

**Università degli Studi della Calabria**

Dipartimento di Chimica

---

Tesi di Dottorato di Ricerca in

Metodologie Chimiche Inorganiche (XXI ciclo)

Area 03- Scienze Chimiche, SSD-CHIM03/Chimica Generale ed Inorganica

**PROPRIETA' STRUTTURALI ED  
ELETTRONICHE DI FOTOSENSIBILIZZATORI  
DI INTERESSE FARMACOLOGICO NELLA  
TERAPIA FOTODINAMICA**

**CANDIDATA**

Lanzo Ida Pasqualina

*Ida Pasqualina Lanzo*

**SUPERVISORE**

Prof. Nino Russo



**COORDINATORE**

Prof. Nino Russo



---

A. A. 2007/2008

**Università degli Studi della Calabria**

Dipartimento di Chimica

---

Tesi di Dottorato di Ricerca in

Metodologie Chimiche Inorganiche (XXI ciclo)

Area 03- Scienze Chimiche, SSD-CHIM03/Chimica Generale ed Inorganica

**PROPRIETA' STRUTTURALI ED  
ELETTRONICHE DI FOTOSENSIBILIZZATORI  
DI INTERESSE FARMACOLOGICO NELLA  
TERAPIA FOTODINAMICA**

**CANDIDATA**

Lanzo Ida Pasqualina

**SUPERVISORE**  
Prof. Nino Russo

**COORDINATORE**  
Prof. Nino Russo

---

**A. A. 2007/2008**

**INDICE**

<b>INTRODUZIONE</b>	<b>1</b>
<b>CAPITOLO I: LA TERAPIA FOTODINAMICA</b>	<b>3</b>
I.1-La fototerapia: storia e aspetti generali.	3
I.2-Processi Fotochimici in Terapia Fotodinamica.	6
I.2.1-Cenni di Spettroscopia Elettronica di Assorbimento.	6
I.2.2-Diagramma di Jablowsky.	10
I.2.3-Proprietà dell'Ossigeno Singoletto ed Applicazione in PDT.	13
I.3-La Radiazione Elettromagnetica in PDT: Sorgenti e Lunghezza d'Onda.	19
I.3.1-Le Sorgenti di Radiazione.	19
I.3.2-Radiazione Elettromagnetica e Tessuti Biologici.	20
I.4-Agenti Fotosensibilizzatori in PDT.	22
I.4.1-Fotosensibilizzatori di Prima Generazione	23
I.4.2-Fotosensibilizzatori di Seconda Generazione	24
I.5-Stato Attuale della Ricerca in PDT.	29
Bibliografia	32
<b>CAPITOLO II: METODI TEORICI</b>	<b>35</b>
II.1-Fondamenti quantomeccanici	35
II.2-Il metodo di Hartree-Fock	36
II.3-I metodi CI (interazione di configurazione).	40
II.4-Il metodo del Funzionale della Densità (DFT)	42
II.4.1-I Teoremi di Hohenberg e Kohn	42
II.4.2-Le Equazioni di Kohn-Sham	45
II.5-La Teoria del Funzionale della Densità Dipendente dal Tempo	49
II.6-La Teoria della Risposta Lineare in DFT.	53
Bibliografia	59
<b>CAPITOLO III: RISULTATI E DISCUSSIONE</b>	<b>61</b>
III.1-Introduzione dei Lavori e Discussione.	61
Pubblicazioni Scientifiche e Manoscritti.	74

---

---

<b>ARTICOLO I</b>	<i>Indice</i>	<b>75</b>
<b>MANOSCRITTO II</b>		<b>84</b>
<b>MANOSCRITTO III</b>		<b>99</b>

---

## **INTRODUZIONE**

Negli ultimi anni l'interesse nel proporre nuovi composti per il loro utilizzo come foto sensibilizzatori in terapia fotodinamica è notevolmente cresciuto, grazie all'estensione di tale terapia non invasiva non solo a una varietà di manifestazioni tumorali, ma anche in altre aree della medicina come la cardiologia, l'oftalmologia, la dermatologia. La terapia fotodinamica (PDT) costituisce una delle applicazioni più promettenti della fotochimica bioinorganica, un settore della ricerca in rapido sviluppo che utilizza la ricca fotochimica dei composti inorganici in ambito biologico, medico, ambientale.

Questo tipo di trattamento è un approccio terapeutico non invasivo che si basa sulla somministrazione di particolari sostanze, in grado di accumularsi selettivamente nei tessuti malati e di generare, quando attivate da un opportuno irradiazione, specie altamente ossidanti, che provocano l'apoptosi delle cellule tumorali.

Il principio di funzionamento di tale tecnica si basa sulla combinazione di un farmaco, una sorgente di radiazione ed ossigeno molecolare. Il farmaco, precedentemente somministrato al paziente, è portato al primo stato eccitato di singoletto dalla radiazione e attraverso una serie di processi fotochimici, tra i quali l'"intersystem spin crossing", trasferisce la sua energia elettronica all'ossigeno molecolare, portando alla formazione dello stesso in stato di singoletto. Quest'ultimo rappresenta l'agente citotossico che provoca il danno a livello cellulare.

I requisiti ideali per un fotosensibilizzatore PDT riguardano soprattutto le sue proprietà fotofisiche. Deve possedere un'intensa banda di assorbimento nella regione compresa tra i 650 e gli 800 nm (finestra terapeutica), l'energia elettronica del suo stato di tripletto deve essere superiore a 0.98 eV e generare ossigeno singoletto con una buona resa quantica.

Negli ultimi 10 anni sono state testate differenti generazioni di nuove molecole che agiscono come fotosensibilizzatori in terapia fotodinamica. Alla luce di quanto

detto, il nostro studio è stato rivolto alla valutazione e caratterizzazione di molecole che possano trovare impiego nella suddetta terapia. Sono stati considerati:

- ottimizzazioni geometriche;
- calcoli degli spettri elettronici di assorbimento e in alcuni casi di emissione in vacuo e in solvente;
- gli effetti dei sostituenti sulla  $\lambda_{\max}$ ;
- la valutazione dei gap energetici tra stato di singoletto e tripletto di tre differenti classi di composti:
  1. Sistemi di tipo porfirinico con un diverso numero di elettroni  $\pi$  : porfirine (P), Porfirazine (Pz), clorine (C), Bacterioclorine (BC), Texafirine (Tex), Ftalocianine (Pc), Naftalocianine (Nc) e Antrococianine (Ac) ed i loro complessi con il catione magnesio;
  2. Subpiriporfirine e relativi complessi con il Boro.
  3. Due classi di ftalocianine non planari : l' $\alpha$ -octaphenyl e il p- $\alpha$ -octamethoxyphenyl e i rispettivi complessi con lo zinco;

La metodologia teorica, utilizzata in questa tesi, si basa sulla teoria del funzionale della densità (DFT) per l'ottimizzazione delle strutture e sulla sua generalizzazione ai fenomeni dipendenti dal tempo (TDDFT) per la simulazione degli spettri elettronici. Un lavoro preliminare sulla scelta del funzionale di scambio e correlazione e sul set di base ottimale ha consentito di stabilire un protocollo computazionale da applicare.

## CAPITOLO I

### LA TERAPIA FOTODINAMICA

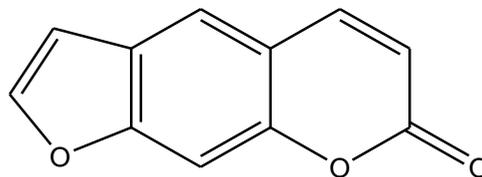
#### I.1-La fototerapia: storia e aspetti generali.

Gli effetti terapeutici della radiazione solare sul corpo umano (elioterapia) sono noti fin dall'antichità; Erodoto (VI sec. a.C.) riportò nei suoi scritti gli effetti benefici del sole sulla crescita delle ossa; Ippocrate (460-375 d.C.) sostenne l'uso dell'elioterapia per la cura di varie malattie umane.<sup>[1-3]</sup> In realtà, il primo ad affrontarle con metodo scientifico, alla fine del diciannovesimo secolo, fu il medico Niel Rydberg Finsen, il quale condusse degli esperimenti verificando gli effetti causati da radiazioni di differenti colori su cavie animali. Il suo maggiore successo riguardò il trattamento e la cura del lupus vulgaris (forma di tubercolosi cutanea) molto diffusa nei paesi nordici, utilizzando la radiazione solare o luce generata da una lampada ad arco di carbonio filtrata con acqua o quarzo, per ridurne l'intensità infrarossa, sulle parti da trattare. La ricerca valse a Finsen il premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina nel 1903, un anno prima della sua morte, e portò alla fondazione di un istituto di ricerca (Medical Light Institute) a Copenaghen a lui dedicato. L'interesse verso tale tecnica diminuì progressivamente nel tempo per varie ragioni. Una ripresa di interesse si è avuta negli ultimi decenni, come testimoniano varie aree di ricerca.<sup>[4-8]</sup>

Gli effetti benefici ottenuti per esposizione alla radiazione luminosa (mostrati da Finsen), rientrano in una vasta categoria di fenomeni denominata *fototerapia*. La fototerapia può essere diretta o indiretta.

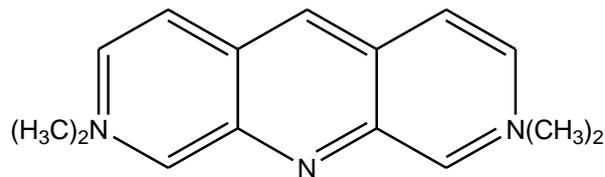
La fototerapia diretta richiede, nel trattamento delle malattie, l'uso esclusivo di radiazione ultravioletta, visibile o infrarossa senza alcuna somministrazione di sostanze o farmaci al paziente. Si producono transizioni elettroniche che danno luogo a reazioni fotochimiche, che, in assenza di radiazione, possono produrre ulteriori reazioni dei prodotti iniziali. In accordo con la legge di Grotthus-Draper, (dal nome

dei due chimici che la formularono nel XIX secolo, stabilisce che solo la radiazione assorbita da un sistema può provocare una reazione fotochimica; una soluzione incolore irradiata con luce visibile non subisce alcuno cambiamento) in caso di effetto osservato, la causa è dovuta essenzialmente al processo di assorbimento dei fotoni da parte di cromofori già presenti nell'organismo irradiato. Questo è il caso della Fototerapia dell'iper-bilirubinemia o della foto-formazione della vitamina D<sub>3</sub>. La fototerapia indiretta (o Fotochemioterapia), che comprende la gran parte degli odierni metodi fototerapici, richiede, in aggiunta alla sorgente di radiazione, la somministrazione di una sostanza fotosensibile esogena (agente fotochemioterapico) prima del trattamento.<sup>[8]</sup> Nel 1953 Lerner, Denton e Fitzpatrick hanno riportato studi promettenti sul trattamento della vitiligo, una malattia della pelle con perdita di pigmentazione, attraverso l'utilizzo dell'8-metossipsoralene (8-MOP) (Figura 1), e nel 1974 Parrish e i suoi colleghi hanno dimostrato che la somministrazione orale dell'8MOP, seguita dall'esposizione alla luce UV nel range 320-400 nm poteva essere usato per trattare la psoriasi. Dal momento che la regione 320-400 nm è conosciuta come UV-A il trattamento venne denominato con l'acronimo PUVA = psoralene +UVA.



**Figura 1:** 8-Metossipsoralene (8-MOP).

L'azione fotodinamica che è l'espressione dell'effetto fotodinamico, si riferisce al danno o alla distruzione del tessuto vivente attraverso la luce visibile in presenza di un fotosensibilizzatore e ossigeno. L'effetto fu scoperto nel 1897-98 da Oscar Raab all'Università di Monaco.<sup>[9]</sup> Durante i suoi studi sulla paramecia, organismo unicellulare della classe dei protisti, egli osservò che, usando basse concentrazioni di acridina (fig. 2) come fotosensibilizzatore la stessa veniva uccisa in presenza di luce mentre al buio essi sopravvivevano.



**Figura 2:** *Acridina arancione.*

Nel 1909 Hasselbach, usando come modello la foto emolisi degli eritrociti, mostrò che i fotosensibilizzatori accrescono la velocità delle fotoreazioni solo in presenza di ossigeno. Il primo esperimento sul corpo umano fu opera di Meyer-Betz nel 1912. Egli iniettò su se stesso 200 mg di ematoporfirina diluita in 300 ml di soluzione salina; dopo due giorni a seguito dell'esposizione alla luce solare, si svilupparono eritemi e tumefazioni sulla pelle, che cominciarono a scomparire solo dopo una settimana mentre gli effetti di fotosensibilizzazione sulla pelle cessarono completamente solo la primavera successiva.<sup>[10]</sup>

La scoperta dell'effetto fotodinamico nei tessuti viventi,<sup>[11,12]</sup> si accompagnò storicamente allo studio degli effetti di fluorescenza che le stesse molecole coloranti erano capaci di provocare nei tessuti biologici. Policard,<sup>[13]</sup> nel 1920 notò che i tessuti tumorali erano più fluorescenti di quelli sani, ciò suggerì la possibilità di attivare molecole con queste proprietà al fine di delineare meglio i confini del tessuto tumorale (Ronchese, 1940).<sup>[14]</sup> Tra il 1940 ed 1960 furono compiuti alcuni esperimenti da Figge et al.<sup>[15-17]</sup> e Rasmussen et al.,<sup>[18]</sup> consistenti nella somministrazione di porfirine naturali a cavie animali e persone malate per localizzare mediante fluorescenza e con più accuratezza il tessuto tumorale. Winkelman (1960) usò tetrafenil-porfirine per lo stesso scopo.<sup>[19-21]</sup> Agli inizi degli anni sessanta, ci fu una ripresa d'interesse nella terapia fotodinamica grazie ai lavori di Lipson e Schwartz.<sup>[22]</sup> Schwartz utilizzò dei preparati di ematoporfirina, in seguito detti derivati o HpD, per isolare un tumore localizzandone le impurità. Lipson invece nel tentativo di sfruttare la fluorescenza dell'ematoporfirina per rilevare un tumore, non riuscì a fare misure riproducibili ed utilizzando i preparati di Schwartz (HpD) come tracciante tumorale, si accorse della proprietà del preparato di distruggere il tessuto tumorale. Un passo decisivo nella storia della PDT giunge nei primi anni settanta, quando Dougherty scoprì che la molecola di fluoresceina diacetata possiede

attività citotossica in vitro nei confronti di cellule TA-3 e la propose come fotosensibilizzatore.<sup>[23-25]</sup> Tuttavia la resa quantica di ossigeno di singoletto ( $^1\text{O}_2$ ), che nel frattempo era stato individuato come fattore responsabile dell'attività antitumorale, risultava bassa per la fluoresceina. Si propose allora di usare molecole con massimi di assorbimento nella regione del vicino infrarosso dello spettro elettromagnetico, in quanto queste penetrano a maggiore profondità nel tessuto. Di qui la riscoperta del derivato dell'ematoporfirina (HpD) di Schwartz, che mostrava un'alta resa di ossigeno singoletto, un massimo di assorbimento nella parte rossa dello spettro elettronico ed una localizzazione preferenziale nel tumore.<sup>[23]</sup> I tentativi da parte di Dougherty di isolare e caratterizzare le parti attive dell'HpD, condussero alla produzione di un preparato purificato, brevettato con il nome commerciale di Photofrin<sup>®</sup>. Questo preparato fu approvato in Canada nel 1993 nella profilassi del cancro alla vescica e negli anni successivi in Giappone, Stati Uniti ed alcuni paesi europei, per la cura di varie forme tumorali come il cancro al polmone, sia nella fase iniziale che finale, e il cancro all'esofago.<sup>[26-27]</sup> La Photofrin<sup>®</sup> appartiene alla cosiddetta 'prima generazione' di agenti fotosensibilizzatori nella PDT, non possiede i requisiti di un agente PDT ideale. Per questo motivo la ricerca scientifica, tuttora in corso, ha portato alla sintesi di nuove molecole di seconda e terza generazione, completamente nuovi o derivati da sistemi naturali, più efficaci in PDT (paragrafo I.4).

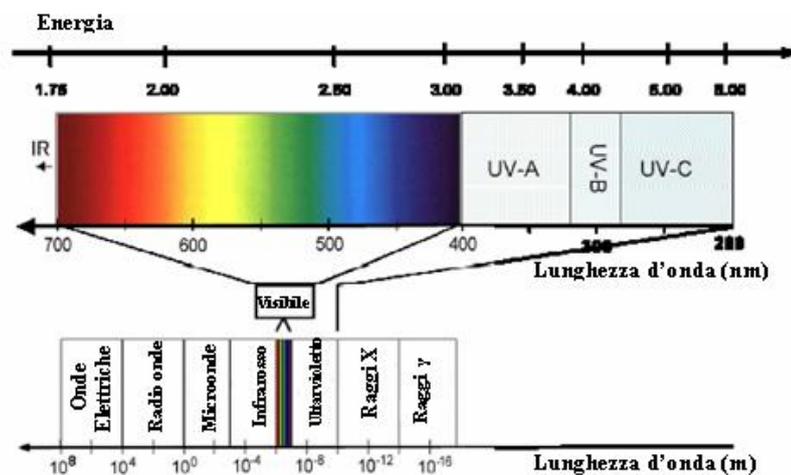
## **I.2-Processi Fotochimici in Terapia Fotodinamica.**

In questa sezione sarà data una descrizione dei principali processi radiativi (e non) a cui è soggetta una molecola a seguito dell'interazione con una radiazione elettromagnetica (sottoparagrafi I.2.1, I.2.2). Nel sottoparagrafo I.2.3 saranno introdotte le proprietà chimico-fisiche dell'ossigeno in stato di singoletto ed i meccanismi di reazione che portano alla sua formazione nel processo PDT.

### **I.2.1-Cenni di Spettroscopia Elettronica di Assorbimento.**

L'azione fotodinamica di una molecola si esplica in presenza di una sorgente di luce visibile o in generale di una radiazione elettromagnetica. Quest'ultima nella

fisica classica è descritta dal moto ondulatorio nello spazio di campi elettrici e magnetici mutuamente perpendicolari, a cui è associata una lunghezza d'onda  $\lambda$ , espressa in nanometri (nm). Il carattere ondulatorio è usato nell'interpretazione di fenomeni come la rifrazione, diffusione e polarizzazione della radiazione, mentre la natura corpuscolare della radiazione viene impiegata nell'interpretazione dei fenomeni di assorbimento ed emissione della materia. Nella rappresentazione dell'intero spettro elettromagnetico (Figura 3), la radiazione visibile occupa solo una minima porzione di esso, e si estende dai 400 nm del colore indaco ai 750 nm del rosso. La regione dell'ultravioletto è suddivisa in tre parti (UV-A, UV-B e UV-C) ed è, come la regione visibile, di notevole interesse nello studio dei processi fotobiologici, in quanto per lunghezze d'onda minori dei 300 nm (regione B e C), l'intensità della radiazione provoca danni alla pelle (tumore della pelle) a causa dell'assorbimento da parte delle molecole di DNA e di alcuni  $\alpha$ -aminoacidi.

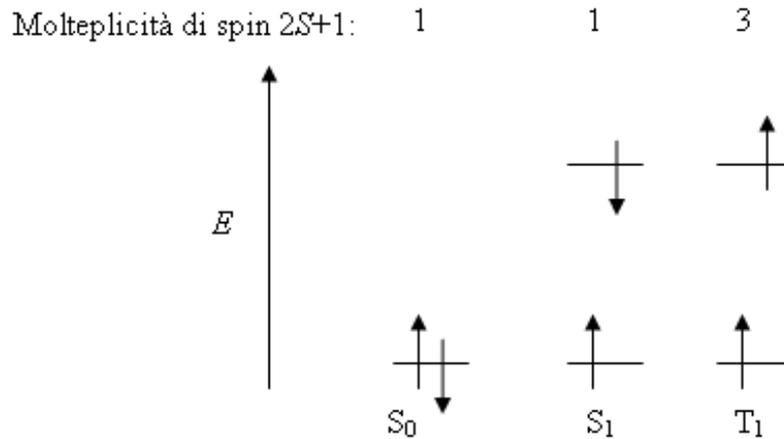


**Figura 3:** Spettro Elettromagnetico.

L'interpretazione corpuscolare della radiazione elettromagnetica si basa sull'ipotesi di Max Planck (1901) secondo cui lo scambio di energia, nei processi di assorbimento ed emissione, avviene in unità discrete dette quanti o fotoni. Questa ipotesi condusse alla formulazione della seguente relazione che lega l'energia  $E$  di un quanto di radiazione alla sua frequenza  $\nu$ :

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \tag{1}$$

dove  $h$  è la costante di Plank e assume il valore di  $6,626 \cdot 10^{-34}$  J s. La relazione (1) tiene conto del rapporto che lega, nei fenomeni ondulatori, la lunghezza d'onda  $\lambda$  e la frequenza  $\nu$  ( $\nu \lambda = c$ , dove  $c$  è la velocità della luce). L'assorbimento della radiazione visibile ed ultravioletta coinvolge le transizioni elettroniche: <sup>[28-30]</sup> una molecola allo stato fondamentale  $S_0$  assorbe un fotone dalla radiazione incidente e ciò provoca la transizione di un elettrone, dallo stato fondamentale, ad un livello superiore ad energia più alta. Tale eccitazione può risultare in due configurazioni a differente molteplicità. Per lo stato elettronico fondamentale, indicando con  $S$  lo spin totale del sistema, se la molteplicità di spin ( $2S+1$ ) è uguale ad uno (caso closed-shell), lo stato eccitato finale può presentare due diverse configurazioni di spin: stato eccitato di singoletto ( $S_1$ ) o di tripletto ( $T_1$ ) (Figura 4).



**Figura 4:** Configurazioni elettroniche corrispondenti a differente molteplicità.

Le transizioni permesse, tra i vari livelli energetici, sono dedotte dalla meccanica quantistica, ed in particolare dall'applicazione del metodo perturbativo dipendente dal tempo, in cui il campo elettrico applicato alla molecola rappresenta il perturbatore. La probabilità di transizione  $P_{if}$  da uno stato iniziale  $i$  ad uno stato finale  $f$  è proporzionale al quadrato del modulo del momento di transizione  $Q$  secondo la seguente espressione:

$$P_{if} \propto |Q|^2 = \left| \underbrace{\langle \psi_f | e r | \psi_i \rangle}_{\text{Fattore Spaziale}} \underbrace{\langle \psi_f^{spin} | \psi_i^{spin} \rangle}_{\text{Fattore di-Spin}} \right|^2 \quad (2)$$

Nell'espressione integrale (2), secondo la notazione di Dirac,  $\psi_f$  e  $\psi_i$  rappresentano le funzioni d'onda dei due stati,  $er$  è il momento di dipolo della molecola (di solito indicato con  $\mu$ ),  $\psi_f^{spin}$  e  $\psi_i^{spin}$  le rispettive funzioni di spin. Il significato fisico-matematico della funzione d'onda  $\psi$  e le teorie quantomeccaniche saranno descritte nel capitolo 2. Dall'equazione (2) è possibile dedurre le regole di selezione per le transizioni. Perché una transizione sia possibile ( $P_{if} \neq 0$ ) i due fattori dell'espressione (2), evidenziati come termini dipendenti dallo spazio e dallo spin, devono essere diversi da zero. Le transizioni sono possibili solo tra stati con uguale molteplicità di spin (ad es.  $S_0 \rightarrow S_1$ ); fanno eccezione i sistemi contenenti atomi pesanti (numero atomico  $Z > 30$ ), per i quali giocano un ruolo importante gli effetti di accoppiamento spin-orbita. Affinché la parte spaziale sia diversa da zero, essendo l'operatore  $er$  di tipo non-centrosimmetrico<sup>1</sup> o ungerade (u), è necessario che le funzioni  $\psi_f$  e  $\psi_i$  abbiano diversa parità, essendo le transizioni  $u \rightarrow u$  e  $g \rightarrow g$  (funzioni centrosimmetriche) proibite (regola di Laporte o del momento di dipolo elettrico). Una formulazione più corretta della regola del dipolo elettrico tiene in considerazione le rappresentazioni irriducibili del gruppo spaziale dell'atomo o della molecola. Per transizioni permesse, quelle con il maggior grado di sovrapposizione degli orbitali molecolari avranno intensità maggiore (la transizione del tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  è più intensa che quella  $n \rightarrow \pi^*$ ). Dal punto di vista sperimentale il fenomeno dell'assorbimento è descritto dalla legge di Lambert, secondo cui la frazione di luce assorbita è indipendente dalla potenza della radiazione incidente, e dalla legge di Beer per cui la luce assorbita è direttamente proporzionale alla concentrazione della soluzione. Queste due leggi combinate assieme formano la legge di Lambert-Beer, valida per le soluzioni diluite:

$$\log_{10} \frac{I_0}{I} = A = \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (3)$$

in cui  $I_0$  ed  $I$  rappresentano l'intensità della radiazione incidente e trasmessa,  $A$  è l'assorbanza,  $\varepsilon$  è il coefficiente di assorbimento molare (espresso in  $\text{cm}^{-1} \text{mol}^{-1} \text{litri}$ ),

---

<sup>1</sup> Una funzione matematica  $f$  si dice centrosimmetrica quando cambia di segno rispetto all'inversione delle coordinate:

$f(x,y,z)=f(-x,-y,-z)$ . Per una funzione non-centrosimmetrica vale  $f(x,y,z)=-f(-x,-y,-z)$ .

---

$C$  la concentrazione molare della soluzione ed  $l$  il cammino ottico della radiazione (cm). Gli spettri elettronici sperimentali in soluzione sono caratterizzati da bande di assorbimento, la cui larghezza è dovuta al fatto che le transizioni elettroniche sono accompagnate allo stesso tempo da transizioni roto-vibrazionali tra i livelli. Di solito l'assorbanza  $A$  o  $\varepsilon$  (o il suo logaritmo decimale) sono espresse in funzione della lunghezza d'onda d'assorbimento  $\lambda$  (in nanometri) o del numero d'onda  $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ).

<sup>1</sup>). Nel caso in cui  $\varepsilon = \varepsilon(\bar{\nu})$  l'integrale definito  $I = \int \varepsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu}$ , detto coefficiente integrato di assorbimento, rappresenta l'area sottesa da una banda d'assorbimento. Spesso per esprimere l'intensità di una transizione si usa la forza dell'oscillatore  $f$ , che è una grandezza adimensionale ed è tale per cui  $f = 4.33 \cdot 10^{-9} \int \varepsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu}$ . La grandezza  $f$  rappresenta il rapporto tra il coefficiente integrato di assorbimento osservato e quello calcolato per un elettrone singolo in una buca di potenziale armonico tridimensionale. Per transizioni permesse  $f$  è uguale ad uno, per quelle proibite  $f \ll 1$ . Le relazioni tra i valori di  $\varepsilon$  ed  $f$  e le intensità delle transizioni sono riportate nella seguente Tabella 1.

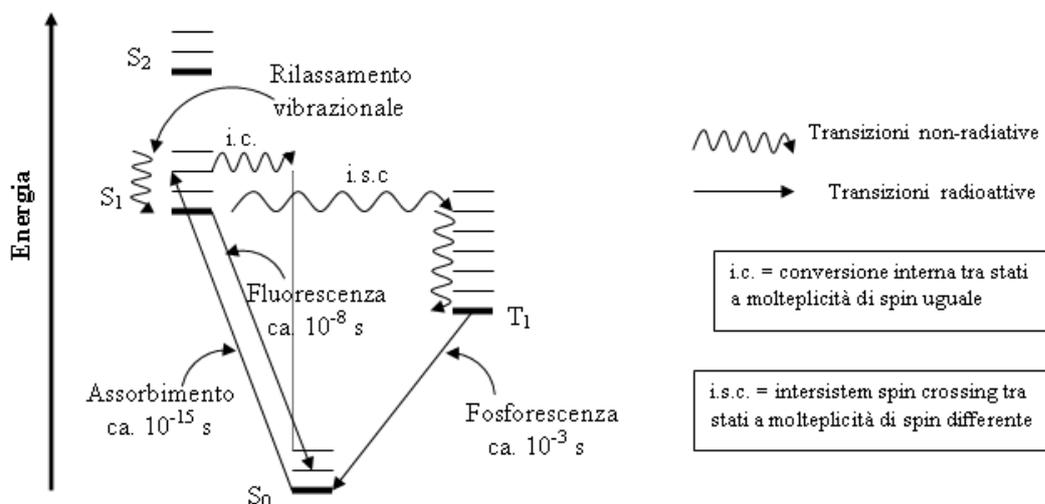
Condizione per la transizione	$\varepsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$	$f$
Proibita dalla regola dello spin	$10^{-5}-10^0$	$10^{-5}$
Permessa dalla regola dello spin, proibita da Laporte	$10^0-10^3$	$10^{-1}$
Permessa da entrambe le regole	$10^3-10^5$	1

**Tabella 1:** Condizioni per le transizioni elettroniche

### I.2.2-Diagramma di Jablowsky.

Fin qui abbiamo considerato il processo di promozione energetica di un elettrone dallo stato fondamentale, che a temperatura ambiente è statisticamente lo stato più popolato, al primo stato eccitato (di singoletto o tripletto). Cosa può accadere all'elettrone una volta occupato lo stato eccitato? L'elettrone può:

- 1) decadere, dallo stato di singoletto o tripletto, allo stato fondamentale emettendo un fotone (si hanno i fenomeni rispettivamente, di fluorescenza e fosforescenza);
- 2) passare ad uno stato della stessa molteplicità di spin, ad esempio ad un livello vibrazionale eccitato dello stato fondamentale (conversione interna, i.c.) o passare ad uno stato a molteplicità differente, in principio spin-proibita (intersystem spin-crossing, i.s.c.);
- 3) dare luogo a reazione chimica (e.g. fotociclizzazione);
- 4) trasferire la sua energia di eccitazione ad un'altra molecola allo stato fondamentale (trasferimento energetico). I vari processi a cui può andare incontro un sistema eccitato sono riassunti nel diagramma di Jablonsky (Figura 5). Un sistema inizialmente eccitato allo stato  $S_1$  (o  $T_1$ ) tende a perdere energia (rilassamento), per effetto delle collisioni intermolecolari, e decade al livello vibrazionale più basso. L'emissione ha luogo da questo livello, e rappresenta un esempio della regola di Kasha, la quale stabilisce che, per una data molteplicità, la luminescenza nelle molecole poliatomiche ha luogo con rese apprezzabili solo dai livelli eccitati più bassi. L'energia di fluorescenza risulta minore della corrispondente energia di assorbimento, in quanto, come accennato prima, lo stato  $S_1$  tende a rilassare prima di dare l'emissione. La differenza è nota come spostamento di Stokes. Per quanto riguarda lo stato  $T_1$ , esso può essere popolato in modo indiretto, per intersystem-spin crossing da  $S_1$  a  $T_1^v$  (stato vibrazionale di tripletto eccitato) e successivamente a  $T_1$ . Il tempo di vita medio è dell'ordine di  $10^{-3}$  s, quindi maggiore di quello dello stato  $S_1$  ( $< \mu\text{s}$ ). L'energia dello stato  $T_1$  è più bassa dello stato  $S_1$  (regola di Hund), quindi sebbene la transizione sia spin-proibita, è energeticamente favorita e per alcune molecole può avere luogo (e.g. benzofenone). Inoltre è favorita dalla presenza di atomi ad alto numero atomico (effetto dell'atomo pesante). Oltre ai meccanismi 1) - 3), esiste la possibilità di trasferire l'energia dallo stato eccitato di tripletto ad un'altra molecola che a sua volta passerà dallo stato fondamentale a quello eccitato (punto 4). Questo meccanismo di trasferimento di energia elettronica intermolecolare, che è alla base del processo fotodinamico, fu descritto da due scienziati russi (Terenin ed Ermolaev).

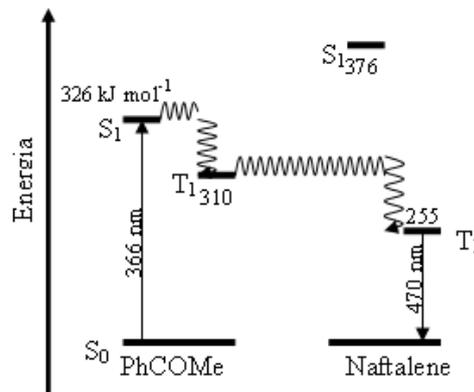


**Figura 5:** Diagramma di Jablonsky

Nel loro esperimento, una soluzione di acetofenone (PhCOMe) in etere-etanolo (a 90K) veniva irradiata a 366 nm e si osservava la fosforescenza a 388 nm. In presenza di naftalene, l'emissione a 388 nm scompariva dallo spettro, ed appariva un'emissione a 470 nm corrispondente alla fosforescenza del naftalene (Figura 6). Dato che l'irradiazione a 366 nm non è assorbita dal naftalene, l'interpretazione più plausibile era che essa fosse eccitata allo stato di tripletto dall'energia ricevuta dall'acetofenone. Nel processo totale l'acetofenone rappresenta il donatore ( $D$ ) ed il naftalene l'accettore di energia ( $A$ ) o molecola quencher della fosforescenza dell'acetofenone. L'energia dello stato di tripletto del donatore deve essere maggiore di quella di tripletto dell'accettore, e deve valere la conservazione dello spin nell'intero processo.

Un ultimo ed importante concetto da introdurre è quello della resa quantica per un generico processo fotochimico. Questa è definita come il rapporto tra le molecole prodotte nella reazione sul numero di quanti assorbiti nel processo. Per la determinazione quantitativa della resa quantica, le molecole prodotte si possono determinare mediante analisi chimica, mentre i quanti assorbiti vengono rilevati misurando l'energia incidente totale con un attinometro. Comunemente si usa un attinometro chimico, basato su una particolare reazione fotochimica standardizzata. Si può determinare una resa quantica del processo di fluorescenza  $\Phi_F$ , di fosforescenza  $\Phi_P$ , dell'incrocio di spin tra sistemi  $\Phi_{ISC}$ , oppure la resa quantica

relativa alla formazione di uno stato di tripletto  $\Phi_T$  o di singoletto  $\Phi_S$ . Sulla base della legge di Stark-Einstein, generalmente vale la seguente relazione:  $\sum \Phi_x \leq 1$ .<sup>2</sup>



**Figura 6:** Trasferimento energetico dall'acetofenone al naftalene.

### I.2.3-Proprietà dell'Ossigeno Singoletto ed Applicazione in PDT.

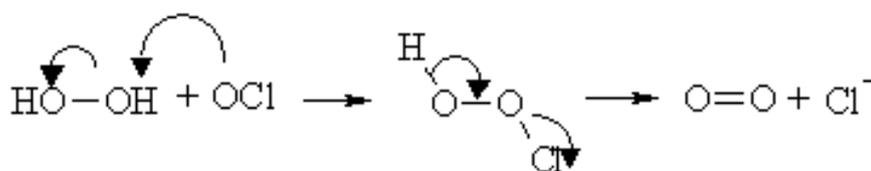
L'ossigeno molecolare  $O_2$  (o diossigeno) allo stato fondamentale possiede configurazione elettronica  $KK \uparrow\downarrow (\sigma_g^*) \uparrow\downarrow (\sigma_g) \uparrow\downarrow (\pi_u) \uparrow\downarrow (\pi_g^*)$ , i due elettroni che occupano i livelli degeneri  $\pi_g^*$ , in base alla regola di Hund, hanno spin paralleli. Lo stato fondamentale,  ${}^3\Sigma_g^-$  nella notazione spettroscopica, è quindi un tripletto e ciò spiega il carattere paramagnetico di  $O_2$ . L'ossigeno possiede due stati eccitati di singoletto,  ${}^1\Delta_g$  e  ${}^1\Sigma_g^+$ , posti energeticamente al di sopra dello stato fondamentale, rispettivamente a  $95 \text{ kJ mol}^{-1}$  ( $22.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) e  $158 \text{ kJ mol}^{-1}$  ( $31.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). La configurazione elettronica degli orbitali molecolari dello stato  ${}^1\Delta_g$  è la seguente:  $KK \uparrow\downarrow (\sigma_g^*) \uparrow\downarrow (\sigma_g) \uparrow\downarrow (\pi_u) \uparrow\downarrow (\pi_g^*) \uparrow\downarrow (\pi_g^*)$ , mentre la configurazione dello stato  ${}^1\Sigma_g^+$  è identica a quella dello stato  ${}^3\Sigma_g^-$  ad eccezione degli elettroni che occupano l'orbitale degenero  $1\pi_g^*$  (HOMO) e che hanno spin parallelo. Le precedenti considerazioni sono riassunte nella seguente Figura 7.

<sup>2</sup> La legge di Stark-Einstein dell'Equivalenza Fotochimica stabilisce che a seguito dell'eccitazione iniziale in un processo fotochimico, l'assorbimento di un fotone eccita una sola molecola. Esistono delle eccezioni a questa legge.

Stato Elettronico	Configurazione HOMO	Energia Relativa (eV)
$^1\Sigma_g^+$	$\uparrow \quad \downarrow$	1.37
$^1\Delta_g$	$\uparrow\downarrow \quad \text{---}$	0.98
$^3\Sigma_g^-$	$\uparrow \quad \uparrow$	0.00

**Figura 7:** Configurazione elettronica esterna ed energie relative dei primi stati eccitati dell'ossigeno molecolare.

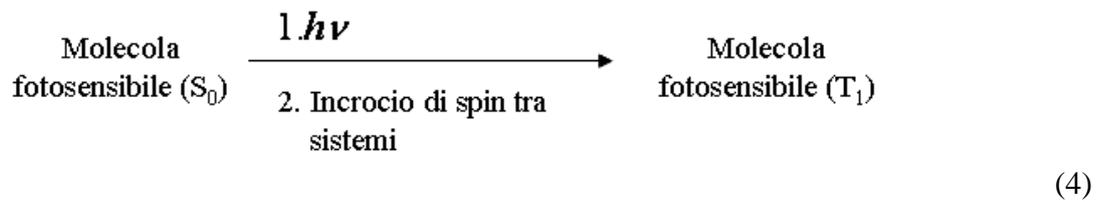
Lo stato elettronico  $^1\Delta_g$  ha un tempo di vita relativamente lungo in fase gassosa (45 min), in quanto la transizione allo stato fondamentale è spin-proibita. Mentre il secondo stato eccitato  $^1\Sigma_g^+$  ha un tempo di vita di circa 7-12 s, perché la transizione allo stato  $^1\Delta_g$  è spin-permessa. In soluzione i tempi di vita si riducono a  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  s per  $^1\Delta_g$  e  $10^{-11}$ - $10^{-9}$  s per  $^1\Sigma_g^+$ . La transizione  $^1\Delta_g \leftrightarrow ^3\Sigma_g^-$  è osservata sperimentalmente a 1268.7 nm sia in assorbimento che in emissione nonostante sia proibita per spin e simmetria.<sup>[31-34]</sup> Si può generare ossigeno in stato di singoletto  $^1\Delta_g$ , sia con metodi chimici che fisici. Nel primo caso rientrano ad esempio la reazione tra perossido d'idrogeno e sodio ipoclorito (Figura 8), tra N-clorosuccinimide e perossido d'idrogeno in ambiente basico, per termolisi di endoperossidi o di complessi tra ozono e fosfiti.



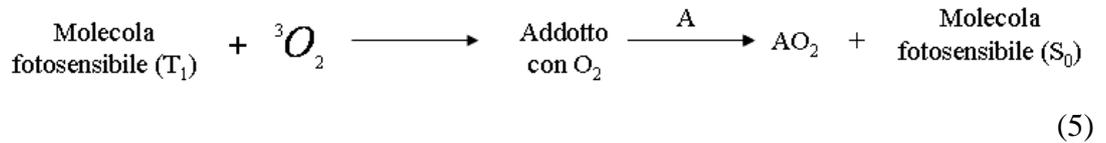
**Figura 8:** Reazione tra perossido d'idrogeno e sodio ipoclorito.

Tra i metodi fisici sono annoverati l'eccitazione diretta, la scarica con microonde e la fotosensibilizzazione. Quest'ultimo metodo è il più usato nel produrre in

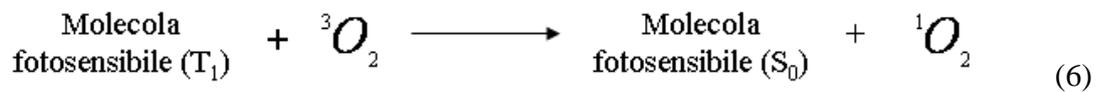
laboratorio e nei processi fotodinamici ossigeno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ). I lavori pionieristici sulla reazione tra fotosensibilizzatori, ossigeno e substrati organici furono compiuti da Schönberg (1935) e Kautsky (1935)<sup>[35]</sup> e ripresi da Schenk (1964) e Foote (1968).<sup>[36]</sup> Tuttavia mentre le ipotesi di Schönberg e Kautsky erano concordi a riguardo della prima tappa nella formazione di  $^1\text{O}_2$ , cioè nella reazione tra fotosensibilizzatore in stato  $S_0$  e radiazione, e successiva formazione dello stato  $T_1$  secondo il seguente schema:



il passaggio successivo è descritto in modo differente. Schönberg propose la seguente reazione:

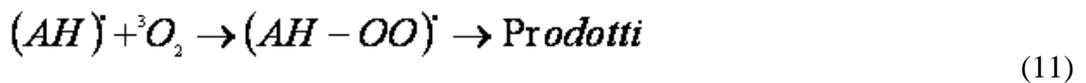
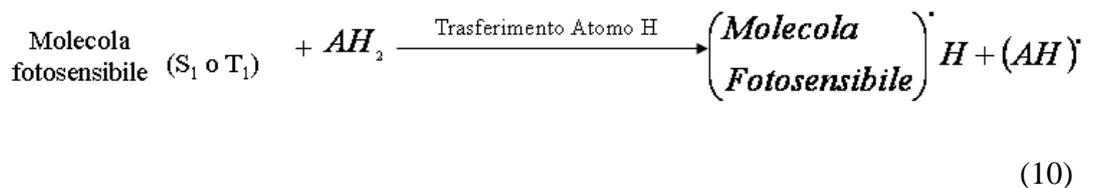
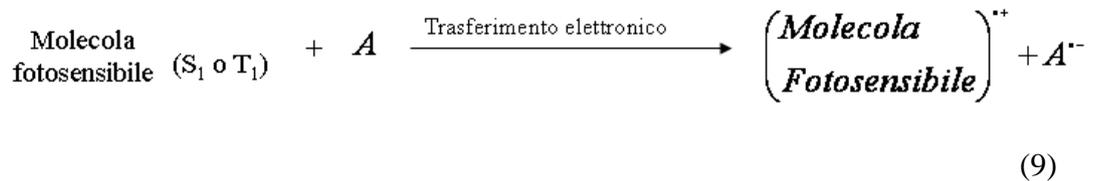
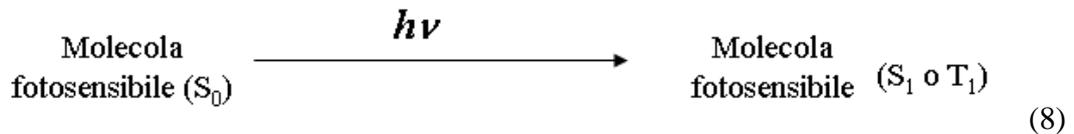


in cui la specie ossidante nei confronti del substrato A, è costituito dal complesso formato dal fotosensibilizzatore e l'ossigeno molecolare. Nella teoria di Kautsky, l'agente ossidante è l'ossigeno in stato di singoletto secondo il seguente schema:

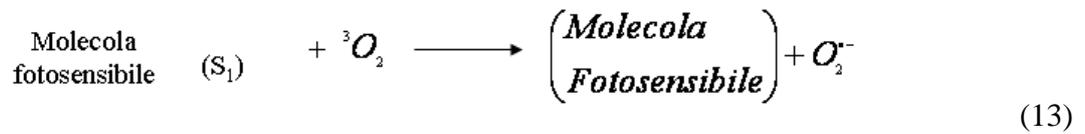
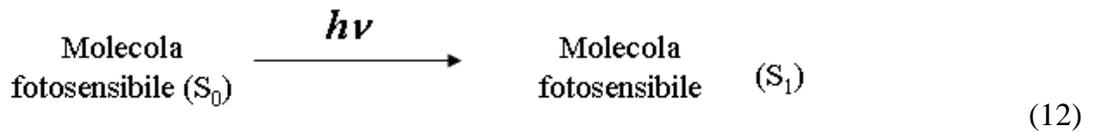


Una dimostrazione della generazione di ossigeno singoletto fu pubblicata da Kautsky nel 1931.<sup>[35]</sup> L'esperimento supponeva l'esistenza di  $^1\text{O}_2$  in fase gassosa laddove l'addotto di Schönberg avrebbe avuto una bassa tensione di vapore. La

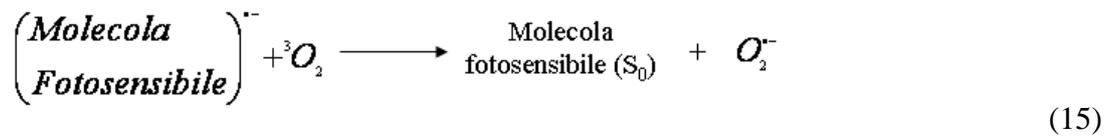
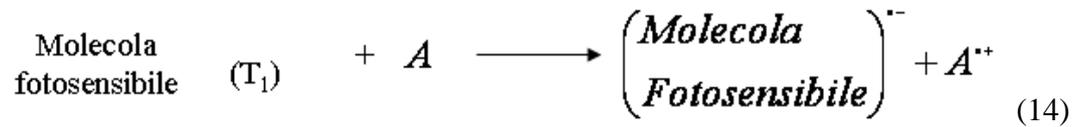
procedura era la seguente: si prendevano due miscele di particelle di gel di silice, nella prima veniva adsorbita acriflavina (un sale quaternario, la molecola fotosensibile dello schema sopra), sull'altra era adsorbita leuco-malachite verde. Dopo che le miscele erano state mescolate tra loro, essiccate ed irradiate ad appropriata pressione di ossigeno, la leuco-malachite da incolore si trasformava in un composto colorato (malachite verde). Kautsky propose che si fosse generata una forma di ossigeno attivato che per diffusione avesse ossidato la molecola incolore. Il meccanismo fin qui delineato va sotto il nome di 'Meccanismo di Tipo II'. Esiste tuttavia un secondo meccanismo che consente la formazione di specie reattive di ossigeno (ROS), sempre ottenuto dall'azione combinata di ossigeno molecolare, radiazione ed un fotosensibilizzatore, e che è detta 'Meccanismo di Tipo I'. In quest'ultimo caso, la molecola fotosensibile è eccitata allo stato  $S_1$  (o  $T_1$ ), genera una specie radicalica, o per trasferimento elettronico da (o ad) un substrato oppure per rimozione di un atomo di idrogeno da un substrato organico A. Il meccanismo si può schematizzare nel seguente modo:



Le specie radicaliche che si formano, possono reagire con l'ossigeno molecolare per dare luogo ad una reazione autossidativa fotoattivata. Nel caso particolare in cui il substrato A sia rappresentato da ossigeno molecolare, la specie radicalica che si forma è l'anione superossido  $O_2^{\bullet-}$  secondo le seguenti reazioni:



oppure:



Nel meccanismo di Tipo I, l'eventuale azione citossica non viene attribuita all'ione superossido, non essendo esso particolarmente reattivo. Tuttavia la sua forma protonata porta alla formazione di perossido d'idrogeno, che in assenza di un enzima che lo degradi, ed in presenza di tracce di ioni metallici può generare radicali idrossilici e danneggiare così in modo irreversibile le biomolecole presenti nell'organismo considerato. Un diagramma di Jablonsky, adattato alla discussione fin qui svolta sui meccanismi di Tipo I e II, è riportato nella Figura 9. Il meccanismo di Tipo II, che si può riassumere nelle equazioni 4 e 6, richiede la formazione di ossigeno singoletto per svolgere l'azione fotodinamica. Per l'equazione 6, vale la conservazione del momento angolare di spin totale durante la reazione (regola di Wigner), tuttavia perché la reazione sia efficace, cioè avvenga il trasferimento energetico tra le due specie, l'energia dello stato di tripletto della molecola fotosensibile deve posizionarsi al di sopra dei 95 kJ/mol (vedi figura 9). L'efficacia fotochimica nella generazione di ossigeno singoletto da parte di una molecola fotosensibile è misurata quantitativamente dalla resa quantica di ossigeno singoletto  $\Phi_{\Delta}$ . Questa grandezza è solitamente minore dell'unità nel caso in cui l'ossigeno in stato di singoletto derivi interamente dallo stato di tripletto della molecola fotosensibile.

Ad esempio, nel caso dell'8-metossipsoralene (8-MOP) e dell'acridina (Figura 1) il valore di  $\Phi_{\Delta}$  è rispettivamente di 0.83 ( in benzene) e 0.009 (in acqua deuterata).

La bassa resa quantica per l'8-MOP suggerisce un diverso meccanismo d'azione fotodinamica, diversa dalla generazione di  $^1O_2$ .

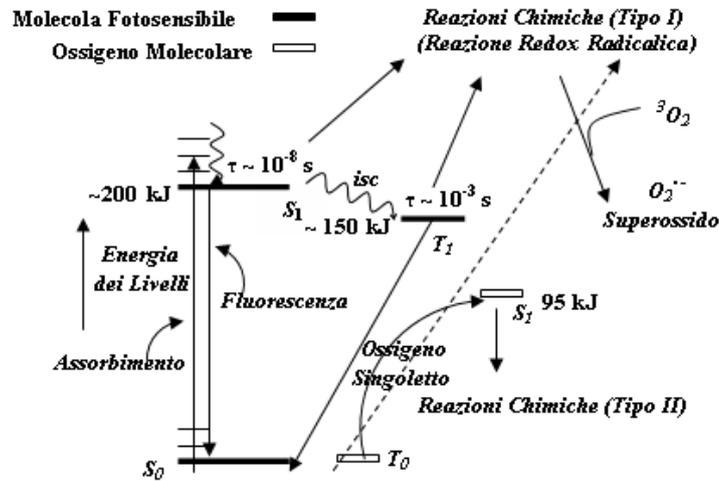


Figura 9: Diagramma di Jablonsky per la formazione di ossigeno singoletto.

È possibile formulare un'espressione matematica che esprima la resa quantica  $\Phi_{\Delta}$  in funzione di parametri cinetici:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_T \Phi_{en} = \Phi_T \frac{k_{en} [O_2]}{k_r + k_{nr} + k_q [O_2]} \quad (16)$$

dove  $\Phi_T$  è la resa quantica di formazione dello stato di tripletto per la molecola,  $\Phi_{en}$  è l'efficienza del processo di trasferimento energetico,  $k_{en}$  è la costante di velocità cinetica dello stesso processo,  $k_r$  e  $k_{nr}$  le costanti dei processi radiativi e non,  $k_q$  è la somma delle costanti cinetiche relative ai processi di de-attivazione, fisica o per trasferimento elettronico (quenching), dello stato di tripletto da parte di  $O_2$ .

### **I.3-La Radiazione Elettromagnetica in PDT: Sorgenti e Lunghezza d'Onda.**

Le proprietà ottimali della radiazione elettromagnetica da impiegare nella terapia PDT, saranno l'oggetto di questa sezione. Saranno descritte le principali sorgenti di radiazione da impiegare in PDT e il rapporto che lega la lunghezza d'onda della radiazione impiegata ed il grado di penetrazione nei tessuti biologici.

#### **I.3.1-Le Sorgenti di Radiazione.**

(1) Lampade ad incandescenza. Rappresentano un primo esempio di sorgente elettromagnetica usate in PDT. Esse sono costituite da un filamento metallico (e.g. tungsteno), che è racchiuso sottovuoto da un bulbo di vetro e riscaldato da una corrente elettrica. Le lampade ad incandescenza sono economiche e furono usate nel trattamento del carcinoma basale utilizzando come agente fotosensibile l'acido  $\delta$ -aminolevulinico.<sup>[1]</sup>

(2) Lampade ad arco. Le lampade ad arco di mercurio sono largamente usate nella fotochimica organica e hanno applicazioni in fotomedicina.<sup>[1]</sup> Ne esistono di tre tipi a seconda della pressione a cui è sottoposto il mercurio: bassa ( $10^{-3}$  mm di Hg), media (1 atmosfera) ed alta (100 atmosfere). Le lampade a bassa pressione operano a temperatura ambiente e presentano una sola linea di emissione a 253.7 nm, e per questo motivo sono impiegate come lampade ad azione germicida. Le lampade a media pressione, contengono un numero maggiore di linee di emissione che cadono principalmente a 366 e 546 nm. Se la radiazione è filtrata con un vetro di Wood, l'emissione nell'ultravioletto (366 nm) rimane, ed è solitamente usata per osservare la fluorescenza delle porfirine e di altri coloranti. Le lampade operanti ad alta pressione formano un continuum nelle emissioni, tuttavia richiedono un sistema di raffreddamento ed hanno breve durata. Le lampade ad arco che usano lo xenon oppure lo xenon-mercurio, sono più intense ed economiche, operano ad una pressione di 20 atm e non richiedono raffreddamento. Per entrambi le sorgenti (1) e (2) è possibile restringere l'intervallo di lunghezza d'onda emessa usando filtri commerciali o monocromatori.

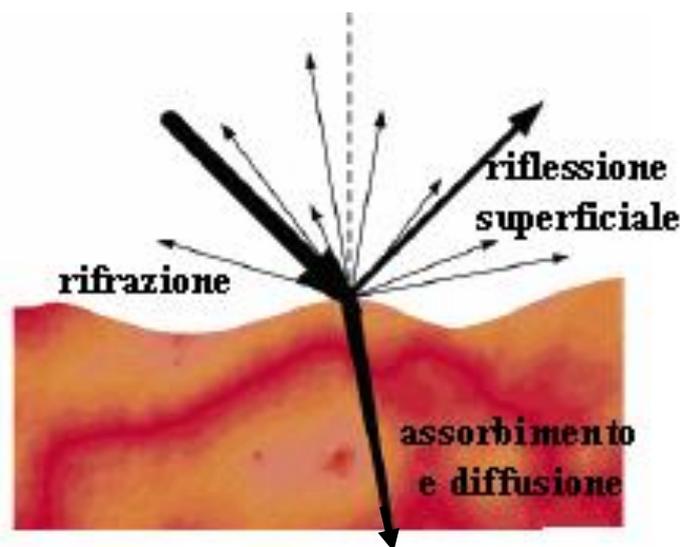
(3) Diodi ad emissione. I diodi ad emissione di luce (LEDs) sono dispositivi basati su semiconduttori (III e IV gruppo del sistema periodico). L'emissione di radiazione non è coerente, è a bassa potenza quindi non produce molto calore. La

lunghezza d'onda è modulabile cambiando il semiconduttore ed inoltre i dispositivi sono piccoli ed adattabili alla zona dove deve avvenire il trattamento PDT.

(4) Lasers. I laser rappresentano la tecnologia più avanzata nel campo delle sorgenti di radiazione. Si basano su un processo di emissione stimolata di uno stato eccitato, in cui sia stata effettuata un'inversione di popolazione rispetto allo stato fondamentale. La radiazione emessa risulta intensa, coerente e monocromatica, tuttavia il dispositivo laser risulta costoso rispetto alle sorgenti (1)-(3). I laser più comuni sono a stato-solido, ad argon ed a coloranti organici. In PDT è importante disporre di laser la cui frequenza sia modulabile e a questo scopo i laser di tipo colorante organico risultano i più adatti. Ad esempio la Rodamina-6G presenta fluorescenza nell'intervallo tra 570 e 620 nm, e la sua frequenza può essere modulata in funzione del fotosensibilizzatore da eccitare nel processo PDT.

### I.3.2-Radiazione Elettromagnetica e Tessuti Biologici.

La radiazione elettromagnetica che interagisce con la superficie di un tessuto biologico può subire riflessione, diffusione, trasmissione od assorbimento a seconda delle proprietà ottiche del tessuto e di quelle della radiazione (e.g. coefficiente di assorbimento, densità della potenza irradiata, tempo di esposizione, energia dei fotoni). ( vedi Figura 10 ).<sup>12</sup>



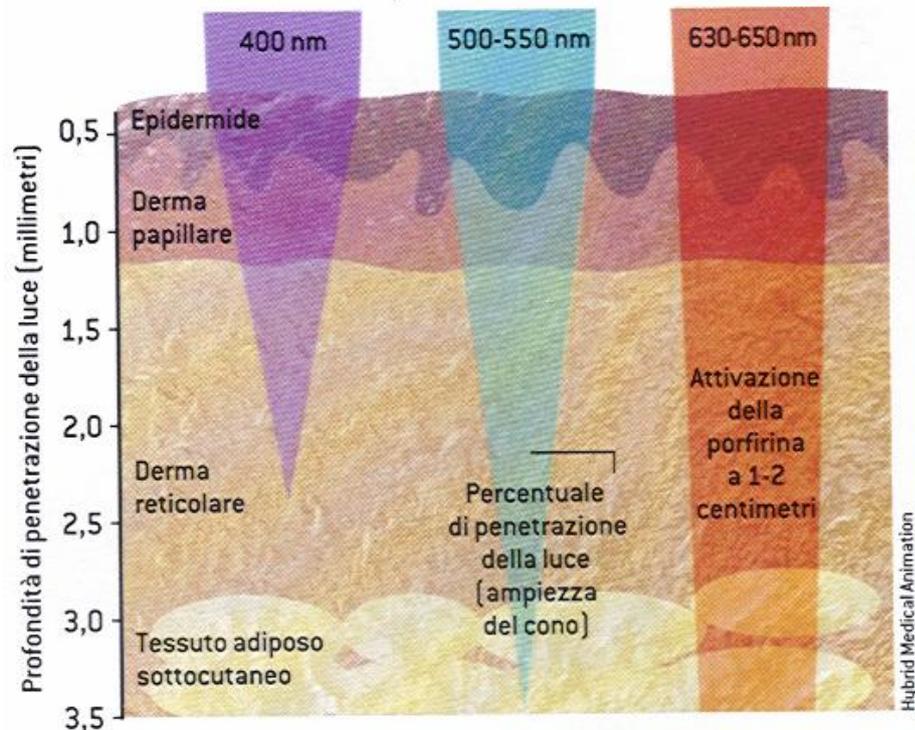
*Figura 10: Interazione luce-tessuto umano*

La propagazione della luce nel tessuto è influenzata dalla diffusione dovuta alla presenza di siti disomogenei come le membrane ed i nuclei. La penetrazione della radiazione nel tessuto è influenzata fortemente dalla presenza dell'acqua o di cromofori endogeni fortemente assorbenti, come la melanina, ed è dipendente anche dal tipo di tessuto. Esperimenti compiuti da Svaasand,<sup>[37]</sup> Wilson et al.,<sup>[38]</sup> e Bolin et al.<sup>[39]</sup> hanno evidenziato che radiazioni con lunghezza d'onda attorno agli 800 nm, attraversano completamente i tessuti, mentre lunghezze d'onda minori vengono diffuse con maggiore efficacia dalle macromolecole presenti, in quanto risultano uguali o più piccole delle dimensioni delle particelle. Indicando con  $\alpha$  il coefficiente di attenuazione (in  $\text{cm}^{-1}$ ) che descrive la diminuzione esponenziale di una specifica lunghezza d'onda della radiazione che penetra un particolare tessuto, è possibile sulla base della teoria della diffusione descrivere in accordo con i dati sperimentali l'attenuazione della radiazione. La variazione del flusso di radiazione  $\Psi$ , all'interno di un volume di un mezzo diffondente ad una distanza  $r$  dalla sorgente della radiazione, è uguale alla seguente espressione:

$$\Psi = \Psi_0 \frac{e^{-\alpha r}}{r} \quad (17)$$

La variazione del flusso decresce esponenzialmente con la distanza  $r$ , e piccole variazioni nel coefficiente di attenuazione  $\alpha$  provocano grandi variazioni del flusso con la profondità del tessuto. Questa è la ragione per cui è vantaggioso utilizzare molecole assorbenti attorno agli 800 nm, in maniera da massimizzare la profondità del trattamento PDT nei differenti tessuti. L'inverso del coefficiente  $\alpha$  è definito come la profondità di attenuazione ( $\delta$ , in cm) ed indica la profondità alla quale la radiazione viene attenuata di  $1/e$  ( $\sim 37\%$ ). Valori tipici della profondità di attenuazione  $\delta$  variano da 1 a 3 mm per tessuti non pigmentati. Una radiazione compresa tra i 600-700 nm penetra del 50-200% più in profondità di una radiazione compresa tra i 400-500 nm (Figura 11). L'intervallo ottimale o finestra terapeutica è stata posizionata tra i 600-850 nm. Al di là di questo valore, l'acqua che l'elemento più abbondante nel tessuto, assorbe la radiazione e la converte in calore. Inoltre si è dimostrato che sia i tessuti altamente pigmentati che i fotosensibilizzatori con valori

elevati di assorbività molare e concentrazione attenuano la profondità di penetrazione della radiazione.<sup>[40]</sup>



*Figura 11: Relazione tra lunghezza d'onda e sua penetrazione nel tessuto umano*

#### **I.4-Agenti Fotosensibilizzatori in PDT**

Nei paragrafi precedenti sono emersi dei requisiti che una molecola fotosensibile o fotosensibilizzatore deve possedere affinché il trattamento PDT risulti efficace. In primo luogo, abbiamo visto che nei meccanismi di Tipo II, il processo di trasferimento energetico tra il fotosensibilizzatore e l'ossigeno molecolare richiede per il primo che la sua energia elettronica nello stato di tripletto sia maggiore o eguale di 94 kJ/mol. Inoltre, poiché la radiazione luminosa deve poter penetrare in profondità nei tessuti, è stato definito un intervallo terapeutico compreso tra 600-850 nm in cui il fotosensibilizzatore mostri delle bande di assorbimento corrispondenti a transizioni  $S_0 \rightarrow S_1$ . Di qui l'interesse da parte dei chimici nello studio di molecole naturali o di sintesi che risultino ottimali nell'applicazione alla terapia fotodinamica. Nel seguito introdurremo prima i cosiddetti fotosensibilizzatori di prima generazione

e poi quelli di seconda generazione sviluppati. Infine accenneremo agli sviluppi recenti della ricerca in PDT.

#### **I.4.1-Fotosensibilizzatori di Prima Generazione**

Il derivato dell'ematoporfirina HpD e le sue varianti commerciali (Photofrin, Photosan, Photogem e Photocarcinorin) storicamente appartengono alla prima generazione di fotosensibilizzatori sviluppati per essere applicati in terapia fotodinamica. Si è già accennato, allo sviluppo storico che portò alla formulazione del composto HpD. Tratteremo in breve della sintesi e proprietà di una delle sue forme commerciali e più studiate, la Photofrin. Questo derivato è sintetizzato facendo reagire l'ematoporfirina in una miscela di acido solforico ed acido acetico, formando i (di e mono-) acetati dell'ematoporfirina-IX (Fase I HpD). L'idrolisi basica fornisce una miscela contenente monomeri, dimeri ed oligomeri dell'ematoporfirina, denominata HpD (Fase II HpD). La capacità dell'HpD ad agire da fotosensibilizzatore è dovuta principalmente alle sue componenti oligomere. La miscela costituita da dimeri ed oligomeri si può separare parzialmente mediante HPLC, e la frazione arricchita delle sue componenti oligomere, è detta 'Frazione D'. A partire da questa frazione vengono ottenute le varie forme commerciali. Il rapporto tra i monomeri, dimeri ed oligomeri nell'HpD è 22:23:55, mentre per la Photofrin risulta essere 14:19:67, ed in questo caso l'oligomero più grande, che sia stato osservato, contiene nove unità porfiriniche. Nonostante la Photofrin non esibisca tossicità sistemica o effetti mutagenici ed inoltre sia stato sperimentato per molte forme tumorali, presenta alcuni inconvenienti. In particolare, contenendo una frazione oligomera, questa tende a dare in soluzione acquosa aggregati, tenuti assieme da legami non-covalenti che ne diminuiscono la resa di ossigeno singoletto ( $\Phi_{\Delta}=0.20$  contro  $\Phi_{\Delta}=0.65$  per la forma monomerica dell'ematoporfirina Hp). Altri inconvenienti sono dovuti alla presenza nella frazione di HpD non fotoattive, oppure alla difficile interpretazione dei risultati ottenuti circa la risposta al trattamento in funzione della dose somministrata, poiché sia il derivato HpD che la 'Frazione D' non presentano una composizione chimica ben definita. Tuttavia l'ostacolo maggiore che rende la Photofrin lontana dall'essere un fotosensibilizzatore ideale in PDT, è data dalle proprietà del suo spettro elettronico di assorbimento, peraltro simile a

quello dell'HpD. Quest'ultimo è definito come uno spettro elettronico di tipo etio, cioè contenente un'intensa banda di assorbimento a circa 400 nm (banda di Soret), e delle bande di intensità decrescente a 500, 540, 570 e 630 nm (bande Q). La banda a 630 nm pur essendo la più debole ( $\epsilon = 3000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), è quella utilizzata in PDT in quanto penetra più in profondità nei tessuti: la Photofrin attivata raggiunge una profondità di 5 mm. La debole intensità della banda a 630 nm, implica anche che per ottenere un effetto terapeutico è necessaria una dose relativamente grande di fotosensibilizzatore, aumentando così il rischio di effetti collaterali e diminuendo la profondità di penetrazione.

#### **I.4.2-Fotosensibilizzatori di Seconda Generazione**

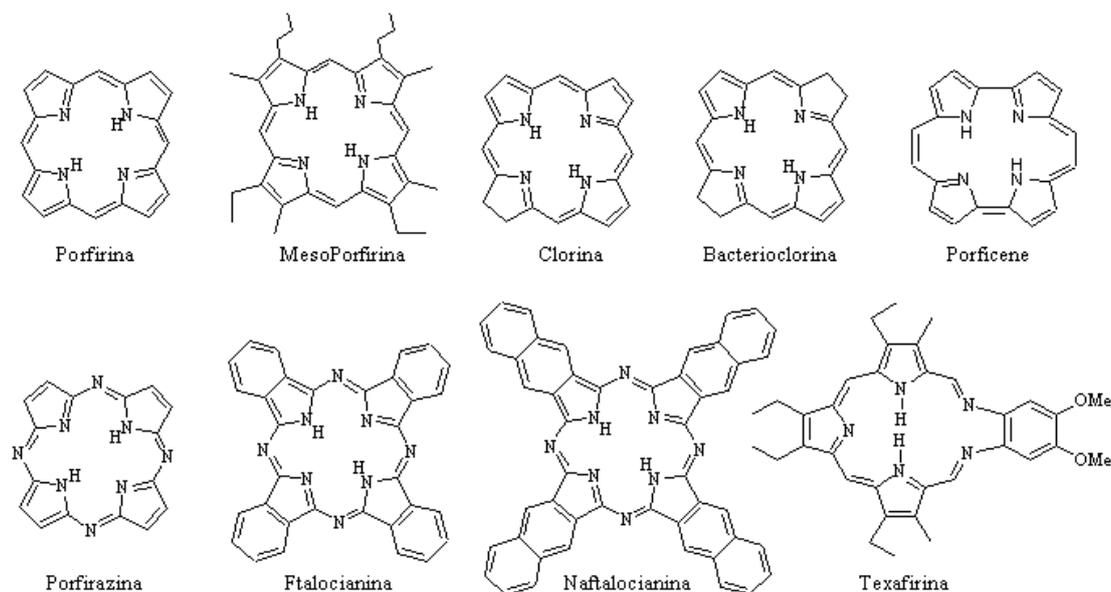
I vantaggi e gli svantaggi dell'HpD e dei suoi derivati, sperimentati nella loro applicazione clinica, hanno permesso di definire dei criteri più stringenti per nuovi fotosensibilizzatori, che sono indicati come 'fotosensibilizzatori di seconda generazione'.<sup>[1,41-44]</sup> Per migliorare l'efficacia del fotosensibilizzatore nell'azione fotodinamica, si tiene conto dei seguenti criteri nella loro progettazione: (1) Tossicità in assenza di radiazione; (2) Sintesi e composizione; (3) Comportamento in soluzione; (4) Proprietà fotofisiche; (5) Assorbimento nella regione rossa dello spettro visibile.<sup>[45]</sup> Analizziamo ora ciascuno di questi aspetti.

(1) Tossicità in assenza di radiazione. Il fotosensibilizzatore dovrebbe presentare una bassa o nulla citotossicità in assenza di radiazione, ciò per consentire un miglior controllo del danno tumorale in funzione della quantità di radiazione per una data dose di farmaco. Da tener presente che molti derivati tetrapirrolici (e.g. porfirine), che soddisfano questo criterio non sono farmaci efficaci in PDT, a causa della loro fototossicità.

(2) Composizione e Sintesi. Come abbiamo visto in precedenza, il derivato dell'ematoporfirina (HpD) è costituito da una miscela di composti (monomeri, dimeri, oligomeri), che dipende anche dalle condizioni operative di sintesi, è rende così difficile stabilire una correlazione precisa tra dosaggio del farmaco ed azione fotodinamica. Inoltre l'ematoporfirina contiene anche due centri chirali, per cui è difficile stabilire anche in che misura ciascun stereoisomero esercita l'azione citotossica. Per questi motivi è necessario disporre di una singola sostanza a

composizione definita, per la quale sia più semplice interpretare le relazioni tra dose impiegata e risposta ottenuta. Bisogna tener presente che in PDT ci sono più variabili da considerare nella somministrazione del farmaco rispetto ad una terapia tradizionale, come la durata dell'intervallo tra somministrazione ed irradiazione, la lunghezza d'onda della radiazione, la sua energia totale e la velocità di flusso. Per quanto riguarda la procedura di sintesi, questa dovrebbe essere semplice e produrre buone rese, inoltre il composto sintetizzato deve essere cineticamente e termodinamicamente stabile.

(3) Comportamento in soluzione. Un fotosensibilizzatore ideale deve localizzarsi preferenzialmente nel sito tumorale ed allo stesso tempo poter essere eliminato con facilità dall'organismo alla fine della fototerapia. Gran parte dei fotosensibilizzatori in PDT, sono costituiti da un macrociclo porfirinico (e.g., porfirina, clorina; figura 12) o porfirinoide (e.g., ftalocianine, texafirine; figura 12), che ha caratteristiche idrofobe, mentre l'ambiente cellulare, in cui la molecola deve esplicare la sua azione fotodinamica, è prevalentemente acquoso. Perciò in queste molecole sono introdotti, nel processo di sintesi, gruppi sostituenti di natura polare, come per esempio gruppi solfonici, idrossilici, carbossilici, o gruppi d'ammonio quaternario. Questo accorgimento conferisce ai fotosensibilizzatori un carattere amfilico (idrofilo ed idrofobo). La veicolazione nell'ambiente cellulare dei fotosensibilizzatori è un altro fattore da considerare, essendo quest'ultimi delle sostanze solide da solubilizzare in un ambiente che non è realmente una soluzione omogenea e si trovano dispersi sottoforma di micelle.



**Figura 12: Porphirine e analoghi**

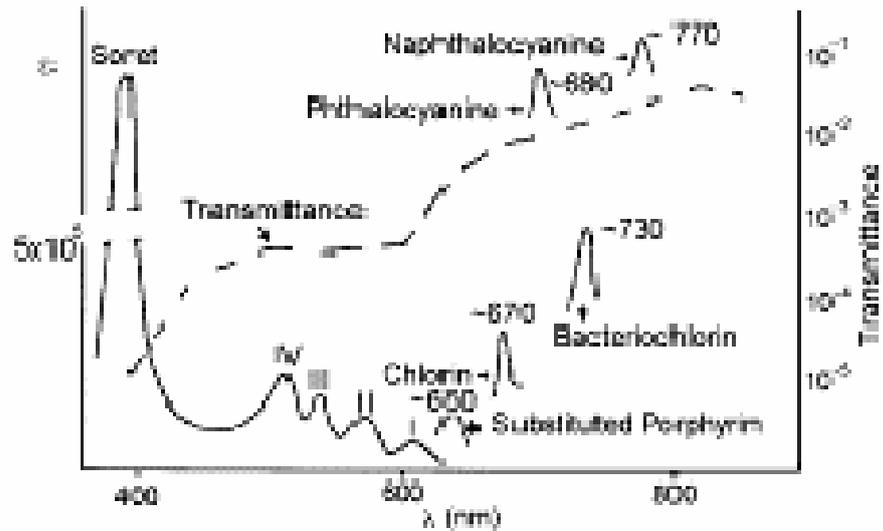
Per aumentare la stabilità in soluzione del fotosensibilizzatore ed evitarne così la precipitazione che lo renderebbe farmacologicamente inattivo, esso viene di solito incorporato in molecole particolari. Un esempio è rappresentato dall'uso di molecole sintetiche (ioniche o neutre) simili ai detergenti, come il Tween 80 o il Cremophor EL. Queste contengono all'interno della loro struttura molecolare, gruppi polari neutri e catene di acidi grassi, in grado di formare emulsioni stabili del fotosensibilizzatore idrofobo in ambiente acquoso.

(4) Proprietà fotofisiche. Un fotosensibilizzatore che sia adatto per un uso diagnostico, cioè per marcare i contorni di un tumore, deve possedere una buona resa quantica di fluorescenza  $\Phi_F$ . Ciò esclude che la resa quantica di tripletto sia contemporaneamente alta perché in questa situazione vale la condizione  $\Phi_F + \Phi_T \leq 1$ , in accordo con la legge di Stark-Einstein. Un fotosensibilizzatore per la terapia fotodinamica deve invece possedere: a) uno stato di tripletto ad energia maggiore di  $94 \text{ kJ mol}^{-1}$ ; b) una buona resa quantica di tripletto; c) un tempo di vita medio dello stato di tripletto,  $\tau_T$ , tale da formare l'ossigeno di singoletto. In tabella 2 sono riportati i valori di  $\Phi_T$ ,  $\Phi_\Delta$ , e dove disponibili anche di  $\Phi_F$   $\tau_T$ , per alcuni fotosensibilizzatori suddivisi per classe di appartenenza.

Classe	Complesso	Solvente	$\Phi_F$	$\tau_T$ ( $\mu$ s)	$\Phi_T$	$\Phi_\Delta$
Porfirine	Tetrafenilporfirina	toluene	0.10	>10	0.73	0.67
	Zn-Tetrafenilporfirina	toluene	0.333	>10	0.86	0.68
	Cu-Tetrafenilporfirina	toluene	0	0.00178	0.88	0.03
Clorine	octaetilpurpurina	benzene			0.82	0.67
	Zn-etiopurpurina	benzene			0.83	0.57
Bacterioclorine	bacterioclorofilla a	benzene			0.32	0.32
	bacteriofeofitina a	benzene			0.73	0.46
Ftalocianine	ftalocianina	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> Cl	0.7	140	0.14	0.16
	Al(III)-ftalocianina	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> Cl	0.58	500	0.4	/
		dms0	/	/	/	0.29
	Zn-ftalocianina	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> Cl	0.3	125	0.65	
		dms0	/	/		0.4
	Si-naftalocianina	benzene			0.39	0.35
Porficene	Porficene	toluene	/	/	0.42	0.30
Texafirine	Lu(III)-texafirina					0.31

**Tabella 2:** Rese quantiche di fluorescenza  $\Phi_F$ , tripletto  $\Phi_T$ , ossigeno singoletto  $\Phi_\Delta$ , tempi di vita medi dello stato di tripletto  $\tau_T$ , per alcuni composti macrocicli tetrapirrolici <sup>[45]</sup>

(5) Assorbimento nella regione rossa dello spettro visibile. Si è visto come i fotosensibilizzatori con  $\lambda_{max}$  nella zona rossa dello spettro visibile (600-850nm), riescano a penetrare con maggiore profondità il tessuto biologico. In Tabella 2, sono riportati i valori indicativi di  $\lambda_{max}$ , per sistemi porfirinici e porfirinoidi, mentre in figura 13 è rappresentata la curva di trasmittanza di questi sistemi in funzione della  $\lambda_{max}$  della banda d'assorbimento Q, e misurata su un campione di sacco scrotale umano (spessore 7mm).



**Figura 13:** *Variazione della trasmittanza in funzione della lunghezza d'onda per alcune classi di foto sensibilizzatori.*

Da notare la notevole differenza relativa alla  $\lambda_{\max}$  della banda di assorbimento Q tra una porfirina (600-640 nm) ed un derivato della naftalocianina (780 nm), ed anche la differenza tra i loro coefficienti di assorbività molare  $\epsilon$  (rapporto 1:100). Nonostante quanto detto sulla  $\lambda_{\max}$ , esistono tre motivi che limitano i vantaggi derivanti dallo spostamento verso il rosso la  $\lambda_{\max}$  oltre un certo limite. In primo luogo, l'assorbimento da parte dell'acqua, che è il componente principale del tessuto vivente, riduce la trasmissione della radiazione. In secondo luogo, elevati valori di  $\lambda_{\max}$  implicano un aumento della coniugazione della carica e quindi della disponibilità elettronica. Da ciò deriva una diminuzione del potenziale di riduzione, perché diminuisce la differenza in energia tra l'orbitale HOMO ed il LUMO, ed il sistema diventa più suscettibile ad essere ossidato. Questo fenomeno è detto 'photobleaching', ed è un processo chimico irreversibile consistente nella modifica della struttura chimica del cromoforo, con la perdita totale o parziale delle proprietà di assorbanza (o di fluorescenza). Infine il terzo motivo, è dovuto al fatto che l'energia del primo stato eccitato di tripletto  $T_1$ , secondo la regola di Hund, è più bassa in energia dello stato  $S_1$ .

In conclusione il criterio per la sintesi di un fotosensibilizzatore PDT di seconda generazione, deve seguire un adeguato bilanciamento tra fattori fotofisici e comportamento in soluzione.

<b>Tipo di Molecola</b>	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon$ ( $M^{-1}cm^{-1}$ )
Porfirine	620-640	3500
Clorine	680	40000
Bacterioclorine	780	150000
Porfirine Meso-sostituite	650	18000
Ftalocianine	700	200000
Naftalocianine	780	350000
Porficeni	610-650	50000
Lu(III)-Texafirina	732	42000

**Tabella 3:** Valori indicativi di  $\lambda_{\max}$  ed  $\epsilon$  per sistemi porfirinici e porfirinoidi <sup>42</sup>

### **I.5-Stato Attuale della Ricerca in PDT.**

Parallelamente alla sintesi di nuovi fotosensibilizzatori di seconda generazione, di tipo porfirinico o non-porfirinico, sono stati sviluppati i cosiddetti fotosensibilizzatori di ‘terza generazione’. Questi sono caratterizzati da una struttura, costituita ad esempio da una metallo-ftalocianina, alla quale viene legata una biomolecola come degli anticorpi monoclonali per veicolare il fotosensibilizzatore in modo selettivo al sito tumorale.<sup>[31, 46-47]</sup> Infatti le cellule tumorali possiedono in superficie degli antigeni differenti da quelli presenti sulle cellule normali. Nel caso in cui il fotosensibilizzatore legato si localizzi specificamente nel tumore, è possibile danneggiare in modo selettivo con la radiazione lo stesso, lasciando inalterato il tessuto normale. Altre due nuove classi di agenti PDT, in fase di studio, di cui diamo un breve accenno, sono rappresentati dai sistemi che combinano l’azione di un fotosensibilizzatore con un agente antitumorale come il cisplatino, ed dai cosiddetti ‘quantum dots’. Nel primo caso (Figura 14),<sup>[48-49]</sup> si sfrutta l’azione fotodinamica del fotosensibilizzatore potenziata dall’attività antitumorale nota del cisplatino che possiede un’elevata affinità d’interazione con il DNA. La solubilità, la reattività e la

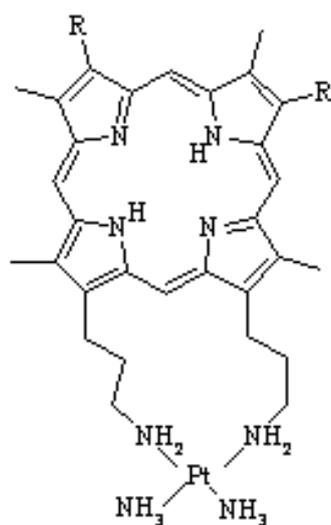
selettività di questi composti può essere modulata variando i gruppi sostituenti sulla prima sfera di coordinazione del Pt(II) e/o sull'anello porfirinico.

I 'quantum dots' sono invece nanoparticelle con dimensioni comprese tra 1-6 nm, tali da non potersi considerare né molecole piccole né tanto meno cristalli di grossa dimensione. Le dimensioni conferiscono loro particolari proprietà ottiche, che derivano da effetti di confinamento quantico e che possono essere modulate dall'UV alla regione IR cambiando la grandezza e la composizione. Quantum dots formati da semiconduttori (CdSe) sono un esempio di nanoparticelle (5 nm) legate assialmente a silicio(IV)-ftalocianina attraverso un legame alchilamminico e sono state studiate per loro possibili applicazioni in PDT.<sup>[50]</sup> Il ruolo del quantum dot può essere quello di attivare il fotosensibilizzatore, oppure di generare direttamente ossigeno singoletto, o ancora di veicolare l'agente idrofobo PDT in soluzione acquosa.

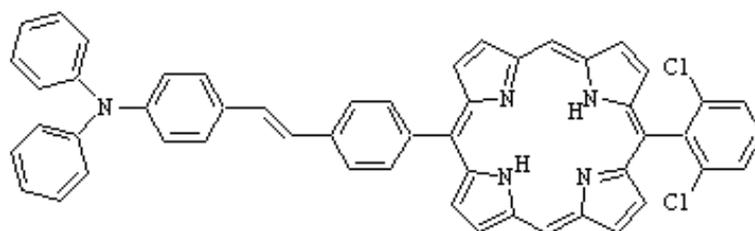
Un cenno a parte merita lo sviluppo di un recente settore di ricerca in PDT, rappresentato dalla tecnica di eccitazione a due fotoni (TPA),<sup>[51]</sup> in contrasto con quella, delineata in questo capitolo, che consiste nell'eccitazione ad un fotone per ottenere l'eccitazione  $S_0 \rightarrow S_1$  del fotosensibilizzatore (OEP). La TPA è un processo ottico non-lineare del terzo ordine, che consiste nella transizione simultanea di due fotoni tale per cui la lunghezza d'onda di eccitazione è doppia rispetto al processo OEP. Questa tecnica consente l'utilizzo di fotoni con energia nell'infrarosso (I.R.), senza richiedere che ad esempio una porfirina sia modificata nella struttura per spostarne la sua  $\lambda_{max}$ . Altri due vantaggi di questa tecnica sono:

- 1) la minimizzazione dell'ipertermia indotta dalla radiazione laser, per la ridotta energia dei fotoni I.R.;
- 2) la dipendenza nonlineare (quadratica) del processo TPA dall'intensità del laser che consente una elevata selettività nel trattamento per la ridotta dimensione del punto focale.

I sistemi porfirinici tuttavia presentano un inconveniente dovuto alla ridotta sezione di attraversamento (cross section), dell'ordine di poche unità di Göppert-Mayer (G.M.  $GM = 10^{-50} \text{ cm}^4 \text{ s fotone}^{-1} \text{ molecola}^{-1}$ ); ciò implica un tempo di irradiazione prolungato con un fascio laser fortemente focalizzato. Si può ovviare a questo problema, introducendo ad esempio nella molecola porfirinica dei sostituenti donori o accettori di densità elettronica, oppure estendendo la coniugazione  $\pi$  (Figura 15).



*Figura 14: Derivato porfirinico della cisplatina*



*Figura 15: 5-(4-diphenylaminostilbene)*

## Bibliografia

- [1] Bonnett, R. *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy* Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam, **2000**.
- [2] Bonnett, R *Rev. Contemp. Pharmacother*, **1999**, *10*, 1-19.
- [3] Regan, J. D. and Parrish J.A. *The Science of Photomedicine*, Plenum, New York and London, **1982**
- [4] Jori, G. and Perria C. (Eds) *Photodiagnostic and Phototherapeutic Techniques in Medicine*, Documento Editoriale, Milan, **1995**.
- [5] Bicknell, F. and Prescott *The Vitamins in Medicine*, Heinemann, London, **1942**, 442-503.
- [6] Parrish, J. A., Fitzpatrick, T. B., Tanenbaum, L., Pathak, M. A. *N. Engl. J. Med.*, **1974**, *291*, 1207-1222.
- [7] Cremer, R. J.; Perryman, P. W.; Richards, D. H. *Lancet*, **1958**, 1094-1097.
- [8] Bock, G. and Harnett, S. (Eds) *Photosensitising Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use*, Ciba Foundation Symposium 146, Wiley, London, **1989**.
- [9] Raab, O. *Z. Biol.*, **1900**, *39*, 524-546.
- [10] Meyer-Betz, F. *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, **1913**, *112*, 476-503.
- [11] Henderson, B. W.; Dougherty, T. J. (eds) *Photodynamic Therapy-Basic Principles and Clinical Applications*, Dekker, New York, **1992**.
- [12] MacDonald, I. J.; Dougherty, T. J. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2001**, *5*, 105-129.
- [13] Policard, A. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **1924**, *91*, 1423-1424.
- [14] Ronchese, F. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Path.*, **1954**, *7*, 967-971.
- [15] Figge, F. H. J. *AAAS Research Conf. On Cancer*, Moulton FR. (ed.) **1945**, 117-128.
- [16] Figge, F. H. J. *Ann. Int. Med.*, **1947**, *24*, 143-146.
- [17] Figge, F. H. J.; Weiland, G.S.; Manganiello, L. O. J. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1948**, *68*, 143-146
- [18] Rasmussen-Taxdal, D. S.; Ward D. E., Figge, F. H. J. *Cancer*, **1955**, *8*, 78-81.
- [19] Winkelman, J. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1961**, *27*, 1369-1377.

- [20] Winkelman, J. *Cancer Res.*, **1962**, 22, 589-596.
- [21] Winkelman, J. *Experimentia*, **1962**, 23, 949-950.
- [22] Lipson, R. L. ; Baldes, E. J.; Olsen, A. M. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1961**, 14, 219-221.
- [23] Dougherty, T. J. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, **1996**, 14, 219-221.
- [24] Dougherty, T. J. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1974**, 52, 1333-1336.
- [25] Weishaupt, K. R.; Gomer, C. J.; Dougherty, T. J. *Cancer Res.*, **1976**, 36, 2326-2329.
- [26] Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W. et al. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1998**, 90, 889-905.
- [27] Pandey, K. R.; Zheng, G. *Porphyrins as Photosensitizers in Photodynamic Therapy*, vol. 6, Kadish, Smith, Guillard. (eds). Accademic Press: San Diego, **2000**.
- [28] Harris, D. C. and Bertolucci M. D. *Symmetry and Spectroscopy*, Dover Publications, inc., New York, **1989**.
- [29] Atkins, P. W. *Molecular Quantum Mechanics*, Oxford University Press, Oxford, **1983**.
- [30] Turro, N. J. *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, **1991**.
- [31] DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coordination Chemistry Reviews*, **2002**, 233-234, 351-371.
- [32] Schweitzer, C.; Schmidt, R. *Chem. Rev.*, **2003**, 103, 1685-1757.
- [33] Schmidt, R. *Photochemistry and Photobiology*, **2006**, 82, 1161-1177.
- [34] Wasserman, H. H.; Murray, R. W. (eds.) *Singlet Oxygen*, Accademic Press, New York, **1979**.
- [35] Kautsky, *Ber. Deutsch. Chem. Gesell.*, **1933**, 66, 1588.
- [36] Foote, C. S.; Valentine, J. S.; Greenberg, A.; Liebman, J. F. *Active Oxygen in Chemistry*, Blackie Academic and Professional, London, **1995**.
- [37] Svaasand, L. O. In *Porphyrin Localization and Treatment of Tumors*, Doiron and Gomer editors, New York, **1984**, 91-114.
- [38] Wilson, B.C. ; Jeeves, W. P., Lowe D. M., Adam, G. *Ibidem*, 115-132.
- [39] Bolin, F. P.; Preuss, L. E.; Cain, B. W. *Ibidem*, 211-225.

- [40] Dougherty, T. J. ; Potter, W. R. *J. of Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1991**, 8, 233-234.
- [41] Szacilowsky, K.; Macyk, W.; Drzewiecka-Matuszek, A.; Brindell, M.; Stochel, G. *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 2646-2694.
- [42] Nyman, E.; Hynninen, P. H. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **2004**, 73, 1-28.
- [43] Wainwright, M. *Chemical Society Reviews*, **1996**, 5, 351-359.
- [44] Sternberg, E. D.; Dolphyn, D. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 4151-4202.
- [45] Bonnett, R. *Chemical Society Reviews*, **1995**, 1, 19-33.
- [46] Bamias, A.; Keane, P.; Krausz, T.; Williams, G.; Epenetos J. *Photochem. Photobiol.* , **1991**, 51, 724.
- [47] Redmond, R. W.; Gamlin, J. N.; *Photochem. Photobiol.*, **1999**, 79, 391.
- [48] Lottner, C.; Knuechel, R.; Bernhardt, G.; Brunner, H. *Cancer Lett.*, **2002**, 203, 171.
- [49] Brunner, H.; Schellerer, K. M. *Inorg. Chim. Acta*, **2004**, 357, 1649.
- [50] Sarnia, A. C. S.; Chen, X.; Burda, C. *J. of Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 15736-15737.
- [51] Karotki, A.; Kruk, M.; Drobizhev, M.; Rebane, A.; Nickel, E.; Spangler, C. *Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, **2001**, Vol. 7 No. 6, 971-975.

## CAPITOLO II

### METODI TEORICI

#### II.1-Fondamenti quantomeccanici

La meccanica quantistica nasce verso la fine del diciannovesimo secolo, quando l'applicazione delle leggi della fisica classica a sistemi microscopici, atomici e molecolari, mostrò i limiti della meccanica classica. Nel 1926 il fisico austriaco Erwin Schrödinger studiò quantomeccanicamente le proprietà stazionarie di sistemi microscopici e della loro evoluzione nel tempo e propose un'equazione che è la base della meccanica quantistica.

La risoluzione (analitica o numerica) dell'equazione di Schrödinger per sistemi multielettronici è molto complessa, anche con l'aiuto di potenti calcolatori, poiché dipende esplicitamente dal numero di particelle presenti nel sistema. In quantomeccanica non è possibile conoscere con esattezza l'evolversi nel tempo di una particella microscopica poiché non si può conoscere contemporaneamente sia la sua posizione sia la sua velocità (principio di indeterminazione di Heisenberg), per cui le informazioni sul comportamento di particelle microscopiche si ottengono attraverso l'uso di una funzione dipendente dalle coordinate spaziali e dal tempo: la funzione d'onda  $\Psi(r,t)$ . L'analisi di sistemi complessi richiede un approccio quantomeccanico fondato su un funzionale non strettamente connesso con il numero di particelle come lo è, invece, quello relativo alle coordinate spaziali delle singole particelle. Lo sviluppo di una "teoria del funzionale della matrice densità" o più semplicemente di una "teoria del funzionale della densità" (DFT) è stato determinante per lo studio teorico dei sistemi multielettronici proprio perché essa utilizza un funzionale che dipende da tre sole coordinate spaziali a prescindere dal numero di particelle del sistema. Questa prerogativa del "funzionale densità" rende più semplice la trattazione numerica di sistemi quantomeccanici complessi.

Una trattazione matematica rigorosa per questo approccio fu raggiunta attraverso sviluppi teorici gradualmente. Il primo tentativo, risalente al secondo decennio del ventesimo secolo, si ebbe con l'introduzione del modello di Thomas-Fermi <sup>[1,2]</sup>, con il quale si valuta l'energia di un sistema multielettronico senza far uso esplicito della funzione d'onda. Mediante l'uso di questo modello statistico per l'atomo si poté ricavare, almeno per un gas *omogeneo* di elettroni, un potenziale medio ( $V_{TF}$ ) esprimibile semplicemente attraverso la densità  $\rho(\mathbf{r})$ ; tuttavia, l'utilizzo pratico di questo potenziale risultò per i sistemi complessi, una grossolana approssimazione teorica. L'approccio quantomeccanico della DFT richiedeva, per ogni contributo energetico, una dipendenza diretta dalla densità, ma soprattutto occorreva poter esprimere univocamente tutte le proprietà di un sistema attraverso  $\rho(\mathbf{r})$  e formulare un principio variazionale che permettesse la minimizzazione dell'energia. Nei successivi paragrafi, verranno illustrati brevemente i due metodi e le principali differenze tra di essi.

## II.2-Il metodo di Hartree-Fock

La formulazione dell'equazione di Schrödinger indipendente dal tempo e non relativistica è:

$$H|\Phi\rangle = E|\Phi\rangle \quad (1)$$

Nel caso di un sistema molecolare con N elettroni ed M nuclei, "H", che rappresenta l'Hamiltoniano del sistema, ha la seguente forma:

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1, j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1, B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (2)$$

Il primo ed il secondo termine della (2) rappresentano il contributo dell'energia cinetica elettronica e nucleare; il terzo, il quarto ed il quinto rappresentano l'energia potenziale elettrostatica dovuta:

- all'attrazione nucleo-elettrone,

- alla repulsione elettrone-elettrone,
- alla repulsione nucleo-nucleo.

$M_A$  è la massa del nucleo  $A$ ,  $Z_A$  il suo numero atomico,  $r_{iA}$  è la distanza tra l'elettrone  $i$  ed il nucleo  $A$ ;  $r_{ij}$  è la distanza tra gli elettroni  $i$  e  $j$  ed infine  $R_{AB}$  è la distanza tra i nuclei  $A$  e  $B$ . Grazie all' approssimazione di Born-Oppenheimer,<sup>[3]</sup> (considerando la semplice differenza in peso tra nuclei ed elettroni), è possibile suddividere il sistema molecolare in due sottoinsiemi (quello elettronico e quello nucleare) e, quindi, semplificare la forma della (2) trascurando l'energia cinetica dei nuclei, in quanto considerati fissi, e mantenere costante l'interazione nucleo-nucleo. Si può prendere in considerazione separatamente il cosiddetto "Hamiltoniano elettronico":

$$\hat{H}_{el} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1, j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (3)$$

cioè, in forma sintetica:

$$\hat{H}_{el} = \hat{T} + \hat{U}_{ee} + \hat{U}_{ext} \quad (4)$$

La prima approssimazione per la funzione d'onda ( $\Phi_{el}$ ), associata ad  $\hat{H}_{el}$ , fu formulata da Hartree,<sup>[4]</sup> egli considerò un prodotto di funzioni d'onda monoelettroniche (prodotto di Hartree), che però non soddisfaceva la condizione di antisimmetria per  $\Phi_{el}$  imposta dal principio di Pauli.

La migliore approssimazione per  $\Phi_{el}$  è data dall'espressione monodeterminantale rappresentata da un prodotto antisimmetrizzato di  $N$ -spin-orbitali ortonormali  $\chi_i(x)$ , nota come **determinante di Slater**:

$$\Psi_{HF}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(\mathbf{r}_1) & \dots & \chi_i(\mathbf{r}_1) & \chi_j(\mathbf{r}_1) & \dots & \chi_N(\mathbf{r}_1) \\ \chi_1(\mathbf{r}_2) & \dots & \chi_i(\mathbf{r}_2) & \chi_j(\mathbf{r}_2) & \dots & \chi_N(\mathbf{r}_2) \\ \vdots & & \vdots & \vdots & & \vdots \\ \chi_1(\mathbf{r}_N) & \dots & \chi_i(\mathbf{r}_N) & \chi_j(\mathbf{r}_N) & \dots & \chi_N(\mathbf{r}_N) \end{vmatrix} \quad (5)$$

Dalla (1) si ricava facilmente l'espressione per il funzionale dell'energia del sottosistema elettronico nello stato  $\Psi$  :

$$E[\Psi] = \frac{\langle \Psi | \hat{H}_{el} | \Psi \rangle}{\langle \Psi | \Psi \rangle} \quad (6)$$

Ipotizzando che  $\Psi_{HF}$  rappresenti lo stato fondamentale del sistema e che l'integrale di normalizzazione  $\langle \Psi_{HF} | \Psi_{HF} \rangle$  sia pari ad 1, il valore di aspettazione per l'energia diventa:

$$E_{HF} = \langle \Psi_{HF} | \hat{H}_{el} | \Psi_{HF} \rangle = \sum_{i=1}^N h_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^N (J_{ij} - K_{ij}) \quad (7)$$

dove:

$$h_i = \int \chi_i^*(\mathbf{r}) \left[ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v(x) \right] \chi_i(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (8)$$

$$J_{ij} = \iint \chi_i^*(\mathbf{r}_1) \chi_i(\mathbf{r}_1) \frac{1}{r_{12}} \chi_j^*(\mathbf{r}_2) \chi_j(\mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (9)$$

$$K_{ij} = \iint \chi_i^*(\mathbf{r}_1) \chi_j(\mathbf{r}_1) \frac{1}{r_{12}} \chi_i(\mathbf{r}_2) \chi_j^*(\mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (10)$$

L' integrale  $J_{ij}$ , (interazione coulombiana tra l'i-esimo ed il j-esimo elettrone) e il termine  $v(x)$  (potenziale esterno rispetto agli elettroni) hanno una semplice interpretazione fisica; l'integrale di scambio  $K_{ij}$  non possiede un significato fisico in senso classico, ma deve la sua esistenza alla natura antisimmetrica del determinante di Slater. Il metodo Hartree-Fock fonda la sua base sull'applicazione del metodo

variazionale al funzionale dell'energia  $E_{HF}$  così descritto. In altre parole, poiché il fatto che la  $\Psi_{HF}$  rappresenti lo stato fondamentale del sistema è solo un'ipotesi e dipende dalla scelta delle stesse funzioni di base, il calcolo di  $E_{HF}$  attraverso un set di base *trial* per  $\Psi_{HF}$  non garantisce una soluzione esatta per l'energia, ma la minimizzazione di  $E_{HF}$  permette di riprodurre gli autovalori corretti del sistema. Tenendo presente la condizione di normalizzazione:

$$\int \chi_i^* \chi_j dx = \delta_{ij} \quad (11)$$

e la condizione di minimizzazione:

$$\delta E \Big|_{\Psi = \Psi_0} = 0 \quad (12)$$

$$E_0 = \min_{\Psi_{HF}} E \quad (13)$$

( $E_0$  pari all'energia del sistema nello stato fondamentale  $\Psi_0$ ), si giunge alle equazioni differenziali di Hartree-Fock:

$$\hat{F} |\chi_i(x)\rangle = \sum_{j=1}^N \varepsilon_{ij} |\chi_j(x)\rangle \quad (14)$$

$$\hat{F} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + v + (\hat{j} - \hat{k}) \quad (15)$$

dove  $\varepsilon$  è una matrice Hermitiana (in quanto  $\varepsilon_{ij} = \varepsilon_{ij}^*$ ), i cui elementi sono costituiti dai moltiplicatori di Lagrange associati alla condizione (11).

E' fondamentale sottolineare che l'operatore  $\hat{F}$  è esso stesso funzione degli spin-orbitals  $\chi_k$ , infatti quando gli operatori  $\hat{j}$  e  $\hat{k}$  operano su una generica funzione  $f(x_1)$  si ottiene:

$$\hat{j}(x_1)f(x_1) = \sum \int \chi_k^* \chi_k \frac{1}{r_{12}} f(x_1) dx_2 \quad (16)$$

$$\hat{k}(x_1)f(x_1) = \sum_k \int \chi_k^*(x_2) f(x_2) \frac{1}{r_{12}} \chi_k(x_1) dx_2 \quad (17)$$

Ciò comporta che le soluzioni della (14) devono essere ottenute iterativamente, a partire da funzioni  $\chi_k$  *trial*, seguendo quello che è noto come metodo SCF (Self Consistent Field).

La risoluzione matematica dell'equazione (14) risulta semplificata considerando che la funzione d'onda monodeterminante resta invariata per una trasformazione unitaria degli orbitali occupati  $\chi_k$  in un altro set  $\phi_k$ . Per cui, ponendo:

$$|\phi_\mu\rangle = \sum_k U_{\mu k} |\chi_k\rangle \quad (18)$$

dove  $U$  è una matrice unitaria ( $U^+U = 1$ ), l'equazione (14) diventa:

$$\hat{F}|\phi_\mu\rangle = \sum_{j=1}^N \varepsilon_{j\mu} |\phi_j\rangle \quad (19)$$

dove

$$\varepsilon = U \varepsilon U^+ \quad (20)$$

E' quindi possibile scegliere arbitrariamente il set di spin-orbitali di base e trovare la matrice  $U$  che diagonalizza la matrice degli autovalori ottenendo gli *orbitali canonici di Hartree-Fock* che soddisfano le equazioni canoniche di Hartree-Fock:

$$\hat{F}\phi_\mu = \varepsilon_\mu \phi_\mu \quad (21)$$

### II.3-I metodi CI (interazione di configurazione).

Il metodo di Hartree-Fock presenta il limite di trascurare, tra i vari contributi al funzionale dell'energia, il termine generalmente definito come energia di

correlazione, che rappresenta l'interazione esistente tra elettroni con spin opposto. La funzione d'onda monodeterminantale rappresenta solo una buona approssimazione della funzione d'onda reale di un sistema multielettronico in quanto non prende in considerazione le interazioni istantanee tra gli elettroni. La probabilità di trovare due elettroni, in prossimità della medesima posizione è bassissima. Quella che può essere chiamata "assenza" di un elettrone in una data posizione dello spazio viene definita "presenza" di una buca di Coulomb (*Coulomb hole*) che, di conseguenza, circonda ciascun elettrone. Il moto degli elettroni è correlato in conseguenza dell'influenza che ciascun elettrone genera sulla posizione di ogni altro. L'uso del determinante di Slater restringe questa correlazione al solo moto degli elettroni con spin parallelo, attribuendo un valore diverso da zero alla probabilità di trovare due elettroni con spin antiparallelo nella stessa regione di spazio (*Fermi hole*).

Per tenere conto anche della correlazione nel moto di elettroni con spin opposto si può sostituire l'espressione monodeterminantale di Slater con una funzione d'onda sottoposta a correzioni di ordine superiore che includono configurazioni elettroniche eccitate:

$$\Phi_{CI} = |\Phi\rangle = C_0 |\Psi_0\rangle + \sum_{ir} C_i^r |\Psi_i^r\rangle + \sum_{\substack{i<j \\ r<s}} C_{ij}^{rs} |\Psi_{ij}^{rs}\rangle + \dots \quad (22)$$

Tali funzioni d'onda sono alla base dei metodi di interazione di configurazione (CI), che differiscono per il diverso numero e tipo di eccitazioni elettroniche in funzione dei sistemi in esame e del costo computazionale sostenibile.

Il numero massimo di determinanti di Slater che possono essere costruiti (per eccitazioni singole, doppie, triple, etc.) dipende dal numero N di elettroni e dal numero di *spin-orbitals* di cui si dispone, per esempio, con 2K-(spin-orbitals) ed N-

elettroni si possono ottenere fino a  $\binom{2K}{N}$  determinanti. Applicando il principio

variazionale, considerando le eccitazioni desiderate, si può formare la matrice di rappresentazione dell'Hamiltoniano di Born-Oppenheimer dall'espansione (22). Si ottiene così l'esatta energia non relativistica dello stato fondamentale del sistema; la differenza tra questa quantità ed il limite di Hartree-Fock ( $E_{HF}$ ) è proprio l'energia di correlazione trascurata dal metodo Hartree-Fock:

$$E_{corr}^{HF} = E - E_{HF} \quad (23)$$

### II.4-II metodo del Funzionale della Densità (DFT)

L'utilizzo della teoria del funzionale della densità permette di trattare sistemi molecolari, anche di grandi dimensioni, contemplando il contributo energetico dovuto alla correlazione e con un costo computazionale notevolmente più basso di qualunque metodo CI e addirittura paragonabile a quello del metodo HF.

Tali vantaggi sono dovuti alle proprietà funzionali della densità elettronica  $\rho(\mathbf{r})$ , la quale viene definita come il numero di elettroni per unità di volume e che in termini di funzione d'onda può essere espressa come:

$$\rho(\mathbf{r}) = N \int \dots \int |\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)|^2 d\sigma_1 dx_2 \dots dx_N \quad (24)$$

Integrando la (24) su tutto lo spazio si ottiene il numero totale di elettroni:

$$\int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N \quad (25)$$

#### II.4.1-I Teoremi di Hohenberg e Kohn

Sia l'energia che la funzione d'onda dello stato fondamentale di un sistema multielettronico possono essere ottenute minimizzando il valore di aspettazione dell'Hamiltoniano:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{est} \quad (26)$$

dove  $\hat{V}_{est}$  è un generico potenziale esterno espresso come:

$$\hat{V}_{est} = \sum_{i=1}^N v(r_i) \quad (27)$$

L'operatore  $\hat{H}$  (fissato N), nella (26), è determinato dal potenziale esterno  $v(\mathbf{r})$ , conseguentemente, N e  $v(\mathbf{r})$  determinano tutte le proprietà dello stato fondamentale non degenero di un sistema.

Il **primo teorema di Hohenberg e Kohn**<sup>[5]</sup> afferma che, al posto di N e  $v(\mathbf{r})$ , può essere riconosciuta come unica variabile fondamentale proprio la densità  $\rho(\mathbf{r})$ , la quale determina *univocamente* :

- il potenziale  $v(\mathbf{r})$ ;
- l'Hamiltoniano, e di conseguenza il valore di aspettazione;
- la funzione d'onda  $\Psi$  dello stato fondamentale.

Di conseguenza, il valore di aspettazione di ciascun operatore che compare nella (26) può essere espresso come un unico funzionale della densità.

I termini relativi all'energia cinetica e alla repulsione elettronica, poiché non dipendono dal potenziale  $v(\mathbf{r})$ , sono equivalenti per tutti i sistemi multielettronici e costituiscono il cosiddetto "funzionale universale":

$$F[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (28)$$

L'energia totale può essere scritta come la somma di più contributi esprimibili come funzionali della densità  $\rho(\mathbf{r})$ :

$$E[\rho] = T[\rho] + J[\rho] + \tilde{E}_{xc}[\rho] + V_{ext}[\rho] \quad (29)$$

dove  $J[\rho]$  vale:

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \iint r_{12}^{-1} \rho(\mathbf{r}_1) \rho(\mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (30)$$

$V_{ext}$ , rappresenta il valore medio dell'operatore  $\hat{V}_{ext}$  :

$$V_{ext} = \int \rho(\mathbf{r}) v(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (31)$$

In forma più compatta la (29) diventa:

$$E[\rho] = F[\rho] + \int \rho(r) v(r) dr \quad (32)$$

L'esatta forma del funzionale universale  $F[\rho]$  permetterebbe di determinare correttamente la forma dell'energia dello stato fondamentale. L'impossibilità di poter determinare con esattezza il funzionale dell'energia cinetica  $T[\rho]$  e quello di scambio e correlazione  $\tilde{E}_{xc}[\rho]$  all'interno di  $F[\rho]$  è stato ed è il più grosso limite teorico della DFT.

Il **secondo teorema di Hohenberg e Kohn** rappresenta il principio variazionale attraverso il quale si giunge al valore esatto dell'energia minimizzando il funzionale della (32) partendo da un valore di densità tentativo  $\tilde{\rho}$ :

$$E_0 \leq E_v[\tilde{\rho}] \quad (33)$$

dove  $E_0$  è l'energia corretta ed  $E_v[\rho]$  rappresenta il funzionale dell'energia corrispondente ad un dato potenziale esterno  $v(r)$ .

Assumendo che  $E_v[\rho]$  sia differenziabile, l'applicazione del principio variazionale richiede che venga soddisfatta la condizione di stazionarietà:

$$\delta \left\{ E_v[\rho] - \mu \left[ \int \rho(r) dr - N \right] \right\} = 0 \quad (34)$$

Dalla (34) si ricava l'equazione di Eulero-Lagrange:

$$\mu = \frac{\delta E_v}{\delta \rho(r)} = v(r) + \frac{\delta F[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (35)$$

dove  $\mu$  rappresenta il potenziale chimico.<sup>[6]</sup>

### II.4.2-Le Equazioni di Kohn-Sham

Il primo contributo alla determinazione del funzionale dell'energia cinetica  $T[\rho]$ , con discreti livelli di accuratezza, fu fornito da Kohn e Sham<sup>[7]</sup> nel 1965. Essi considerarono un sistema di riferimento fittizio costituito da N elettroni non interagenti per il quale si possono esprimere sia l'energia cinetica, che la densità dello stato fondamentale in termini degli orbitali monoelettronici  $\phi_i$ :

$$T_s[\rho] = \sum_{i=1}^{occ} \langle \phi_i | -\frac{1}{2} \nabla_i^2 | \phi_i \rangle \quad (36)$$

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^{occ} \sum_s |\phi_i(\mathbf{r}, s)|^2 \quad (37)$$

Per questo sistema l'Hamiltoniano totale è:

$$\hat{H}_s = \sum_{i=1}^N \left( -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_s(\mathbf{r}_i) \right) \quad (38)$$

dove il potenziale esterno  $v_s$  si assume tale che, la densità dello stato fondamentale per il sistema di elettroni non interagenti, coincida con quella del sistema reale in esame.

L'energia cinetica del sistema reale può essere espressa come contributo di due termini:

$$T[\rho] = T_s[\rho] + T_c[\rho] \quad (39)$$

dove  $T_s[\rho]$  è l'energia cinetica del sistema di elettroni non interagenti,  $T_c[\rho]$  è quella che tiene conto della correlazione. Di conseguenza, il funzionale universale può essere ridefinito come:

$$F[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (40)$$

dove  $E_{xc}[\rho]$  rappresenta il funzionale di scambio e correlazione che, a differenza delle sue tradizionali definizioni, contiene anche un termine corrispondente all'energia cinetica (di correlazione):

$$E_{xc}[\rho] = T_c[\rho] + \tilde{E}_{xc}[\rho] \quad (41)$$

Utilizzando la (40) e la (41), l'equazione di Eulero-Lagrange diviene:

$$\mu = v_{eff}(\mathbf{r}) + \frac{\delta T_s[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})} \quad (42)$$

dove  $v_{eff}(\mathbf{r})$  è il potenziale locale di una singola particella, ossia il potenziale effettivo di Kohn-Sham:

$$v_{eff}(\mathbf{r}) = v(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{xc}(\mathbf{r}) \quad (43)$$

che include il potenziale di scambio e correlazione  $v_{xc}(\mathbf{r})$ , definito come:

$$v_{xc}(\mathbf{r}) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r})} \quad (44)$$

Per riprodurre la densità esatta si risolve il sistema di N equazioni monoelettroniche definite **equazioni di Kohn-Sham**:

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{eff}(\mathbf{r}) \right] \varphi_j = \varepsilon_j \varphi_j \quad (45)$$

Poiché le equazioni monoelettroniche (45) sono mutuamente accoppiate, la loro risoluzione necessita di un metodo autoconsistente. Si parte da una densità tentativo  $\rho(\mathbf{r})$  mediante la quale è possibile valutare il potenziale  $v_{eff}(\mathbf{r})$ , e si risolve la (45); gli autostati ottenuti vengono utilizzati per costruire una nuova  $\rho(\mathbf{r})$ , attraverso la

(37), dalla quale si può calcolare un nuovo  $v_{eff}$  e così fino alla autoconsistenza. Utilizzando il set di orbitali  $\varphi_i$  imponendo che debbano rimanere ortonormali durante la procedura, si ottiene la minimizzazione del funzionale  $E$ :

$$\int \varphi_i^* \varphi_j dx = \delta_{ij} \tag{46}$$

La differenza formale tra le equazioni differenziali di Hartree-Fock e le equazioni di Kohn-Sham risiede sostanzialmente nell'interpretazione di  $v_{xc}$  il quale, in un caso, rappresenta le sole interazioni di scambio presenti nell'operatore di Fock (che opera sulla funzioni d'onda monoelettroniche e gli spin-orbital  $\chi_i$ ), e nell'altro comprende tutte le interazioni interelettroniche in maniera indipendente dallo spin-orbital  $\chi_i$ . In sostanza, si può affermare che nel metodo Hartree-Fock si risolve l'*Hamiltoniano esatto per una funzione d'onda approssimata* (funzione monodeterminante), mentre nel metodo DFT proposto da Kohn e Sham, si risolve un *Hamiltoniano approssimato* (incertezza su  $v_{xc}$ ) *per una funzione d'onda esatta*. Mentre gli sviluppi del metodo Hartree-Fock tendono a migliorare la forma della funzione d'onda, i corrispondenti progressi per la risoluzione esatta delle equazioni di Kohn-Sham sono indirizzati verso la ricerca di un'espressione più accurata per l'energia di scambio e correlazione. L'energia di scambio e correlazione può essere espressa  $E_{xc}$  come somma di due distinti contributi:

$$E_{xc} = E_x + E_{corr} \tag{47}$$

Nell'**approssimazione della densità locale (LDA)**, nella quale la densità elettronica è associabile a quella di un gas uniforme di elettroni, la parte di  $E_{xc}$  dovuta allo scambio ( $E_x$ ) è data da quella già ottenuta da Bloch<sup>[8]</sup>, ed in seguito elaborata da Dirac<sup>[9]</sup> nell'ambito del modello di Thomas-Fermi<sup>[1,2]</sup>, che ha la forma:

$$E_x = -C_x \rho^{1/3} \tag{48}$$

con  $C_x = \frac{3}{4} \left( \frac{3}{\pi} \right)^{1/3}$ , ne consegue un potenziale di scambio:

$$v_x^{LDA}[\rho] = - \left( \frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \rho^{2/3} \quad (49)$$

L'utilizzo di questo potenziale di interesse generale è storicamente approvato dal metodo  $X_\alpha$ , sviluppato da Slater<sup>[10]</sup> come approssimazione nel metodo di Hartree-Fock, per il quale il potenziale  $X_\alpha$  ha la forma:

$$v_{x\alpha}[\rho] = - \frac{3}{2} \alpha \left( \frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \rho^{2/3} \quad (50)$$

Il metodo  $X_\alpha$  può essere considerato come un'approssimazione della densità locale, in cui non si prende in considerazione alcuna correlazione; per  $\alpha = 2/3$  questo potenziale corrisponde a  $v_{xc}^{LDA}[\rho]$ . Per ciò che concerne la forma di  $E_{corr}[\rho]$ , sempre nell'ambito LDA, un prezioso contributo è stato fornito dagli accurati calcoli Monte Carlo di Ceperley e Alder<sup>[11,12]</sup> che hanno fornito dati dai quali Vosko, Wilk e Nusair (VWN)<sup>[13]</sup> hanno estrapolato una forma analitica per  $\epsilon_{corr}[\rho]$ . L'approssimazione della densità locale è utile per il calcolo delle strutture geometriche, vibrazioni molecolari, energie di legame e barriere di reazione, ma resta applicabile a sistemi con densità che varia gradualmente e non a sistemi in cui la densità elettronica si discosta da quella di un gas uniforme. Per questi ultimi sistemi, è necessario trattare la densità in maniera non-locale ovvero abbandonando l'idea di una densità elettronica omogenea ed introducendo il concetto di *gradiente di densità*. Se si introduce nel funzionale di scambio e correlazione  $E_{xc}^{LDA}[\rho]$  un gradiente generalizzato della densità si ricade in quella che è definita **approssimazione del gradiente generalizzato (GGA)** in cui  $E_{xc}[\rho]$  è espressa attraverso la formula generale:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int \epsilon_{xc}(\rho, |\nabla\rho|, \nabla^2\rho) d^3r \quad (51)$$

Kohn e Sham<sup>[14]</sup> proposero di considerare l'approssimazione LDA come il primo termine di una espansione in serie di Taylor per  $E_{xc}$  (intorno al valore ottenibile per una densità uniforme) e di aggiungere ad essa gli altri termini della serie. Questa nuova approssimazione, chiamata dell'espansione del gradiente (**GEA**) non è di apprezzabile uso pratico ma fu fondamentale per dare inizio alla costruzione di numerosi tipi di funzionali per lo scambio e la correlazione tra cui i più noti sono:

- il funzionale di Perdew e Wang (**PW86**)<sup>[15]</sup> utile per garantire la condizione di normalizzazione della funzione di scambio;
- il funzionale di correlazione sviluppato da Perdew<sup>[16]</sup>;
- il funzionale derivato da Lee, Yang e Parr (**LYP**)<sup>[17]</sup> che si basa sull'approssimazione dell'energia di correlazione proposta per l'atomo di He da Colle e Solvetti<sup>[18,19]</sup>;
- il funzionale di scambio creato da Becke (**B88**)<sup>[20]</sup> per correzione della GEA
- il funzionale proposto da Perdew e Wang nel 1991 (**PW91**).<sup>[21,22]</sup>

Un funzionale ibrido miscela l'energia di scambio esatto  $\epsilon_x^{HF}$ , ottenuta con il metodo Hartree-Fock, con le formule dell'energia di scambio  $E_x$  e di correlazione  $E_c$  ottenute con l'approssimazione del gradiente. Un esempio di funzionale ibrido, usato in questo lavoro di tesi, è il **PBE0** proposto da Perdew, Ernzerhof e Burcke nel 1996,<sup>[23,24]</sup> in cui il contributo di energia di scambio esatto fosse del 25%, sulla base di argomentazioni di tipo perturbativo:

$$E_{xc}^{ibrido} = E_{xc}^{GGA} + 0.25(\epsilon_x^{HF} - E_x^{GGA}) \quad (52)$$

Se il funzionale di scambio e correlazione **PBE**<sup>[25]</sup> è scelto come componente GGA nella (52), deriva il modello **PBE0**, anche noto come **PBE1PBE**.

## II.5-La Teoria del Funzionale della Densità Dipendente dal Tempo<sup>[26]</sup>

La generalizzazione della teoria DFT per fenomeni dipendenti dal tempo, come gli spettri elettronici, si basa sul teorema di Runge-Gross,<sup>[27,28]</sup> che è l'analogo del

primo teorema di Hohenberg-Kohn per i sistemi dipendenti dal tempo. Consideriamo l'equazione di Schrödinger dipendente dal tempo per un sistema ad N-elettroni:

$$\hat{H}(t)\Psi(t) = i\frac{\partial}{\partial t}\Psi(t) \quad (53)$$

con:

$$\hat{H}(t) = \underbrace{-\frac{1}{2}\sum_{i=1}^N \nabla_i^2}_{\hat{T}} + \underbrace{\sum_{i<j} \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|}}_{\hat{U}} + \underbrace{\sum_{i=1}^N v(\vec{r}_i, t)}_{V(t)} \quad (54)$$

dove  $\hat{T}$  è l'energia cinetica,  $\hat{U}$  è l'energia di repulsione interelettronica e  $V(t)$  il potenziale esterno, assunto costante per  $t < t_0$ . Considerando solo le deboli perturbazioni di natura elettrica, si può assumere che il potenziale esterno  $V(t)$  è costituito da operatori di carattere moltiplicativo; diversamente da quanto accade in presenza di campi magnetici. Il teorema di Runge-Gross dimostra che esiste una corrispondenza biunivoca tra la densità di carica  $\rho(\vec{r}, t)$  e la funzione d'onda del sistema  $\Psi(t)$ , definita a meno di un fattore di fase dipendente dal tempo:

$$\Psi(t) = e^{-i\phi(t)}\Psi[\vec{r}, \Psi_0](t) \quad (55)$$

dove  $\Psi_0$  indica la funzione d'onda al tempo  $t_0$ . Runge e Gross dimostrarono inoltre che il potenziale esterno  $v(\vec{r}, t)$  è determinato univocamente dalla densità di carica  $\rho(\vec{r}, t)$ , a meno di un fattore dipendente dal tempo  $c(t)$ , a condizione che:

- a. la densità  $\rho(\vec{r}, t)$  derivi da un sistema con stato iniziale  $\Psi_0$ ;
- b. il potenziale  $v(\vec{r}, t)$  sia rappresentabile da un potenziale di tipo elettrico, derivante da una densità di carica normalizzabile, ed abbia una dipendenza temporale esprimibile con uno sviluppo in serie di Taylor attorno a  $t = t_0$ .

Nella teoria della risposta lineare la funzione d'onda  $\Psi_0$  rappresenta lo stato fondamentale stazionario del sistema imperturbato, quindi in base al primo teorema

di Hohenberg-Kohn è determinato in modo univoco dalla densità  $\rho_0 = \rho(t_0)$  e la (55) si può riscrivere in funzione solo di  $\rho(\vec{r}, t)$ . Il valore di aspettazione di un generico operatore  $\widehat{O}(t)$ , che non contenga operatori differenziali od integrali, è un funzionale della densità  $\rho(\vec{r}, t)$ , in quanto il fattore di fase si elimina nell'operazione di integrazione:

$$\langle \Psi(t) | \widehat{O}(t) | \Psi(t) \rangle = O[\rho](t) \quad (56)$$

Nella teoria DFT dipendente dal tempo, il ruolo svolto dall'energia nel secondo teorema di Hohenberg-Kohn, è invece svolto da:

$$A = \int_{t_0}^t \left\langle \Psi(t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \widehat{H}(t) \right| \Psi(t) \right\rangle dt \quad (57)$$

La densità reale dipendente dal tempo è tale da minimizzare l'espressione (57):

$$A = \int_{t_0}^t \left\langle \frac{\delta \Psi(\mathbf{r}, t)}{\delta \rho(\mathbf{r}, t)} \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \widehat{H}(t) \right| \Psi(t) \right\rangle dt \quad (58)$$

Nonostante il valore di aspettazione di  $A$  nella (57) non sia nella forma prevista nella (56), si può dimostrare che il fattore di fase contribuisce solo per una costante additiva all'azione:

$$A = \int_{t_0}^t \left\langle \Psi[\rho](t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \widehat{H}(t) \right| \Psi[\rho](t) \right\rangle dt + \phi[\rho] - \phi[\rho_0] = A[\rho] + const. \quad (59)$$

quindi la densità determina l'azione a meno di un termine additivo. La forma funzionale dell'azione può essere riscritta nel seguente modo:

$$A[\rho] = B[\rho] + \int_{t_0}^t \int_V v(\mathbf{r}, t) \rho(\mathbf{r}, t) d\mathbf{r} dt \quad (60)$$

dove il funzionale  $B$  è indipendente dal potenziale esterno  $v(\mathbf{r}, t)$ .

E' possibile derivare le equazioni di Kohn e Sham in funzione del tempo, assumendo l'esistenza di un potenziale  $v_{eff}(\mathbf{r}, t)$ , per un sistema di particelle indipendenti tali per cui gli orbitali  $\psi_i(\mathbf{r}, t)$  generino la stessa densità di carica del sistema di particelle interagenti:

$$\rho(\mathbf{r}, t) = \sum_i f_i |\psi_i(\mathbf{r}, t)|^2 \quad (61)$$

dove i termini  $f_i$  sono i numeri di occupazione degli orbitali. L'esistenza del potenziale  $v_{eff}(\mathbf{r}, t)$  consente di esprimere il funzionale universale  $B[\rho]$  come:

$$B[\rho] = \sum_i f_i \int_{t_0}^t \left\langle \psi_i(\mathbf{r}, t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i(\mathbf{r}, t) \right\rangle dt - \frac{1}{2} \int_{t_0}^t \iint \frac{\rho(\mathbf{r}_1, t) \rho(\mathbf{r}_2, t)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 dt - A_{xc}[\rho] \quad (62)$$

definendo così un funzionale di scambio e correlazione dell'azione  $A_{xc}$  che svolge un ruolo analogo al funzionale dell'energia nel caso indipendente dal tempo. La minimizzazione dell'azione (60) soggetta al vincolo (61) conduce a:

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{eff}(\mathbf{r}, t) \right] \psi_i(\mathbf{r}, t) = i \frac{\partial}{\partial t} \psi_i(\mathbf{r}, t) \quad (63)$$

dove

$$v_{eff}(\mathbf{r}, t) = v(\mathbf{r}, t) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}', t)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{xc}(\mathbf{r}, t) \quad (64)$$

e

$$v_{xc}(\mathbf{r}, t) = \frac{\delta A_{xc}[\rho]}{\delta \rho(\mathbf{r}, t)} \quad (65)$$

Sebbene la forma del funzionale  $A_{xc}$  non sia nota, nel caso di un potenziale esterno che varia lentamente nel tempo, esso si può ricondurre alla seguente espressione:

$$A_{xc} = \int_{t_0}^t E_{xc}[\rho_t] dt \quad (66)$$

dove  $E_{xc}$  è il funzionale di scambio e correlazione nella teoria di Kohn-Sham indipendente dal tempo, e  $\rho_t$  è la densità calcolata al tempo  $t$ . Questa approssimazione è nota come approssimazione adiabatica. Mentre il funzionale  $A_{xc}$  dipende da  $\rho$  nelle coordinate spaziali e temporali,  $E_{xc}$  dipende solo da quelle spaziali calcolate al tempo  $t$ . Nell'approssimazione adiabatica la derivata prima di  $A_{xc}$  non è altro che il potenziale di scambio e correlazione del caso indipendente dal tempo, con la densità calcolata al tempo  $t$ .

$$v_{xc}[\rho_t] = \frac{\delta A_{xc}[\rho_t]}{\delta \rho(\mathbf{r}, t)} = \frac{\delta E_{xc}[\rho_t]}{\delta \rho_t(\mathbf{r})} = v_{xc}[\rho_t] \quad (67)$$

### II.6-La Teoria della Risposta Lineare in DFT.

La teoria della risposta lineare studia la reazione di un sistema, che si trovi inizialmente in uno stato stazionario, generalmente quello fondamentale  $\Psi_0$ , ad una perturbazione esterna. La teoria quantistica delle perturbazioni dipendenti dal tempo consente di trattare, in prima approssimazione, un sistema atomico o molecolare secondo la meccanica quantistica e descrivere il perturbatore esterno secondo la fisica classica. Nel caso in cui il perturbatore è un campo elettrico  $\vec{\epsilon}(t)$ , si può esprimere nel seguente modo:

$$\vec{\epsilon}(t) = \vec{\epsilon} \cos \omega_0 t \quad (68)$$

dove  $\omega_0$  indica la frequenza angolare della radiazione elettromagnetica e  $\vec{\varepsilon}$  la componente spaziale, mentre il potenziale d'interazione  $\nu(\vec{r}, t)$  tra il momento di dipolo elettrico classico del sistema,  $\vec{\mu}$ , ed il fotone interagente è:

$$\nu(\vec{r}, t) = e\vec{\varepsilon} \cdot \vec{r} \quad (69)$$

Il valore d' aspettazione di un'osservabile fisico,  $O$ , cui sia associato l'operatore  $\hat{O}$ , per un sistema allo stato fondamentale  $\Psi_0$ , è dato da:

$$\langle O \rangle = \langle \Psi_0 | \hat{O} | \Psi_0 \rangle \quad (70)$$

Nel caso in cui la grandezza fisica in esame sia il momento di dipolo elettrico permanente  $\vec{\mu}$  del sistema, la (70) diventa:

$$\langle \vec{\mu} \rangle = \langle \Psi_0 | e\vec{r} | \Psi_0 \rangle \quad (71)$$

La presenza del perturbatore esterno dipendente dal tempo,  $\vec{\varepsilon}(t)$ , produce un momento di dipolo indotto sul sistema, la cui variazione infinitesima,  $\delta\vec{\mu}(t)$ , è data:

$$\delta\vec{\mu}(t) = -e \left( \langle \Psi_0 | \vec{r} | \delta\Psi_0 \rangle + \langle \delta\Psi_0 | \vec{r} | \Psi_0 \rangle \right) \quad (72)$$

La risposta lineare di un'osservabile generica  $\hat{a}$  ad una perturbazione del tipo  $\hat{b}(t) = \hat{b} \cos \omega_0 t$  è derivabile utilizzando l'equazione di Schrödinger indipendente dal tempo:

$$\hat{H}\Psi_I = E_I \Psi_I \quad (73)$$

con  $\Psi_I$  ed  $E_I$ , funzione d'onda ed energia del generico stato  $I$ , ed in quella dipendente dal tempo, in presenza del perturbatore  $\hat{b}(t)$ :

$$\left[ \hat{H} + \hat{b}(t) \right] \Psi_0(t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi_0(t) \quad (74)$$

La funzione d'onda dello stato  $\Psi_0$  ad un generico istante  $t$ , a seguito della perturbazione è esprimibile come:

$$\Psi_0(t) = \left[ \Psi_0 + \delta\Psi_0(t) + \dots \right] e^{-iE_0 t/\hbar} \quad (75)$$

e sostituendo nella (74), si ottiene:

$$\hat{b}(t)\Psi_0 = \left( i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - \hat{H} + E_0 \right) \delta\Psi_0 \quad (76)$$

Utilizzando il teorema della trasformata di Fourier, per cui data una funzione  $f$  definita nel dominio del tempo  $t$

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega t} f(t) dt \quad (77)$$

è possibile passare alla sua rappresentazione nel dominio delle frequenze  $\omega$

$$f(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-i\omega t} f(\omega) d\omega \quad (78)$$

Si può trasformare la (76), in:

$$\hat{b}(\omega)\Psi_0 = \left( \omega - \hat{H} + E_0 \right) \delta\Psi_0(\omega) \quad (79)$$

ed applicando il metodo perturbativo di Rayleigh-Schrödinger all'equazione (79) si ottiene la correzione al primo ordine,  $\delta\Psi_0(\omega)$  nel dominio delle frequenze, alla funzione d'onda  $\Psi_0$ :

$$\delta\Psi_0(\omega) = \sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{\langle \Psi_I | \widehat{b}(\omega) | \Psi_0 \rangle}{\omega - \omega_I} \quad (80)$$

dove  $\hbar\omega_I = E_I - E_0, (\hbar = 1)$ .

Tenendo conto delle relazioni:

$$\int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega t} \cos \omega_0 t dt = \pi \left[ \delta(\omega + \omega_0) + \delta(\omega - \omega_0) \right] \quad (81)$$

$$\int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega t} \sin \omega_0 t dt = \frac{\pi}{i} \left[ \delta(\omega + \omega_0) - \delta(\omega - \omega_0) \right] \quad (82)$$

si ottiene la rappresentazione di  $\delta\Psi_0$  nel dominio temporale:

$$\delta\Psi_0(t) = \left( \sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{\omega_I \langle \Psi_I | \widehat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_0^2 - \omega_I^2} \right) \cos \omega_0 t - i \left( \sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{\omega_0 \langle \Psi_I | \widehat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_0^2 - \omega_I^2} \right) \sin \omega_0 t. \quad (83)$$

Dalla (83) è possibile ricavare per un'osservabile  $\widehat{a}$  la sua risposta o variazione lineare infinitesima ad una perturbazione esterna:

$$\delta\langle \widehat{a}(t) \rangle = \langle \Psi_0 | \widehat{a} | \delta\Psi_0(t) \rangle + \langle \delta\Psi_0(t) | \widehat{a} | \Psi_0 \rangle \quad (84)$$

$$\begin{aligned} \delta\langle \widehat{a}(t) \rangle &= \left( \sum_{I \neq 0} \frac{2\omega_I \operatorname{Re} \langle \Psi_0 | \widehat{a} | \Psi_I \rangle \langle \Psi_I | \widehat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_0^2 - \omega_I^2} \right) \cos \omega_0 t \\ &+ \left( \sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{2\omega_0 \operatorname{Im} \langle \Psi_0 | \widehat{a} | \Psi_I \rangle \langle \Psi_I | \widehat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_I^2 - \omega_0^2} \right) \sin \omega_0 t \end{aligned} \quad (85)$$

Un caso interessante di applicazione della teoria della risposta lineare a proprietà fisiche, è dato dalla polarizzabilità dinamica molecolare  $\alpha(\omega)$ , che misura proprio l'abilità di una molecola a reagire ad un campo elettrico applicato ed acquisire un momento di dipolo elettrico.

Se consideriamo, per semplicità di trattazione, il campo elettrico applicato alla molecola, orientato lungo la direzione  $z$  e sviluppiamo in serie la componente  $x$  del momento di dipolo della molecola  $\mu_x(t)$ , rispetto al vettore campo elettrico  $\varepsilon_z(t)$  otteniamo:

$$\mu_x(t) = \mu_x + \int_{-\infty}^{+\infty} \alpha_{xz}(t-t') \varepsilon_z(t') dt' + \dots \quad (86)$$

dove  $\mu_x$  è il momento di dipolo permanente ed  $\alpha_{xz}$  è tale per cui la sua trasformata di Fourier risulta uguale a:

$$\alpha_{xz}(t) = \frac{\delta\mu_x(\omega)}{\varepsilon_z(\omega)} \quad (87)$$

con  $\delta\mu_x(\omega)$  che è la risposta lineare del momento di dipolo [il valore dell'integrale in (86)].

Applicando il teorema della 'somma sugli stati' si arriva ad esprimere  $\alpha_{xz}$  come:

$$\alpha_{xz} = \sum_I \frac{2 \mathbf{e}_I - E_0 \left( \langle \Psi_0 | \hat{x} | \Psi_I \rangle \langle \Psi_I | \hat{z} | \Psi_0 \rangle \right)}{\mathbf{e}_I - E_0 - \omega^2} \quad (88)$$

Quindi è possibile stabilire una connessione tra l'espressione (88) per la polarizzabilità  $\alpha_{xz}$ , ed uno spettro elettronico. Le due grandezze che caratterizzano uno spettro elettronico sono l'energia di eccitazione  $\omega_I$ :

$$\omega_I = E_I - E_0 \quad (89)$$

e la relativa forza dell'oscillatore  $f_I$ :

$$f_I = \frac{2}{3} \mathbf{e}_I - E_0 \left( \left| \langle \Psi_0 | \hat{x} | \Psi_I \rangle \right|^2 + \left| \langle \Psi_0 | \hat{y} | \Psi_I \rangle \right|^2 + \left| \langle \Psi_0 | \hat{z} | \Psi_I \rangle \right|^2 \right) \quad (90)$$

Queste due grandezze non sono altro, rispettivamente che i poli (valori di  $\omega$  che annullano il denominatore) ed i residui (valori di  $f$ ) della polarizzabilità dinamica media  $\bar{\alpha}(\omega)$  (valore medio della traccia del tensore polarizzabilità):

$$\bar{\alpha}(\omega) = \frac{1}{3} \text{tr} \bar{\alpha}(\omega) = \sum_I \frac{f_I}{\omega_I^2 - \omega^2} \quad (91)$$

Questa formula sarebbe utile per ricavare la polarizzabilità media, se si conoscessero i valori esatti di ciascuna  $\omega_I$  ed  $f_I$ . Tuttavia questo procedimento presenta delle difficoltà; risulta invece più ‘semplice’ la procedura inversa, cioè derivare un’espressione per la polarizzabilità, con la teoria DFT dipendente dal tempo, ed utilizzare la (91) per ricavare le energie di eccitazione e le forze dell’oscillatore e quindi in ultima analisi lo spettro elettronico di assorbimento. In altre parole è sufficiente conoscere la dipendenza della densità di carica dipendente dal tempo  $\rho(\vec{r}, t)$ .

Partendo dall’equazione di Kohn-Sham dipendente dal tempo, si perviene, con una trattazione matematica laboriosa, ad una formulazione della polarizzabilità dinamica  $\alpha_{xz}$  che implica la risoluzione di un’equazione ad autovalori:

$$\Omega F_I = \omega_I^2 F_I \quad (92)$$

dove  $\Omega$  è una matrice hermitiana. La risoluzione computazionale della (92), mediante l’algoritmo di Davidson, permette di ricavare le energie di eccitazione  $\omega_I$  e le forze dell’oscillatore  $f_I$ , rispettivamente come gli autovalori ed autovettori del problema (92).

**Bibliografia**

- [1] Thomas, L. H. *Proc. Cambridge Phil. Soc.* **1926**, 23, 542.
- [2] Fermi E., *Z. Phys.* **1926**, 48, 542.
- [3] Born, M.; Oppenheimer J. R., *Ann. Phys.* **1927**, 84, 457.
- [4] Hartree, D. R. *Proc. Camb. Phil. Soc.* **1928**, 24, 111.
- [5] Hohenberg P., Kohn, W. *Phys. Rev.* **1964**, 136, B864.
- [6] Parr, R. G., Yang, W. in *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*, Oxford Univ. Press., New York **1989**.
- [7] Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev.* **1966**, 145, 561.
- [8] Levy, M. *Adv. Quant. Chem.* **1990**, 21, 71.
- [9] Dirac, P. A. M. *Proc. Cambridge Phil. Soc.* **1930**, 26, 376.
- [10] Slater, J. C. *Phys. Rev.* **1951** 81.
- [11] Ceperley, D. M. *Phys. Rev. B* **1978**, 18, 3126.
- [12] Ceperley, D. M.; Alder, B. J. *Phys. Rev. Lett.* **1980**, 45, 566.
- [13] Vosko, S. H.; Wilk, L.; Nusair, M. *Can. J. Phys.* **1980**, 58, 1200.
- [14] Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev. A* **1965**, 140, 1133.
- [15] Perdew, J. P.; Wang, Y. *Phys. Rev. B* **1986**, 33, 8800; **1986**, 34, 7406(E).
- [16] Perdew, J. P. *Phys. Rev. B*, **1986**, 33, 8822.
- [17] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1996**, 37, 785.
- [18] Colle, R.; Salvetti, D. *Theor. Chim. Acta*, **1975**, 37, 329.
- [19] Colle, R.; Salvetti, D. *J. Chem. Phys.* **1983**, 79, 1404.
- [20] Becke, A. D. *Phys. Rev. A* **1988**, 38, 3098.
- [21] Perdew, J. P. *Phys. Rev. B* **1991**, 44, 10221.
- [22] Perdew, J. P.; Wang, Y. *Phys. Rev.* **1992**, 45, 13244.
- [23] Perdew, J. P.; Ernzerhof, M.; Burke, K. *J. Chem. Phys.* **1996**, 105, 9982.
- [24] Burke, K.; Ernzerhof, M.; Perdew, J. P. *Chem. Phys. Lett.* **1997**, 265, 115.
- [25] Perdew, J. P.; Ernzerhof, M.; Burke, K. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, 77, 3865; Erratum, *ibid.*, **1997**, 78, 1396.
- [26] Casida, M. E. In *Recent Advances in Density Functional Methods, Part I*; Chong, D. P., Ed.; Word Scientific: Singapore, **1995**.
- [27] Runge, E.; Gross, E. K. U. *Phys. Rev. Lett.* **1984**, 52, 997.

- [28] Gross, E. K. U.; Runge, E. *Phys. Rev. Lett.* **1985**, *55*, 2850; Erratum, *ibid.* **1985**, *57*, 923.

## CAPITOLO III

### RISULTATI E DISCUSSIONE

#### III.1-Introduzione dei Lavori e Discussione.

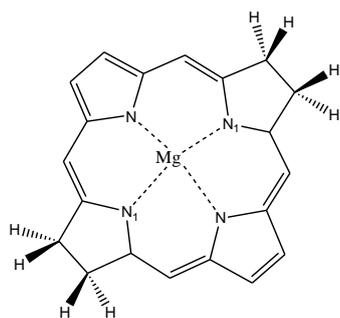
Nei tre anni di attività di dottorato sono stati svolti lavori riguardanti i seguenti sistemi molecolari:

1. Porfirine, clorine, bacterioclorine, , porfirazine, texafirine, ftalocianine, naftalocianine e antrococianine : basi libere e relativi complessi con il magnesio.
2. Ftalocianine non-planari sostituite: basi-libere e relativi complessi con lo zinco.
3. Omologhi delle trifirine e relativi complessi con il boro.

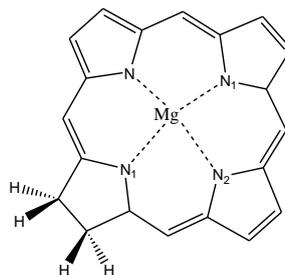
Per l'esecuzione del lavoro sono stati utilizzati la teoria del funzionale della densità e la sua versione dipendente dal tempo, in combinazione con il funzionale ibrido di scambio e correlazione PBE0 ed i set di funzioni di base SVP e TZVP, per la determinazione delle strutture geometriche e degli spettri elettronici.

1. Porfirine (P), porfirazine (Pz), clorine (C), bacterioclorine (BC), texafirine (Tex), ftalocianine (Pc), naftalocianine (Nc) e antrococianine (Ac) e i relativi complessi con il magnesio sono macrocicli pirrolici a differente numero di elettroni  $n$

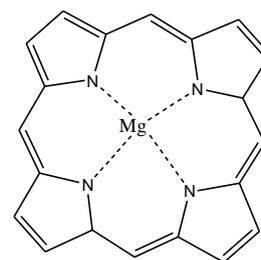
.



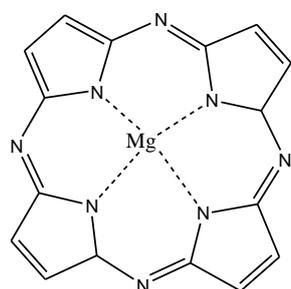
**Mg-BC**



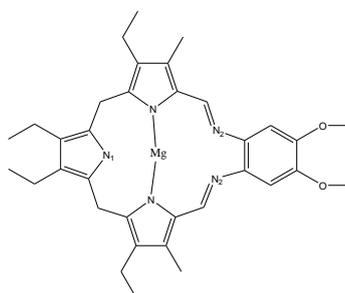
**Mg-C**



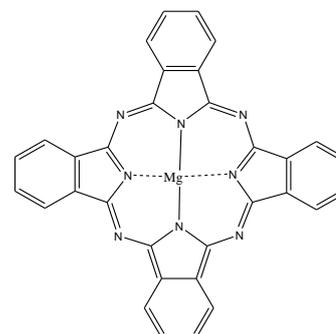
**Mg-P**



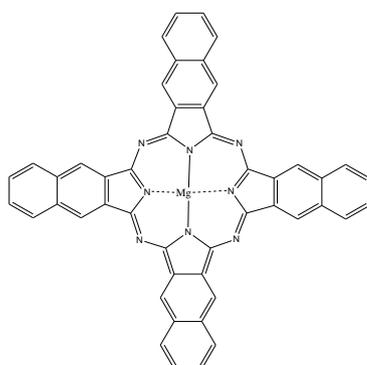
**Mg-Pz**



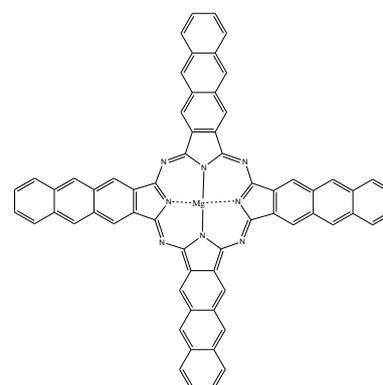
**Mg-TeX**



**Mg-Pc**



**Mg-Nc**



**Mg-Ac**

**Schema 1:** Complessi con il magnesio di Porfirine (P), porfirazine (Pz), clorine (C), bacterioclorine (BC), texafirine (Tex), ftalocianine (Pc), naftalocianine (Nc) e antrococianine (Ac).

Di questi composti sono state realizzate le ottimizzazioni geometriche e gli spettri di assorbimento relativi alle basi libere, nonché i rispettivi complessi con il Magnesio. Le distanze Mg-N sono riportate nella tabella 1.

Composto	Simmetria	$d_{\text{Mg-N}}$	$d_{\text{Mg-N1}}$	$d_{\text{Mg-N2}}$	Exp.
Mg-BC	D <sub>2h</sub>	2,124	2,040		
Mg-C	C <sub>2v</sub>	2,111	2,047	2,060	
Mg-P	D <sub>4h</sub>	2,053			2,071
Mg-Pz	D <sub>4h</sub>	1,974			
Mg-TeX	C <sub>2</sub>	2,158	2,245	2,604	
Mg-Pc	D <sub>4h</sub>	1,998			2,017-2,030
Mg-Nc	D <sub>4h</sub>	2,005			
Mg-Ac	D <sub>4h</sub>	2,008			

**Tabella 1:** Distanze(Å) di legame Metallo-Azoto dei complessi studiati.

Dalla tabella si evince come tutti i composti, eccetto i complessi con la Mg-TeX, hanno simili lunghezze di legame Mg-N in un range che va da 1.974 Å per la Mg-Pz a 2.124 Å per la Mg-Bc. E' stato possibile comparare i dati teorici con quelli sperimentali solo per la Mg-P e la Mg-Pc per cui sono disponibili le strutture ai raggi X. In entrambi i casi la differenza tra i due valori è di solo 0.019 Å.

Per quanto riguarda i gap tra stato fondamentale di singoletto ( $\Delta E$ ) e stato eccitato di tripletto il range di valori va da 0.64 ( Mg-Ac) a 1.63 (Mg-P) eV. Questi calcoli sono di notevole importanza dal momento che tale proprietà è cruciale nel meccanismo della terapia fotodinamica. Dai dati riportati è possibile definire che tutti i complessi , eccetto Mg-Ac, Mg-Nc e Mg-BC hanno un  $\Delta E$  più grande di un eV e possono eccitare l'ossigeno molecolare dal suo stato di singoletto a quello di tripletto. Questo dimostra che Mg-C, Mg-P, Mg-Pz, Mg-TeX e Mg-P possiedono uno dei maggiori requisiti per poter essere proposti come foto sensibilizzatori in terapia fotodinamica. Come si può dedurre dalla tabella 2 la presenza del solvente (cloronaftalene) non influenza significativamente i valori ottenuti in fase gassosa.

Molecola	Stato	E(Hartree)	$\Delta E$ (eV)	$\Delta E$ solv. (eV)
Mg-BC	$^1A_g$	-1190.036641	0	0
	$^3B_{2u}$	-1190,008021	0.78	0.79
Mg-C	$^1A_g$	-1188.838145	0	0
	$^3B_2$	-1188.784919	1.44	1.45
Mg-P	$^1A_g$	-1187,631863	0	0
	$^3E_u$	-1187.571884	1.63	1.62
Mg-Pz	$^1A_g$	-1251,748181	0	0
	$^3E_u$	-1251.697381	1.38	1.39
Mg-TeX	$^1A_g$	-1941,119191	0	0
	$^3B$	-1941.080638	1.04	1.05
Mg-Pc	$^1A_g$	-1865,832939	0	0
	$^3E_u$	-1865.795254	1.02	1.03
Mg-Nc	$^1A_g$	-2479,860282	0	0
	$^3E_u$	-2479.830865	0.80	0.81
Mg-Ac	$^1A_g$	-3093,865208	0	0
	$^3E_u$	-3093.841505	0.64	0.65

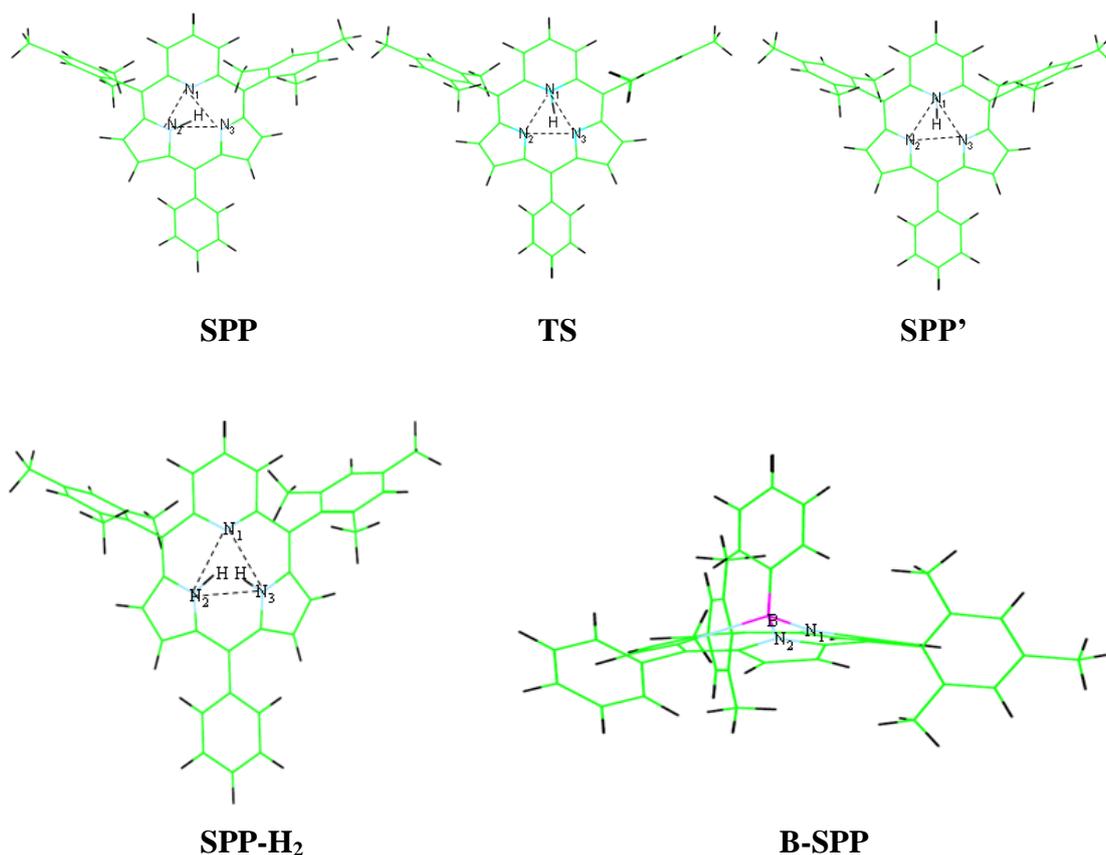
**Tabella 2:** Energie totali e relative dei complessi studiati.

Sono state oiché l'attività dei foto sensibilizzatori in terapia fotodinamica è relativa in particolare alle energie di assorbimento in quella chiamata banda Q è stato necessario discutere le energie di eccitazione che cadono nella banda Q. I risultati ottenuti sono riportati in tabella insieme ai dati sperimentali e precedenti studi teorici.



sono in buon accordo con i dati sperimentali e sono più blue-shifted rispetto alle misure sperimentali. L'introduzione dell'effetto solvente (C-PCM,  $\epsilon=...$ ) non apporta variazioni significative. Tra i sistemi studiati, quelli che mostrano una banda Q nella finestra terapeutica sono: Mg-Tex, Mg-Pc, Mg-Nc e Mg-Ac; d'altra parte quelli che presentano un  $\Delta E_{S-T}$  più basso di quello corrispondente per l'ossigeno molecolare sono: Mg-Nc, Mg-Ac e Mg-Bc. I valori calcolati sono rispettivamente: 0.80, 0.65 e 0.78 eV. Combinando le informazioni sui due parametri si può concludere che i migliori candidati per l'utilizzo in PDT potrebbero essere Mg-Tex e Mg-Pc.

## 2. Subpiriporfirine e relativi complessi con il Boro.

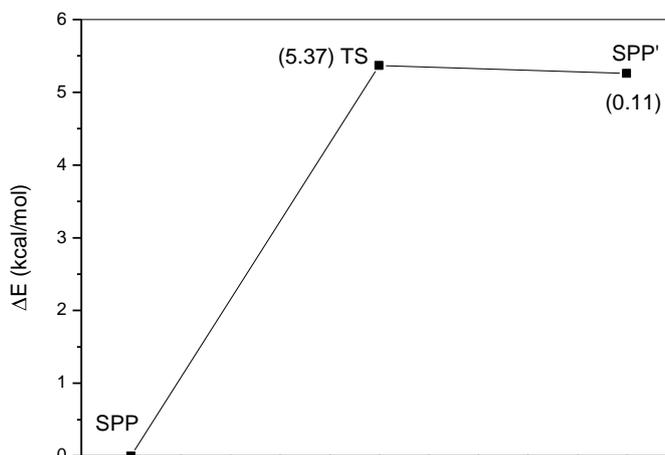


*Schema 2: Subpiriporfirine e relativi complessi con il Boro.*

Contrariamente alle porfirine e ai loro analoghi questi sistemi contengono un core di 14 elettroni  $\pi$ , spesso adottano una conformazione non planare e rivelano

potenzialità di applicazione in molti campi delle moderne tecnologie chimiche. Recentemente è stata sintetizzata un nuovo tipo di porfirina contratta, la subpiriporfirina, denominata SPP, in cui un anello pirrolico è stato sostituito con una piridina, e i rispettivi complessi contenenti il boro (Schema 2). Gli spettri di assorbimento di tali composti contengono transizioni nelle bande B e nelle bande Q e per tale motivo, in principio, potrebbero essere attivi in terapia fotodinamica. Per verificare tale proprietà è stato da noi condotto uno studio sulle strutture e sulle proprietà elettroniche di differenti isomeri delle specie libere e dei rispettivi complessi con l'atomo di boro.

La subporfirina in esame può esistere in due forme isomeriche : una in cui l'idrogeno è legato all'azoto dell'anello pirrolico (SPP), l'altra in cui l'idrogeno è legato all'anello piridinico (SPP'). I dati strutturali disponibili ottenuti con la diffrazione a raggi X non ci permettono di discriminare tra i due isomeri. I nostri risultati mostrano che la forma SPP è energeticamente più stabile di circa 5.26 Kcal/mol e che l'isomerizzazione può avvenire attraverso una identificazione di una struttura dello stato di transizione che si trova a 5.37 Kcal/mol rispetto all'energia dell'isomero SPP (Figura 1).



**Figura 1:** Superfici di energia potenziale per il processo di isomerizzazione SPP→SPP'.

Un confronto tra i valori dei parametri strutturali da noi ottenuti con corrispondenti valori spettrali (Tabella 4) mostra come le distanze N1-N2, N1-N3 e

N2-N3 sono molto vicine a quelle determinate all'analisi ai raggi X suggerendo che nello stato solido la forma dominante sia la SPP. Nello stato di transizione le lunghezze di legame N1H-N2H sono rispettivamente 1.144 e 1.387 Å. La struttura ottimizzata della subporfirina biprotonata con i due atomi di idrogeno legati ai due azoti pirrolici (SPP-H<sub>2</sub>) mostra un aumento delle distanze ottimizzate N2-N3 (2.594 Å) rispetto alla specie monoprottonata. La coordinazione con l'atomo di boro porta ad una struttura in cui il boro è fuori dal piano dei tre azoti di 0.621 Å e la lunghezza B-N è di 1.508 Å.

Distanze	SPP	SPP'	TS	SPP-H <sub>2</sub>	B-SPP
d <sub>N1-N2</sub>	2.515 (2.534)	2.490	2.409	2.529	
d <sub>N1-N3</sub>	2.576 (2.519)		2.543	2.594 (2.610)	
d <sub>N2-N3</sub>	2.383 (2.370)	2.442	2.439		
d <sub>N1-H</sub>	1.822	1.078	1.144	1.753	
d <sub>N2-H</sub>	1.069 (1.39)	1.638	1.387	1.025	
d <sub>N3-H</sub>	1.489		1.819	1.011	
d <sub>B-N1</sub>					1.510
d <sub>B-N2</sub>					1.545

**Tabella 4:** Parametri geometrici delle strutture ottimizzate e di quelle sperimentali (in parentesi).

Per quanto riguarda gli spettri di assorbimento, per le specie SPP e SPP' la banda B è intensa ed ha un massimo di assorbimento a 346 nm (Tabella 5). Le energie di transizione in fase gassosa nel caso dell'isomero SPP mostrano una transizione a 739 nm e un'altra meno intensa a 485 nm. Per SPP' le energie di transizione cadono a 739 nm e 485 nm. In CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> i valori sono 814 nm e 521 nm per SPP' e 698 e 462

nm per SPP. Lo spettro di assorbimento sperimentale per la specie SPPH<sub>2</sub> presenta un massimo localizzato a 800 nm, mentre il dato da noi ottenuto è 775nm.

Lo spettro sperimentale dei sistemi contenenti boro presenta un intenso picco a 687 nm e uno più debole a 523 nm. Le nostre simulazioni riproducono bene questa situazione. Infatti, in solvente sono state trovate un'intensa transizione a 681 nm ( $f=0.09$ ) ed un'altra con forza dell'oscillatore di circa zero a 577 nm (Tabella 5).

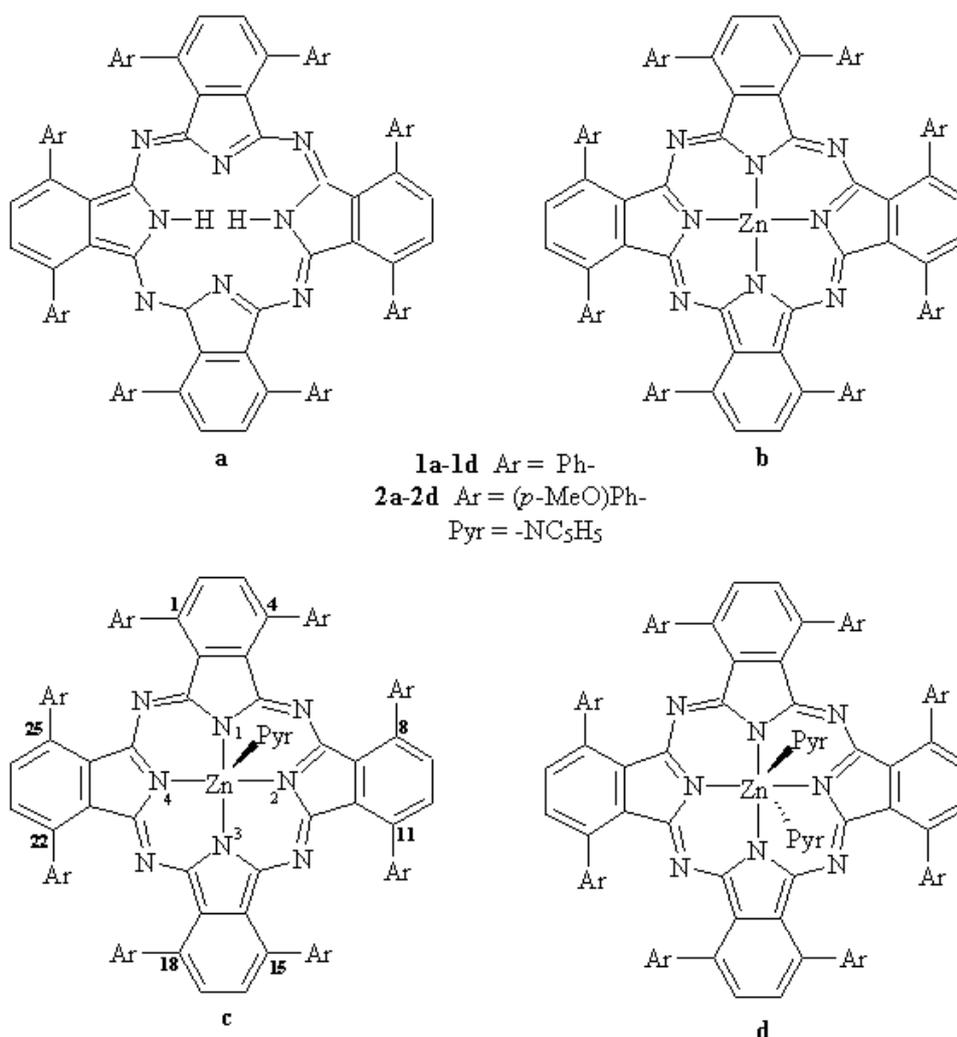
TZVP (vuoto)				SVP (vuoto)			SVP (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Exp <sup>a</sup>	
Stato	Energie di eccitazione	f	Configurazioni	Stato	Energie di eccitazione	f	Configurazione		
SPP									
A	1.71 (739)	0.068	96% (0-0)	A	1.67 (739)	0.097	97% (0-0)	1.77 (698)	730
A	2.62 (471)	0.089	83% (0-1) 12% (1-0)	A	2.55 (485)	0.007	85% (0-1) 8% (1-0)	2.68 (462)	
SPP'									
A	1.44 (857)	0.068	97% (0-0)	A	1.67 (739)	0.068	95% (0-0)	1.52 (814)	730
A	2.35 (527)	0.089	83% (2-0) 7% (1-0)	A	2.55 (485)	0.085	82% (0-1) 12% (1-0)	2.37 (521)	
SPP-H <sub>2</sub>									
A	1.60 (772)	0.150	98% (0-0)	A	1.59 (775)	0.156	98% (0-0)	1.52 (814)	800
A	2.25 (550)	0.015	95%(0-1)	A	2.16 (572)	0.098	97% (0-1)	2.37 (521)	
B-SPP									
A	1.85 (668)	0.090	97% (0-0)	A	1.81 (681)	0.090	97% (0-0)	1.95 (635)	687
A	2.20 (561)	0.000	90%(1-0)	A	2.14 (577)	0.000	90%(1-0)	2.45 (505)	523

**Tabella 5:** Energie di eccitazione (eV and nm), Forza degli oscillatori, Configurazioni e valori sperimentali e teorici dei complessi studiati. Gli spettri sperimentali sono registrati in cloronaftalene.

Sono stati anche calcolati gli spettri di emissione, che come aspettato sono red-shifted rispetto ai corrispondenti spettri di assorbimento. Inoltre solo la B-SPP ha un

valore  $\Delta E_{S-T}$  value (0.95 eV) capace di trasferire energia dallo stato di tripletto all'ossigeno per generare lo stato  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ).

3. Ftalocianine non-planari sostituite: basi-libere e complessi con lo zinco.



**Schema 3:** Ftalocianine non-planari sostituite: basi-libere e complessi con lo zinco.

Le metalloftalocianine non sostituite in forma monomerica, hanno strutture molecolari planari. L'inserimento di ioni metallici, nella cavità macrociclica, distorce la geometria riducendo la simmetria molecolare. Il lavoro da noi condotto

focalizza l'attenzione sulle strutture geometriche di complessi Zn-ftalocianine sostituiti (1a-d e 2a-d).

I dati cristallografici disponibili per le molecole 1a e 1c mostrano una deviazione dalla planarità delle quattro unità isoindoliche. Questa distorsione è stato riprodotta a livello teorico e si è potuto stabilire in questa classe di composti (Tabella 6) la distorsione permette di minimizzare l'impedimento sterico causato dalla simultanea presenza di sostituenti  $\alpha$ -fenilici su anelli isoindolici adiacenti. La distanza degli atomi di carbonio  $\alpha$ , dal piano dei 4 N (parte c dello schema 3) può fornire un'informazione qualitativa circa il grado di deviazione dalla planarità. Per esempio, per il composto 2c le distanze calcolate per gli atomi di carbonio in posizione 1,4 sono rispettivamente 1.71, 1.79, 1.74 e 1.83 Å (posizioni 18,15); per le unità isoindoliche contenenti atomi di azoto N2 e N4 le distanze sono rispettivamente 1.61 e 1.60 Å (posizioni 8,11), 1.08 e 1.06 Å (posizioni 22,25).

Le distanze calcolate per il composto 1c tra Zn-N sono tra 2.038 e 2.053 Å, il centro del metallo è spostato dal piano di 0.414 Å a causa delle interazioni con la molecola di piridina ( $Zn-N_{\text{pyridine}}=2.173$  Å). Questi dati suggeriscono per il composto 1c una penta coordinazione.

Lunghezza di legame	Molecola		
	1c	2c	Exp
Zn-N <sub>1</sub>	2.053	2.052	2.031
Zn-N <sub>2</sub>	2.050	2.047	2.012
Zn-N <sub>3</sub>	2.053	2.053	2.031
Zn-N <sub>4</sub>	2.038	2.036	1.998
Zn-N <sub>pyridine</sub>	2.173	2.177	2.143
Zn- $\Delta$ N <sub>4</sub>	0.414	0.406	0.398

**Tabella 6:** Lunghezze di legame per le molecole 1c e 2c

Su questa classe di composti sono state determinate le energie di eccitazione, le loro intensità e le loro origini in termini di orbitali molecolari. I risultati sono riportati in tabella 7.

Molecule	$\Delta E$	Vacuum	$f$	$\lambda_{\max}$	Solvent	Exp.
		Main configuration			$\Delta\lambda$	
<b>H<sub>2</sub>Pc</b>	2.13 (581.2)	H → L 91%	0.427		-0.6	1.81 (685) Q <sub>x</sub>
	2.15 (575.9)	H → L+1 94%	0.484		+4.8	1.99 (623) Q <sub>y</sub> <sup>1)</sup>
<b>ZnPc</b>	2.15 (576.2)	H → L 94%	0.932	576.2	+1.4	1.84 (674) 2.04 (609) Q- shoulder <sup>2)</sup>
<b>1a</b>	1.66 (746.0)	H → L 96%	0.387	729.9	+0.5	1.57 (788);
	1.74 (713.2)	H → L+1 94%	0.357		+4.8	1.77 (699) Q- shoulder <sup>3)</sup>
<b>1b</b>	1.64 (757.2)	H → L 96%	0.368	740.7	- 2.3	
	1.70 (727.9)	H → L+1 95%	0.361		+4.3	
<b>1c</b>	1.65 (752.9)	H → L 95%	0.360	751.9	+1.9	1.57 (786)
	1.66 (748.6)	H → L+1 95%	0.323		+1.1	1.78 (697) Q- shoulder <sup>4)</sup>
<b>1d</b>	1.65 (750.2)	H → L 95%	0.304	746.3	+3.1	
	1.67 (744.2)	H → L+1 95%	0.356		-0.5	
<b>2a</b>	1.60 (774.3)	H → L 96%	0.397	757.6	+5.4	1.50 (826)
	1.68 (739.0)	H → L+1 95%	0.357		+8.7	1.70 (728) Q- shoulder <sup>5)</sup>
<b>2b</b>	1.57 (788.9)	H → L 96%	0.375	775.2	+1.5	
	1.64 (756.9)	H → L+1 96%	0.350		+6.6	
<b>2c</b>	1.60 (775.0)	H → L 94%	0.366	775.2	+6.3	1.52 (814)
	1.61 (771.1)	H → L+1 93%	0.335		+2.2	1.70 (728) Q- shoulder <sup>5)</sup>
<b>2d</b>	1.56 ( 796.5 )	H → L 96%	0.332	787.4	-0.8	
	1.60 ( 773.9 )	H → L+1 95%	0.321		+2.8	

**Tabella 7:** Energie di eccitazione delle bande Q,  $\Delta E$  in eV e nm, Configurazioni, Forza degli oscillatori  $f$ ,  $\lambda_{\max}$  e effetto solvente  $\Delta\lambda$  per H<sub>2</sub>Pc, ZnPc e **1a-d**.

L'introduzione di gruppi fenili porta ad uno spostamento verso il rosso della lunghezza massima d'assorbimento ( $\lambda_{\max}$ ). Il valore di  $\lambda_{\max}$  per 1°, per esempio è 788 nm, valore di circa 100 nm superiore a quello della ftalocianina non sostituita (tabella 8).

Molecole	TD-DFT <sup>1)</sup>			INDO/S <sup>2)</sup>		Exp.
	$\Delta E$	$f$	$\lambda_{\max}$	$\lambda_{\max}^*$ <sup>3)</sup>	$\Delta E$	$\Delta E$
<b>3a</b>	2.03 (612.1)	0.510	2.03 (609.8)	2.10 (591.7)	1.70 (729)	1.82 (682)
	2.04 (609.1)	0.364			1.72 (720)	
<b>3b</b>	1.94 (637.0)	0.597	1.96 (632.9)	2.08 (588.2)	1.68 (736)	1.77 (699)
	2.00 (620.3)	0.328			1.75 (710)	
<b>3c</b>	1.89 (655.5)	0.437	1.90 (653.6)	2.11 (595.2)	1.69 (733)	1.76 (704)
	1.91 (648.7)	0.412			1.70 (728)	
<b>3d</b>	1.77 (699.8)	0.372	1.77 (699.3)	2.01 (617.3)	1.66 (747)	1.69 (732)
	1.79 (694.6)	0.457			1.67 (741)	
<b>2a</b> <sup>4)</sup>	1.90 (653.6)	0.364		1.90 (653.6)		
	1.91 (650.0)	0.349				
<b>2c</b> <sup>4)</sup>	1.84 (674.4)	0.310		1.86 (666.7)		
	1.87 (661.8)	0.338				

**Tabella 8:** Energie di eccitazione delle bande Q,  $\Delta E$  in eV e (nm), Configurazioni, Forza degli oscillatori  $f$ ,  $\lambda_{\max}$  per **3a- d** e *p*-methoxyphenyl **2a-c**.

E' stato valutato il contributo della non planarit  allo spostamento verso il rosso della banda Q considerando quattro composti con diversi sostituenti (3a-d). Le rispettive strutture ottimizzate mostrano una piccola deviazione dalla planarit  per il composto 3c e una deformazione maggiore per il 3d. I dati sono riportati in tabella 8.

E' possibile evincere che le  $\lambda_{\max}$  andando dal composto 3a a quello 3d crescono con il numero di gruppi *p*-metossifenilici, da 610 nm a 699 nm.

Sono stati inoltre calcolati i gap singoletto-tripletto per i composti 1<sup>o</sup>-d e 2<sup>o</sup>-d che non sembrano incoraggianti, dal momento che i rispettivi valori cadono in un range che va da 0.68 a 0.78 eV, lontano dal limite di 0.98 eV utile per poterli proporre come composti attivi in terapia fotodinamica.

### **Publicazioni Scientifiche e Manoscritti.**

I lavori citati sono stati pubblicati e sottomessi su riviste scientifiche internazionali. Di seguito è data la lista dei lavori seguita dai relativi articoli.

#### **Articolo I**

Lanzo I.; Russo N.; Sicilia E. : First principle time dependent study of magnesium containing porphyrin-like compounds potentially useful for their application in photodynamic therapy in *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2398.

#### **Manoscritto II**

Quartarolo, A. D.; Lanzo I.; Russo, N.; Sicilia, E.: Can Phthalocyanines and their Substituted  $\alpha$ -(Methoxy)Phenyl Derivatives act as Photosensitizers in Photodynamic Therapy? A TD-DFT Study

#### **Manoscritto III**

Lanzo, I.; Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E.; Can subpyriporphyrin and its boron complex be proposed as photosensitizer in photodynamic therapy ? A first principle time dependent study

## **Articolo I**

First principle time dependent study of magnesium containing porphyrin-like compounds potentially useful for their application in photodynamic therapy

## First-Principle Time-Dependent Study of Magnesium-Containing Porphyrin-Like Compounds Potentially Useful for Their Application in Photodynamic Therapy

Ida Lanzo, Nino Russo,\* and Emilia Sicilia

Dipartimento di Chimica and Centro di Calcolo ad Alte Prestazioni per Elaborazioni Parallele e Distribuite-Centro d'Eccellenza MURST, Università della Calabria, I-87030 Arcavacata di Rende (CS), Italy

Received: December 4, 2007; In Final Form: January 15, 2008

Geometry optimization, singlet–triplet energy gap, and electronic absorption spectra calculation of complexes formed by Mg ion and porphyrin, porphyrizin, chlorine, bacteriochlorine, texaphyrin, phthalocyanine, naphthalocyanine, and anthracocyanine ligands have been carried out to elucidate their potentiality as photosensitizers in photodynamic therapy (PDT). The study has been performed employing the density functional theory (DFT) and its time-dependent approach (TDDFT) in conjunction with the PBE0 exchange–correlation functional and extended TZVP all-electron basis sets. The solvent effects have been evaluated throughout the polarizable continuum model (PCM). Results show that, following the properties requirement for the drugs used in PDT, the Mg–Tex and Mg–Pc complexes are reliable candidates for their use as photosensitizers in this medical therapy.

### 1. Introduction

In these last years the interest in proposing new compounds for their use as photosensitizers in photodynamic therapy (PDT) is rapidly growing due to the possible extension of this noninvasive therapy in many kinds of human diseases.<sup>1–4</sup> In fact, these days this mode of disease treatment not only accounts for the therapy of a variety of cancer types but is currently being explored in the areas of cardiology, ophthalmology, dermatology, immunology, genecology, and urology.<sup>5–8</sup> In addition, PDT is becoming a potential alternative to the antimicrobial agent in the inactivation of many microbial infections.<sup>9</sup>

The working mechanism of PDT can be summarized as follows: (i) A nontoxic photosensitizer is introduced in the body of the appropriate target. (ii) The target is irradiated with light of appropriate wavelength, ranging from 600 to 900 nm (the so-called therapeutic window), in order to excite the photosensitizer in its ground state ( $S_0$ ) to a shorter-lived first excited state ( $S_1$ ). (iii)  $S_1$  can undergo conversion to the first excited triplet state ( $T_3$ ) by intersystem crossing. Then the  $T_3$  state of the sensitizer can release its energy to the surrounding biological tissue exciting the  $O_2$  from its triplet to the highly reactive singlet state ( $O_1$ ) that induces an oxidative cellular damage leading to the apoptosis or necrosis of the cells. (iv) Finally, the photosensitizer returns to its ground state and the cycle can be repeated with a new light irradiation. At the end of the therapeutic cycle the sensitizer is eliminated from the body.

In the last 10 years different generations of new synthesized molecules have been proposed as photosensitizers for PDT.<sup>10–14</sup> Many of them are porphyrin-like systems, but also a new class of non-porphyrin PDT agents based on the tetrarylazadipyrrromethenes group has been synthesized, characterized, and tested at the biological level.<sup>15,16</sup>

A number of these compounds are in an advanced stage of clinical testing or already used in the treatment of various diseases (i.e., various solid tumors, macular degeneration) for which PDT was proved to be effective.

In the rational design of a new photosensitizer active in PDT the following factors should be taken into consideration:<sup>17</sup>

(1) The core of the system, generally a ligand, should be represented by a moiety able to absorb in the therapeutic window (600–900 nm) and preferably should be red-shifted. It is well-known, indeed, that high absorbance values increase the penetration efficiency in the biological tissue (i.e., a 500 nm wavelength radiation penetrates into the tissue for about 3.5 mm, whereas the depth of light penetration reduces to about 8 mm at 700 nm). This requirement can be achieved also by adding appropriate substituents around the ligand.

(2) The presence of a metal or a heavy atom generally increases the efficiency of the singlet–triplet intercrossing (the so-called heavy atom effect) due to the enhanced spin–orbit perturbations.

(3) The energy gap between singlet and triplet states should be higher than the energy required to excite the oxygen molecule in its singlet state (about 1 eV). In addition, the triplet state should be generated with high quantum yield ( $\phi > 0.4$ ) and lifetimes ( $> 1 \mu s$ ).

(4) The photosensitizer should have a high photo- and thermodynamic stability. A good photosensitizer should be a single substance with constant composition and a high degree of chemical purity and sufficiently stable under physiological conditions. Empirical studies based on the stability index,<sup>18</sup>  $Si = 100\chi(Z/ri)$  (where  $\chi$  = Pauling electronegativity,  $Z$  = oxidation number,  $ri$  = effective ionic radius of a central metal ion), show that in the case of porphyrin-like molecules the stability order is phthalocyanines > porphyrins > chlorines. In the case of their complexes with transition metals the stability order is Ru(III), Al(III), Sn(IV) > Mg(II), Cd(II).

(5) The photosensitizer should have no toxicity in the dark.

The aim of present paper is the prediction and characterization, especially in the Q-band region, of a series of porphyrin-like systems with different numbers of  $\pi$  electrons, namely, porphyrin (P), porphyrizin (Pz), chlorine (C), bacteriochlorine (BC), texaphyrin (Tex), phthalocyanine (Pc), naphthalocyanine (Nc), and anthracocyanine (Ac), and their complexes with magnesium cation, by using the time-dependent extension of density functional theory (TDDFT). This method has been

TABLE 1: Electronic Transition Energies (in eV and nm) for the Free Ligands Pc, Nc, and Ac Obtained by TDDFT at PBE0 Optimized Geometries

state	vacuum		main configuration	excitation energy	solution			
	excitation energy	<i>f</i>			ass.	gas phase <sup>a</sup>	<i>tert</i> -butyl pyridine <sup>b</sup>	1Cl-naph <sup>d</sup>
Pc								
B <sub>1u</sub>	2.10 (590)	0.430	92% (0–1)	2.09 (590)	Q <sub>x</sub>	1.81 (686)	1.79 (698)	1.79 (698)
B <sub>2u</sub>	2.12 (585)	0.479	94% (0–0)	2.10 (589)	Q <sub>y</sub>	1.99 (623)	1.87 (664)	1.87 (663)
Nc								
B <sub>2u</sub>	1.77 (702)	0.658	97% (0–0)	1.75 (707)	Q <sub>x</sub>		1.58 (784)	
B <sub>3u</sub>	1.84 (673)	0.642	95% (0–1)	1.83 (675)	Q <sub>y</sub>		1.66 (747)	
Ac								
B <sub>2u</sub>	1.49 (830)	0.698	98% (0–0)	1.48 (833)	Q <sub>x</sub>		1.45 (854)	
B <sub>3u</sub>	1.65 (752)	0.764	97% (0–1)	1.63 (758)	Q <sub>y</sub>		1.53 (810)	

<sup>a</sup> From ref 38. <sup>b</sup> From ref 39.

TABLE 2: Total (hartrees) and Relative (eV) Energies for All the Considered Complexes

molecule	state	<i>E</i> (hartree)	$\Delta E$ (eV)	$\Delta E_{\text{rel}}^{\text{olv}}$ (eV) <sup>d</sup>
Mg–BC	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–1190.036641	0	0
	<sup>3</sup> B <sub>2u</sub>	–1190.008021	0.78	0.79
Mg–C	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–1188.838145	0	0
	<sup>3</sup> B <sub>2</sub>	–1188.784919	1.44	1.45
Mg–P	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–1187.631863	0	0
	<sup>3</sup> E <sub>u</sub>	–1187.571884	1.63	1.62
Mg–Pz	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–1251.748181	0	0
	<sup>3</sup> E <sub>u</sub>	–1251.697381	1.38	1.39
Mg–Tex	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–1941.119191	0	0
	<sup>3</sup> B	–1941.080638	1.04	1.05
Mg–Pc	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–1865.832939	0	0
	<sup>3</sup> E <sub>u</sub>	–1865.795254	1.02	1.03
Mg–Nc	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–2479.860282	0	0
	<sup>3</sup> E <sub>u</sub>	–2479.830865	0.80	0.81
Mg–Ac	<sup>1</sup> A <sub>g</sub>	–3093.865208	0	0
	<sup>3</sup> E <sub>u</sub>	–3093.841505	0.64	0.65

<sup>d</sup> Chloronaphthalene.

successfully used for the calculation of excitation energies and oscillator strengths in a variety of molecular systems<sup>19–23</sup> including porphyrin-like systems and their metal complexes.<sup>19,20</sup>

The choice to study the magnesium complexes of the ligands listed above is essentially due to the following reasons:

(1) Mg cation is one of the essential metals in many biological processes and does not present any kind of cytotoxicity.

(2) The coordination of Mg cation to some porphyrin-like ligands has been previously studied, and some controversial results on its effect on the absorption spectra have been reported. In fact, in some cases<sup>24,25</sup> it was found that the presence of Mg(II) increases the absorption coefficient of the Q<sub>x</sub> band, whereas in another study<sup>26</sup> it was reported that the Mg coordination affects only the symmetric degeneracy of the absorption but not the intensity of the Q<sub>x</sub> band.

(3) To our knowledge no indication on their potential use in PDT exists until now.

## 2. Method

Full geometry optimization for each studied free ligand and corresponding magnesium complex has been carried out using the Turbomole program<sup>27</sup> employing the PBE0<sup>28</sup> exchange-correlation functional and the TZVP all-electron basis set.<sup>29</sup> This

TABLE 3: Distances (angstroms) of the Metal–Nitrogen Bond for the Studied Complexes

compounds	symmetry	<i>d</i> <sub>Mg–N</sub>	<i>d</i> <sub>Mg–N1</sub>	<i>d</i> <sub>Mg–N2</sub>	exptl
Mg–BC	D <sub>2h</sub>	2.124	2.040		
Mg–C	C <sub>2v</sub>	2.111	2.047	2.060	
Mg–P	D <sub>4h</sub>	2.053			2.071 <sup>a</sup>
Mg–Pz	D <sub>4h</sub>	1.974			
Mg–Tex	C <sub>2</sub>	2.158	2.245	2.604	
Mg–Pc	D <sub>4h</sub>	1.998			2.017–2.030 <sup>b</sup>
Mg–Nc	D <sub>4h</sub>	2.005			
Mg–Ac	D <sub>4h</sub>	2.008			

<sup>a</sup> From ref 40. <sup>b</sup> From ref 41.

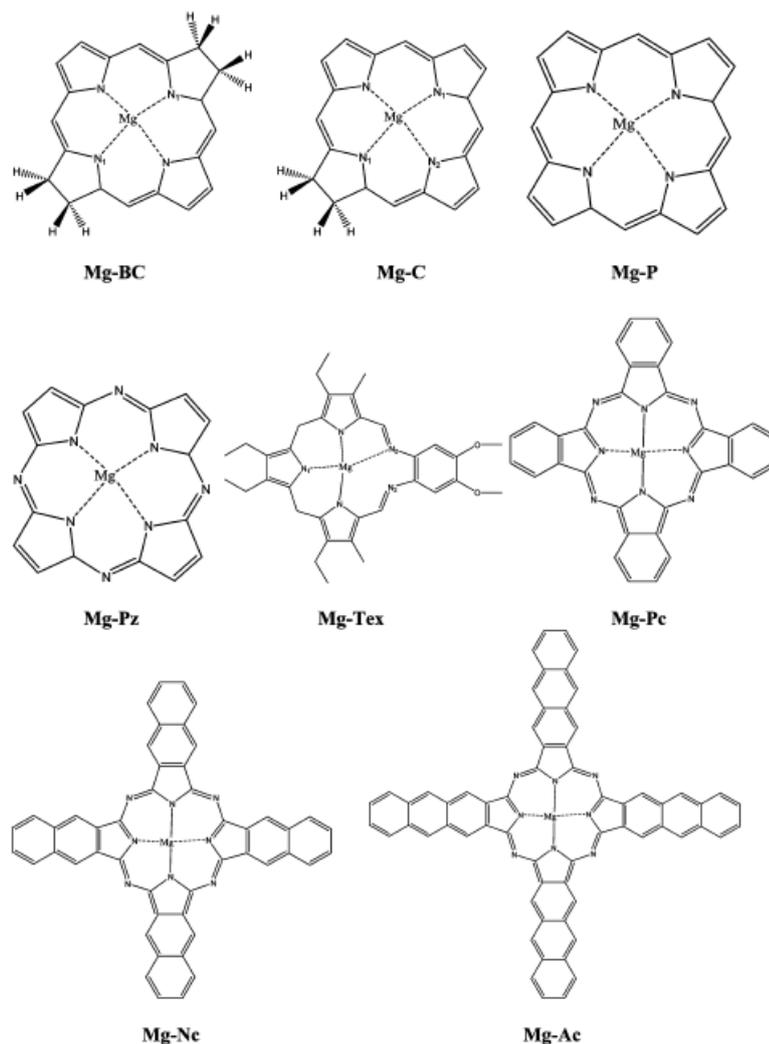
functional, based on the generalized gradient functional PBE<sup>30</sup> with 25% exact exchange, has been chosen as it generally reproduces geometrical parameters, also in metal-containing systems, within experimental error.<sup>28</sup> As recently shown,<sup>19,20</sup> it is also able to correctly predict the absorption spectra and the oscillator strengths in a series of porphyrin-like ligands and in their metal complexes. The nature of the minima has been verified by computing vibrational modes, and no imaginary frequency has been calculated for any of the systems under investigation. The use of TZVP-quality basis sets ensures the convergence on the electronic spectra as recently demonstrated in a series of papers.<sup>19–23,29,31</sup> Absorption spectra have been computed as vertical excitations from the ground-state minima structures by using the TDDFT approach as implemented in Turbomole code.<sup>27,29,31</sup>

Solvent shifts of the excitation bands have been evaluated using the conductor-like approach (Cosmo<sup>32</sup>) within the framework of the polarizable continuum method (PCM)<sup>33,34</sup> as implemented in the Turbomole code. Since the available experimental absorption spectra have been recorded in solvents with low polarity (chloronaphthalene), the use of explicit solvent molecules can be avoided, while PCM is able in these cases to provide reliable results. The solvatochromic shifts have been calculated by using optimized gas-phase geometries.

## 3. Results and Discussion

**3.1. Excited States of Free Ligands.** Before discussing the results for the magnesium-containing complexes we analyze the structures and absorption spectra of the free ligands. Some of them have been previously studied using several theoretical methods including that used here,<sup>22,35–38</sup> so we report our result

SCHEME 1



for the Pc, Nc, and Ac systems for which previous theoretical studies do not exist or the available data have been obtained by different theoretical methods. Previous experimental data concern the Pc, for which both gas-phase and solution<sup>38</sup> (chloronaphthalene solvent) absorption spectra are known. In a more recent study the tetra-*tert*-butylated species of Pc, Nc, and Ac have been studied in solvent by Kobayashi et al.<sup>39</sup> Our results together with experimental data are collected in Table 1. As can be inferred from this table, our values for the Q-band are satisfactorily reproduced the difference between theoretical and experimental spectra being about 0.2 eV. In particular, the theoretical Q-band values result to be blue-shifted with respect to the experimental measurements. In a previous theoretical work performed by using the symmetry-adapted cluster-configuration interaction method (SAC-CI) the discrepancy between the computed and experimental Pc absorption spectra is about 0.5 eV in the Q-band region.<sup>37</sup> Starting from Pc, the annulation of further benzene rings at the Pc moiety increases the number of

$\pi$  electrons and the HOMO–LUMO gap decreases (2.35, 1.97, and 1.72 eV for Pc, Nc, and Ac, respectively). Consequently, the Q-band sensibly shifts to longer wavelength (see Table 1). This behavior is in good agreement with recent half-wave redox potentials measurement for Pc (<sup>t</sup>Bu)<sub>4</sub> and Nc(<sup>t</sup>Bu)<sub>4</sub>(Y).<sup>38</sup> Our computed H–L energy gap decreases in going from Pc to Nc by 0.38 eV, whereas the experimental counterpart for the *tert*-butyl derivatives is 0.25 eV.<sup>38</sup> Since we are interested in possible application of these compounds in the PDT it is worth it to note that the value of the oscillator strength for the Q-band increases with the enlargement of the  $\pi$  system. The decrease in the HOMO–LUMO gap is almost determined by the destabilization of the HOMO as one goes from Pc (5.42 eV) to Nc (4.97 eV) and Ac (4.71 eV). The next occupied orbital (next-HOMO) follows the same behavior. The LUMO orbital energy does not change significantly and retains its value of about 3 eV along the series, whereas the next unoccupied orbital (next-LUMO) is significantly stabilized in going from Pc to

TABLE 4: Excitation Energies (eV and nm), Oscillators Strengths, Configurations, and Experimental and Previous Theoretical Data for the Studied Mg Complexes<sup>a</sup>

state	vacuum		main configuration <sup>b</sup>	solution		exptl	theory
	excitation energy	<i>f</i>		excitation energy	<i>f</i>		
			Mg-BC				
<sup>1</sup> B <sub>2u</sub>	2.03 (610)	0.282	93.1% (0-0)	2.03 (609)	0.286	2.06 <sup>c,d</sup>	1.79 <sup>e</sup> 2.05 <sup>f</sup>
<sup>1</sup> B <sub>3u</sub>	2.53 (490)	0.045	71.4% (1-0) + 27.6% (0-1)	2.53 (490)	0.054		1.90 <sup>e</sup>
			Mg-C				
<sup>1</sup> B <sub>2</sub>	2.36 (525)	0.129	80% (0-0) + 18.8% (1-1)	2.36 (525)	0.120	2.03 <sup>g</sup>	1.95 <sup>e</sup>
<sup>1</sup> A <sub>1</sub>	2.54 (488)	0.003	59.5% (1-0) + 39.5% (0-1)	2.52 (488)	0.005	2.15 <sup>g</sup>	2.32 <sup>e</sup>
			Mg-P				
<sup>1</sup> E <sub>u</sub>	2.43 (509)	0.001	51.5% (0-0) + 47.7% (1-0)	2.43 (509)	0.001	2.30 <sup>h</sup>	2.21 <sup>i</sup> 2.14 <sup>j</sup> 2.23 <sup>k</sup>
			Mg-Pz				
<sup>1</sup> E <sub>u</sub>	2.49 (499)	0.332	81.2% (0-0) + 17.8% (1-0)	2.48 (499)	0.332	2.34 <sup>j</sup>	2.08 <sup>j</sup>
			Mg-TeX				
<sup>1</sup> B	1.95 (626)	0.083	83.7% (0-0) + 14.7% (1-1)	1.98 (626)	0.091		
<sup>1</sup> A	2.07 (596)	0.082	69.1% (1-0) + 29.4% (0-1)	2.08 (596)	0.086		
			Mg-Pc				
<sup>1</sup> E <sub>u</sub>	2.10 (590)	0.915	93.4% (0-0)	2.10 (590)	0.936	1.82 <sup>m</sup>	
			Mg-Nc				
<sup>1</sup> E <sub>u</sub>	1.80 (688)	1.307	96.5% (0-0)	1.80 (688)	1.337	1.84 <sup>n,o</sup>	
			Mg-Ac				
<sup>1</sup> E <sub>u</sub>	1.57 (789)	1.408	97.3% (0-0)	1.29 (789)	1.219		

<sup>a</sup> Experimental spectra are referred to the chloronaphthalene solvent. <sup>b</sup> In parenthesis are reported the orbital contributions with the convention that the first number, *n*, refers to the occupied orbitals (HOMO - *n*), and the second (*m*) to the virtuals (LUMO + *m*). <sup>c</sup> From ref 42. <sup>d</sup> From ref 43. <sup>e</sup> From ref 50. <sup>f</sup> From ref 51. <sup>g</sup> From ref 44. <sup>h</sup> From ref 45. <sup>i</sup> From ref 52. <sup>j</sup> From ref 26. <sup>k</sup> From ref 53. <sup>l</sup> From ref 49. <sup>m</sup> From ref 46. <sup>n</sup> From ref 47. <sup>o</sup> From ref 48.

Nc and Ac. Adding the solvent effects through the PCM tool we note that the Q-bands are not affected by the presence of the solvent, the maximum shift being about 0.02 eV. In the case of Pc, for which are available absorption spectra both in gas phase and in solvent,<sup>38,39</sup> we can verify that our prediction is correct. This behavior can be understood if we consider the low polarity of the solvents. From Table 1 it is evident that along the series the Q<sub>x</sub> band is essentially due to the HOMO → LUMO transition (more than 90%) with a small contribution coming from next-HOMO → next-LUMO. The Q<sub>y</sub> counterpart is mainly originated by a HOMO → next-LUMO transition (more than 90%), and only a very small contribution stems from the next-HOMO → LUMO excitation. Finally, we have computed the energy gap between the ground singlet and low-lying triplet excited states (ΔE<sub>S-T</sub>) for these ligands. Pc has the larger ΔE<sub>S-T</sub> value (0.91 eV) followed by Nc (0.63 eV) and Ac (0.42 eV). This behavior follows, as expected, that of the HOMO-LUMO gap in the series. On the basis of this result we can predict that for the possible PDT applications the best photosensitizer is Pc that has an energy gap close to that needed to excite molecular oxygen to its singlet state.

**3.2. Ground-State Properties of Mg(II) Complexes.** The studied complexes have been optimized by using the proper symmetry constraint and considering both the singlet and triplet spin states. Table 2 collects all these results. In all cases, the singlet configurations are more stable than the triplet ones.

Always we find a planar geometry around the metal center. The Mg-N bond distances are reported in Table 3. Owing to the chemical and structural similarities, all the compounds except the Mg-TeX complex have similar Mg-N bond lengths that range from 1.974 Å for Mg-Pz to 2.124 Å for Mg-BC. A comparison between computed and experimental geometries is possible only for the Mg-P and Mg-Pc systems for which X-ray structures are available.<sup>40,41</sup> Our Mg-N bond distance in the Mg-P complex is 2.053 Å, whereas the experimental counterparts is 2.071 Å.<sup>40</sup> A larger error is found in the case of Mg-Pc in which the computed Mg-N distance (1.998 Å) appears to be slightly shorter than the corresponding X-ray value.<sup>41</sup> In any case the difference between the two values is only 0.019 Å. In the Mg-TeX complex, in which the cavity is larger with respect to the other considered magnesium complexes, it is evident that the main interaction occurs between magnesium and pyrrolic nitrogens in a three-coordinated fashion. The distance of the metal from the N<sub>2</sub> atoms (see Scheme 1) is longer (2.604 Å). In some complexes of the tetrapyrin ligand with transition metal atoms, the available X-ray structures demonstrate that this coordination mode has already been found.<sup>20</sup> In order to verify whether the imposed symmetry constraints might have consequences on the obtained structures, we have fully reoptimized Mg-C, Mg-Pz, and Mg-Pc geometries without symmetry constraints. The results show that geometrical parameters as well as energetic ones do not change

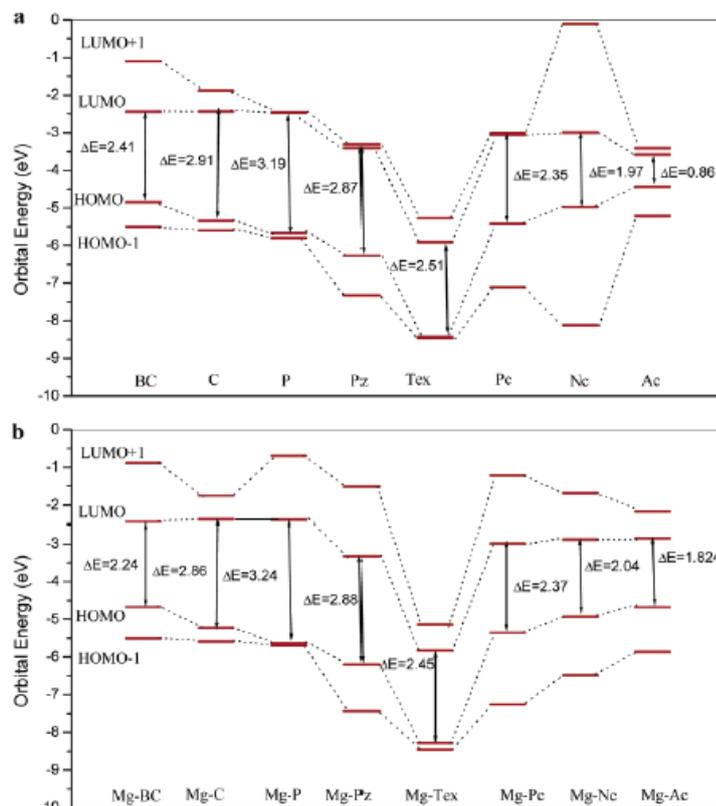


Figure 1. Orbital energy levels of the Gouterman orbitals for free bases (a) and the considered complexes (b).

in these circumstances. Similar evidence has been previously reported for first-row transition metal bacteriochlorine and texaphyrin complexes.<sup>19,20</sup>

Concerning the energy gap between singlet ground state and excited triplet state ( $\Delta E_{S-T}$ ) we note that the values range from 0.64 (Mg-Ac) to 1.63 (Mg-P) eV. These calculations are important since this property is crucial in the working mechanism of PDT. From the data reported by us it is possible to infer that all the complexes, except Mg-Ac, Mg-Nc, and Mg-BC, exhibit a  $\Delta E_{S-T}$  greater than 1 eV and can excite the molecular oxygen from its singlet to triplet electronic state. This means that Mg-C, Mg-P, Mg-Pz, Mg-TeX, and Mg-P possess one of the main requirements to be proposed as photosensitizers in PDT. This parameter has been estimated also in solvent performing a single-point PCM computation on the in vacuo optimized geometries of both singlet and triplet states. As shown in Table 2, the presence of the solvent (chloronaphthalene  $\epsilon = 5.0$ ) does not change gas-phase values.

**3.3. Excited States of Mg Complexes.** As previously mentioned, the activity of the photosensitizers in PDT is closely related to their spectral features and in particular to the absorption energies in the so-called Q-band. For this reason we carefully discuss the excitation energies that fall in the Q-band. Results are collected in Table 4 together with the available experimental data<sup>42-46</sup> and previous theoretical computations.<sup>26,51-53</sup> As a first step we discuss the computed Q-band for Mg-BC, Mg-C, and Mg-P for which are available both experimental data and previous theoretical computations performed at dif-

ferent levels of theory. The  $Q_x$  and  $Q_y$  components for Mg-BC are found to be at 2.03 and 2.53 eV, respectively. The experimental value in solvent is 2.06 eV<sup>42,43</sup> for the more intense  $Q_x$  component. Previous TD-B3LYP computations give values of 1.79 and 1.90 eV for  $Q_x$  and  $Q_y$ , respectively,<sup>50</sup> whereas another similar computation, performed at HF and B3LYP levels, gives 2.05 eV for the  $Q_x$  component.<sup>51</sup> The composition of the  $Q_x$  transition is mainly due to the HOMO-LUMO transition (93.1%), whereas in the  $Q_y$  component the next-HOMO  $\rightarrow$  LUMO transition is dominant with a contribution from the HOMO  $\rightarrow$  next-LUMO (about 27%). The  $Q_x$  and  $Q_y$  components of the Q-band of Mg-C are found to fall at 2.36 and 2.54 eV, respectively, the first one being much more intense. The experimental counterparts are 2.03 and 2.15 eV, respectively, whereas at the B3LYP level of theory the predicted values are 1.95 ( $Q_x$ ) and 2.32 eV ( $Q_y$ ). In this case the  $Q_x$  component is again more intense than the corresponding  $Q_y$  one, and the orbitals involved in the transitions are (HOMO  $\rightarrow$  LUMO) (80%) and (next-HOMO  $\rightarrow$  next-LUMO) (18.8%) for  $Q_x$  and (next-HOMO  $\rightarrow$  LUMO) (59.5%) and (HOMO  $\rightarrow$  next-LUMO) (39.5%) for  $Q_y$ . In the case of the Mg-P complex only one component of the Q-band is observed in agreement with the experimental evidence<sup>45</sup> and previous theoretical computations.<sup>53</sup> The predicted PBE0 value is 2.43 eV in good agreement with the experimental value (2.30 eV). Our study, according to previous theoretical computations, predicts a low intensity for this excitation energy that is equally composed of HOMO  $\rightarrow$  LUMO and next-HOMO  $\rightarrow$  LUMO transitions. Also for the

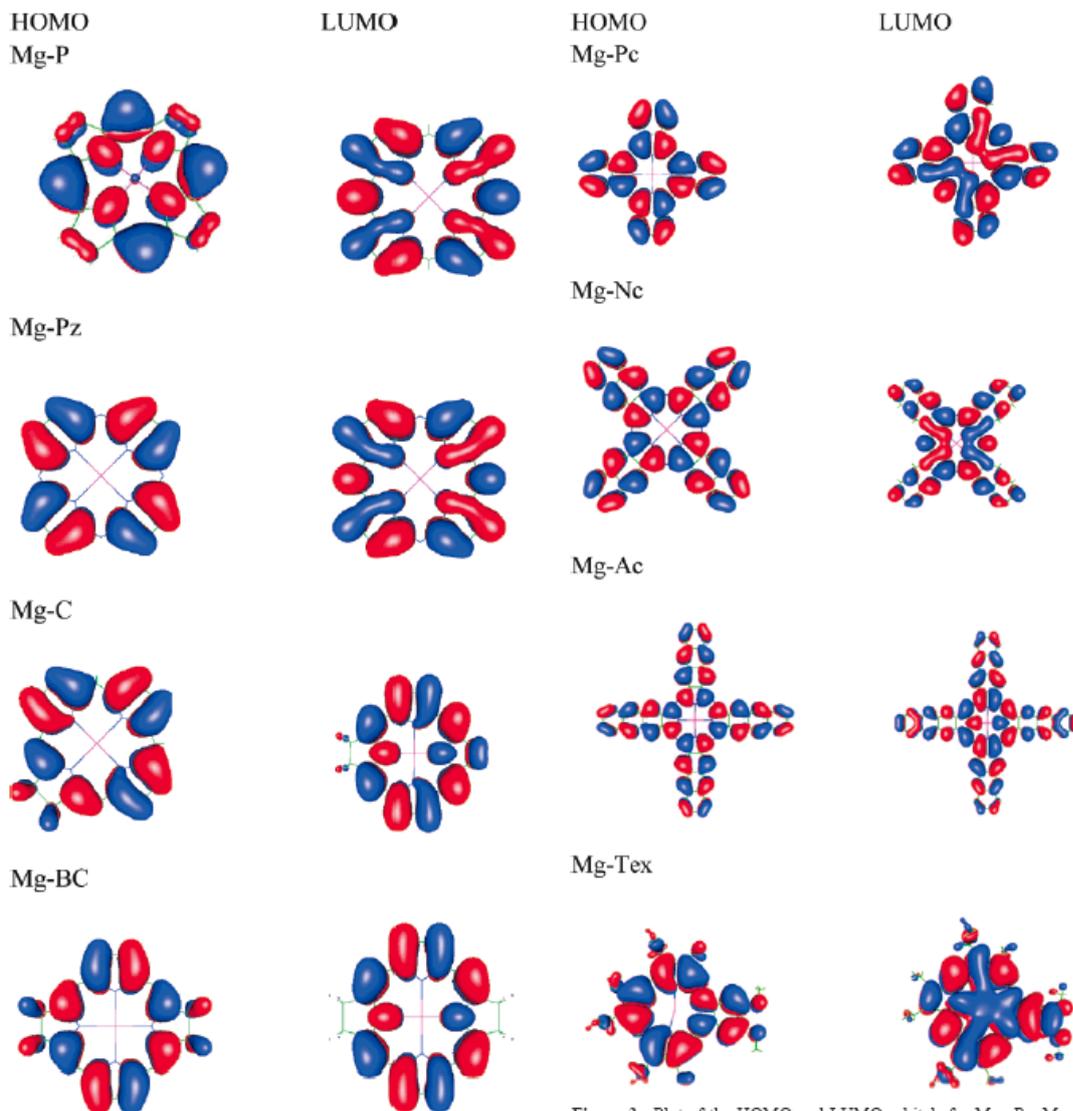


Figure 2. Plot of the HOMO and LUMO orbitals for Mg-P, Mg-Pz, Mg-C, and Mg-BC complexes.

Mg-Pz system we find a single value at 2.49 eV for the Q-band, and the agreement with the experiment is quite good (2.48 vs 2.34 eV). The value of the oscillator strength indicates an intense band that mainly arises from HOMO  $\rightarrow$  LUMO (81.2%) and next-HOMO  $\rightarrow$  LUMO (17.8%) transitions. The Mg-Tex complex shows  $Q_x$  and  $Q_y$  transitions at 1.95 and 2.07 eV, respectively, with low intensity (in both cases the value of the oscillator strength is about 0.08 eV). The most important component of the  $Q_x$  transition is the HOMO  $\rightarrow$  LUMO (83.7%), whereas for the  $Q_y$  it is the HOMO  $\rightarrow$  next-LUMO (69.1%). Finally, for the Mg-Pc, Mg-Nc, and Mg-Ac it is worth it to underline the presence of an only intense transition at 2.10, 1.80, and 1.57 eV, respectively, in the Q region. In order to rationalize these behaviors, we have examined the four

Figure 3. Plot of the HOMO and LUMO orbitals for Mg-Pc, Mg-Nc, Mg-Ac, and Mg-Tex complexes.

Gouterman orbitals for all the considered compounds. In Figure 1 are reported the energies for the frontier orbitals of both the free ligands and the corresponding complexes. In going from Mg-BC to Mg-Pz the obtained values for the Q transitions do not follow the trends of the HOMO-LUMO gap essentially why the transitions in the different compounds do not involve only the HOMO  $\rightarrow$  LUMO transition, but significant contributions come also from the next-HOMO and next-LUMO orbitals. Figure 1b clearly shows that these orbital energies, above all that of the next-LUMO, change significantly in going from Mg-BC to Mg-Pz complexes. As expected, the Mg-Tex system has different Gouterman orbital energies with respect to the other examined complexes. The reason could be that the ring of the texaphyrin ligand is expanded with respect to those of the other ligands. The behavior of the excitation energies found for the

## Magnesium-Containing Porphyrin-Like Compounds

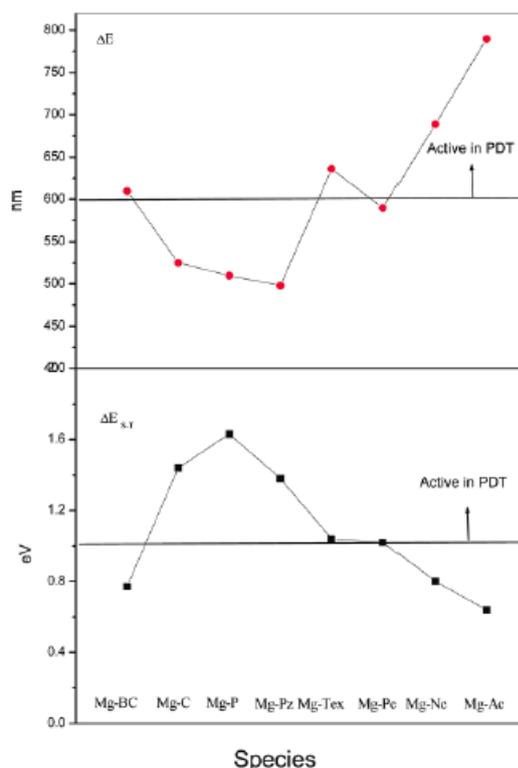


Figure 4. Plot of the Q-band and  $\Delta E_{S-T}$  values for the considered complexes.

last three complexes (Mg-Pc, Mg-Nc, and Mg-Ac) follows that of the HOMO-LUMO gap since the Q-band is characterized by the presence of only the HOMO  $\rightarrow$  LUMO transition. The molecular orbital wave functions for the four Gouterman orbitals of the studied systems are depicted in Figures 2 and 3. From these figures it is evident that the frontier orbitals show  $\pi$  characters distributed over the whole molecules, although the largest contributions come from the chromophore moiety. The HOMO possesses bonding character, and the LUMO is essentially antibonding in nature. Furthermore, the contribution of the metal is negligible in all cases.

From an inspection of Table 4 it is evident that the introduction of the solvent effects through the PCM does not affect significantly the results obtained in vacuum conditions basically because of the low polarity of the solvent in which the experimental spectra have been registered.

When the results concerning the wavelengths of the Q transitions and the results obtained for the energy  $\Delta E_{S-T}$  separations are looked at, some indications about the possible use of these complexes in PDT can be outlined. Figure 4 collects the results concerning these two parameters. The systems that show the absorption Q-bands in the therapeutic window (600–900 nm) are Mg-TeX, Mg-Pc, Mg-Nc, and Mg-Ac. On the other hand, the only systems that present a  $\Delta E_{S-T}$  gap lower than the corresponding value for dioxygen are the Mg-Nc, Mg-Ac, and Mg-BC complexes for which our computed value are 0.80, 0.65, and 0.78 eV, respectively. Combining these two parameters we can predict that among the studied systems, the

*J. Phys. Chem. B*, Vol. 112, No. 13, 2008 4129

best candidates for their use in PDT should be, in order of preference, Mg-TeX and Mg-Pc molecules.

### Conclusions

Time-dependent density functional computations have been performed on the excited states of a series of magnesium(II) complexes with porphyrin, porphyrizin, chlorine, bacteriochlorine, texaphyrin, phthalocyanine, naphthalocyanine, and anthracocyanine ligands. Special emphasis has been devoted to the reproduction and prediction of the Q-bands and to the singlet-triplet energy gap in view of the possible use of these systems as photosensitizers in PDT. On the basis of our study the following conclusions can be drawn:

(1) The employed method gives results that are in reasonable agreement with the experimental spectra.

(2) The only magnesium complexes that show transitions in the range of the PDT therapeutic window (600–900 nm) are those containing the texaphyrin, phthalocyanine, naphthalocyanine, and anthracocyanine ligands.

(3) Mg-C, Mg-P, Mg-Pz, Mg-TeX, and Mg-Pc possess singlet-triplet energy gaps equal or larger than the corresponding energy difference in oxygen molecule.

From these computed properties we can conclude that only the Mg-TeX and Mg-Pc complexes can be indicated as good candidates for their use as photosensitizers in PDT.

**Acknowledgment.** The authors thank the MIUR and the Università della Calabria for the financial support.

### References and Notes

- (1) MacDonald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* 2001, 5, 105–129.
- (2) Van Tenten, Y.; Schuitmaker, H. J.; De Wolf, A.; Willekens, B.; Vrensen, G. F. J. M.; Tassignon, M. J. *Exp. Eye Res.* 2001, 72, 41–48.
- (3) Dolmans, D. E. J. G. J.; Fukumura, D.; Jain, R. K. *Nat. Rev. Cancer* 2003, 3, 380.
- (4) Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbelik, M.; Moan, J.; Peng, Q. *J. Natl. Cancer Inst.* 1998, 90, 889.
- (5) Sessler, J. L.; Hemmi, G.; Mody, T. D.; Murai, T.; Burrell, A.; Young, S. W. *Acc. Chem. Res.* 1994, 27, 43.
- (6) Hajri, A.; Wack, S.; Meyer, C.; Smith, M. K.; Leberquier, M.; Aprahamian, M. *Photochem. Photobiol.* 2002, 75, 140–148.
- (7) Van Tenten, Y.; Schuitmaker, H. J.; De Wolf, A.; Willekens, B.; Vrensen, G. F. J. M.; Tassignon, M. J. *Exp. Eye Res.* 2001, 72, 41–48.
- (8) Rockson, S. G.; Kramer, P.; Razavi, M.; Szuba, A.; Filardo, S.; Adelman, D. C. *Circulation* 2000, 102, 2322.
- (9) Lambrechts, S. A. G.; Demidova, T. N.; Aalders, M. C. G.; Hasan, T.; Hamblin, M. R. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2005, 4, 503–509.
- (10) Mang, T. S.; Allison, R.; Hewson, G.; Snider, W.; Moskowitz, R. *Cancer J. Sci. Am.* 1998, 4, 378.
- (11) Young, S. W.; Woodbourn, K. W.; Wright, M. *Photochem. Photobiol.* 1996, 63, 892–897.
- (12) Mellish, K. J.; Cox, R. D.; Vernon, D. I.; Griffiths, J.; Brown, S. B. *Photochem. Photobiol.* 2002, 75, 392.
- (13) Detty, M. R.; Merkel, P. B. *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 3845.
- (14) Williamson, L. M.; Cardigan, R.; Prowse, C. V. *Transfusion* 2003, 43, 1322.
- (15) Gorman, A.; Killoran, J.; O'Shea, C. J. *Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 10619–10631.
- (16) Killoran, J.; Allen, L.; Gallagher, J. F.; Gallagher, W. M.; O'Shea, D. F. *Chem. Commun.* 2002, 1862–1863.
- (17) Szacilowski, K.; Macyk, W.; Drzewiecka-Matuszek, A.; Brindell, M.; Stockhel, G. *Chem. Rev.* 2005, 105, 2647–2694.
- (18) Buchler, J. W. In *Porphyrins and Metalloporphyrins*; Smith, K. C., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 1975.
- (19) Petit, L.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* 2005, 109, 12214–12221.
- (20) Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E.; Lelj, F. *J. Chem. Theory Comput.* 2007, 3, 860–869.
- (21) Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E. *Chem. Eur. J.* 2006, 12, 6797–6803.
- (22) Petit, L.; Quartarolo, A. D.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 2398–2404.
- (23) Ciofini, I.; Daul, C.; Adamo, C. *J. Phys. Chem. A* 2003, 107, 11182.

- (24) Weiss, C. *J. Mol. Spectrosc.* **1972**, *44*, 37.
- (25) Hasegawa, J.; Ozeki, Y.; Okawa, K.; Hada, M.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 1320–1326.
- (26) Hasegawa, J.; Hada, M.; Nonoguchi, M.; Nakatsuji, H. *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *250*, 159.
- (27) Ahlrichs, R.; Bar, M.; Haser, M.; Horn, H.; Kolmel, C. Electronic structure calculations on workstation computers: The program system Turbomole. *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *162* (3), 165–169.
- (28) Adamo, C.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158.
- (29) Schaefer, A.; Ahlrichs, H. *R. J. Chem. Phys.* **1992**, *97*, 2571.
- (30) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865.
- (31) Schaefer, A.; Huber, C.; Ahlrichs, R. *J. Chem. Phys.* **1994**, *100*, 5829.
- (32) Klamt, A.; Schuurmann, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1993**, *2*, 799.
- (33) Tomasi, J.; Persico, M. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2027.
- (34) Barone, V.; Cossi, M. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1995.
- (35) Kobayashi, N.; Konami, H. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 233–255.
- (36) Zhang, X.; Zhang, Y.; Jiang, J. *J. Mol. Struct.* **2004**, *673*, 103–108.
- (37) Toyota, K.; Hasegawa, J.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 446–451.
- (38) Edwards, L.; Gouterman, M. *J. Mol. Spectrosc.* **1970**, *33*, 292–310.
- (39) Kobayashi, S.; Nakajima, H.; Ogata, H.; Fukuda, T. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 6294–6312.
- (40) McKee, V.; Ong, C. C.; Rodley, G. A. *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 4242–4248.
- (41) Wong, A.; Ramsey, I.; Xin, M.; Zhehong, G.; Poh, J.; Gang, W. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 10084–10090.
- (42) Dorough, G. D.; Miller, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 6106–6108.
- (43) Seely, G. R. *J. Chem. Phys.* **1957**, *27* (1), 125–133.
- (44) Eisner, U.; Linstead, R. P. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3742–3748.
- (45) Eisner, U.; Linstead, R. P. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3749–3754.
- (46) Anderson, J. S.; Bradbrook, E. F.; Cook, A. H.; Linstead, R. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 1151–1156.
- (47) Kovshov, E. I. *Zh. Obshch. Khim.* **1972**, *42*, 696.
- (48) Cook, A. H.; Linstead, R. P. *J. Chem. Soc.* **1937**, 929–933.
- (49) Baerends, E. J.; Ricciardi, G.; Rosa, A.; van Gisbergen, S. J. A. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 3311–3327.
- (50) Linnanto, J.; Korppi-Tommola, J. *J. Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 663–687.
- (51) Linnanto, J.; Korppi-Tommola, J. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 5872–5882.
- (52) Sundholm, D. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *317*, 392–399.
- (53) Baerends, E. J.; Ricciardi, G.; Rosa, A.; van Gisbergen, S. J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *230*, 5–27.

## **Manoscritto II**

Can subpyriporphyrin and its boron complex be  
proposed as photosensitizer in photodynamic therapy ?

A first principle time dependent study

# **Can subpyriporphyrin and its boron complex be proposed as photosensitizer in photodynamic therapy ? A first principle time dependent study**

Ida Lanzo, Angelo D. Quartarolo, Nino Russo, Emilia Sicilia

*Dipartimento di Chimica and Centro di Calcolo ad Alte Prestazioni per Elaborazioni Parallele e Distribuite-Centro d'Eccellenza MURST, Universita' della Calabria, I-87030 Arcavacata di Rende (CS), Italy*

## **Abstract**

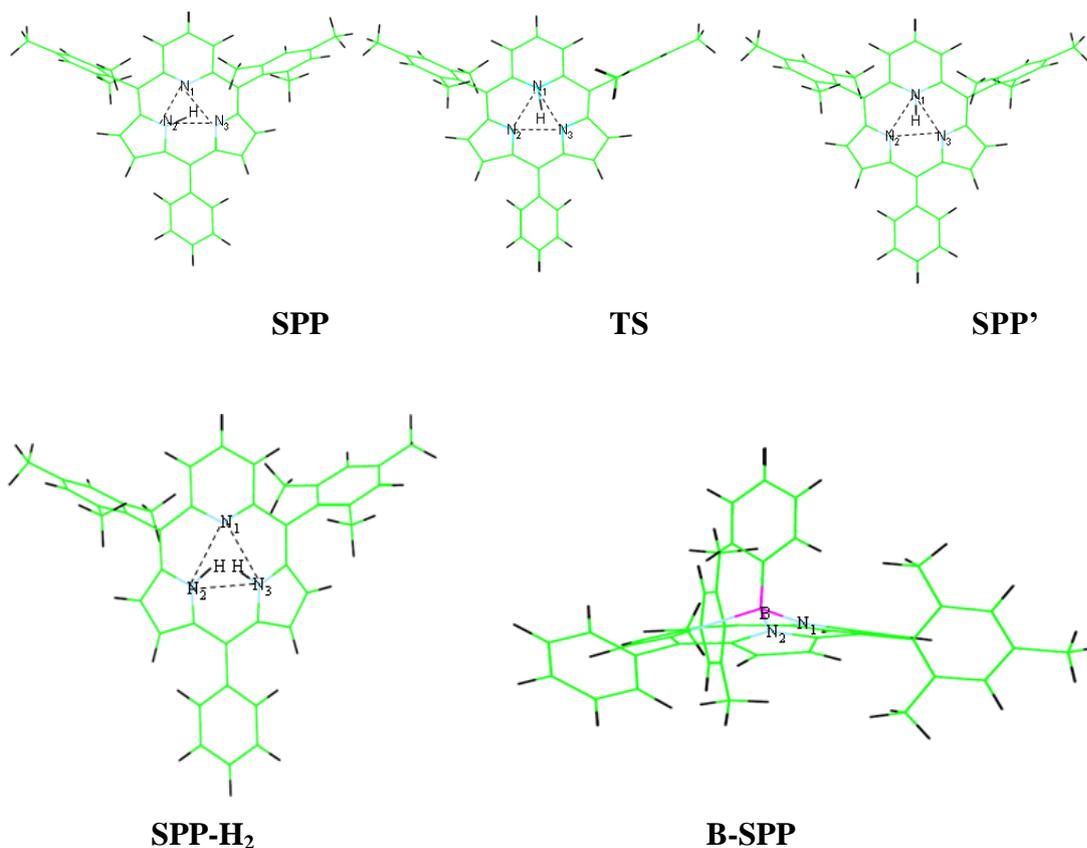
Density Functional Theory (DFT) and its time-dependent approach (TDDFT) in conjunction with the PBE0 exchange-correlation functional have been employed to characterize the structural and electronic properties of a new synthesized homologue of a triphyrin, in which a pyrrole ring has been substituted with a pyridine moiety, and its boron complex. Absorption and emission spectra have been computed for different isomers of the free compound as well as for the corresponding boron containing system. The solvent effects have been evaluated throughout the polarizable continuum model (PCM). Singlet-triplet energy gap have been computed in order to verify whether these systems should be proposed as photosensitizers in photodynamic therapy. Results show that, the employed tool is able to correctly reproduce the absorption and emission spectra and to contribute to better assign the electronic transitions explaining their origin and that the boron complex has a singlet-triplet energy gap that, in principle, can activate the singlet O<sub>2</sub> reactive species.

## **1. Introduction**

The porphyrins and their expanded ring analogues are the most studied macrocyclic ring systems since their peculiar electronic structures give rise to numerous properties that make these systems particularly interesting in a wide range of applications going from nonlinear optics, to photonic devices, to dyes

technologies.<sup>[1-3]</sup> Less effort has been devoted to synthesize and characterize contracted porphyrinoids such as subphthalocyanines<sup>[4,5]</sup>, subporphyrazines<sup>[6,7]</sup> tribenzosubporphyrins<sup>[8,9]</sup> and subporphyrins<sup>[10,11]</sup> that contain three pyrrole or isoindole moieties. Contrary to porphyrins and their expanded ring analogues these systems comprise a 14- $\pi$ -electron aromatic core, often adopt a nonplanar conformation and consequently reveal very interesting spectral and electronic features<sup>[4]</sup> potentially useful for their application in many fields of modern technologies. The absorbance spectra in the UV/Vis region of the subporphyrinoids are blu-shifted with respect to the more expanded porphyrin-like systems due to their small  $\pi$ -conjugated cores and are intensively coloured from orange to deep red. These characteristics make them potential candidates in the high-density optical data storage technology<sup>[4]</sup>. Recently, a subpyriporphyrin hereafter denoted SPP (see Scheme) a novel type of contracted porphyrin, a homologue of [14]thriphyrin(1.1.1) in which one pyrrole ring has been substituted with a pyridine moiety, has been synthesized as free ligand and as boron containing complex<sup>[10]</sup>.

### Scheme



The absorption spectra of these new compounds are interesting and contain transitions in both B and Q bands. The reported UV/Vis absorption spectra <sup>[10]</sup> are not well assigned and the origin of the electronic transitions are not known.

Since the considered systems show transition energies in the Q band (greater than 500 nm) in principle they should be active in photodynamic therapy (PDT). This non-invasive therapy is currently used for the treatment of a variety of diseases in oncology, but is explored also in the areas of cardiology, ophthalmology, dermatology, immunology, gynecology, urology <sup>[12-15]</sup> and microbial infections <sup>[16]</sup>.

In PDT a non toxic photosensitizer is introduced in the body of the appropriate target and is irradiated with a wavelength light ranging from 600 to 900 nm (the so-called therapeutic window), in order to excite the photosensitizer from its ground state ( $S_0$ ) in a short-lived first excited state ( $S_1$ ). Furthermore,  $S_1$  can undergo conversion to the first excited triplet state ( $T_3$ ) by intersystem crossing. Then the  $T_3$  state of the sensitizer can release its energy to the surrounding biological tissue exciting the  $O_2$  from its triplet ( $^3\Sigma_g$ ) to the high reactive singlet state ( $^1\Delta_g$ ) that induces an oxidative cellular damage leading to the apoptosis or necrosis of the cells.

In order to contribute to give further insights into the origin of these transitions, to better characterize the optical spectra of these new synthesized macrocycles and to verify whether their electronic properties are interesting for their possible use in PDT, we have undertaken a systematic study of the structure and electronic properties of different isomers of the free species as well as of their boron complexes (see Scheme).

## 2. Computational method

The study has been performed at density functional (DFT) level of theory and employing its time dependent extension (TD-DFT) <sup>[17]</sup>. Full geometry optimization for each studied free ligand and corresponding boron complex has been carried out using the Turbomole program <sup>[18]</sup> employing the PBE0 <sup>[19]</sup> exchange-correlation functional and the SVP and TZVP all electron basis sets. <sup>[20]</sup> The PBE0 functional, based on the generalized gradient functional PBE<sup>[20]</sup> with 25% exact exchange, has been chosen as it generally reproduces geometrical parameters, also in metal containing systems, within experimental error<sup>[19]</sup>. As recently show<sup>[21-27]</sup>, it is also able to correctly predict the absorption and emission spectra and the oscillator

strengths in a series of conjugated systems including porphyrin-like ligands and in their metal complexes. The nature of the minima has been verified computing vibrational modes and no imaginary frequency has been calculated for any of the systems under investigation. Absorption spectra have been computed as vertical excitations from the ground state minima structures by using the TDDFT approach as implemented in Turbomole code<sup>[18,28-30]</sup>.

Emission spectra for the Q band have been obtained optimizing the first S1 excited state.

Solvent effects have been evaluated using the conductor-like approach within the framework of polarizable continuum method (PCM)<sup>[31,32]</sup>. Since the available experimental absorption spectra have been recorded in solvents with low polarity, the use of explicit solvent molecules can be avoided while PCM is able in these cases to provide reliable results.

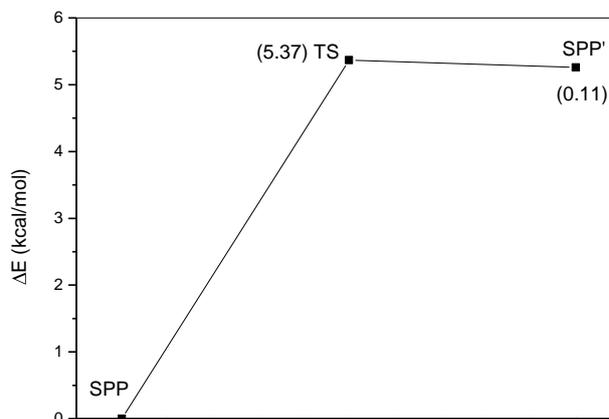
### **3. Results and discussion**

#### **3.1 Ground state geometrical structures**

As a first step of the work we have optimized the geometrical structures of all the investigated systems. The subpyriporphyrin SPP can exist in two isomeric forms: in the former the hydrogen is bonded to the nitrogen of the pyrrole ring (SPP) while in the second one the hydrogen is linked to the pyridine moiety (denoted by us as SPP') as shown in scheme . The available X-ray data<sup>[10]</sup> do not allow to discriminate between the two isomers, but suggest that the hydrogen in the macrocyclic cavity is involved in three-centered hydrogen bonding. Our results show that the SPP form is energetically more stable than the SPP' one by 5.3 kcal/mol. This is in agreement with a previous theoretical study that gives an energy separation of about 4.7 kcal/mol. As indicated in the table 1, the N1-N2, N1-N3 and N2-N3 distance of the SPP isomer are very close to those determined by the X-ray structural analysis, showing that in the solid state the SPP form is dominant. The interconversion between SPP to SPP' can occur by means of an H shift from one protonated structure to the other. The intercepted transition state structure for the H atom transfer corresponds to a computed barrier of 5.4 kcal/mol (see Figure 1). This result confirms the NMR conclusions<sup>[10]</sup> that this subpyriporphyrin species can undergo tautomerization in solution. In the transition state structure the N1-H and N2-H bond lengths are 1.144

and 1.387 Å, respectively and the imaginary frequency (283 cm<sup>-1</sup>) corresponds to the N1-H bond breaking.

**Figure 1.** Plot of the potential energy surface for the interconversion between SPP and SPP' isomers.



**Table 1.** Bond lengths (Å) for compounds SPP, SPP', TS, SPP-H<sub>2</sub>, B-SPP. Experimental values in parentheses are reported.

Distance	SPP	SPP'	TS	SPP-H <sub>2</sub>	B-SPP
d <sub>N1-N2</sub>	2.515 (2.534)	2.490	2.409	2.529	
d <sub>N1-N3</sub>	2.576 (2.519)		2.543	2.594 (2.610)	
d <sub>N2-N3</sub>	2.383 (2.370)	2.442	2.439		
d <sub>N1-H</sub>	1.822	1.078	1.144	1.753	
d <sub>N2-H</sub>	1.069 (1.39)	1.638	1.387	1.025	
d <sub>N3-H</sub>	1.489		1.819	1.011	
d <sub>B-N1</sub>					1.510
d <sub>B-N2</sub>					1.545

The optimized structure of the diprotonated subpyrriporphyrin with two hydrogen bonded to the two pyrrole nitrogen (structure SPP-H<sub>2</sub> scheme) show the increase in

the optimized N2-N3 (2.594 Å) distance. The coordination of a boron (III) ion (see structure B-SPP scheme) gives a complex in which the boron center is pushed out from the N,N,N plane by 0.621 Å and with B-N bond length of 1.508 Å (table 1). The data well agree with the previous theoretical structure minimization for this complex as well as with the X-ray structural data<sup>[10]</sup>.

### 3.2 Absorption Spectra

The computed absorption spectra in gas-phase and in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> solution are reported in Table 1 together with the experimental counterparts. In order to check the possible influence of the basis set size on the transition energies two of basis sets with increasing size (SVP versus TZVP) have been employed. As can be inferred from Table 2, for all the considered systems very similar results have been obtained, being the maximum difference about 20 cm<sup>-1</sup>. This means that the smaller SVP basis set already gives a realistic description of the transition energies and can be used for the determination of the emission spectra. For both SPP and SPP' species the experimental B band is intense and has a maximum absorption of 346 nm in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> solvent<sup>[10]</sup>. Our computed transition energies for the two isomers lie at 396 and 405 nm for SPP and SPP', respectively. The experimental Q band is very broad and the maximum intensity results to be 730 nm<sup>[10]</sup>. The computed SVP (TZVP) transition energies in gas phase show that the band consist of two different transitions. In the case of the SPP isomer a transition at 739 (739) nm and another much less intense at 485 (471) nm have been calculated. For SPP' the intensity value are reversed with respect to that of SPP ones and the transition energies fall at and 814 (853) nm. In CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> solution we find 814 and 521 nm for SPP' and 698 and 462 nm for SPP. In both cases, the addition of the bulk solution effect produces a small blue shift with respect to the in vacuo computations. The origin of the two transitions is different for the two examined isomers. In fact, in the case of SPP the blue shifted transition is mainly due to a HOMO-2→LUMO (2-0) transition (86%) while the red shifted transition is essentially originated by a HOMO→LUMO one (97%). In SPP' isomer, the lower energy transition has again a HOMO→LUMO character (96%) while the other is essentially HOMO→LUMO+1 in nature (83%). Comparison between the experimental and theoretical values shows that the computed transition energies for the SPP isomer are closer to the experimental counterparts meaning that this isomer

should be predominant in solution as indicated also by its greater stability. The quantitative comparison is very good since the computed and experimental transition energies differ by only  $32 \text{ cm}^{-1}$  for the Q band. The experimental absorption spectrum for the SPPH<sub>2</sub> species presents also a broad peak <sup>[10]</sup> with a maximum located at about 800 nm. Our computation shows two transitions as for SPP and SPP' systems. In solution, transition energies at 814 and 521 nm, with HOMO→LUMO and HOMO→LUMO+1 character, respectively are found. The agreement with the experimental counterpart is quite satisfactory also in this case being the maximum peak in the experimental spectrum located at about 800 nm <sup>[10]</sup>.

**Table 2.** Excitation energies in eV and (nm), oscillator strengths (f), configuration and experimental data for the SPP, SPP', SPP-H<sub>2</sub> and B-SPP .

The orbital contributions in parentheses are reported with the convention that the first number, n, refers to the occupied orbitals (HOMO -n), and the second (nm) to the virtual (LUMO +m).

State	TZVP(in vacuo)			State	SVP (in vacuo)			SVP (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> solution)	Ex p <sup>a</sup>
	Excitation energy	f	Main configuration		Excitatio n energy	f	Main configuration		
SPP									
A	1.71 (739)	0.068	96% (0-0)	A	1.67 (739)	0.097	97% (0-0)	1.77 (698)	730
A	2.62 (471)	0.089	83% (0-1) 12% (1-0)	A	2.55 (485)	0.007	85% (0-1) 8% (1-0)	2.68 (462)	
SPP'									
A	1.44 (857)	0.068	97% (0-0)	A	1.67 (739)	0.068	95% (0-0)	1.52 (814)	730
A	2.35 (527)	0.089	83% (2-0) 7% (1-0)	A	2.55 (485)	0.085	82% (0-1) 12% (1-0)	2.37 (521)	
SPP-H <sub>2</sub>									
A	1.60 (772)	0.150	98% (0-0)	A	1.59 (775)	0.156	98% (0-0)	1.52 (814)	800
A	2.25 (550)	0.015	95%(0-1)	A	2.16 (572)	0.098	97% (0-1)	2.37 (521)	
B-SPP									
A	1.85 (668)	0.090	97% (0-0)	A	1.81 (681)	0.090	97% (0-0)	1.95 (635)	687
A	2.20 (561)	0.000	90%(1-0)	A	2.14 (577)	0.000	90%(1-0)	2.45 (505)	

a) from ref.(10)

The experimental spectrum of the boron containing system, B-SPP, presents in the visible region an intense peak at 687 nm and a very weak one at 523 nm. Our simulation well reproduces this situation. In fact, in solvent environment, an intense transition at 681 nm ( $f= 0.09$ ) and another with an oscillator strength value of about zero at 577 nm are found. These two peaks are originated by HOMO $\rightarrow$ LUMO and HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO transitions, respectively. With respect to the bare SPP system, the consistent red shift of both transitions is essentially due to the fact that the boron coordination sensibly changes the planarity of the ring and allows the formation of a domed structure in which the boron atom is displaced from the N3 plane. As a consequence the  $\pi$  system around the N3 plane is modified. It is worth to underline that the computed and experimental transitions well agree in providing a difference that is of about 50 nm for both the transitions.

### 3.3 Emission spectra

Since the outcomes obtained for the geometrical and spectroscopic data by using the SVP basis set are very similar to those resulting from the computations with the more extended TZVP basis set, optimization of the first excited state was carried out employing the more economical SVP basis set. Vibrational analysis confirms that the optimized structure represents the stationary point structure for this electronic state.

The emission energies predicted at the TD-PBE0 level for all the considered compounds are reported in Table 3. As expected, all the emission energies are significantly red-shifted with respect to the relative absorption transitions. In particular, (0-0) transition for SPP and SPP' are red shifted by about 440 and 264 nm, respectively. In the case of SPP-H<sub>2</sub> and B-SPP red-shifts of 177 and 182 nm, respectively have been calculated.

**Table 3.** Emission spectra , oscillator strenghts and difference between emission and absorption wavelenght ( $\Delta\lambda$ ) in eV and (nm) for the SPP, SPP', SPP-H<sub>2</sub> and B-SPP obtained by TDDFT at PBE0 optimized geometries.

SVP			
	Excitation energy	f	$\Delta\lambda$
SPP			
A	1.23 (1003)	0.061	-0.44 (264)
A	2.28 (543)	0.036	-0.27 (98)
SPP'			
A	0.95 (1293)	0.027	-0.5 (440)
A	2.01 (616)	0.049	-0.38 (98)
SPP-H <sub>2</sub>			
A	1.30 (952)	0.143	-0.29 (177)
A	2.20 (561)	0.004	-0.04 (-11)
B-SPP			
A	1.43 (863)	0.077	-0.38 (182)
A	1.91 (648)	0.001	-0.23 (71)

### 3.4 Singlet-triplet energy gap

The absorption wavelength criterion itself is not enough to propose a new photosensitizer for the photodynamic therapy, and it is also necessary that the photosensitizer has a good quantum yield for the first excited triplet state, which has to release the appropriate energy to yield singlet oxygen. For this reason we have computed the singlet-triplet energy gap ( $\Delta E_{S-T}$ ) in order to verify if the considered systems have  $\Delta E_{S-T}$  equal or higher than 0.95 eV that correspond to the energy separation between  $^3\Sigma_g^-$  and  $^1\Delta_g$  states of molecular oxygen. The value obtained from the optimization of also the triplet states are shown in Table 4.

**Table 4.** Singlet-Triplet energetic gap  $\Delta E_{S-T}$  in vacuo.

<b>Molecule</b>	$\Delta E_{S-T}$
	vacuum
<b>SPP</b>	0.69
<b>SPP'</b>	0.68
<b>SPP-H<sub>2</sub></b>	0.59
<b>B-SPP</b>	0.95

As it is evident from this, only B-SPP has a  $\Delta E_{S-T}$  value (0.95 eV) able to transfer the energy from its triplet state to the oxygen in order to generate the reactive  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ) state that in turns promote type II reactions able to destroy the cells around the target treated by the photodynamic therapy. The other two free ligands, although exhibits absorption energies that falls in the therapeutic window (600-900 nm) have a singlet-triplet energy gap unable to activate the reactive  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ) state and, consequently cannot be proposed as photosensitizer in photodynamic therapy. This result agree with our previous studies on porphyrin.like systems in which it was find that the presence of an heavy atom on the ligand structure on their metal complexes generally increases the  $\Delta E_{S-T}$  energy gap <sup>[21]</sup>.

#### **4. Conclusion**

Density functional and time-dependent density functional levels of theory have been used to characterize the structural and electronic properties of a series of subpyriporphyrin systems. Results show that:

- it is possible to assign the absorption spectrum of free subpyriporphyrin that have different isomers (SSP, SSP') that lies at different energies;
- the used PBE0 exchange-correlation functional give transition energies close to the experimental results;
- previsto gli spettri di emissione
- the B-SPP compounds have a singlet-triplet energy gap that in principle can activate the  $^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ ) state and consequently it can be proposed as photosensitizer for photodynamic therapy.

Studies on other subphtalocyanines, subporphyrazines, tribenzosubporphyrins and subporphyrins and their complexes are in advanced state in our laboratory in order to verify it possible use in photodynamic therapy.

**References**

- [1] *The Porphyrin Handbook, Vol. 2* ( Eds. K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard), Academic Press, New York, **2000**.
- [2] Broring M.; Koler S.; Kleeberg C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5658.
- [3] Fukuda T.; Kobayashi N. *Dalton Trans.*, **2008**, 4685-4704.
- [4] Claessens C. G.; Gonzales-Rodriguez D.; Torres T. *Chem. Rev.* **2002**, *102*,835.
- [5] Torres T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2834.
- [6] Rauschnabel J.; Hanack M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1629.
- [7] Rodriguez-Morgade M. S.; Esperanza S.; Torres T.; Barbera J. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 354.
- [8] Inokuma Y.; Kwon J. H.; Ahn T. K.; Yoo M. C.; Kim D.; Osuka A. *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 975.
- [9] Inokuma Y.; Kwon J. H.; Ahn T. K.; Yoo M. C.; Kim D.; A. Osuka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 961.
- [10] Mysliborski R.; Latos-Grazynski L.; Szterenber L.; Lis T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3670.
- [11] Inokuma Y.; Easwaramoorthi S.; Young Jang S.; Suk Kim K.; Kim D.; Osuka A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4840.
- [12] Sessler, J. L.; Hemmi, G.; Mody, T. D.; Murai, T.; Burrell, A.; Young, S.; *W. Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 43.
- [13] Hajri, A.; Wack, S.; Meyer, C.; Smith, M. K.; Leberquier, M.; Aprahamian, M. *Photochem. Photobiol.* **2002**, *75*, 140.
- [14] Van Tenten, Y.; Schuitmaker, H. J.; De Wolf, A.; Willekens, B.; Vrensen, G. F. J. M.; Tassignon, M. J. *Exp. Eye Res.* **2001**, *72*, 41.
- [15] Rockson, S. G.; Kramer, P.; Razavi, M.; Szuba, A.; Filardo, S.;Adelman, D. C. *Circulation* **2000**, *102*, 2322.
- [16] Lambrechts, S. A. G; Demidova, T. N.; Aalders, M. C. G; Hasan, T.; Hamblin, M.R. *Photochem. Photobiolo. Sci.*, **2005**, *4*, 503.
- [17] Casida M. E.in *Recent Advances in Density Functional Methods, Part I* (ed. : D. P. Chong) , World Scientific, Singapore, **1995**.

- [18] Hasegawa, J.; Hada, M.; Nonogouchi, M.; Nakatsuji, H. *Chem. Phys. Lett.* **1996**,250,159.
- [19] Ahlrichs R.; Bar M.; Haser M.; Horn H.; Kolmel C. Electronic structure calculations on workstation computers: The program system Turbomole *Chem.Phys. Lett.* **1989** 162(3), 165.
- [20] Adamo C.; Barone V. *J. Chem. Phys.* **1999** ,110, 6158.
- [21] Lanzo I.; Russo N.; Sicilia E. *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112, 4123.
- [22] Petit L.; Adamo C.; Russo N. *J. Phys. Chem. B* **2005**,109 12214.
- [23] Quartarolo A.D.; Russo N.; Sicilia E.; Lelj F. *J. Chem. Theory Comput.* **2007**,3, 860.
- [24] Quartarolo A.D.; Russo N.; Sicilia E. *Chem. Eur. J.* **2006**,12, 6797.
- [25] Petit L.; Quartarolo A. D.; Adamo C.; Russo N. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 2398.
- [26] Jacquemin D., Preat J.; Wathélet V.; Fontaine M., Perpète E. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 2072.
- [27] Guedes R. C. and Eriksson L. A. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* **2005** ,172, 293.
- [28] Schaefer A.; Ahlrichs H. R. *J. Chem. Phys.* **1992**, 97,2571.
- [29] Perdew J. P.; Burke K.; Ernzerhof M. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, 77, 3865.
- [30] Perdew J. P.; Burke K.; Ernzerhof M. *Phys. Rev. Lett* **1997**, 78, 1396.
- [31] Schaefer A.; Huber C.; Ahlrichs R. *J. Chem. Phys.* **1994**, 100, 5829.
- [32] Klamt, A.; Schuurmann, G. *J. Chem. Soc. Perkin Trans*, **1993**, 2, 799.

## **Manoscritto III**

Can Phthalocyanines and their Substituted  $\alpha$ -  
(Methoxy)Phenyl Derivatives act as Photosensitizers in  
Photodynamic Therapy? A TD-DFT Study

# Can Phthalocyanines and their Substituted $\alpha$ -*para* (Methoxy)Phenyl Derivatives act as Photosensitizers in Photodynamic Therapy? A TD-DFT Study

*Angelo Domenico Quartarolo, Ida Lanzo, Emilia Sicilia and Nino Russo\**

Dipartimento di Chimica and Centro di Calcolo ad Alte Prestazioni per Elaborazioni Parallele e Distribuite-Centro di Eccellenza MURST, Università della Calabria, I-87030 Arcavacata di Rende, Italy

Corresponding author e-mail: [nrusso@unical.it](mailto:nrusso@unical.it)

\*Address correspondence to this author: Tel. +39-0984-492048, Fax. +39-0984-492044, e-mail: [nrusso@unical.it](mailto:nrusso@unical.it)

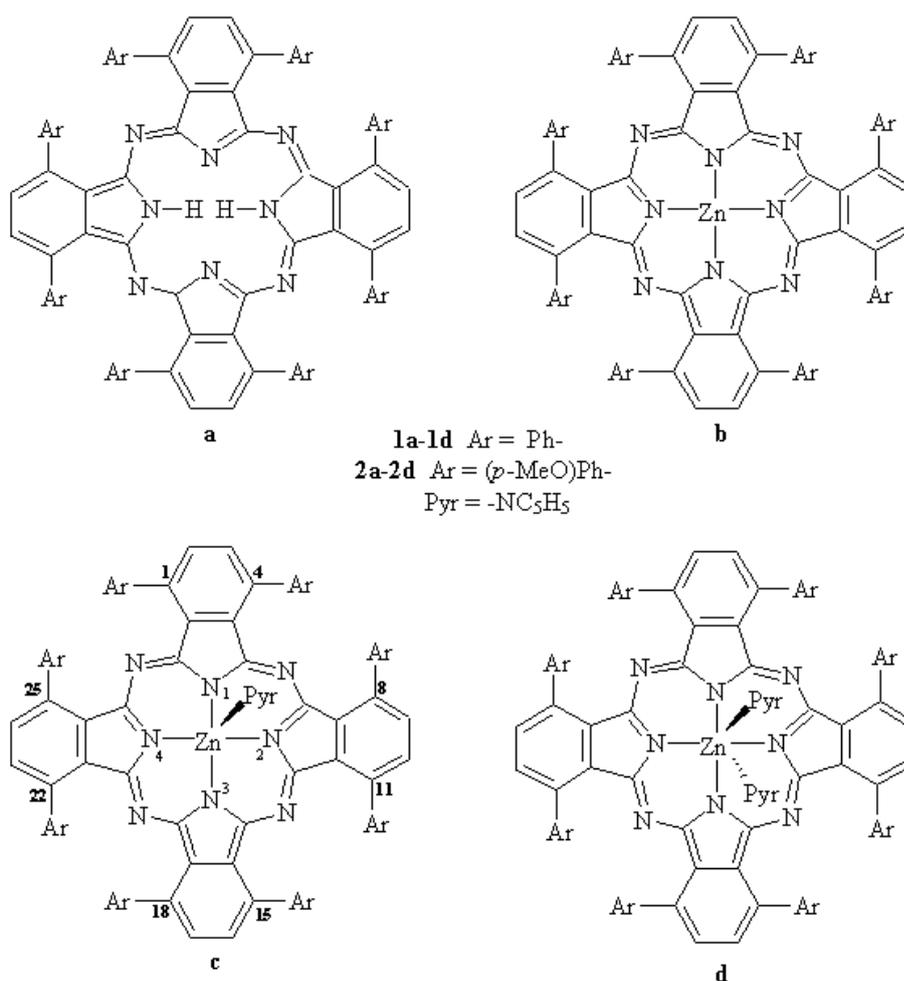
## **Abstract**

A time-dependent density functional theory study (TD-DFT) is presented regarding the substituent effects on the Q-bands of two classes of non-planar phthalocyanines: the  $\alpha$ -octaphenyl and *p*- $\alpha$ -octamethoxyphenyl substituted compounds, in their free-base and zinc complex forms. Singlet vertical excitation energies, computed at the PBE0/SVP//BP86/SVP level of theory including also bulk solvent effects (COSMO model), resulted within 0.1 eV from the experiment. The experimental red-shift for the Q-band, going from the phenylated to methoxyphenylated case, was well reproduced theoretically and in the latter case it was found to depend mainly on the nature of substituents and partly on structure distortion effects. The energetic gap between singlet ground and first triplet excited state was calculated in solvent to be 1.28 eV for the free-base phthalocyanine (H<sub>2</sub>Pc) and 1.45 eV for the unsubstituted zinc complex (ZnPc) and lower, for all the other compounds, than 0.98 eV, which is the energetic lower limit for a molecule to act as photosensitiser in photodynamic therapy according to Type II reaction mechanism. As a consequence, since this property requirement for drugs used in photodynamic therapy is not fulfilled by the investigated near-infrared photosensitizers, they cannot be proposed as candidates for their use in this medical treatment.

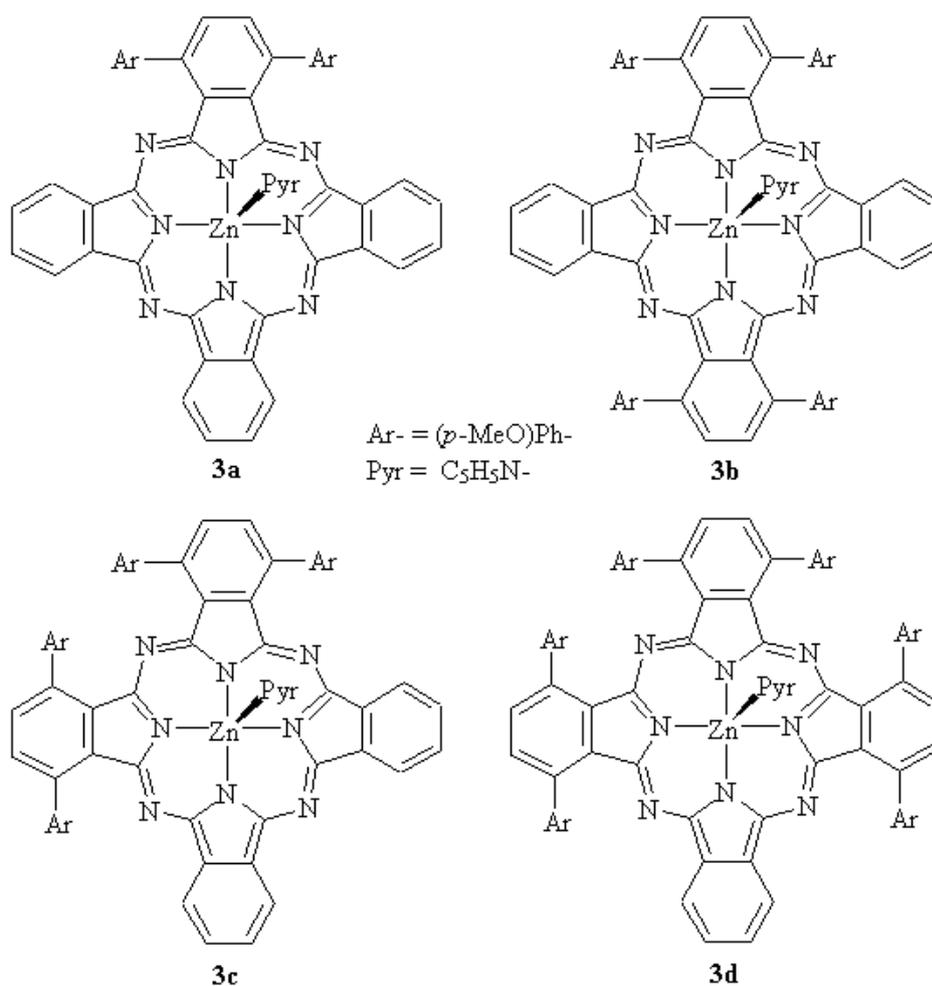
## **1. Introduction**

Photodynamic therapy (PDT) is a promising medical technique for the selective treatment of different tumoral diseases like skin cancers, breast metastases, head and neck cancers and age-related macular degeneration (AMD).<sup>1-4</sup> The combination of visible light, molecular oxygen  $^3\text{O}_2$  ( $^3\Sigma_g$ ) and a photosensitizing drug damages, upon irradiation, the selected biological tissue. The key cytotoxic agent responsible for the damage of tumor cells, is singlet oxygen  $^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ ) which is generated through an energy transfer process from the triplet excited state of the photosensitizer to molecular oxygen in its ground state.<sup>5-7</sup> Photofrin<sup>®</sup>, a commercial derivative of hematoporphyrin (Hp) was the first photosensitizer regularly approved for PDT treatment of cancer in several countries.<sup>8</sup> The design and synthesis of more efficient drugs for PDT has led to the so called second-generation photosensitizers. These molecules must meet some criteria in order to improve the photodynamic effect against tumor cells such as: a) presence of an absorbance band with high molar extinction coefficient in the therapeutic body window (600-850 nm), to allow a deeper tissue penetration; b) high triplet and singlet oxygen yields ( $\Phi_T$  and  $\Phi_\Delta$ ); c) a singlet-triplet energy gap equal or greater than 0.98 eV; d) an amphiphilic character in cell environment; d) very low dark toxicity. For this purpose, many photosensitizers have been developed based on tetrapyrrolic macrocycles like porphyrin, chlorin, bacteriochlorin, phthalocyanine and naphthalocyanines derivatives.<sup>9</sup> Lutetium texaphyrin, an expanded porphyrin (Lutex, tradenamed Motexaphyn Lutetium<sup>®</sup>),<sup>10</sup> m-tetrahydroxyphenylchlorin (mTHPC, Foscan<sup>®</sup>),<sup>11</sup> and tin etiopurpurin (SnEt<sub>2</sub>, Purlytin<sup>®</sup>)<sup>12</sup> belong to the second-generation photosensitizers that have been already accepted for clinical trials. In this context, phthalocyanines are very interesting for PDT applications owing to their absorption peak around 650 nm (Q-band), which is red-shifted in wavelength in comparison with that of porphyrins, and two orders in magnitude stronger than the analogous band of Hp.<sup>13</sup> The coordination of phthalocyanines with diamagnetic and closed shell ions (e.g.  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$ ) influences their photophysical properties, by increasing the triplet quantum yield ( $\Phi_T > 0.4$ ) and the ability to generate singlet oxygen compared to that of the metal-free form, in consequence of spin-orbit coupling effects.<sup>14</sup> Zinc phthalocyanine (ZnPc) has a maximum absorption wavelength ( $\lambda_{\text{max}}$ ) around 675 nm with an high triplet quantum yield ( $\Phi_T = 0.6$ ) and singlet oxygen yield ( $\Phi_\Delta = 0.59$ ), moreover it has shown a strong photobiological activity against tumors.<sup>15,16</sup> The introduction of peripheral electron-donating substituent groups is

another approach to optimize their photophysical properties for applications in technological devices such optical discs, solar cells and as photosensitizer agents in PDT.<sup>17,18</sup> In this paper it is presented a time-dependent density functional (TD-DFT) study of the Q-band shifts for the recently synthesized, zinc 1,4,8,11,15,22,25-octaphenyl phthalocyanine and the corresponding free base (Figure 1, **1a-d**),<sup>19,20</sup> as well as the analogous *p*-methoxyphenyl substituted systems<sup>21</sup> (Figure 2, **2a-d**), phthalocyanine (H<sub>2</sub>Pc) and zinc-phthalocyanine (ZnPc). The introduction of *p*-methoxyphenyl substituents shifts further the maximum absorption wavelength of the Q-band around to 820 nm, and could make these compounds attractive for PDT application. The role of the solvent upon excitation energies has been considered implicitly by means of the conductor-like screening model (COSMO) and explicitly, in the case of the zinc complexes, by adding up to two solvent molecules, which have been connected to the metal center, in order to complete its coordination sphere.



**Figure 1.** Structures of octaphenylated and *p*-octamethoxyphenylated H<sub>2</sub>Pc and ZnPc



**Figure 2.** Structures of partly substituted *p*-octamethoxyphenylated H<sub>2</sub>Pc and ZnPc

## 2. Computational Methods

All calculations were performed at density functional level of theory with the TURBOMOLE V5.8 program package.<sup>22</sup> Molecular structures, for both the singlet and triplet spin states, were fully optimized using the Becke-Perdew gradient-corrected exchange-correlation functional (BP)<sup>23,24</sup> with the multipole-accelerated resolution of identity approximation (RIDFT module).<sup>25,26</sup> Within this model, the electron density is approximated by an expansion in atom-centered auxiliary basis set, by avoiding the direct evaluation of four-center two-electron integrals, without loss of accuracy in the calculation of structural parameters. The main advantage consists in speeding up structure optimization timings by an order of four to ten for large molecular systems (in our case, up to nearly 190 atoms). The Karlsruhe split valence quality basis set augmented with one polarization function (SVP) and the

corresponding auxiliary basis set were assigned to all atom types.<sup>27,28</sup> Vertical excitations energies were calculated for the optimized structures within the adiabatic time-dependent density functional response theory (TD-DFRT)<sup>29,30</sup>, by employing the PBE0 free-parameter hybrid functional<sup>31,32</sup> and the same basis set as that used for geometry optimization. This approach has been applied, in several works, for organic and metal-transition containing systems with an accuracy within 0.3 eV for transition energies.<sup>33-36</sup> Solvent effects on transition energies were simulated by including explicit solvent molecules (in our case, pyridine) and using the conductor-like screening model (COSMO) with dielectric constant equal to 12.5 and default parameters for the cavity generation.<sup>37-39</sup>

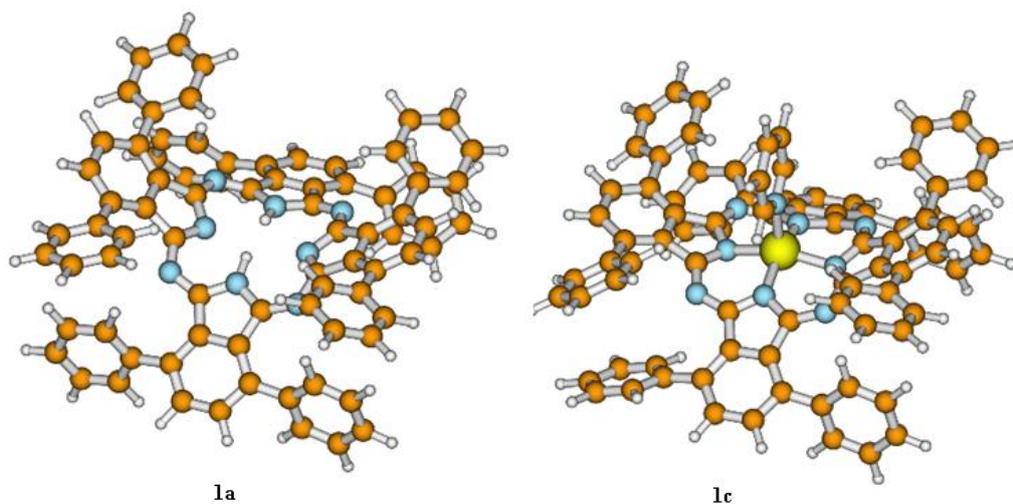
### 3. Results and Discussion

This work is divided in four sections discussing the geometrical structures, calculated electronic spectra in the Q-region, singlet-triplet energetic gap and conclusions.

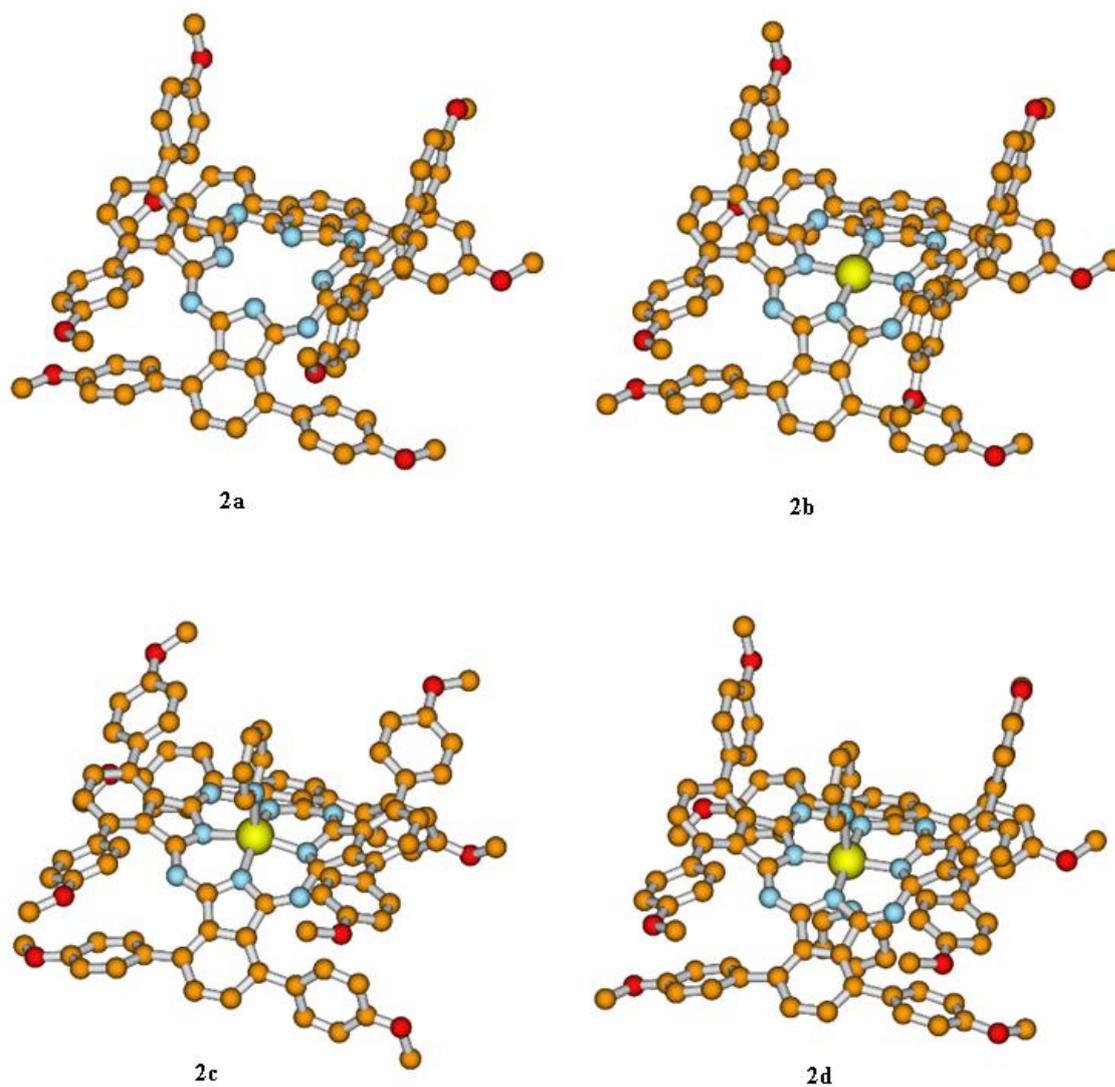
#### 3.1 Geometrical Structures

Non-substituted metallophthalocyanines (M-Pc) in monomeric form, such as Cu-, Ni- and Zn-Pc, have highly square-planar molecular structures (belonging to  $D_{4h}$  symmetry point group) as deduced from X-ray measurements.<sup>40-42</sup> The insertion of metal ions, in the macrocycle cavity, with increased ionic radii ( e.g.  $Pb^{2+}$ ,  $Sn^{2+}$ ), distorts the geometry by reducing the molecular symmetry to  $C_{4v}$ .<sup>43</sup> During the past years, the syntheses of crystal structures of non planar substituted phthalocyanines have been reported like that of the  $\alpha$ -octaisopentyl  $H_2Pc$  of Chambrier et al.,<sup>44</sup> the  $\alpha$ - and/or  $\beta$ -alkoxy- and the (zinc-) $\alpha$ -phenylated phthalocyanines (fully and partly substituted) of Kobayashi et al.<sup>45,19-20</sup> Here we will focus on the geometrical structures of fully substituted zinc(II) phthalocyanines bearing  $\alpha$ -phenyl and *p*-methoxyphenyl substituents, as well as of the relative free bases (Figure 1, **1a-d** and **2a-d**).<sup>19-21</sup> Crystallographic structural data, available for molecules **1a**<sup>19</sup> (free base phthalocyanine derivative) and **1c** (corresponding zinc complex with one pyridine axially coordinated ),<sup>20</sup> show an high deformation of the four isoindole units from the planarity. This distortion effect was also reproduced at theoretical level by B3LYP/6-31G\* calculations<sup>20</sup> for the compound **1c** and for the similar, partly substituted, zinc complexes, according to the number of phenyl substituents present in the complex.

Optimized structures of **1a** and **1c** and **2a-d**, obtained by our methodology, are visualized in Figure 3 and 4.



**Figure 3.** Optimized molecular structures for **1a** and **1c**



**Figure 4.** Optimized molecular structures for **2a-d** (all hydrogen atoms have been omitted for clarity)

This class of compounds assumes a folded conformation in order to minimize sterical hindrance caused by the simultaneous presence of  $\alpha$ -phenyl (or *p*-methoxyphenyl) substituents on adjacent isoindole rings. The distance of the  $\alpha$ -carbon atoms, bearing substituents, from the mean plane ( $\Delta N_4$ ) of the four inner nitrogen atoms ( $N_1$ - $N_4$ , part **c** of figure 1) can give qualitative information about the degree of deviation from planarity. For instance, for the compound **2c**, the calculated distances for each carbon atom, bearing one *p*-methoxyphenyl group and belonging to the isoindole units containing the nitrogen atoms  $N_1$  and  $N_3$  (see Figure 1, **2c**), are respectively 1.71 and 1.79 Å (position 1, 4), 1.74 and 1.83 Å (positions 18, 15) down the  $\Delta N_4$  mean plane; for the isoindole units containing nitrogen atoms  $N_2$  and  $N_4$  the distances are respectively 1.61 and 1.60 Å (position 8, 11), 1.08 and 1.06 Å (positions 22, 25) up the mean plane  $\Delta N_4$ . The dihedral angles formed by the *p*-methoxyphenyl substituent and the isoindole unit in **2c** fall between 43 and 55 degrees, and are close to the experimental torsional angle of 45° for the most stable form of biphenyl.<sup>46</sup> The results obtained for the analogous compound **1c**, regarding the same kind of parameters, are very similar and only slightly different from that deriving from crystal data, owing to the presence of crystal packing forces in the solid state, that can affect these values. A brief comparison regarding selected bond lengths of **1c** and **2c** versus the available experimental values of **1c** is reported in Table 1.

**TABLE 1.** Selected bond lengths for compounds **1c** and **2c**

Bond	Molecule		
	<b>1c</b>	<b>2c</b>	Exp. <sup>1)</sup>
<b>Length</b>			
Zn- $N_1$	2.053	2.052	2.031
Zn- $N_2$	2.050	2.047	2.012
Zn- $N_3$	2.053	2.053	2.031
Zn- $N_4$	2.038	2.036	1.998
Zn- $N_{\text{pyridine}}$	2.173	2.177	2.143
Zn- $\Delta N_4$	0.414	0.406	0.398

1) Data for **1c**. Ref. 20

The computed distances, for compound **1c**, among zinc and isoindole nitrogen atoms (Zn-N) are between 2.038 and 2.053 Å, the metal center is displaced 0.414 Å up from the mean plane  $\Delta N_4$  owing to the interaction with the pyridine molecule with a bond length from the nitrogen atom Zn-N<sub>pyridine</sub> of 2.173 Å. These data suggest for **1c** a pentacoordinated compound, a fact that is generally found in the solid state for zinc complexes.<sup>47</sup> The substitution of phenyl with *p*-methoxyphenyl groups leaves, as reported in Table 1, the selected geometrical parameters virtually unchanged, with a good agreement between computed and experimental bond lengths, the maximum difference being within 0.04 Å. Cartesian coordinates of fully optimized structures of all investigated compounds are reported in Supporting Information Table SII.

**3.2 Electronic Spectra in Q-Band Region.** In this paragraph it will be discussed how TD-DFT calculations can account for the group substitution effect upon  $\lambda_{\max}$  of the molecules previously introduced (**1a-d**, **2a-d**). This will be done also in comparison with the unsubstituted free-base phthalocyanine (H<sub>2</sub>Pc) and zinc-phthalocyanine (ZnPc) molecules. The results are reported for the vacuo and solvent systems.

**3.3 Electronic Spectra in vacuo.** The general results obtained for all the compounds, by TDDFT calculations, are reported in Table 2.

**TABLE 2.** Q-band excitation energies,  $\Delta E$ , in eV (in parentheses in nm), main transition composition, oscillator strengths  $f$ ,  $\lambda_{\max}$  and solvent shifts  $\Delta\lambda$  (in nm), for H<sub>2</sub>Pc, ZnPc and **1a-d** and **2a-d**.

Molecule	Vacuum			$f$	$\lambda_{\max}$	Solvent	Exp.
	$\Delta E$	Main configuration	$\Delta\lambda$				
<b>H<sub>2</sub>Pc</b>	2.13 (581.2)	H $\rightarrow$ L 91%		0.427		-0.6	1.81 (685) Q <sub>x</sub>
	2.15 (575.9)	H $\rightarrow$ L+1 94%		0.484		+4.8	1.99 (623) Q <sub>y</sub> <sup>1)</sup>
<b>ZnPc</b>	2.15 (576.2)	H $\rightarrow$ L 94%		0.932	576.2	+1.4	1.84 (674) 2.04 (609) Q- shoulder <sup>2)</sup>
<b>1a</b>	1.66 (746.0)	H $\rightarrow$ L 96%		0.387	729.9	+0.5	1.57 (788);
	1.74 (713.2)	H $\rightarrow$ L+1 94%		0.357		+4.8	1.77 (699) Q- shoulder <sup>3)</sup>
<b>1b</b>	1.64 (757.2)	H $\rightarrow$ L 96%		0.368	740.7	-2.3	
<b>1c</b>	1.70 (727.9)	H $\rightarrow$ L+1 95%		0.361		+4.3	
	1.65 (752.9)	H $\rightarrow$ L 95%		0.360	751.9	+1.9	1.57 (786)
<b>1d</b>	1.66 (748.6)	H $\rightarrow$ L+1 95%		0.323		+1.1	1.78 (697) Q- shoulder <sup>4)</sup>
	1.65 (750.2)	H $\rightarrow$ L 95%		0.304	746.3	+3.1	
<b>2a</b>	1.67 (744.2)	H $\rightarrow$ L+1 95%		0.356		-0.5	
	1.60 (774.3)	H $\rightarrow$ L 96%		0.397	757.6	+5.4	1.50 (826)
<b>2b</b>	1.68 (739.0)	H $\rightarrow$ L+1 95%		0.357		+8.7	1.70 (728) Q- shoulder <sup>5)</sup>
	1.57 (788.9)	H $\rightarrow$ L 96%		0.375	775.2	+1.5	
<b>2c</b>	1.64 (756.9)	H $\rightarrow$ L+1 96%		0.350		+6.6	
	1.60 (775.0)	H $\rightarrow$ L 94%		0.366	775.2	+6.3	1.52 (814)
<b>2d</b>	1.61 (771.1)	H $\rightarrow$ L+1 93%		0.335		+2.2	1.70 (728) Q- shoulder <sup>5)</sup>
	1.56 (796.5)	H $\rightarrow$ L 96%		0.332	787.4	-0.8	
	1.60 (773.9)	H $\rightarrow$ L+1 95%		0.321		+2.8	

1) In gas phase. Ref. 48; 2) In pyridine. Ref. 20; 3) In chloroform. Ref. 21; 4) In pyridine. Ref. 20;

5) In pyridine. Ref. 19.

The excitation energies, oscillator strengths, main configurations in vacuo are relative to the Q-band electronic transitions. First, let us examine the theoretical results for the metal-free H<sub>2</sub>Pc as well as the  $\alpha$ -octa-phenyl and  $\alpha$ -octa-(*p*-methoxy)phenyl derivatives. The experimental electronic spectrum of H<sub>2</sub>Pc, recorded

in vapor phase, shows two distinct and strong absorption peaks at 1.81 eV (685 nm) and 1.99 eV (623 nm) with  $\pi \rightarrow \pi^*$  transition character.<sup>48</sup> These peaks are located in the near-red part of the visible spectrum (the so called Q-band region), and named respectively  $Q_x$  and  $Q_y$  bands, the first being more intense. Our two energetically lowest computed transition energies (in  $D_{2h}$  point group) fall at 2.13 eV (581 nm) and 2.15 eV (576 nm) and have comparable oscillator strengths (0.427 vs 0.484): the first excitation energy ( $Q_x$ ) stems from a HOMO to LUMO one-electron transition (percentage contribution of 91%), whereas the second ( $Q_y$ ) comes from an HOMO to LUMO+1 transition (94%). The discrepancy between computed and experimental excitation energies is within 0.3 eV, moreover the results are very similar to that obtained from previous B3LYP/6-31G\* TDDFT calculations [ 2.10 eV (591 nm) for  $Q_x$ , 2.11 eV (588 nm) for  $Q_y$ ]<sup>49</sup> and, in general, close to the experimental values in comparison to SAC-CI calculations, which are underestimated in energy ( $Q_x$  is at 1.30 eV and  $Q_y$  at 1.51 eV).<sup>50</sup> The introduction of phenyl substituents in  $H_2Pc$ , to yield the free-base  $\alpha$ -octaphenyl  $H_2Pc$  (Figure 1, **1a**), gives experimentally a red-shift of the  $\lambda_{max}$ , compared to that of the unsubstituted  $H_2Pc$ . The value of  $\lambda_{max}$  for **1a** is 788 nm (molar absorptivity,  $\epsilon \sim 91000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , in chloroform), which is about 100 nm higher than that of  $H_2Pc$ . In the experimental electronic spectra, a shoulder peak is also present, in the Q-band region, located at 699 nm ( $\epsilon \sim 23400 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).<sup>19</sup> Theoretically, two electronic transitions were found in this region: the first lowest computed excitation energy is at 1.66 eV (746 nm;  $f = 0.387$ ) and corresponds to a HOMO to LUMO transition (96%), whereas the second lowest excitation energy is at 1.74 eV (713 nm;  $f = 0.357$ ) and corresponds to a HOMO to LUMO +1 (94%). In order to get a realistic comparison between experimental  $\lambda_{max}$  and calculated excitation energies generating the Q-band, the electronic spectrum of the studied compounds were simulated in vacuo, by means of Gaussian functions with a half-weight bandwidth of 0.4 eV<sup>51</sup>. Simulated electronic spectra are reported in supporting Information Figures SI1 and SI2 for 1a-1d and 2a-2d compounds, respectively. As it is shown in Table 2 (under  $\lambda_{max}$  column), the simulated spectrum for **1a** in vacuo showed an electronic band with  $\lambda_{max}$  at 730 nm (1.70 eV): this value is in good agreement with the experimental counterpart, with a difference in energy of 0.13 eV (see Table 2). Moreover the value of  $\lambda_{max}$  of **1a** presents a bathochromic wavelength shift (ca. 150 nm) in comparison to  $H_2Pc$  Q-bands, similar to that found for the experimental data. The introduction of *p*-methoxyphenyl groups in place of

phenyl ones at the positions 1,4,8,11,15,18,22,25 (see Figure 1, **2a**) red-shifts further the maximum wavelength absorbance, both experimentally and theoretically, owing to an enhanced electron-donating effect on the phthalocyanine core part. The free base form **2a** resulted to have a computed  $\lambda_{\max}$  of 758 nm (1.64 eV) and a red-shift, in comparison to the computed  $\lambda_{\max}$  of the phenyl-substituted analogue **1a**, of 28 nm that is very close to that experimentally found (38 nm).<sup>21</sup> The coordination of zinc(II) to phthalocyanine causes small changes to the electronic spectra. For example the experimental electronic spectrum of ZnPc in gas phase displays only one strong main peak in the Q-band region at 1.88 eV (659 nm)<sup>48</sup>, which red-shifts in pyridine to 1.84 eV (674 nm), and the presence of a shoulder peak, nearly seven times less intense, at 2.03 eV (609 nm).<sup>20</sup> The calculated Q-band in vacuo for ZnPc ( $D_{4h}$  point group), shows one excitation energy at 2.15 eV (576 nm), that is mainly formed by a HOMO to LUMO transition (94%) with oscillator strength equal to 0.932. In this case the energy difference of the main peak between *in vacuo* calculated and experimental values is 0.27 eV.

When we consider the zinc complex of the free-base **1a** (Figure 1, **1b**) the calculated Q-band is composed, as for **1a**, of two electronic transitions and similar transition contributions (see Table 2), with  $\lambda_{\max}$  at 741 nm (1.67 eV) This value is also red-shifted in comparison to that of ZnPc, by the same magnitude order found between H<sub>2</sub>Pc and **1a**, and it is in good agreement with the experimental  $\lambda_{\max}$ , the difference being 45 nm (0.1 eV). Theoretical calculations performed by Fukuda et al.,<sup>20</sup> which employed the INDO/S method, gave even better results for **1b** with the lowest excitation energies at 1.57 eV (788 nm) and 1.59 eV (781 nm). The introduction of *p*-methoxyphenyl substituents in zinc-phthalocyanine to form compound **2b** give rise to increased computed  $\lambda_{\max}$  in comparison with compound **1b**, as has been shown from the metal-free base **1a** to **2a**. The value of  $\lambda_{\max}$  for **2b** is predicted to be higher than that of **1b** by about 35 nm, the difference in energy with the experimental value is 0.07 eV.

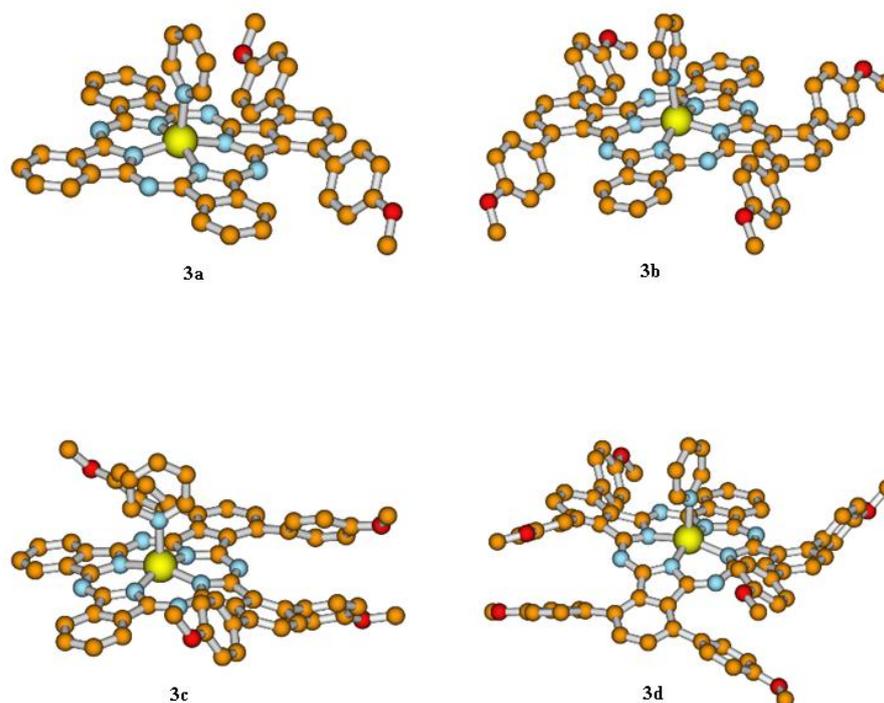
**3.4 Solvent Effects.** The potential activity of  $\alpha$ -*p*-(methoxy)phenyl substituted phthalocyanines as PDT drugs takes place in a biological medium, which is mainly composed by water molecules. In our study, however, solvent effects on maxima absorption wavelength were computed considering pyridine as solvent medium, since experimental electronic spectra were recorded in that solvent. Bulk solvent

effects on  $\lambda_{\max}$ , introduced by means of the conductor-like screening model (COSMO), were considered for the free-bases H<sub>2</sub>Pc, **1a**, **2a** and for the zinc complexes ZnPc, **1b** and **2b**. In the latter case (**1b** and **2b**), the influence of the solvent was explicitly considered by a supramolecular approach, that is by adding one (**1c** and **2c**) or two (**1d** and **2d**) pyridine molecules directly bound to zinc atom (see Figure 1). Bulk solvent effects have negligible influence on excitation energies, solvent shifts ( $\Delta\lambda$ , in Table 2) on the two lowest excitation energies range up to about 9 nm. For the  $\alpha$ -phenyl substituted zinc complex **1c** (one pyridine molecule), the value of  $\lambda_{\max}$  is slightly increased (752 nm) compared to that of **1b** (741 nm). For structure **1d**, the presence of another pyridine molecule in the zinc coordination sphere gave a value of  $\lambda_{\max}$  of 746 nm, which is close to that of **1c**. The computed distances in **1d** between the zinc and nitrogen atoms of the two pyridine molecules are quite different, being respectively 2.22 Å and 3.39 Å, so the influence of the second pyridine molecule on  $\lambda_{\max}$  seems to be negligible. For the  $\alpha$ -methoxyphenyl substituted zinc complexes **2c** and **2d**, in the first case we obtained  $\lambda_{\max}$  equal to 775 nm, as for the non-solvated form **1b**, and in the latter (**2d**) an increased  $\lambda_{\max}$  (787 nm), which is closer to the experimental value (728 nm). Unlike compound **1d**, nitrogen atoms of the pyridine molecules in **2d** have comparable calculated distances from the zinc atom (2.36 and 2.55 Å). This could explain the different influence of pyridine molecules on  $\lambda_{\max}$  between **1d** and **2d**.

### 3.5 Substitution *versus* Non-Planarity Influences on Q-Band Red-Shift.

The contribution of non-planarity to the Q-band red-shift of  $\alpha$ -phenyl substituted phthalocyanines has been assigned by Fukuda et al. mainly to ligand deformation.<sup>20</sup> Previously, the theoretical works of DiMugno and Ghosh<sup>52,53</sup> have debated about the origin of the red-shift in the optical spectra of nonplanar porphyrins. Their conclusions converge to the fact that this effect is due to a rearrangement in the structural parameters caused by the presence of substituents; this effect was called “in-plane nuclear rearrangement” (IPNR effect). However, in substituted nickel-porphyrin, the geometrical structure distortion was found to play some role on the Q-band red-shift.<sup>53</sup> A similar analysis to that made by Fukuda et al.<sup>20</sup>, was carried out on the (not synthesized) partly *p*-methoxyphenyl substituted phthalocyanines, by analyzing to what extent the number of *p*-methoxyphenyl groups influences their  $\lambda_{\max}$  value. For this purpose, theoretical calculations of  $\lambda_{\max}$  were performed on four

compounds with increasing number of substituents (see Figure 2, **3a-d**). For all these compounds, we chose to insert also one solvent molecule (pyridine) coordinated to zinc, since experimental data are referred to this kind of coordination. The relative optimized structures are reported in Figure 5, and show a slight deviation from planarity for compound **3c**, for which the substitution occurs on neighbouring isoindole units, and a greater deformation for **3d**. Excitation energies, oscillator strengths and  $\lambda_{\max}$ , obtained from TD-DFT *in vacuo* calculations, are listed in Table 4 and compared with those from INDO/S method and the experiment, which are relative to the partly  $\alpha$ -phenyl substituted phthalocyanines.<sup>20</sup> The calculated  $\lambda_{\max}$ , going from **3a** to **3d**, increases with the number of *p*-methoxyphenyl groups, from 610 to 699 nm, as also observed for the experimental data. The compound **3c** presents  $\lambda_{\max}$  higher (654 nm) than that found for the corresponding isomer **3b** (633 nm), whose isoindole rings are almost coplanar due to the presence of *p*-methoxyphenyl groups on opposite sides of the molecule. In this case it seems that distortion effects may slightly affect  $\lambda_{\max}$ . In order to better understand the influence of nonplanarity on the Q-band red-shift of  $\alpha$ -*p*-methoxyphenyl phthalocyanines the optimized structures **3a-d** and **2a-c**, in which the methoxyphenyl groups were replaced by aromatic hydrogen atoms (distance C-H of 1.07 Å) were considered. The maximum absorbance wavelengths for these hypothetical structures are shown in Table 3 under the column  $\lambda_{\max}^*$ ;  $\lambda_{\max}$  for fully removed *p*-methoxyphenyl **2b** has been omitted since it was equal to that of **2c**. The values of  $\lambda_{\max}^*$  for **3a-d**, **2a** and **2c** are lower than that of the corresponding  $\lambda_{\max}$  and the difference ( $\lambda_{\max} - \lambda_{\max}^*$ ) increases going from **3a** to the more distorted structure **2c**. This implies that the major contribution on the Q-band red-shift of **3a-d** seems to depend on the increasing number of substituents. However, for fully removed *p*-methoxyphenyl **2c**, for which the distortion is more marked,  $\lambda_{\max}^*$  is red-shifted by about 80 nm in comparison with planar Zn-Pc including one pyridine ( $\lambda_{\max} = 590$  nm). The introduction of substituents to form **2c** formally shifts the  $\lambda_{\max}^*$  by nearly 110 nm. Similar considerations and results hold also for the  $\lambda_{\max}$  of fully removed *p*-methoxyphenyl **2a** compared to that of substituted **2a** and H<sub>2</sub>Pc. So in this case nonplanarity and substitution effects have nearly the same influence on Q-band red-shift.



**Figure 5.** Optimized molecular structures for **3a-d** (all hydrogen atoms have been omitted for clarity)

**Table 3.** Q-band excitation energies  $\Delta E$  in eV (in parenthesis in nm), oscillator strengths  $f$  and  $\lambda_{\max}$  for **3a-d** and for the fully removed *p*-methoxyphenyl **2a-c**.

Molecule	$\Delta E$	TD-DFT <sup>1)</sup>			INDO/S <sup>2)</sup> $\Delta E$	Exp. <sup>2)</sup> $\Delta E$
		$f$	$\lambda_{\max}$	$\lambda_{\max}^*$ <sup>3)</sup>		
<b>3a</b>	2.03 (612.1)	0.510	2.03 (609.8)	2.10 (591.7)	1.70 (729)	1.82 (682)
	2.04 (609.1)	0.364			1.72 (720)	
<b>3b</b>	1.94 (637.0)	0.597	1.96 (632.9)	2.08 (588.2)	1.68 (736)	1.77 (699)
	2.00 (620.3)	0.328			1.75 (710)	
<b>3c</b>	1.89 (655.5)	0.437	1.90 (653.6)	2.11 (595.2)	1.69 (733)	1.76 (704)
	1.91 (648.7)	0.412			1.70 (728)	
<b>3d</b>	1.77 (699.8)	0.372	1.77 (699.3)	2.01 (617.3)	1.66 (747)	1.69 (732)
	1.79 (694.6)	0.457			1.67 (741)	
<b>2a</b> <sup>4)</sup>	1.90 (653.6)	0.364		1.90 (653.6)		
	1.91 (650.0)	0.349				
<b>2c</b> <sup>4)</sup>	1.84 (674.4)	0.310		1.86 (666.7)		
	1.87 (661.8)	0.338				

1) This work; 2) Theoretical and experimental data for  $\alpha$ -phenyl substituted analogous. Ref. 20;

3) The star symbol refers to  $\lambda_{\max}$  for the fully removed *p*-methoxyphenyl **3a-d**, **2a** and **2c**;

4) Fully removed *p*-methoxyphenyl **2a** and **2c** compounds.

**Table 4.** Singlet-Triplet energetic gap  $\Delta E_{S-T}$  in vacuo and solvent

Molecule	$\Delta E_{S-T}$	
	vacuum	solvent
<b>H<sub>2</sub>Pc</b>	1.28	1.26
<b>ZnPc</b>	1.49	1.45
<b>1a</b>	0.68	0.63
<b>1b</b>	0.73	0.71
<b>1c</b>	0.75	0.74
<b>1d</b>	0.78	0.78
<b>2a</b>	0.67	0.63
<b>2b</b>	0.70	0.67
<b>2c</b>	0.75	0.73
<b>2d</b>	0.70	0.71

### 3.6 Singlet-Triplet Energetic Gaps.

In PDT process, the generation of singlet molecular oxygen by a photosensitiser is described in two ways: Types I and II reaction mechanisms.<sup>7</sup> In Type I mechanism the excited photosensitiser reacts with a substrate through an electron transfer or hydrogen abstraction, and yields in the final step a reactive superoxide radical anion. In Type II mechanism, which is more common in PDT, the photosensitizer in its triplet excited state generates singlet oxygen through an energy transfer process to molecular oxygen. In the latter case, the photosensitiser first of all should have a triplet excited state energy equal or greater than 0.98 eV that corresponds to the energy required to promote molecular oxygen  $^3O_2$  ( $^3\Sigma_g$ ) to the singlet excited state  $^1O_2$  ( $^1\Delta_g$ ). In view of this condition, the singlet-triplet energetic gap was calculated for the compounds **1a-d**, **2a-d**, H<sub>2</sub>Pc and ZnPc in vacuo and solvent, the results are reported in Table 4. From our calculations, the free-base phthalocyanine and its zinc complex fulfill the above stated condition, in particular the computed gap for ZnPc results 0.36 eV higher than that obtained from experimental phosphorescence spectrum in chloronaphthalene,<sup>54</sup> and it is overestimated by 0.22 eV in comparison with a previous TD-DFT study.<sup>55</sup> Although for ZnPc there are experimental

evidences that it is able to generate singlet oxygen,<sup>56</sup> to our knowledge for compounds **1a-d** and **2a-d** there is no information from experimental works, so a theoretical evaluation of singlet-triplet energetic gap could give preliminary hints about their ability for singlet oxygen generation. In this context, the results in Table 4, both in vacuo and solution, seem to be discouraging: for **1a-d** compounds, although the gap calculated in vacuo tends to increase from 0.68 to 0.78 eV, it lies below the limit of 0.98 eV. Similar results are obtained for **2a-d** including also bulk solvent effects.

### 3.7 Conclusions.

Geometrical structures, vertical excitation energies and singlet-triplet energetic gaps were calculated for two classes of highly deformed (*p*-methoxy) phenyl substituted phthalocyanines and their zinc-coordinated forms, by means of DFT and TD-DFT approaches.

On the basis of the outcome of our theoretical study the following conclusions can be drawn:

- the optimized structures well reproduce the experimental ring deformation of the four isoindole units and other main geometrical parameters of the studied systems.
- Replacement of phenyl substituents by the more electron-donating *p*-methoxyphenyl red-shifts calculated Q-band  $\lambda_{\text{max}}$  according to experimental indications.
- The maximum deviation between theoretical and experimental  $\lambda_{\text{max}}$  is within 0.1 eV.
- All the investigated compounds Q-band absorption energies fall in the so called therapeutic window (600-850 nm).

The energetic gaps between ground and first triplet excited states resulted below the required limit of 0.98 eV for singlet oxygen generation except for the free-base phthalocyanine and for unsubstituted Zinc complex. The disappointing conclusion is that the investigated near-infrared photosensitizers cannot be proposed, following the properties requirement for the drugs used in PDT, as agents in this medical therapy.

**ACKNOWLEDGMENTS.** Financial support from the Università degli Studi della Calabria and Regione Calabria (POR Calabria 2000/2006, misura 3.16, progetto PROSICA) is gratefully acknowledged.

**SUPPORTING INFORMATION AVAILABLE** Optimized cartesian coordinates for molecules **1a-1d** and **2a-2d**. A figure showing Simulated Electronic Spectra of compounds **1a**, **1b**, **1c** and **1d**. A figure showing Simulated Electronic Spectra of compounds **2a**, **2b**, **2c** and **2d**. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

## REFERENCES

- [1] MacDoanald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 105.
- [2] Bonnett, R. In *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy* Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam, 2000.
- [3] Van Tenten, Y.; Schuitmaker, H. J.; De Wolf, A.; Willekens, B.; Vrensen, G. F. J. M.; Tassignon, M. J. *Exp. Eye Res.* **2001**, *72*, 41.
- [4] Dolmans, D. E. J. G. J.; Fukumura, D.; Jain, R. K. *Nature Reviews Cancer* **2003**, *3*, 380.
- [5] Schweitzer, C.; Schmidt, R. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1685.
- [6] DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233-234*, 351.
- [7] Schmidt, R. *Photochemistry and Photobiology* **2006**, *82*, 1161.
- [8] Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W. et al., *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 889.
- [9] Nyman, E.; Hynninen, P. H. *J. Photochem. Photobiol. B* **2004**, *73*, 1.
- [10] Sessler, J. L.; Miller, R. A. *Biochem. Pharmacol.*, **2000** *59*, 733.
- [11] Fan, K. F. M.; Hopper, C.; Speight, P. M.; Buonocorsi, G. A.; Bown, S. G. *Int. J. Cancer* **1997** *73*, 25.
- [12] Mang, T. S.; Allison, R.; Hewson, G.; Snider, W.; Moskwitz, R. *Cancer J. Sci. Am.* **1998**, *4*, 378.
- [13] Allen, C. M.; Sharman, W. M.; Van Lier, J. E. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 161.
- [14] Lukyanets, E. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **1999**, *3*, 424.
- [15] Szacilowski, K.; Wojciech, M.; Drzewiecka-Matuszek, A.; Brindell, M; Stochel, G. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2647.
- [16] Ali, H.; Van Lier, J. E. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2379.
- [17] *Phthalocyanines: Properties and Applications*; Leznoff, C. C.; Lever, A. B. P., Eds; VCH: New York, 1989-1996; Vols. 1-4.
- [18] Banfi, S.; Caruso, E.; Buccafurni, L.; Ravizza, R.; Gariboldi, M.; Monti, E. *J. Org. Chem.* **2007**, *692*, 1269.
- [19] Kobayashi, N.; Fukuda, T.; Ueno, K.; Ogino, H. , *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10740.
- [20] Fukuda, T.; Homma, S.; Kobayashi, N. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5205.

- [21] Fukuda, T.; Ishiguro, T.; Kobayashi, N. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 2907.
- [22] Ahlrichs, R.; Bär, M.; Häser, M.; Horn, H.; Kölmel, C. Electronic Structure Calculations on Workstation Computers: The Program System TURBOMOLE. *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *162*, 165.
- [23] Becke, A. D., *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098.
- [24] Perdew, J. P., *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8822.
- [25] Eichkorn, K.; Treutler, O.; Öhm, H.; Häser, M.; Ahlrichs, R.; *Chem. Phys. Letters* **1995**, *242*, 652.
- [26] Sierka, M.; A. Hogeckamp, A.; Ahlrichs, R.; *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 9136.
- [27] Schäfer, A.; Horn, H.; Ahlrichs, R.; *J. Chem. Phys.*, **1992** *97*, 2571.
- [28] Eichkorn, K.; Weigend, F.; Treutler, O.; Ahlrichs, R.; *Theor. Chem. Acc.* **1997**, *97*, 119.
- [29] Bauersnschmitt, R.; Ahlrichs, R.; *Chem. Phys. Letters* **1996**, *256*, 454.
- [30] Casida, M. E. In *Recent Advances in Density Functional Methods, Part I*; Chong, D. P., Ed.; Word Scientific: Singapore, 1995.
- [31] Ernzerhof, M.; Scuseria, G. E. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 5029.
- [32] Adamo, C.; Barone, J. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158.
- [33] Petit, L.; Quartarolo, A. D.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2398.
- [34] Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 16797.
- [35] Petit, L.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12214.
- [36] Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E.; Lelj, F. *J. Chem. Theory Comp.* **2007**, *3*, 860.
- [37] Klamt, A.; Schuurmann, G.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2* **1996**, *5*, 799.
- [38] Klamt, A.; Jonas, V.; *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 9972.
- [39] Klamt, A.; *J. Phys. i Chem.* **1996**, *100*, 3349.
- [40] Brown, C. J. *Chem. Soc. A* **1968**, , 2488.
- [41] Robertson, J. M. *J. Chem. Soc.* **1937**, 219.
- [42] Scheidt, W. R.; Dow, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1101.
- [43] Friedel, M. K.; Hoskins, B. F.; Martin, R. L.; Mason, S. A. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1970**, 400.
- [44] Chambrier, L.; Cook, M. J.; Wood, P. T. *Chem. Comm.* **2000**, 2133.

- [45] Kobayashi, N.; Ogata, H.; Nonaka, N.; Luk'yanets E. A. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5123.
- [46] Takei, Y.; Yamaguchi, T.; Osamura, Y.; Fuke, K.; Kaya, K. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 577.
- [47] Hückstädt, H.; Jaouen, C.; Göldner, M.; Cornelssen, U.; Tutaß, A.; Homborg, A. H. Z. *Anorg. Allg. Chem.* **2000**, *626*, 671.
- [48] Edwards, L; Gouterman, M. *J. Mol. Spectrosc.* **1970**, *33*, 292.
- [49] Zhou, X.; Ren, A.; Feng, J.; Liu X. *Can. J. Chem.* **2004**, *82*, 19.
- [50] Toyota, K; Hasegawa, J.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem.* **1997**, *101*, 446.
- [51] Gorelsky, S. I. *SWizard Program*, revision 4.2; York University: Ontario, Canada, 1998; <http://www.sg-chem.net/swizard/>.
- [52] Wertsching, A. K.; Koch, A. S.; DiMagno, S. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3932.
- [53] Ryeng, H.; Ghosh, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8099.
- [54] Ferraudi, G. Phosphorescence of ZnPc. In *Phthalocyanines: Properties and Applications*; Leznoff, C. C.; Lever, A. B. P., Eds; VCH: New York. 1989; Vol. I.
- [55] Ricciardi, G.; Rosa, A.; Baerends, E. J. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5242.
- [56] Wagner, J. R.; Ali, H.; Langlois, R. ; Brasseur, N. ; Van Lier, J. E. *Photochem. Photobiol.*, **1987**, *45*, 587.