачервена спектрална област (630-850 nm), където нативните хромофори нямат поглъщане, което определя и спектъра на фототерапевтичния прозорец. Процесът е по-ефективен при облъчване с точно определена дължина на вълната при максимума на абсорбционния спектър на Фс. В резултат на абсорбцията на фотон Фс-ът преминава във възбудено синглетно състояние, енергията му може да релаксира в излъчвателни преходи (флуоресценция и луминисценция) или безизлъчвателни преходи на вътрешна конверсия и вътрешно системен преход, който е най-вероятен при Фс-и. За фотодинамични Фс от съществено значение е триплетното възбудено състояние на молекулата, което има време на живот достатъчно за да взаимодейства с обкръжаващите го молекули. В среда на кислород по два основни механизма се генерират реактивоспособни кислородни форми като хидроксилен радикал, супероксиден йон, както и други радикали, радикал-йони и производни на кислорода (ROS), но преимуществено синглетен кислород. Най-реактивоспособен измежду кислородните форми е синглетният кислород, който има време на живот от няколко

наносекунди и разстояние от няколко нанометри за силно окислителното си действие върху живите клетки [3]. Паралелно протича механизъм с формиране на други цитотоксични ROS. Крайният резултат от фотосенсибилизацията е необратимо фотоокисление на биоорганичните молекули изграждащи клетката.

Повишаването на ефективността на ФДТ е от голям изследователски интерес. Химическият аспект на проблема включва разработване на нови фотоактивни съединения с подобрени фотофизични и фотохимични свойства, както и със селективно натрупване в целевите патогенни клетки за оптимален селективен фотоцитотоксичен ефект.

ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

С нарастване употребата на конвенционалните химиотерапевтици се обяснява развитието на резистентност при патогенните микроорганизми, както и при злокачествените тумори. Проблем е и ниската селективност на традиционните терапевтици спрямо болестотворните клетки. Фотосенсибилизаторите за метода фотодинамично действие (ФДТ) се очертават като ефективно средство за справяне с резистентността. Свойствата на фотосенсибилизаторите имат определяща роля за резултата от фотодинамичното действие. Понастоящем се разработват високоефективни трето поколение фотоактивни съединения с подобрени фотофизикохимични свойства, преодоляващи недостатъците на наличните фотосенсибилизатори.

Целта на настоящият дисертационен труд е да бъдат разработени нови биологично-активни и селективни фотосенсибилизатори за целите на метода фотодинамично действие. Новите съединения са хибридни молекули, състоящи се от фотоактивно съединение като цинк (II) фталоцианин и биологично-активни заместители от аминокиселини като тирозин, фенилаланин, аргинин и лизин. Новосинтезираните конюгати да бъдат изучени като фотосенсибилизатори по фотофизикохимичните им свойства и чрез *in vitro* изследвания за натрупване в клетъчни линии на патогенни клетки и за фотобиологичната им активност върху тумори и патогени микробни клетки.

За постигане на поставените цели бяха реализирани следните експериментални задачи:

1. Синтез и химически анализи на фталоцианинови комплекси на цинка като конюгати с незаменими аминокиселини:
 - 1.1. Синтез и химически анализи на производни на фталонитрили;
 - 1.2. Синтез и химически анализи на тетра- и окта нитро- и аминоксифеноксизаместени цинк (II) фталоцианини;
 - 1.3. Синтез и химически анализи на тетра- и окта цинк (II) фталоцианини с аминокиселините- тирозин, фенилаланин, лизин и аргинин.
2. Фотофизикохимично охарактеризиране на новополучените тетра- и окта конюгати на цинк фталоцианин с аминокиселините тирозин, фенилаланин, лизин и аргинин:

- 2.1. Изследване на абсорбционните и флуоресцентни свойства;
 - 2.2. Определяне на квантовия добив на синглетен кислород;
 - 2.3. Определяне на фотостабилност.
3. Фотобиологични изследвания на новополучените тетра- и окта конюгати на цинк фталоцианини с аминокиселините:
- 3.1. Натрупване и локализация върху туморни моделни клетки и патогенен щам;
 - 3.2. Селективност на фотоцитотоксичността при туморни клетъчни линии спрямо здрави периферни клетки;
 - 3.3. Антимикробна фотодинамична ефективност;
 - 3.4. Антитуморна фотодинамична ефективност;

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Изследванията в дисертационния труд имат за цел синтезиране на нови производни на цинк (II) фталоцианини с периферни тетра- и окта биологично-активни заместители като аминокиселини (Схема 3-1). Новосинтезираните фталоцианини бяха изследвани като фотосенсибилизатори за ФДТ приложения в биологията и медицината.

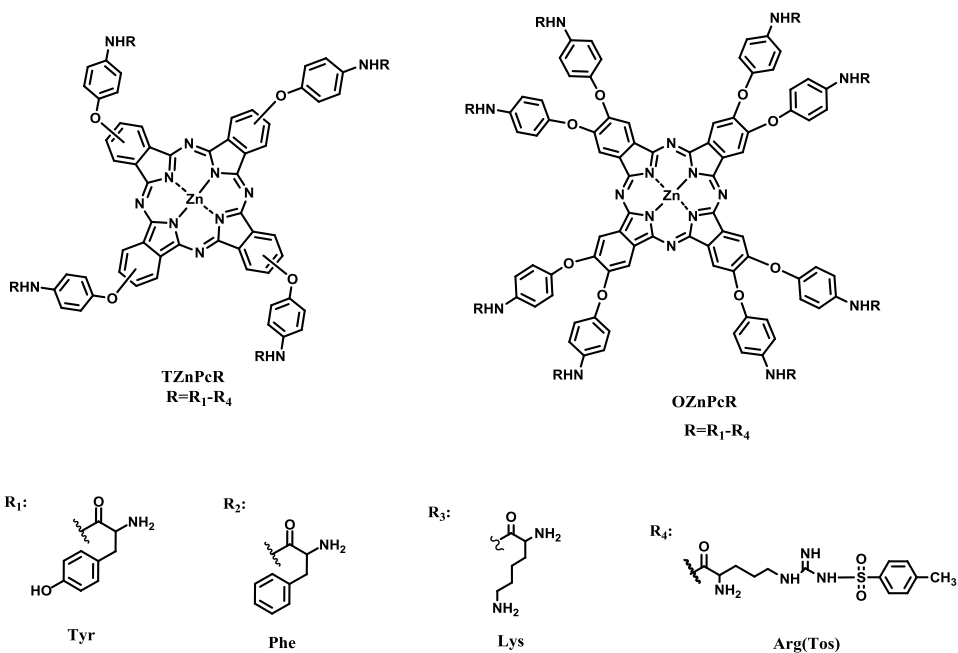


Схема 1. Химична структура на синтезираните и изследвани като фотосенсибилизатори фталоцианинови конюгати с аминокиселини.

Подбраните за функционализиране биологично-активни съединения са следните аминокиселини: тирозин и фенилаланин с цел да имат принос във флуоресцентните свойства на крайната хибридна молекула състояща се от фталоцианин и аминокиселина; аминокиселини с положителен заряд като лизин и аргинин, които са добре изучени като мембранно-проникващи аминокиселини, т.е. очаква се да допринасят за натрупването и задържането на съдържащите ги фотосенсибилизатори в клетъчните мембрани. Очаква се също така подбраните аминокиселини да повишат разтворимостта на хидрофобната фталоцианинова молекула. Новосинтезираните хибридни молекули като аминокиселини заместени фталоцианинови комплекси на цинка се класифицират като трето поколение фотосенсибилизатори за ФДТ с медицински приложения.

1. Синтез на фталоцианинови комплекси на цинка

Многостепенна синтетична процедура беше приложена с цел постигане на желаната структура за новите фотосенсибилизатори на базата на фталоцианиновата молекула с четири и осем аминокиселинни групи като заместители в периферна позиция на хетеромакроцикълъ (Схема 2). В детайли синтезът беше проведен по двете основни реакционни схеми за получаване на фталоцианини. Първата включва получаване на фталонитрили с нитрофеноксигрупи, а втората фталоцианини с нитрофеноксигрупи. При реакцията от фталонитрили (10 и 12) следващ етап от синтеза е образуването на фталоцианиновата молекула чрез реакция на циклотетрамеризация.

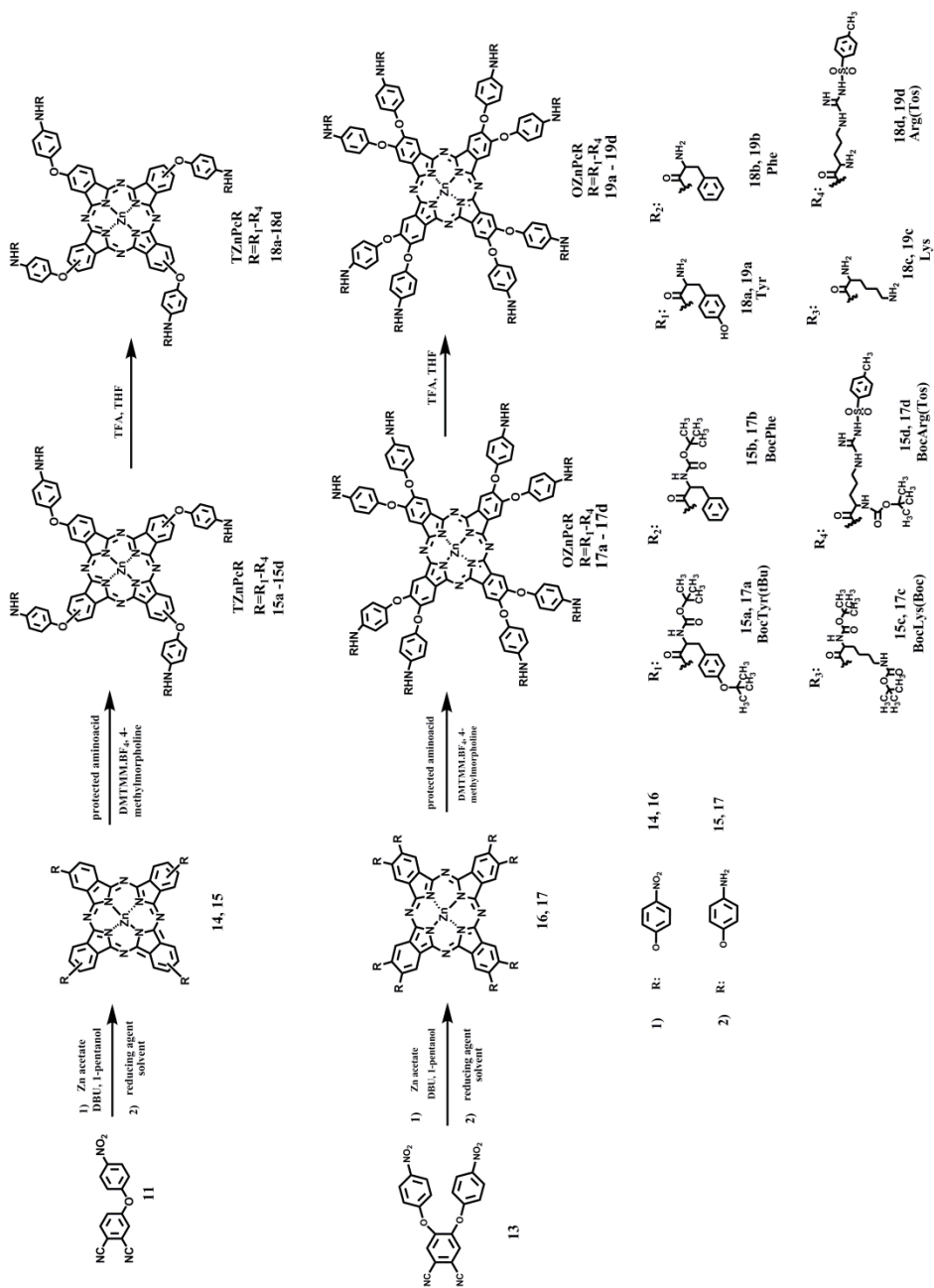


Схема 2. Синтетична схема за получаване на периферно тетра- и окта амонокиселини заместени цинк (II) фталоцианини.

Тъй като образуването на пръстенната фталоцианинова молекула е високоенергетичен процес, реакцията протича при кипене на изходния динитрил в сух пентанол с катализатор (DBU) с добавяне в началото на литий и след формиране на макроцикъла и на сол на цинка.

В резултат на описаните реакции бяха получени тетра- и окта нитрофенокси заместени цинк (II) фталоцианини (14, 16). Следващ етап е редукция на нитро групите в съединения 14 и 16 до amino групи в резултат, на което се получава тетра- и окта aminoфенокси заместените фталоцианини (15, 17). За получаването на конюгати на Zn(II) фталоцианин с подобраните аминокиселини беше използван директен синтез с образуване на amidна връзка. Реакцията протича с активиране на карбоксилната група на използваните аминокиселини със защитни групи при amino-групата (групите) и взаимодействието ѝ с amino групата от фталоцианиновата молекула.

1.1. Синтез на конюгати на цинк фталоцианини с аминокиселини

Получените aminoфенокси заместени цинкови фталоцианини бяха ковалентно свързани с подобраните за целта аминокиселини. Беше използван директен синтез между двете молекули, съответно фотосенсибилизатор и аминокиселина, с получаване на amidна връзка (схема 3). В резултат на нашата работа разработихме реакционна схема за свързване на amino групата на фталоцианина и карбоксилната група на целевата аминокиселина. Получените

конюгати имат аминокиселини като функционални от свързаните към фотосенсибилизатора аминокиселини.

Реакцията се провежда в две стъпки, които се състоят в активиране на карбоксилната група на използваните аминокиселини със защитни групи при аминокиселината (групите) при 0 °C, с цел предотвратяване образуването на рацематни структури.

След активиране на карбоксилната група на съответната аминокиселина реакцията протича с добавения към реакционната смес тетра- или окта аминокиселини заместения фталоцианин, като съотношението аминокиселина/фталоцианин е 5:1, т.е. необходим е излишък на аминокиселината за получаване на тетра- (15a-15d) и съответно 9:1 за получаване на окта- заместени фталоцианинови конюгати с аминокиселини (19a-19d). Реакцията продължава при стайна температура. Ходът на реакциите се проследява с тънкослойна хроматография. Получените сурови продукти бяха пречистени с колонна хроматография със силикагел и елуираща система $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (10:1) (v/v) за TZnPcBocTyr(tBu) , TZnPcBocPhe , TZnPcBocArg(Tos) , OZnPcBocTyr , OZnPcBocPhe ; $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (65:15:2) (v/v) за TZnPcBocLys(Boc) ; $\text{DCM}:\text{EtOH}$ (10:1) (v/v) за OZnPcBocLys(Boc) и $\text{DCM}:\text{MeOH}$ (5:1) (v/v) за OZnPcArg(Tos) . Получените тетра- и окта конюгати на цинк фталоцианини с аминокиселините тирозин, фенилаланин и аргинин имат сравнително високи добиви краен продукт (44% - 68%). При конюгиране на тетра- и окта аминокиселини заместения фталоцианини с лизин се наблюдава частично протичане на реакцията, поради което

добивите са около 30% за тетра конюгата и около 28% за окта конюгата.

Целевите съединения са нови и няма данни в литературата. Те бяха анализирани и охарактеризирани с познатите аналитични методи: ИЧ, ^1H -ЯМР, МАС и електронна спектроскопия. При всички получени конюгати се очертаха характеристични ивици около $3290\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ (-NH), $3065\text{-}3306\text{ cm}^{-1}$ (-CH arom), $2851\text{-}2970\text{ cm}^{-1}$ (-CH aliph), $1600\text{-}1665\text{ cm}^{-1}$ (-NH), $1500\text{-}1507\text{ cm}^{-1}$ (-ArC=C), $1360\text{-}1400$, $1200\text{-}1270$, $1000\text{-}1095$ (Ar-O-Ar). Протонните ЯМР спектри показаха сигнали за ароматни протони в диапазона между $11.0\text{-}7.00\text{ ppm}$ и сигнали за алифатни протони в диапазона между $4.50\text{-}1.00\text{ ppm}$. Мас спектрите бяха получени на MALDI-TOF с матрици DHB за съединения (17b-17d), CHCA за съединения (17a, 15b), DIT за съединения (15a, 15c, 15d). За съединения 15a, 15b, 15d, 17b, 17c се получи йон $[\text{M}]^+$; за съединение за 15c се получи два фрагмента - $[\text{M}]^+$, $[\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)]^+$; за съединение 17a се получи йон - $[\text{M} - \text{WocTyr}(\text{tBu})+2\text{H}]^+$; и за съединение 17d се получи три фрагмента - $[\text{M}]^+$, $[\text{M}- 2\text{x OCBobArg}(\text{Tos}) - 2\text{H}]^+$, $[\text{M}- \text{PhenylBobArg}(\text{Tos}) - \text{H}]^+$.

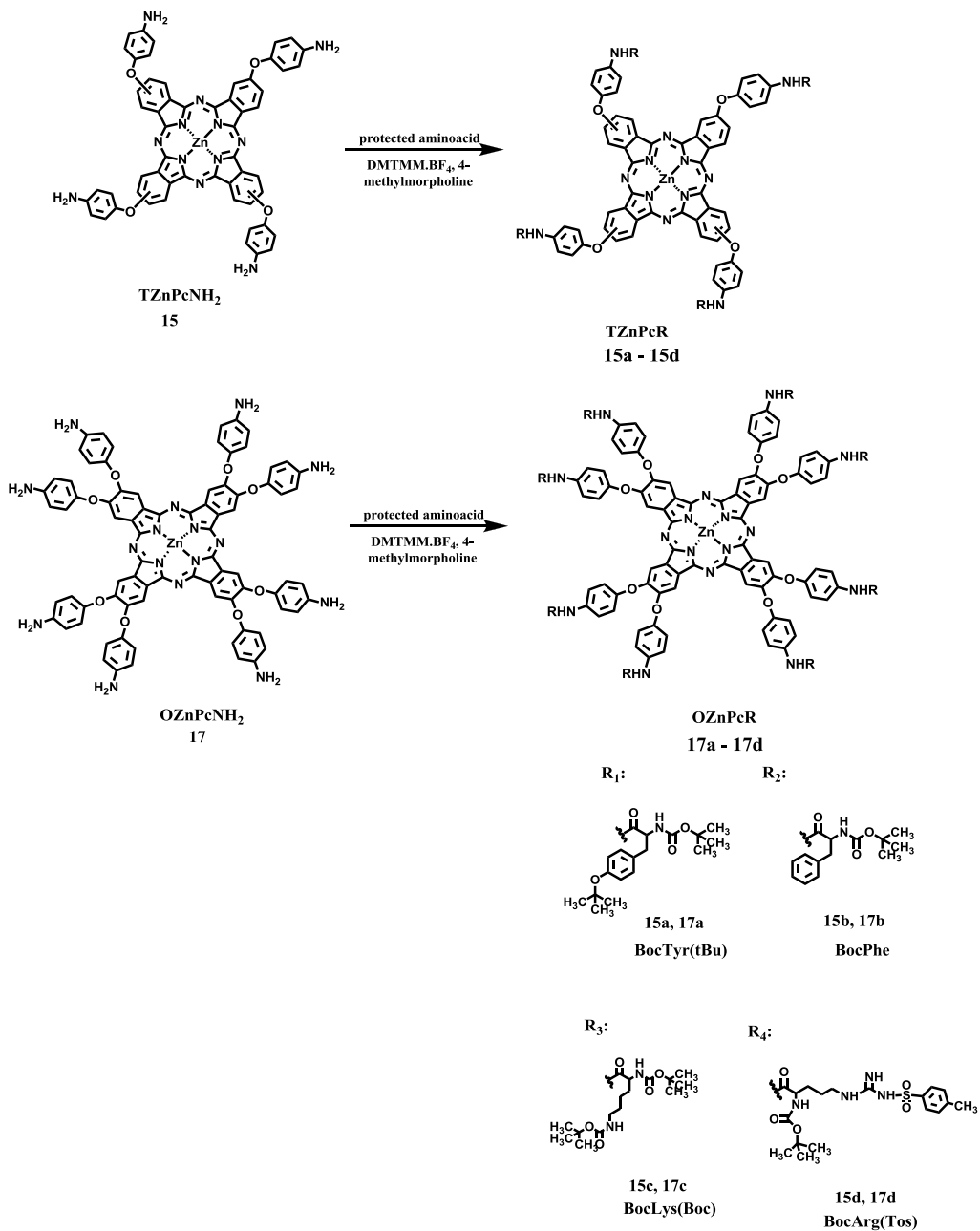


Схема 3. Синтез на периферно тетра- и окта заместени цинк(II) фталоцианини с аминокиселини (със защитни групи).

Абсорбционните спектри получени в DMSO показаха характеристични ивици на погълчане при фталоцианини с максимуми от $\lambda_{\max}=680-683$ nm във видимия спектър и максимуми в $\lambda_{\max}=350-365$ nm в ултравиолетовия диапазон.

Всички получени аналитични резултати потвърдиха структурата на целевите молекули.

Последният етап от синтетичния път за получаване на целевите конюгати е освобождаване аминокиселините от защитната група, която е при аминокиселинната група (Схема 4). Реакцията за деблокиране на защитните групи при аминокиселините беше проведена в сух THF или DMF в присъствие на TFA, като съотношението разтворител:TFA в реакционната смес беше 1:2 или 1:4 . При деблокиране с TFA е необходима още една процедура свързана с обработката на получения продукт с алкален разтвор, за да се получи свободна аминокиселинна група. Всички финални продукти с изключение на OZnPcLysTFA сол, бяха допълнително обработени с 1N NaOH, с цел получаване на конюгати със свободна аминокиселинна група. Изключение в описаната процедура е продуктът OZnPcLysTFA, който поради слаба разтворимост след тази последна стъпка не беше обработен с 1N NaOH. Поради същата причина и при TznpCArg(Tos) и OZnPcArg(Tos) тозилата група (Tos) беше запазена в страничната верига на аргинин. Ходът на реакциите се следеше с ТСХ.

Получените финални съединения (18a-18d) и (19a-19d) са нови, неописани в литературата. Те бяха анализирани и охарактеризирани с ИЧ, ^1H -ЯМР, МАС и електронна спектроскопия. Получените

финални тетра- и окта конюгати на цинк фталоцианини с аминокиселините тирозин, фенилаланин и аргинин имат сравнително високи добиви от 48% - 87%.

ИЧ спектрите при всичките финални конюгати (18a-18d и 19a-19d) показаха характеристични ивици около $3290-3400\text{ cm}^{-1}$ (-NH), $3065-3306\text{ cm}^{-1}$ (-CH arom), $2851-2970\text{ cm}^{-1}$ (-CH aliph), $1600-1665\text{ cm}^{-1}$ (-NH), $1500-1507\text{ cm}^{-1}$ (-ArC=C), $1360-1400$, $1200-1270$, $1000-1095$ (Ar-O-Ar).

Протонните ЯМР спектри показаха сигнали за ароматни протони в диапазона между 7-11 ppm и сигнали за алифатни протони в диапазона между 4.5-1.3 ppm.

Мас спектрите бяха получени на MALDI-TOF с матрици DIT за съединения (18a, 18d, 19d), SA за съединения (18b, 19b), DCTB за съединение (19a) СНСА за съединение (19c) и без матрица за съединение 18c. За съединение 18a се получи фрагмента $[M - \text{Tyr}]^+$; за 18b се получи фрагмента $[M + \text{H}]^+$; за 18c се получи фрагмента $[M - 3 \times \text{OC}_6\text{H}_6\text{NHCOLys} - \text{NHCOLys}]^+$; за 18d се получиха три фрагмента $[M]^+$, $[M - \text{OCArg}(\text{Tos})]^+$, $[M - \text{PhenylArg}(\text{Tos}) + 2\text{H}]^+$; за съединение 19a се получи фрагмента $[M]^+$; за 19b се получиха фрагментите $[M]^+$, $[M + \text{Na} + \text{H}]^+$, $[M + \text{SA} + \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$, $[M - \text{OCPhNH}_2 - 4\text{H}]^+$; за съединение 19c се получи фрагмента $[M - \text{NH}_3\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_3 - 16 \times \text{CFCOO} - 4\text{H}]^+$; за съединение 19d се получиха фрагментите $[M + \text{H}_2\text{O}]^+$, $[M - \text{OCArg}(\text{Tos})]^+$, $[M - \text{Arg}(\text{Tos}) - \text{Tos} - \text{NH}_2]^+$. Абсорбционните спектри показаха характеристични ивици на поглъщане с максимуми от $\lambda_{\text{max}}=680-683\text{ nm}$ (в DMSO).

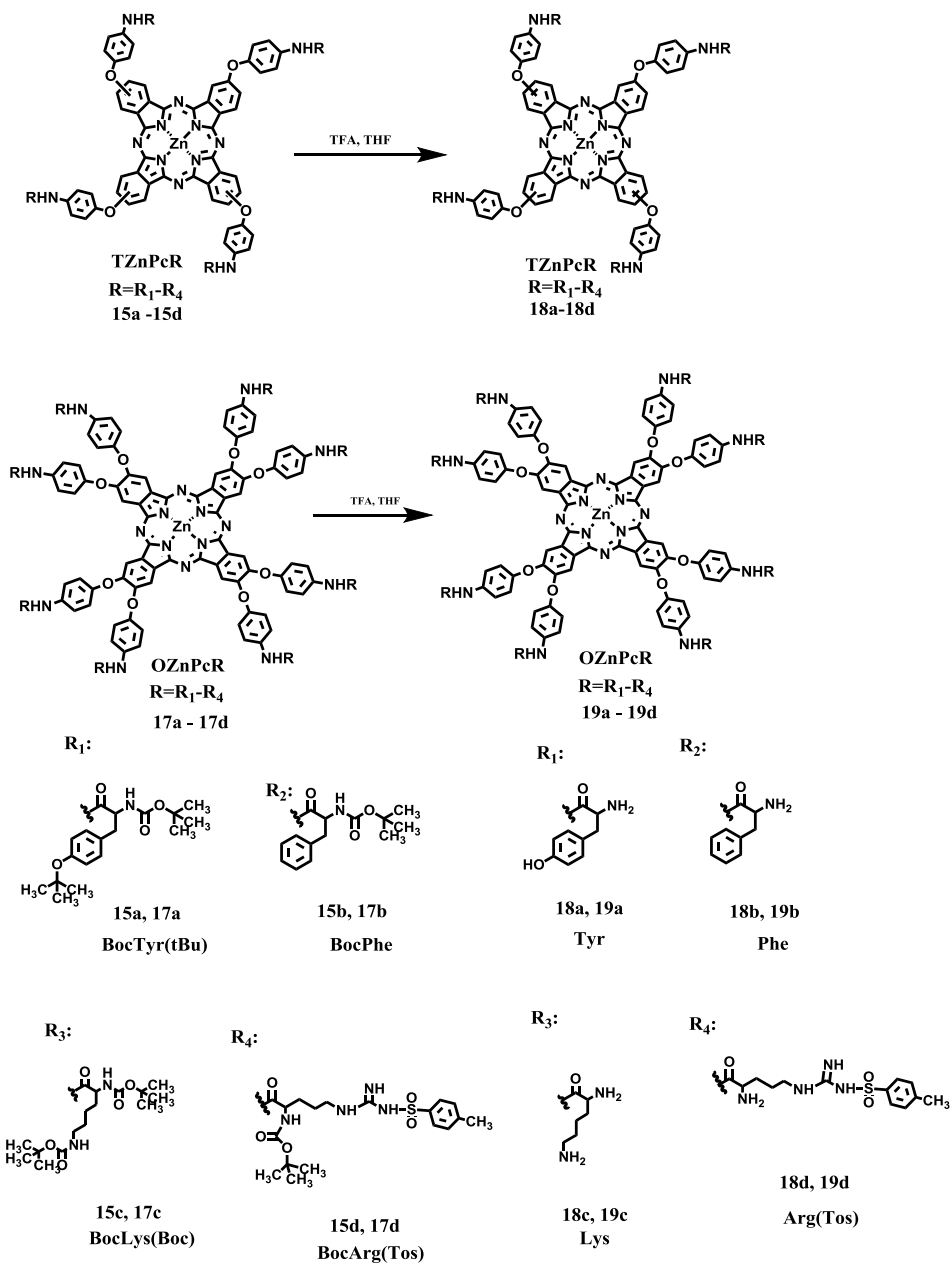


Схема 4. Получаване на финалните периферно тетра- и окта аминокиселини заместени цинк(II) фталоцианини.

2. Физикохимични свойства

2.1. Разтворимост

Разтворимостта на новополучените конюгати в различни разтворители е описана в **таблица 1**. Всички получени крайни съединения се разтварят в органични разтворители като DMSO и DMF, които бяха използвани при експериментите за изучаване на основните им фотофизикохимични свойства като фотосенсибилизатори. Разтворимост във вода показва конюгатите с тирозин и лизин (OZnPcTyr и OZnPcLys), докато тези с аргинин и фенилаланин имат амфифилна природа.

Таблица 1. Разтворимост на новополучените конюгати

Съединение	H ₂ O	MeOH	EtOH	DCM	CHCl ₃	THF	A c	DMS O	DMF
TZnPcTyr	-	+	+	+	+	+	+	+++	+++
TZnPcPhe	-	++	+++ ^б	-	-	++	++	+++	+++
TZnPcLys	-	-	-	-	-	-	-	+	+
TZnPcArgTos	-		-	-	-	++	+	+++	+++
OZnPcTyr	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	+++
OZnPcPhe	-			-	-		-	+++	+++
OZnPcLys ^а	+++	+++	+++	-	-	-	-	+++	+++
OZnPcArgTos	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++

* (-) - не се разтваря; (+) – слабо се разтваря; (++) – средно се разтваря; (+++) – отлично се разтваря; ^аOZnPcLys е във вид на OZnPcLysTFA сол; ^бпри нагряване

Сравнявайки новосинтезираните конюгати, тетра заместените - 18a-18d проявяват по-добра разтворимост от съответните окта заместени (II) фталоцианини с аминокиселини 19a-19d. Изключение правят OZnPcTyr и OZnPcLys, които проявяват разтворимост във

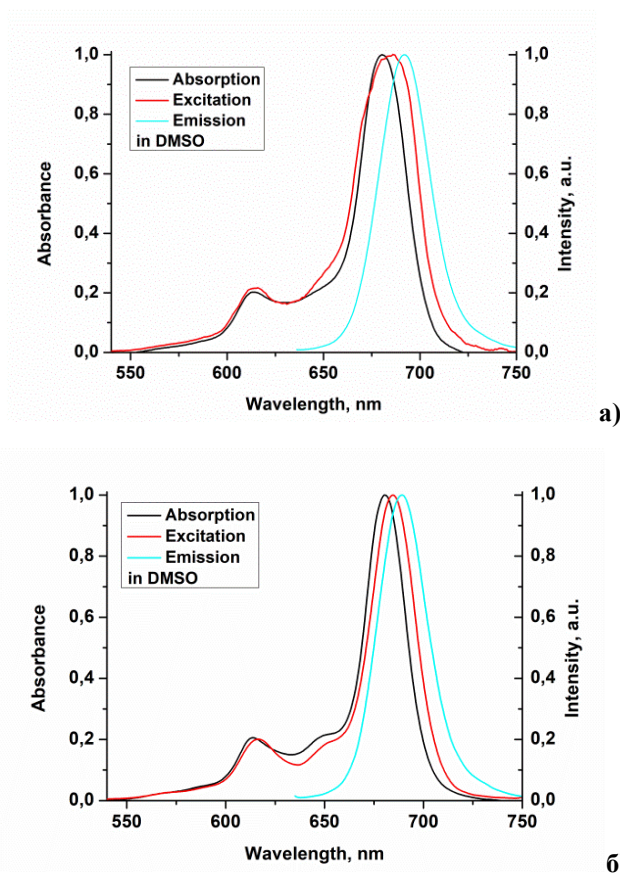
водна среда. Пошивената разтворимост на тетра конюгатите се дължи на факта, че те образуват позиционни изомери, които трудно могат да бъдат разделени. Например, съединението TZnPcTyr проявява разтворимост във всички разтворители посочени в таблицата с изключение във вода. Конюгатът TZnPcPhe проявява разтворимост освен в DMF и DMSO, и в метанол и етанол, както и в ацетон и THF, а TZnPcArg(Tos) проявява разтворимост в ацетон и THF. Не се наблюдава същата тенденция на разтворимост при TZnPcLys. Различното поведение на разтворимост на конюгатите се дължи на природата на аминокиселините, които са в периферните позиции на фталоцианиновия пръстен. Окта заместените конюгати като единична структура имат ограничена разтворимост в сравнение с тетра- заместените конюгати. Така например освен в DMF и DMSO, не се разтварят в другите посочени разтворители в таблицата. Изключения са OZnPcTyr, OZnPcLys, защото са водно разтворими, разтварят се във водна среда и в полярни разтворители като метанол и етанол.

3. Фотофизикохимични свойства

3.1. Абсорбционни свойства

Абсорбционните спектри на новосинтезираните фталоцианинови производни бяха получени в разтвори с микромолярни концентрации и показаха типичните ивици на фталоцианини в мономерно състояние. Абсорбционните спектри на фталоцианините със заместители аминокиселините тирозин, фенилаланин, лизин и аргинин (18a-18d и 19a-19d) бяха получени за концентрации между 1×10^{-5} - 1×10^{-6} в DMSO. **Фигура 1 а и б** представя абсорбционен,

емисионен и спектър на възбуждане на тетра- и окта тирозин заместения цинк (II). Изследванията с аргинин, фенилаланин и лизин заместените комплекси показаха аналогични спектрални характеристики на електронните спектри.



Фигура 1. Абсорбционен, емисионен и спектър на възбуждане на тетра- а) и окта б) тирозин заместен цинк (II) фталоцианин (нормализиран).

Абсорбционните максимуми за Q-ивицата са в далечната червена област на видимия спектър ($\lambda_{\text{max}}=680-683$ nm) и се характеризират с единичен, симетричен пик, което свидетелства за

липса на агрегация при изследваните концентрации. Оптичната плътност при максимумите за Q- ивицата показват линейна зависимост от концентрацията и в съответствие със закона на Буге-Ламберт-Беер. Абсорбционните максимуми в ултравиолетовата област са в диапазон $\lambda_{\max}=352\text{-}364$ nm. В сравнение с позицията на абсорбционния максимум на незаместения ZnPc ($\lambda_{\max}=670$ nm), максимумите на фталоцианиновите конюгатите с аминокиселини са батохромно отместени с 10-13 nm. Всички изследвани фотофизични параметри на новите съединения са обобщени в **таблица 2**.

Таблица 2. Абсорбционни свойства на новополучените конюгати в DMSO.

Съединение	Q-ивица, λ_{\max} , nm, (log ϵ)	Соре ивица, λ_{\max} , nm, (log ϵ)	Съединени е	Q-ивица, λ_{\max} , nm, (log ϵ)	Соре ивица, λ_{\max} , nm, (log ϵ)
TZnPcTyr	680 (3.02) 613 (-)	352 (-)	OZnPcTyr	680 (4.36) 613 (3.64)	364 (3.94)
TZnPcPhe	682 (4.23) 615 (3.60)	353 (3.93)	OZnPcPhe	683 (4.17) 616 (3.52)	357 (3.88)
TZnPcLys	683 (3.63) 618 (3.07)	356 (3.38)	OZnPcLys	681 (5.28) 613 (4.48)	360 (4.86)
TZnPcArg(To s)	682 (4.27) 616 (3.66)	352 (3.97)	OZnPcArg(Tos)	682 (4.02) 616 (3.35)	355 (3.73)
ZnPc	670				

Изследваните Zn(II) фталоцианини с аминокиселини като заместители показаха абсорбционни спектри с висока моларна абсорбируемост ($\epsilon > 1\text{-}3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) с максимуми при $\lambda_{\max}= 680 - 683$ nm в DMSO.

3.2. Флуоресцентни свойства

Флуоресцентните емисионни спектри на новополучените периферно тетра- и окта заместени цинк фталоцианини с аминокиселините тирозин, фенилаланин, лизин и аргинин (18a-18d и 19a-19d) бяха получени в DMSO при спектър на възбуждане с максимум при $\lambda_{ex}=360, 615$ и 660 nm. Основните характеристики от емисионните спектри на финалните конюгати при $\lambda_{ex}=615$ nm са обобщени в **таблица 3**. Както се вижда получените флуоресцентни спектри имат емисионни максимуми, които не се повлияват от дължината на вълната на възбуждане $\lambda_{ex}=360, 615$ и 660 nm. За тетра заместените комплекси позициите на емисионните максимуми са $\lambda_{em}=692-694$ nm. За окта заместените комплекси позициите на емисионните максимуми са $\lambda_{em}=689-690$ nm. Интензивните спектри на флуоресценция показват мономерно състояние на молекулата без загуба на симетрия.

Таблица 3. Флуоресцентни данни на новополучените съединения

Съединение	Q-ивица, λ_{max} , nm	λ_{em} , nm	Δ_{Stokes} , nm (cm^{-1})	Съединение	Q-ивица, λ_{max} , nm	λ_{em} , nm	Δ_{Stokes} , nm
TZnPcTyr	680	692	12 (255)	OZnPcTyr	680	689	9 (192)
TZnPcPhe	682	693	11 (232)	OZnPcPhe	683	690	7 (149)
TZnPcLys	683	693	10 (211)	OZnPcLys	681	690	9 (192)
TZnPcArg(Tos)	682	694	12 (253)	OZnPcArg (Tos)	682	690	8 (170)
ZnPc	670	680	10 (220)				

Емисионните максимуми (689 - 694 nm) на получените съединения са отместени батохромно спрямо емисионния максимум на незаместения ZnPc (671 nm) с 18-23 nm. Резултатите от флуоресцентните измервания са обобщени в **таблица 3**.

Стоксовите отмествания на получените съединения са типични за симетрични структури: за тетра тирозин и аргинин заместените конюгати – 12 nm; за тетра фенилаланин заместения конюгат и за лизин заместения конюгат – 10-11 nm. Докато при окта заместените фталоцианини с най-голямо стоксово отместване от 9 nm.

За сравнение са показани спектрите на абсорбция, флуоресценция и спектърът на възбуждане на новополучените цинк фталоцианинови комплекси с тирозин в DMSO (**фигури 1 а и б**). Подобни резултати се получиха и с останалите конюгати. Получените спектри на възбуждане при финалните конюгати са сравними с абсорбционните и може да се направи заключението, че при възбудено състояние молекулите запазват планарната си структура. От друга страна получените флуоресцентни спектри са доказателство за чистотата на изследваните финални съединения.

Флуоресцентните свойства на конюгатите като квантови добиви и времена на живот на флуоресценция са показани в **таблица 4**. Получените квантови добиви при всички конюгати с изключение на TZnPcTur са с 2 порядъка по-ниски в сравнение с незаместения ZnPc комплекс (използван като стандарт). Ниските стойности на флуоресцентните квантови добиви може да се дължат на физично гасене от обемните групи заместители или поради преминаване към

триплетно възбудено състояние на молекулата чрез безизлъчвателен преход или на вътрешна конверсия синглет-синглет или триплет-синглет, в резултат на което се отделя топлина. Изследвания на флуоресценцията на структурно различни хибридни молекули от фталоцианини и аминокиселини са представени от групата на Wang [9]. Слабата флуоресценция и ниският флуоресцентен квантов добив при тази група съединения се обяснява с ефекта на гасене от амино групите на флуоресценцията на съдържащите ги молекули. След деблокиране на трет-бутоксикарбонилната група (-BOC) амино групата придобива по-висока електронна плътност. Като резултат е по-вероятно да се прояви процесът на върешномолекулен фотоиндуциран пренос на електрон, и като следствие да се получат по-ниски добиви на флуоресценция. Същата тенденция се наблюдава при тетра- и окта аминоксиди заместените цинк (II) фталоцианини, които флуоресцират много слабо, вероятно поради гасенето на флуоресценцията от амино групите [10]. Изследвания за флуоресцентен квантов добив на фталоцианини с амино-групи като заместители са представени от групата на D. Ng [11]. В резултат на нашите изследвания измереният квантов добив на TZnPcTug е от същия порядък както и при незаместения ZnPc. Високият квантов добив на TZnPcTug се дължи на приноса във сумарната флуоресценция от фталоцианиновата и тирозиновата молекула. Докато при окта-заместения OZnPcTug флуоресцентния квантов добив е с по-ниска стойност вероятно поради физично гасене от обемните групи заместители.

Изследванията на времената на живот на флуоресценцията за фотосенсибилизатори има отношение към ефективността на фотодинамичния процес. Продължителността на флуоресценцията има пряка връзка с времето, при което молекулата се намира във възбудено състояние и през което може да изпълнява функциите си на фотосенсибилизатор преди да премине в основно състояние. Времената на живот на флуоресценцията на финалните комплекси (18a-18d; 19a-19d) беше определен чрез метода корелирано във времето броене на единични фотони (time-correlated single-photon counting (TCSPC)). Получените резултати показаха моноекспоненциални криви на гасене, които са показателни за мономолекулно състояние и висока чистота на съединенията. Времената на живот на флуоресценцията на цинковите конюгати бяха определени при $\lambda_{em}=390$ nm.

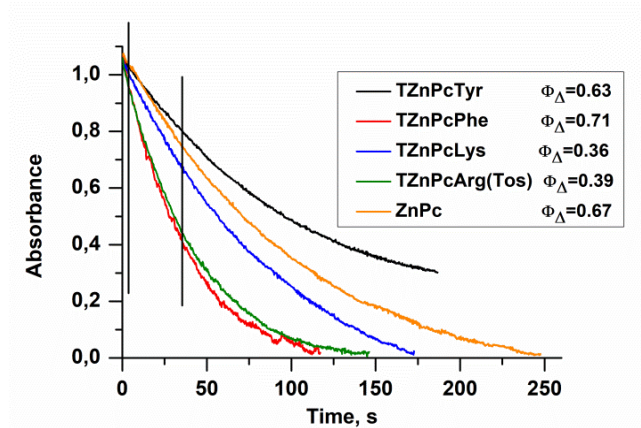
Таблица 4. Времена на живот на флуоресценцията на конюгатите.

Съединение	Φ_F	τ_F (ns) $\lambda_{ex}=390$ nm	Съединение	Φ_F	τ_F (ns) $\lambda_{ex}=390$ nm
TZnPcTyr	0.12	2.91	OZnPcTyr	0.04	2.03
TZnPcPhe	0.069	2.82	OZnPcPhe	0.018	2.67
TZnPcLys	0.047	2.85	OZnPcLys	0.03	-
TZnPcArg(Tos)	0.055	2.89	OZnPcArg(Tos)	0.038	2.56
ZnPc	0.20	0.64			

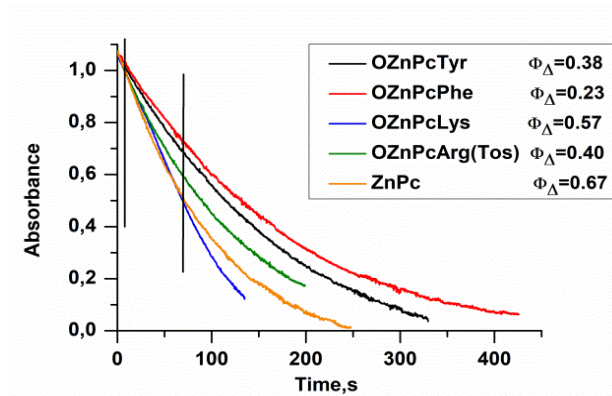
Получените стойности за τ_F са в диапазона между 2.03 - 2.91 ns. В сравнение с τ_F на незаместения ZnPc при всички конюгати бяха измерени по-ниски стойности. Ако сравним τ_F на тетра- и на окта конюгатите се вижда, че при тетра конюгатите τ_F има по-продължителна флуоресценция от окта заместените. Най-голяма е разликата във времената на живот на флуоресценция между тетра- и окта тирозин заместените конюгати, почти една наносекунда в полза на тетра-заместения.

3.3. Квантов добив на синглетен кислород

Синглетният кислород е най-реактивиспособната позната форма на кислорода, която е и основната реактивна молекула във фотодинамичния процес. Квантовият добив на синглетния кислород се явява най-важният индикатор за фотодинамичната ефикасност при фотосенсибилизатори. Способността на новите конюгати да генерират синглетен кислород беше изследвана с помощта на фотохимичен метод, който се състои в гасене на генерирания в системата синглетен кислород. Посредством вещество уловка 1,3-дифенилизобензофуран (DPBF) беше определен квантовия добив на синглетния кислород. На **фигура 2** са показани кинетичните криви получени в хода на реакцията на фотоокисление чрез намаляване на абсорбцията на DPBF. Наклона на кривата показва скоростта, с която намалява абсорбционния максимум на DPBF. Следователно фотосенсибилизаторът е по-добър като източник на синглетен кислород колкото намаляването на абсорбцията е с по-бърз ход. При изчисляване на добива на генерирания синглетен кислород са взети данните от линейната част на кинетичните криви.



а)



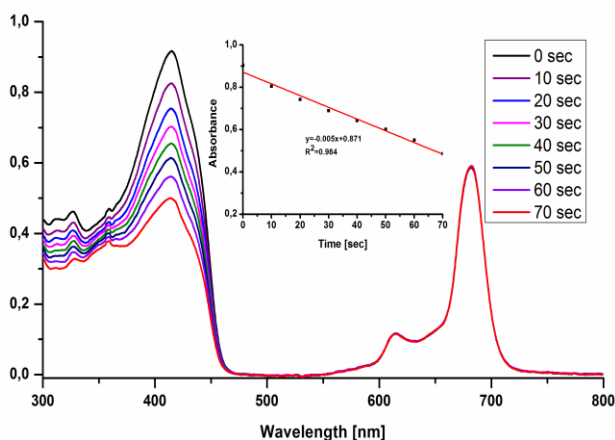
б)

Фигура 2. Кинетични криви на намаляване на абсорбция на DPBF при 417 nm в присъствие на тетра- а) и окта б) конюгати при облъчване с LED 637 nm.

Квантовите добиви на синглетен кислород при TZnPcTyr и TZnPcPhe са по-високи в сравнение със съответните им окта конюгати. За новите конюгати TZnPcArg(Tos) и OZnPcArg(Tos) бяха определени еднакви стойности на квантовия добив на синглетен кислород. При сравнение на квантовите добиви на TZnPcLys и OZnPcLys, квантовият добив на OZnPcLys е по- висок от квантовия

добив на TZnPcLys, но по-ниски от незаместения ZnPc. В сравнение с Φ_{Δ} на ZnPc получените стойности за квантовия добив на синглетен кислород на всички конюгати са съизмерими, като на TZnPcTur, TZnPcPhe, OZnPcLys квантовите добиви са по-големи или равни на Φ_{Δ} на ZnPc, докато на всички останали конюгати добивите на генерирания синглетен кислород са по-ниски.

На **фигура 3** са показани абсорбционни спектри на системата фталоцианин и вещество уловка (TZnPcTur и DPBF) в DMF при продължително облъчване. В резултат от генерирането на синглетен кислород и взаимодействието му с DPBF, при което се получава фотонеактивната му форма (1,3-добензоил бензен) абсорбционната ивица (417 nm) характерна за уловката намалява, а на фталоцианина (680 nm) остава непроменена.



Фигура 3. Изменение на абсорбционния спектър на TZnPcTur в DMF в присъствие на DPBF при облъчване със светлина

Експерименталните условия на опита за определяне на квантовия добив на синглетен кислород са подбрани така, че да не се наблюдава фотоизбелване или други фотохимични реакции с участие на синглетен кислород и фотосенсибилизатор.

3.4. Фотостабилност

За приложение като ФДТ е съществено необходимо фотосенсибилизаторът да бъде стабилен във физиологични условия достатъчно време за протичане на фотодинамичното действие (въздействие). Ето защо важна част от охарактеризирането на съединенията като фотосенсибилизатори са изследванията за фотостабилността на новите конюгати. Вътрешномолекулните взаимодействия при металофталоцианини влияе върху тяхната фотостабилност и играе основна роля в определянето на броя фотони необходими за фотовъзбуждане на една молекула, което е определящият параметър при редица фоточувствителни измервания, както и при флуоресцентна диагностика.

Таблица 5. Скорост на протичащите фотопроеци в резултат на облъчване на ДМСО разтвори на новите конюгати.

Съединение	$\frac{dc}{dt}$	Съединение	$\frac{dc}{dt}$
TZnPcTyr	3.1×10^{-10}	OZnPcTyr	32×10^{-10}
TZnPcPhe	5.63×10^{-10}	OZnPcPhe	3.5×10^{-10}
TZnPcLys	13.5×10^{-10}	OZnPcLys	2.20×10^{-10}
TZnPcArg(Tos)	1.53×10^{-10}	OZnPcArg(Tos)	7.89×10^{-10}
ZnPc	0.94×10^{-10}		

По хода на изменение на абсорбцията на DMSO разтвори с финалните конюгати при облъчване със специфичен източник на светлина LED 637 nm може да се определи тяхната фотостабилност. Не се наблюдава образуване на нови ивици на абсорбция по време на промените, т. е. няма структурни изменения на молекулата. Получените резултати са обобщени в **таблица 5**. Скоростите на изменение на фотостабилността като резултат от промените на оптичната плътност на разтворите при всички финални комплекси са много близки като най-висока е скоростта при OZnPcTur. В сравнение с незаместения ZnPc скоростите за 18a-18d и 19a-19d са по-високи, което е характерно и при други функционализирани фталоцианини.

4. Фармакокинетични свойства на фталоцианиновите конюгати с аминокиселини

4.1. Антимикробни свойства

4.1.1. *In vitro* изследвания за фотоцитотоксичност

Важна характеристика за фотосенсибилизаторите е да се натрупват в патогенните/ увредени клетки (тумори, бактерии, гъбички) и да не повлияват носещите ги и периферни здрави клетки. Проведените изследвания са по протокол на стандартен тест за приживяемост на гъбичните клетки (*Candida albicans*) след инкубиране с изследваните съединения TZnPcPhe, TZnPcArg(Tos), TZnPcLy, OZnPcPhe и OZnPcArg(Tos) с концентрация $C_m=10 \mu\text{M}$ за 30 минути на тъмно. Нов момент за фотосенсибилизатори е облъчването на суспензията със светлинен източник (LED 665 nm) и лъчева доза 50 mW/cm^{-2} подходяща за активиране на

фталоцианиновите конюгати. Изискването при фотосенсибилизатори е да са нетоксични на тъмно и след прилагане на светлина да проявяват избирателна токсичност спрямо патогенните микроби беше постигнато. Получените резултати показват, че фталоцианиновите комплекси инкубирани в гъбичните клетки не са токсични на тъмно. При облъчване със светлина се наблюдава намаление на преживяемостта на клетките в резултат от фотоцитотоксичния ефект.

4.1.2. *In vitro* изследвания за клетъчно натрупване

Клетъчното натрупване на Фс-ри може да се разглежда като един най-важните предпоставки за последващия механизъм на клетъчната смърт и ефективността на фотодинамичната инактивация. Изследвания с Фс-ри срещу патогенни бактерии показва, че положително заредените Фс-ри са по-ефективни от отрицателно заредените или неутралните Фс-ри срещу грам-положителни и грам-отрицателни бактерии, както и при гъби [14]. Клетъчното натрупване може да бъде резултат на сили на взаимодействие по заряда между различно заредени клетъчна стена и Фс или в резултат на по-хидрофобната природа на клетъчните структури и фотосенсибилизатора.

Клетъчното натрупване на комплексите (18b-18d; 19b-19d) в сравнение с незаместения ZnPc беше изследвано за концентрация 5.5 μM в клетъчните суспензии с различни плътности (10^5 - 10^8 CFU/mL). Чрез флуоресцентен метод беше определено количествено молекулите фотосенсибилизатор в клетка от *Candida Albicans*.

Клетъчното натрупване на съединенията TZnPcPhe, TZnPcArg(Tos), TZnPcLys, OZnPcPhe, OZnArg(Tos) и OZnPcLys в гъбичните клетки *Candida albicans* беше определено чрез използване на химична процедура за екстракция. Процедурата включва инкубиране на цинковите фталоцианинови конюгати в клетките в суспензия с различна плътност на тъмно и събиране на супернатантите. Следват няколко етапи на измиване на клетките и химична екстракция със смес от разтворители за разграждане на клетъчната стена и за извличане на съединенията. Етапите на измиване на клетките включва измиване с PBS буфер след инкубиране и PBS буфер след промиване на клетките. Химичната екстракция включва добавяне на анионен детергент SDS, чиято роля е да улесни извличането на съединението от мембраните, а в смес от органичен разтворител THF или DMSO подпомага разрушаването на мембраната на клетките и извличането на Фс-ра от свързаните клетки. За химичната екстракция на захваните фталоцианинови молекули в клетките бяха използвани различни екстракционни разтвори: 2% SDS:THF (9:1) при конюгати TZnPcPhe, TZnPcArg(Tos) и ZnPc; 2% SDS:DMSO (9:1) при OZnPcPhe, OZnArg(Tos), OZnPcLys и TZnPcLys; и DMSO при TZnPcLys и ZnPc за втора клетъчна екстракция. На събраните супернатанти с екстракционните разтвори бяха измерени флуоресценцията между 650-800 nm с възбуждане при $\lambda_{ex}=637$ nm. Получените резултати са представени като брой захванати молекули на фотосенсибилизатора за една клетка (**фигура 4**).

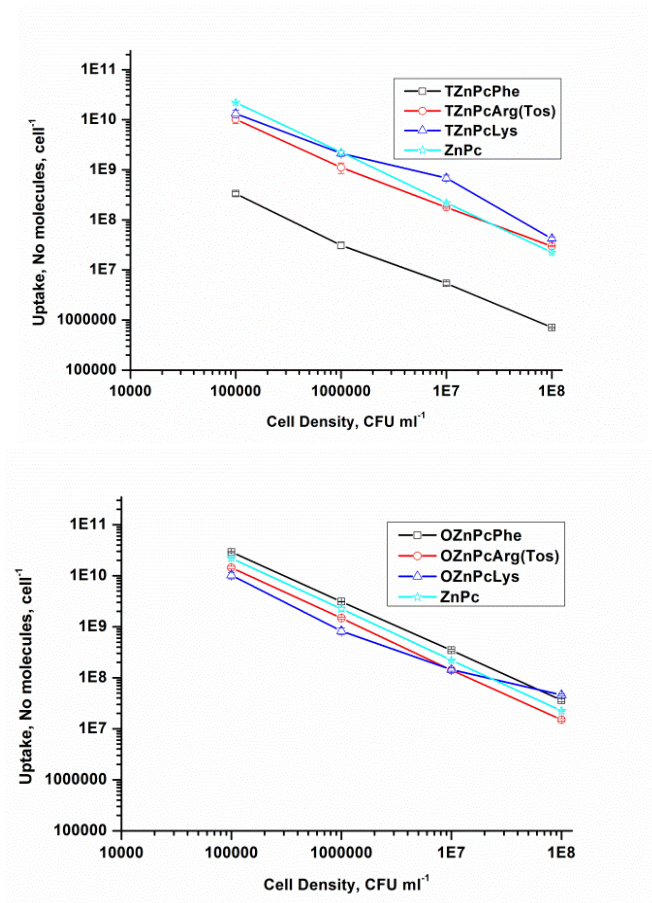
Получените резултати показват високи количества на клетъчно натрупване в гъбичните клетки с TZnPcArg(Tos), TZnPcLys и

OZnPcArg(Tos), OZnPcLys (**фигура 4**). Клетъчното натрупване с TZnPcPhe е с два порядъка е по-ниско (1×10^9) в сравнение с клетъчното натрупване с TZnPcArg(Tos) и TZnPcLys (1×10^{11}). Ниското клетъчно натрупване при TZnPcPhe най-вероятно се дължи на не добре подбраните условия за химична екстракция на захванатите молекули в клетките. Докато при окта заместените фталоцианини клетъчното натрупване е от един и същи порядък (почти 1×10^{11}), като най-високо е при OZnPcPhe, а при OZnPcArg(Tos), OZnPcLys е почти еднакво. В сравнение клетъчното натрупване на незаместения ZnPc с клетъчното натрупване на конюгатите е от един и същи порядък.

Наблюдава се обратно пропорционална зависимост на клетъчното натрупване при всички конюгати с увеличаване на плътността на клетките (10^5 - 10^8 CFU \times mL⁻¹). За други фотосенсибилизатори за първи път е докладван подобен ефект [15]. Резултатите потвърждават, че клетъчното натрупване зависи от плътността на клетъчната суспензия и от заряда на металофталоцианина и амфифилния характер на Фс-а.

Клетъчната стена на микробни клетки може да се свърже много по-ефективно с положително заредени органични йони (молекули) и протеини. Съгласно получените резултати от флуоресцентните изследвания всички изследвани конюгати се свързват с високо количество в гъбичните клетки *Candida albicans*. Може това да е резултат от наличието на свободни аминокислотни групи в структурата на новополучените конюгати, които се свързват с клетъчната мембрана на клетките чрез сили на взаимодействия или хидрофобни

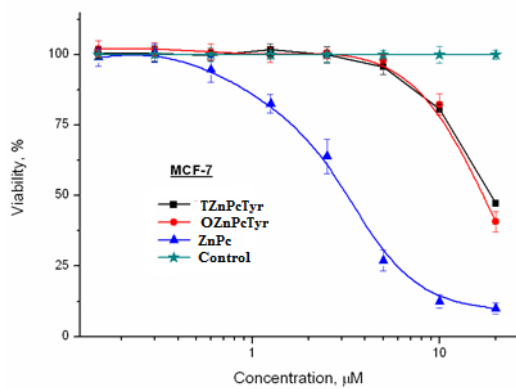
взаимодействия или здрави ковалентни връзки. От друга страна аминокиселините лизин и аргинин при физиологично рН са положително заредени, които допринасят за натрупването и задържането на съдържащите ги молекули в клетъчните мембрани.



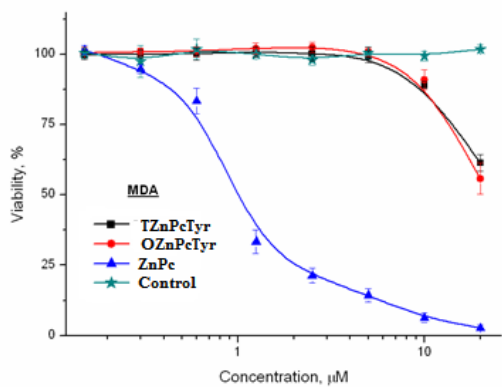
Фигура 4. Клетъчно натрупване на конюгатите с 5.5 μM в зависимост от клетъчната плътност на *Candida albicans* в суспензия. Данните са представени като средни стойности $\pm\text{SD}$ (n=3).

4.2. Антитуморна активност

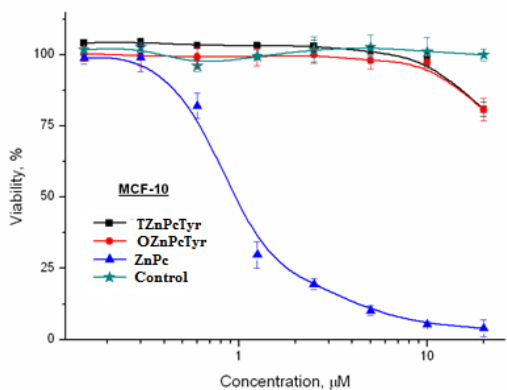
Новосинтезираните конюгати TZnPcTyr и OZnPcTyr бяха изследвани за фотоцитотоксичност в сравнение с ZnPc спрямо две туморни клетъчни линии на млечна жлеза (MDA-MB-231 and MCF-7) и нормални клетки (MCF-10A). Фталоцианиновите конюгати бяха изследвани в широк концентрационен диапазон (0.15–20 μM) след облъчване със специфичен източник на червена светлина (LED 665 nm) при светлинна доза $50 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$ и плътност на мощността 60 mW $\cdot\text{cm}^{-2}$ (фигура 5). Изследването показва липса на тъмнинна токсичност за OZnPcTyr и TZnPcTyr за туморни и здрави клетки. За сравнение незаместеният ZnPc също беше изследван при същите условия. Двата тирозинови конюгата показаха незначителна фотоцитотоксичност с ефикасност при много високи концентрации (20 μM), които не се прилагат при изследвания с фотосенсибилизатори. С незаместения ZnPc се наблюдава висока фотоцитотоксичност при ниски концентрации (0.15 -10 μM), като подобен е ефектът и при нормалната клетъчна линия (MCF-10A). Фталоцианини конюгирани с тирозин (тетра- и окта- заместени) показаха аналогични отнасяния при фотоцитотоксичността, а именно ниска фотоинактивация за концентрации до 10 μM и умерен фотоцитотоксичен ефект при по-високи концентрации (>10 μM). Изследваните туморни клетъчни линии са оценени с 37% за преживяемост за MCF-7 и 50% MDA-MB-231 с изследваните фталоцианинови конюгати с тирозин. По-високата ефективност към MDA-MB-231 може да се обясни с по-агресивния характер на туморната линия MCF-7.



a)



б)



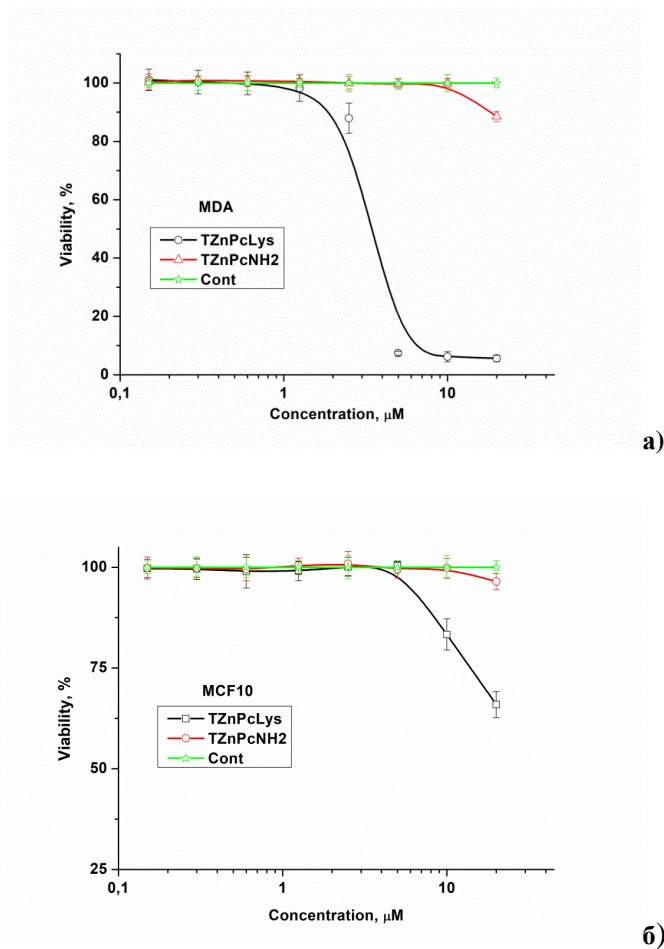
в)

Фигура 5. Преживяемост на MCF-7 (a) и MDA-MB-231 туморни (b) и MCF-10A (нормална клетъчна линия) (c) за ZnPcTyr8, ZnPcTyr и ZnPc с концентрации 0.15 - 20.00 µM с прилъчева доза 50 J cm⁻².

Както се вижда на **фигура 5** при здрави клетки (MCF-10A) при 1-10 μM TZnPcTyr и OZnPcTyr нямат фототоксичност, но за същите условия ZnPc проявява висок фотоцитотоксичен ефект. Незначителна инактивация на MCF-10A (80%) беше определена при концентрация от 10 μM на тетра- и окта тирозин заместените фталоцианини. Фотоцитотоксичният ефект на конюгата TZnPcLys беше изследван в сравнение с тетра аминофенокси заместения фталоцианин (TZnPcNH₂) спрямо същите туморни клетъчни линии и здрави клетки при същите условия (концентрационен диапазон 0.15-20.00 μM ; облъчване със специфичен източник на червена светлина (LED 665 nm) при светлинна доза 50 $\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$ и плътност на мощността 60 $\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$), при които са провеждани фотоцитотоксичният тест на TZnPcTyr и OZnPcTyr (**фигура 6**). Изследванията с TZnPcLys показаха липса на тъмнинна токсичност и висока селективност. Тетра лизин заместения конюгат показва аналогични отнасяния при фотоцитотоксичния тест, а именно висока фотоинактивация за концентрации до 10 μM за туморните клетъчни линии (MCF-7 и MDA-MB-231) и слаб фотоцитотоксичен ефект при високи концентрации ($\geq 10 \mu\text{M}$) към нормалните клетките (MCF-10A), докато съединение TZnPcNH₂ показва много слаба фотоинактивация при клетъчната линия MDA-MB-231, но при високи концентрации и липса на фотоинактивация при другите клетъчни линии.

Неотдавнашни изследвания на порфирины с аминокиселини предполагат, че тези конюгати са фотодинамично неактивни докато достигнат раковите клетки. Порфириновата молекула се активира в клетките след откъсване на пептиден фрагмент от ММП ензими.

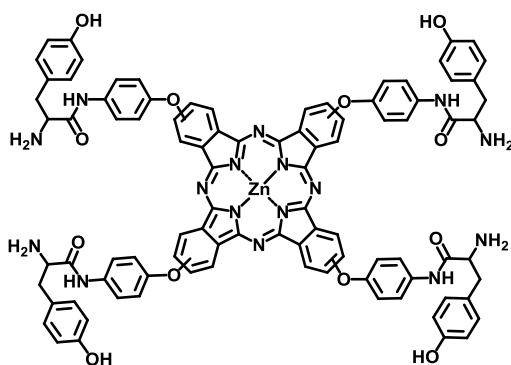
Тези ММП ензими се секретират в ограничени нива в нормални клетки, което забавя разрушаването на amidната връзка. Вероятно това явление се наблюдава и при новосинтезираните конюгати и те могат да бъдат пасивни до достигането на молекулата до мишената (туморните клетки).



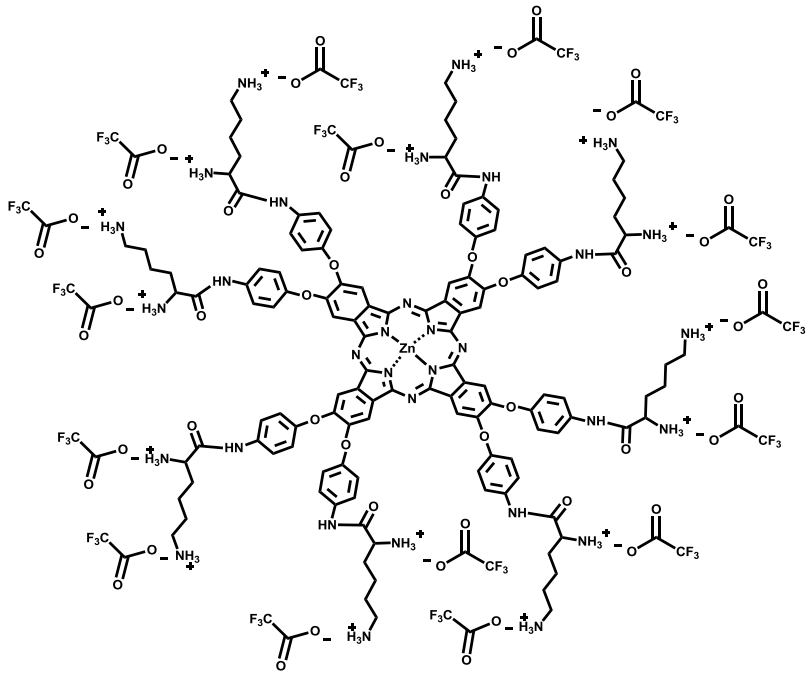
Фигура 6. Преживяемост на туморни клетъчни линии (а) MDA-MB-231 (б) MCF-10A (нормална клетъчна линия) TZnPcLys и TZnPcNH₂ с концентрации 0.15 - 20.00 μM при лъчева доза 50 J cm⁻².

Синтезираните нови биоконюгати на базата на фталоцианини могат да послужат като обещаващ подход в разработването на ново поколение фотосенсибилизатори с щадящо фотоцитотоксично действие спрямо клетките-мишена при минимална фотоцитотоксичност към нормалните клетки и ясно изразен селективен фотодинамичен отговор.

Като най- ефективни Фс-ри от изследваните съединения може да посочим тетра тирозин и окта лизин заместените цинк (II) фталоцианини.



Тетра тирозин заместен цинк (II) фталоцианини



Окта лизин заместен цинк (II) фталоцианин

5. Изводи

1. Получени са нови цинк (II) фталоцианини конюгирани с аминокиселините тирозин, фенилаланин, лизин и аргинин в тетра- и окта периферни позиции на макроцикъла (18a-18d; 19a-19d).
2. Разработени са нови синтетични схеми за постигане на целевите структури. Представен е нов подход на директното конюгиране чрез активиране на карбоксилната група на аминокиселините с два реагента (DMTMM.BF₄ и 4-метилморфолин), с което се постига кратко време за активиране и висока чистота на продукта.
2. Новите фотосенсибилизатори са в мономерно състояние в органични разтворители и с интензивна Q ивица при 680-683 nm; относително ниски стойности на квантовите добиви на флуоресценцията ($\Phi_F = 0.01-0.05$ до 0.1 за на TznPcTur) и флуоресцентни времена на живот 2.82-2.91 ns за тетра и 2.03-2.67 ns за окта-заместените конюгати.
3. Новите конюгати показаха относително високи квантови добиви на генерирания синглетен кислород ($\Phi_\Delta = 0.71-0.30$) и съизмерима на заместени фталоцианинови комплекси фотостабилност 1.53×10^{-10} - 32×10^{-10} .
4. Установено е сравнително високо натрупване на конюгираните фталоцианини в патогенни клетки на *Candida albicans*, като резултат от наличието на аминокиселини и

свободна аминокиселинна група като структурно благоприятна за клетъчните мембрани.

5. Новите конюгати в широк концентрационен диапазон (0.05 – 10 μM) нямат тъмнинна токсичност, но показваха относително висока фотоцитотоксичност при *Candida albicans*.
6. Новите конюгати на фталоцианина с аминокиселини показваха висока селективност на фотодинамичният ефект при туморни спрямо здрави клетки, който зависи от природата на аминокиселината (най-ефективен при тирозин и лизин), което определя новосинтезираните конюгати като надеждни фотосенсибилизатори за метода ФДТ.

ПРИНОСИ

1. Синтезирани са нови, неописани в литературата цинк (II) фталоцианини с периферно тетра- и окта- заместители от аминокиселините тирозин, фенилаланин, лизин и аргинин.
2. Разработени са нови синтетични схеми за получаване на конюгати на фталоцианини с аминокиселини чрез директен синтез с образуване на амидна връзка.
3. Разработени са специфични условия за фотофизикохимични изследвания на новите съединения, охарактеризиращи ги като фотосенсибилизатори.
4. Разработен е метод за химическа екстракция с цел количествено определяне на клетъчното натрупване на новите съединения в патогенни клетки (*Candida albicans*) на базата на флуоресцентните им свойства.
5. Доказана е висока фотодинамична активност на новите конюгати при патогенен щам на *Candida albicans* и при две туморни клетъчни линии с произход млечна жлеза (MDA-MB-231 and MCF-7).
6. Доказана е относително висока селективност на фотоцитотоксичния ефект при туморни спрямо здрави клетки при фталоцианинови конюгати с аминокиселините тирозин и лизин.

Списък на научните публикации, в които са отразени част от резултатите:

1. **M. Aliosman**, I. Angelov, Y. Mitrev, I. Iliev, M. Durmuş, V. Mantareva, Novel Zn (II) phthalocyanine with tyrosine moieties for photodynamic therapy: Synthesis and comparative study of light-associated properties, *POLYHEDRON* 126, 121-128, 2019.

Q2, IF:2.067 (Cited by 0)

2. V. Mantareva, **M. Aliosman**, M. Durmuş, I. Angelov, Amino acids substituted phthalocyanine complexes: an overview on the synthetic approaches and UV-Vis properties related to photodynamic applications, *Bulg. Chem. Comm.*, 50, Special Issues J, 185-192, 2018.

Q4, IF:0.242 (Cited by 0)

3. **M. B. Aliosman**, I. Z. Eneva, M. Durmuş, I. B. Stoineva, V.N. Mantareva, Aminophenoxy- substituted zinc(II) phthalocyanines as basic photosensitizers for conjugation with biologically active moieties *via* amide bond, *Bulg. Chem. Comm.*, Special Issue E, 79-85, 2017.

Q4, IF:0.242 (Cited by 0)

4. **M. Aliosman**, M. Göksel, V. Mantareva, I. Stoineva, M. Durmuş, Tyrosine conjugated zinc (II) phthalocyanine for photodynamic therapy: Synthesis and photophysicochemical properties. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 334, 101-106, 2017

Q2, IF:2.680 (Cited by 7)

Забелязани цитати:

Статия 4. – 7 бр.

Участия в конференции и симпозиуми

1. M. Aliosman, I. Angelov, I. Piiev, M. Durmuş, V. Mantareva, Fluorogenic amino acid vs. non-conjugated zinc (II) complex for antitumor PDT, Twentieth International Conference and School on Quantum Electronics: 'Laser Physics and Applications', 17-21 September, 2018, Nessebar, Black Sea Coast, Bulgaria, постер.
2. M. Aliosman, I. Eneva, V. Kussovski, M. Durmuş, I. Angelov, V. Mantareva, Tetra- and octa- lysine conjugated zinc (II) phthalocyanine for antimicrobial photodynamic therapy, 8-ми български пептиден симпозиум с международно участие, 08-10, Юли, 2018, Стара Загора, България, постер.
3. M. Aliosman, I. Angelov, V. Kussovski, I. Piiev, M. Durmuş and V. Mantareva, Amino acids functionalized Zn(II) phthalocyanine for selective photodynamic applications, Third GTU Photodynamic Day, in the framework of the International Day of Light 2018, 9 May 2018 - Gebze Technical University, постер.
4. Мелиха Алиосман, М. Дурмуш, И. Ангелов, В. Мантарева, Цинк(II) фталоцианини конюгирани с аминокиселини за фотодинамично инактивиране, Лятно училище ИФХ-БАН, 18-21 Септември, 2017, Рибарица, България, постер.
5. Meliha Aliosman, Mahmut Durmuş, Ivan P. Angelov, Vanya N. Mantareva, Zn(II) phthalocyanines functionalised with aminoacids for photodynamic inactivation, 17-ти Конгрес на европейското дружество по фотобиология, 4 -8 Септември 2017, Пиза, Италия, постер.

6. Мелиха Алиосман, М. Дурмуш, И. Ангелов, В. Мантарева, Цинк (II) фталоцианини конюгирани с аминокиселини за фотодинамична терапия, 6-ти научен семинар по физикохимия за млади учени и докторанти, 9-11 Юли, Боровец, 2017, постер.

7. Meliha Aliosman, Ivelina Eneva, Ivanka Stoineva, Vanya Mantareva, NMR characterization of phthalodinitriles as precursors for synthesis of phthalocyanines, 18-ти Симпозиум по ЯМР спектроскопия на страните от Централна и Източна Европа, 18-20 Септември, София, България, 2016, постер.

8. Meliha Aliosman, Ivelina Eneva, Mahmut Durmuş, Ivanka Stoineva, Vanya Mantareva, Synthesis of amino-substituted zinc (II) phthalocyanines as precursors of conjugation with biologically active peptides for targeted cancer therapy, 7-ми Български пептиден симпозиум с международно участие, 10-12 Юни 2016, Благоевград, България, постер.

9. Meliha Aliosman, Ivanka Stoineva, Meltem Göksel, Vanya Mantareva, Mahmut Durmuş, Naturally Occurred Amino Acid Substituted Zn(II) Phthalocyanine for Improved Photodynamic Therapy of Cancer, 16-ти Конгрес на европейското дружество по фотобиология, 31 Август-4 Септември 2015, Авейро, Португалия, постер.

10. Meliha Aliosman, Vanya Mantareva, Mahmut Durmuş, Design and Synthesis of Amino Acid Substituted Zn (II) Phthalocyanine Conjugate for Photodynamic Therapy of Cancer, 5-ти Национален конгрес по неорганична химия, 22-25 Април 2015, Университета в Мерсин, Мерсин, Турция, постер.

11. Meliha Aliosman, Ivan Angelov, Vesselin Kussovski, Vanya Mantareva, Impact of Quaternization of Phthalocynines for Antimicrobial Photodynamic Therapy, 18-та Международна школа по квантова електроника “Лазерна физика и приложения”, 29 Септември-03 Октомври 2014, Созопол, България, постер.

Доклади

1. Meliha Aliosman, Ivan Angelov, Mahmut Durmuş, Vesselin Kussovski, Vanya Mantareva, Conjugated Zn(II) phthalocyanines with amino acids towards *Candida Albicans*, 25 April, The 4th GTU Photodynamic Day, A one-day international congress in the framework of the International Day of Light, 2019, Gebze Technical University, Gebze, Turkey.

2. Мелиха Алиосман, Доклад пред общоинститутски семинар в ИОХЦФ-БАН, Тема: Zn (II) фталоцианини конюгирани с аминокиселини като алтернатива на антибиотиците, 28 Февруари, 2017, София, България.

