

Università degli Studi della Calabria

Dipartimento di Chimica

Tesi di Dottorato di Ricerca in Metodologie Chimiche Inorganiche (XX ciclo)

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

SPETTRI ELETTRONICI DI MOLECOLE DI INTERESSE FARMACOLOGICO NELLA TERAPIA FOTODINAMICA

CANDIDATO
Quartarolo Angelo

SUPERVISORE
Prof. Russo Nino

COORDINATORE
Prof. Russo Nino

A. A. 2006-2007

Sommario

Introduzione	1
Capitolo Primo LA TERAPIA FOTODINAMICA DEL TUMORE (PDT)	3
1. Introduzione Storica ed Aspetti Generali	3
1.2 Processi Fotochimici in Terapia Fotodinamica	7
1.2.1 Cenni di Spettroscopia Elettronica di Assorbimento	7
1.2.2 Diagramma di Jablonsky	10
1.2.3 Proprietà dell'Ossigeno Singoletto ed Applicazione in PDT	12
1.3 La Radiazione Elettromagnetica in PDT: Sorgenti e Lunghezza d'Onda	18
1.3.1 Le Sorgenti di Radiazione	18
1.3.2 Radiazione Elettromagnetica e Tessuti Biologici	19
1.4 Agenti Fotosensibilizzatori in PDT	20
1.4.1 Fotosensibilizzatori di Prima Generazione.....	21
1.4.2 Fotosensibilizzatori di Seconda Generazione	22
1.5 Stato Attuale della Ricerca in PDT	26
Bibliografia	28
Capitolo Secondo METODI TEORICI	31
2.1 Cenni Storici e Fondamenti Quantomeccanici	31
2.2 Il Metodo Hartree-Fock	32
2.3 L'Energia di Correlazione ed i Metodi CI	35
2.4 Il Metodo del Funzionale della Densità (DFT).....	36
2.4.1 I Teoremi di Hohenberg e Kohn	36
2.4.2 Le Equazioni di Kohn-Sham e la loro Soluzione	38
2.5 La Teoria DFT Dipendente dal Tempo (TDDFT): Fondamenti Teorici.....	41
2.6 La Teoria della Risposta Lineare in DFT	44
Bibliografia	48

Capitolo Terzo	RISULTATI E DISCUSSIONE	49
3.1	<i>Introduzione dei Lavori e Discussione</i>	49
3.2	<i>Pubblicazioni Scientifiche e Manoscritti</i>	51
	<i>Articolo I</i>	53
	<i>Articolo II</i>	54
	<i>Articolo III</i>	55
	<i>Manoscritto</i>	56

INTRODUZIONE

La presente tesi di dottorato ha riguardato lo studio teorico degli spettri elettronici d'assorbimento di molecole con interesse farmacologico nella terapia fotodinamica (PDT). La PDT è una tecnica medica non-invasiva per il trattamento di varie forme tumorali quali la degenerazione maculare in età avanzata, la psoriasi o il tumore all'esofago. Il principio di funzionamento di questa tecnica si basa sulla combinazione di un farmaco, costituito da molecole cromofore, una sorgente di radiazione (e.g. laser) ed ossigeno molecolare. Il farmaco, precedentemente somministrato al paziente, è portato al primo stato eccitato di singoletto dalla radiazione ed 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 ed il comportamento in soluzione. Per quanto riguarda il primo aspetto, un fotosensibilizzatore PDT deve possedere un'intensa banda d'assorbimento nella zona rossa dello spettro visibile, perché la radiazione penetri in profondità il tessuto, l'energia elettronica del suo stato di tripletto deve essere superiore a 0.98eV, ed inoltre avere una buona resa quantica d'ossigeno singoletto. Per quanto riguarda il secondo aspetto, vale a dire il comportamento in soluzione, la sua struttura molecolare deve disporre di sostituenti idrofili in modo da essere solubile in ambiente cellulare, costituito in gran parte da acqua, inoltre la molecola dovrebbe localizzarsi preferenzialmente nel bersaglio terapeutico. Le proprietà esposte rappresentano solo alcune delle linee guida utili nella sintesi di un agente PDT ottimale, che è in realtà un problema multidisciplinare ed implica aspetti di natura fisica, chimica, biologica e clinica. La fisica consente di comprendere meglio il fenomeno d'interazione tra radiazione e tessuto e di sviluppare tecniche d'irradiazione più efficienti (e.g. laser), mentre la biologia si interessa dei saggi di citossicità *in vitro* ed *in vivo* sui nuovi farmaci PDT. La chimica si occupa invece della sintesi diretta e della caratterizzazione di nuovi agenti PDT mediante tecniche spettroscopiche, come la misura dello spettro elettronico d'assorbimento o delle rese quantiche per testare i suddetti requisiti fotochimici. In questo contesto la simulazione teorica delle proprietà strutturali e degli spettri elettronici possono essere un utile supporto al chimico sperimentale nella strategia di sintesi e nell'interpretazione dei dati ottenuti. Nel lavoro sperimentale in PDT, si parte generalmente da sistemi planari tetrapirrolici, d'origine naturale come le porfirine o sintetica come le ftalocianine. Per spostare la lunghezza d'onda di massimo assorbimento λ_{\max} della molecola di

partenza, verso la zona rossa dello spettro visibile, la sua struttura è funzionalizzata con gruppi sostituenti (e.g. fenili) che possano estendere la coniugazione elettronica. La possibilità di prevedere teoricamente l'effetto che un sostituente ha sullo spettro elettronico di una molecola, può indirizzare la sintesi verso una molecola piuttosto che un'altra. Inoltre il calcolo teorico dell'energia elettronica del primo stato di tripletto eccitato fornisce una prima stima sulla capacità del sistema a generare ossigeno singoletto, senza escludere *a priori* altri meccanismi di formazione dello stesso. 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. I sistemi molecolari studiati si dividono in due categorie: a) molecole derivanti da sistemi porfirinici o simili (e.g. clorine, bacterioclorine, porfirazine, texafirine); b) molecole non-porfiriniche (derivati dell'azadipirrometene). In entrambi i casi, le molecole sono caratterizzate da un'unità centrale con alta coniugazione elettronica e con λ_{\max} ed assorbanza variabili a seconda della struttura molecolare e del grado di funzionalizzazione. Ad eccezione di molecole come la porfirina, clorina, bacterioclorina e porfirazina, già caratterizzate sia sperimentalmente che con studi teorici, la nostra ricerca ha riguardato soprattutto molecole di sintesi recente, tratte dalla letteratura in materia, e per le quali si è potuta verificare soprattutto la bontà del metodo teorico. Il comportamento in soluzione di questi sistemi è stato simulato mediante metodi teorici di solvente implicito (C-PCM) ed anche con un approccio supramolecolare. Il ruolo di diversi metalli di transizione coordinati al macrociclo (e.g. texafirina) è stato valutato solo dagli effetti sull'energie di eccitazione, anche se la loro importanza risiede nel conferire stabilità termodinamica ai composti e nel favorire i processi non-radioattivi come l'intersystem spin crossing. Infine nel caso di sistemi costituiti da alcune ftalocianine sostituite, che presentano una forte deviazione dalla planarità, è stato interessante correlare il grado di distorsione con la λ_{\max} .

CAPITOLO PRIMO

LA TERAPIA FOTODINAMICA

1 Introduzione Storica e Aspetti Generali della Fototerapia.

Gli effetti terapeutici della radiazione solare sul corpo umano (elioterapia) sono testimoniati sin dall'antichità da autori greci come Erodoto (VI sec. a.C.), il quale riportò nei suoi scritti gli effetti benefici del sole sulla crescita delle ossa, ed Ippocrate (460-375 d.C.) che sostenne l'uso dell'elioterapia per la cura di varie malattie umane.¹⁻³ Queste osservazioni empiriche furono per prima affrontate con metodo scientifico alla fine del diciannovesimo secolo da Niel Rydberg Finsen, un medico nato nel 1860 nelle isole Faerøer, ma che svolse la sua attività scientifica a Copenaghen. Finsen condusse degli esperimenti verificando gli effetti causati da radiazioni di differenti colori su cavie animali; in particolare propose l'uso della radiazione rossa per migliorare la suppurazione e cicatrizzazione in soggetti affetti da vaiolo.⁴ Tuttavia il suo maggiore successo riguardò il trattamento e la cura di una forma di tubercolosi cutanea (nome scientifico: lupus vulgaris) molto diffusa a quei tempi nei paesi nordici. La tecnica prevedeva l'utilizzo della radiazione solare, o di luce generata da una lampada ad arco di carbonio e filtrata con acqua o quarzo per ridurre l'intensità infrarossa, sulle parti da trattare. Questa ricerca culminò con l'assegnazione all'autore del 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. Negli anni successivi questa tecnica fu adottata anche nel Regno Unito, dove nella Royal London Hospital fu inaugurato un "Dipartimento della Luce" (Light Department), che testimonia l'allora attenzione crescente per quelle scoperte. Nel tempo tuttavia l'interesse diminuì progressivamente per varie e non chiare ragioni, come la diminuzione della diffusione del lupus vulgaris, o forse l'eccessivo ottimismo sulle generali applicazioni della terapia. Una ripresa di interesse si è avuta negli ultimi decenni, come testimoniano varie aree di ricerca⁵: 1) la sintesi della vitamina D⁶; 2) il trattamento della psoriasi;⁷ 3) la fototerapia dell'iper-bilirubinemia nel neonato (volgarmente itterizia);⁸ 4) la fototerapia del tumore (o terapia fotodinamica)⁹. Gli effetti benefici ottenuti per esposizione alla radiazione luminosa, come mostrato scientificamente dagli esperimenti compiuti da Finsen, rientrano in una vasta categoria di fenomeni denominata fototerapia. La Fototerapia diretta richiede, nel trattamento delle malattie, l'uso esclusivo di radiazione ultravioletta, visibile o infrarossa senza alcun utilizzo di sostanze o farmaci da somministrare al paziente. Questo processo produce transizioni elettroniche che danno luogo a reazioni fotochimiche,

le quali possono portare, in assenza di radiazione, a ulteriori reazioni dei prodotti iniziali. In accordo con la legge di Grotthus-Draper,ⁱ 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 D₃. 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.⁹ Nella fototerapia della psoriasi, una grave malattia cutanea, l'agente fotosensibile è rappresentato da un derivato della classe dei furocumarini (o psoraleni), denominato 8-metossipsoralene (8-MOP) (Figura 1). La somministrazione orale di questo farmaco, seguita dall'irradiazione con luce ultravioletta di tipo A (UV-A) a lunghezza d'onda compresa nell'intervallo 320-400 nm, determina il trattamento della psoriasi. Questa metodologia fu introdotta nel 1953 da Lerner, Denton e Fitzpatrick per la cura della vitiligo, una malattia della pelle con perdita di pigmentazione, e sviluppata nel 1974 dal gruppo di ricerca di Parrish. Il trattamento fu indicato con l'acronimo PUVA (= psoralene + UVA). La terapia fotodinamica (PDT), rientra nella classe della Fototerapia indiretta, la quale oltre all'azione di una sorgente di radiazione e di un agente fotochemioterapico, richiede la presenza di ossigeno molecolare per esplicare l'azione biologica. A tal proposito, i primi esperimenti che evidenziarono l'attività fotodinamica, vale ad dire il danno o la distruzione di cellule in tessuti viventi, furono compiuti nel periodo 1897-1898 da Oscar Raab, uno studente di Medicina del Professor H. von Tappeiner presso l'Università 'Ludwig-Maximilian' di Monaco.¹⁰ Raab osservò che l'azione sinergica di luce e di una sostanza colorante (acridina arancione, Figura 1) a bassa concentrazione induceva la morte di organismi unicellulari (paramecium) appartenenti alla classe dei Protisti, mentre in assenza di illuminazione non si riscontrava alcun effetto. Questa scoperta stimolò negli anni successivi ulteriori ricerche in questo campo.

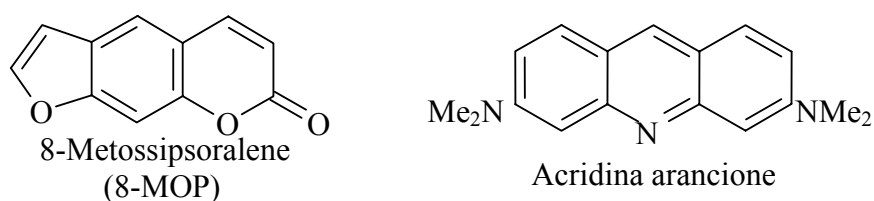


Figura 1

ⁱ 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 alcuna cambiamento.

Nel 1904, von Tappeiner et al. utilizzarono *in vivo* la radiazione solare per attivare la molecola fotosensibile di eosina (Figura 2) nel tessuto tumorale; si utilizzò per la prima volta l'espressione 'effetto fotodinamico', suggerendo come la presenza di ossigeno fosse necessaria nel processo complessivo.¹¹⁻¹² Hasselbach, nel 1909, usò come modello di studio la fotoemolisi degli eritrociti, ed evidenziò che l'agente fotosensibile aumentava la velocità della fotoreazione solo in presenza di ossigeno, confermando così le conclusioni di von Tappeiner et al. Nei laboratori di ricerca in Chimica Organica di Hans Fischer, a Monaco di Baviera (1912), fu registrato un forte effetto fotodinamico su topi, a cui era stata iniettata, per via subcutanea, una soluzione di ematoporfirina, un derivato della porfirina (Figura 2), laddove nelle stesse condizioni la mesoporfirina (Figura 2) non dava alcun effetto. Risultati di esito opposto furono ottenuti per applicazione al paramecio. Il primo esperimento sul corpo umano fu opera del fisico austriaco Friedrich Meyer-Betz, allievo di Hans Frischer, nell'ottobre del 1912. Meyer-Betz iniettò, per via endovenosa, su se stesso una soluzione fisiologica salina di ematoporfirina; dopo due giorni a seguito dell'esposizione alla luce solare, si svilupparono eritemi e tumefazioni sulla sua pelle, che cominciarono a scomparire solo dopo una settimana mentre gli effetti di fotosensibilizzazione sulla pelle cessarono completamente solo la primavera successiva.¹³ L'esperimento dimostrò chiaramente gli effetti fotodinamici sull'uomo da parte di molecole porfiriniche, anche se essi erano già evidenti nel meccanismo di azione di alcune malattie dette porfirie. Nelle porfirie, l'irregolare funzionamento dell'enzima ferrochelatasi provoca un accumulo di porfirine libere nel plasma, le quali attraverso la circolazione, raggiungono gli strati dell'epidermide e causano la fotosensibilizzazione nel soggetto malato, soprattutto nelle parti più esposte al sole (viso e mani).¹⁴

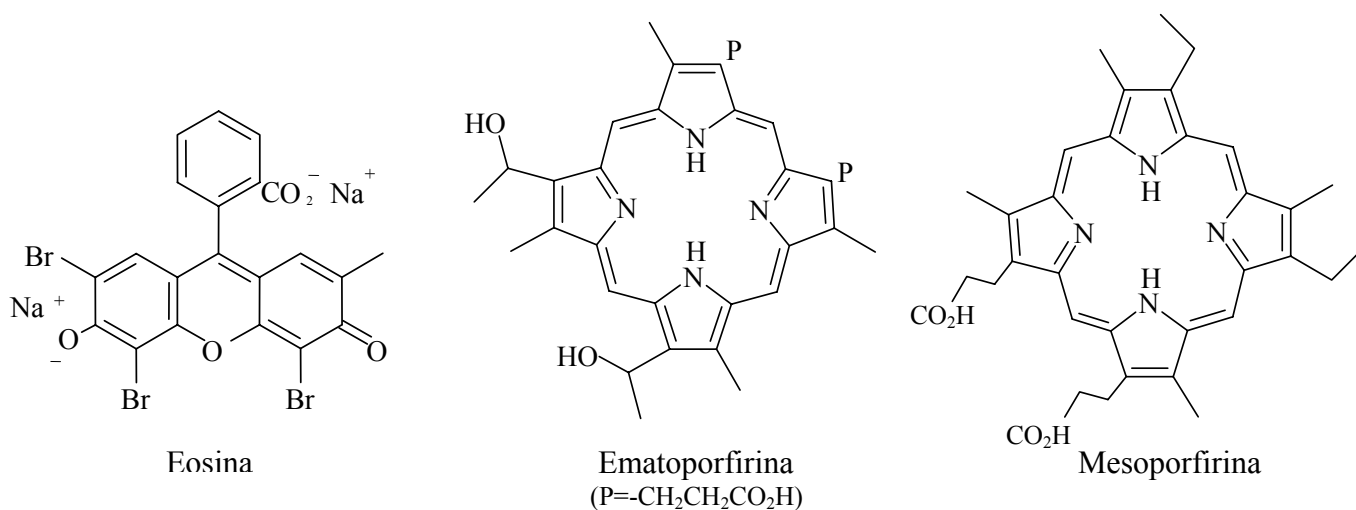


Figura 2

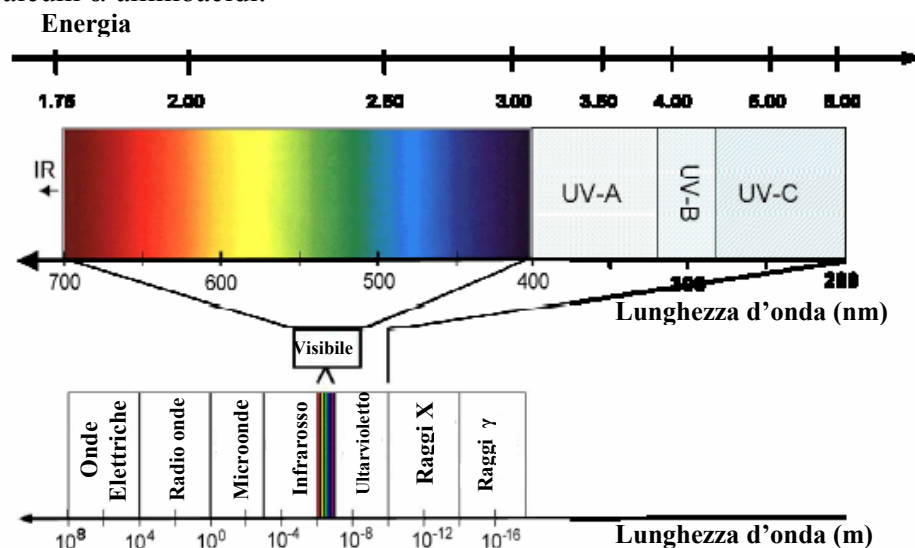
La scoperta dell'effetto fotodinamico nei tessuti viventi,¹⁵⁻¹⁶ si accompagnò storicamente allo studio degli effetti di fluorescenza che le stesse molecole coloranti erano capaci di provocare nei tessuti biologici. Policard,¹⁷ nel 1920 notò che i tessuti tumorali erano più fluorescenti di quelli sani, ciò suggerì la possibilità di attivare molecole con queste proprietà al fine di delineare meglio i confini del tessuto tumorale (Ronchese, 1940).¹⁸ Tra il 1940 ed 1960 furono compiuti alcuni esperimenti da Figge et al.¹⁹⁻²¹ E Rasmussen et al.,²² consistenti nella somministrazione di porfirine naturali a cavie animali e persone malate per localizzare, mediante fluorescenza, con più accuratezza il tessuto tumorale. Winkelman (1960) usò tetrafenil-porfirine per lo stesso scopo.²³⁻²⁵ Agli inizi degli anni sessanta, ci fu una ripresa d'interesse nella terapia fotodinamica grazie ai lavori di Lipson e Schwartz.²⁶ 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, quindi poteva essere usato come fotosensibilizzatore.²⁷⁻²⁹ Tuttavia la resa quantica di ossigeno di singoletto (1O_2), che nel frattempo era stato individuato come fattore responsabile dell'attività antitumorale, risultava bassa per la fluoresceina. Inoltre si individuò la necessità di usare molecole con massimi di assorbimento nella regione del vicino infrarosso dello spettro elettromagnetico, in quanto maggiore è la profondità di penetrazione nel tessuto da trattare. In questo contesto la fluoresceina risultò inadatta in quanto possiede una bassa resa quantica di ossigeno singoletto e massimi di assorbimento nella zona verde dello spettro. Di qui la riscoperta del derivato dell'ematoporfirina (HpD) di Schwartz, in quanto l'HpD mostrava un'alta resa di ossigeno singoletto, un massimo di assorbimento nella parte rossa dello spettro elettronico ed una localizzazione preferenziale nel tumore.²⁷ I tentativi da parte di Dougherty di isolare e caratterizzare le parti attive dell' HpD, condussero alla produzione di una preparato purificato, brevettato con il nome commerciale di Photofrin[®]. 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.³⁰⁻³¹ La Photofrin[®] appartiene alla cosiddetta 'prima generazione' di agenti fotosensibilizzatori nella PDT, e tuttavia 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, per ottimizzare l'efficacia in PDT (paragrafo 1.4).

1.2 Processi Fotochimici in Terapia Fotodinamica.

In questa sezione sarà data una descrizione dei principali concetti e termini relativi ai processi radiativi (e non) a cui è soggetta una molecola a seguito dell'interazione con una radiazione elettromagnetica (sottoparagrafi 1.2.1, 1.2.2). Nel sottoparagrafo 1.2.3 saranno introdotte le proprietà chimico-fisiche dell'ossigeno in stato singoletto ed i meccanismi di reazione che portano alla sua formazione nel processo PDT.

1.2.1 Cenni di Spettroscopia Elettronica di Assorbimento.

Per come accennato nel precedente paragrafo, 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 λ , 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 α -aminoacidi.



L'interpretazio

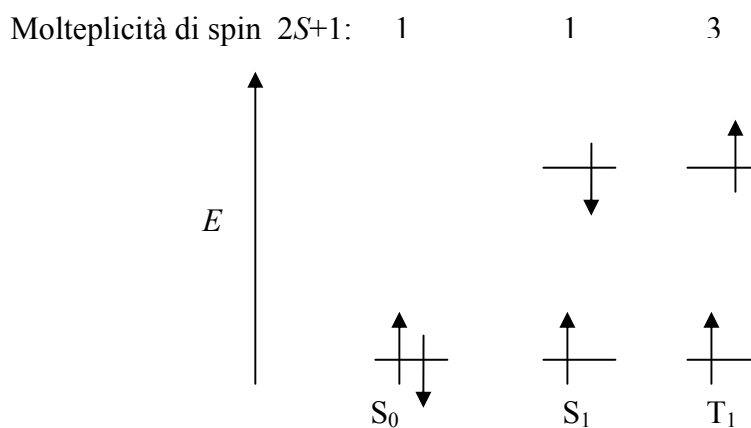
Spettro Elettromagnetico

ax 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 ν :

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.1.1)$$

dove h è la costante di Planck e assume il valore di $6,626 \cdot 10^{-34}$ J s. La relazione 2.1.1 tiene conto del rapporto che lega, nei fenomeni ondulatori, la lunghezza d'onda λ e la frequenza ν ($\nu \lambda = c$, dove c è la velocità della luce). L'assorbimento della radiazione visibile ed ultravioletta coinvolge le transizioni elettroniche tra i livelli energetici di atomi o molecole.³²⁻³⁴ Il meccanismo di assorbimento si può schematizzare nel seguente modo: una molecola allo stato fondamentale S_0 assorbe una fotone dalla radiazione incidente e ciò provoca la transizione di un elettrone, che occupa lo stato fondamentale, ad un livello superiore ad energia più alta. Nei sistemi organici, l'assorbimento coinvolge transizioni orbitali molecolari di legame di tipo π ad orbitali di antilegame π^* ($\pi \rightarrow \pi^*$), oppure da orbitali molecolari localizzati su un atomo ad orbitali π^* ($n \rightarrow \pi^*$). 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).



Configurazioni elettroniche
corrispondenti a differente molteplicità di

Figura 4

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:

$$P_{if} \propto |Q|^2 = \left| \underbrace{\langle \psi_f | er | \psi_i \rangle}_{\text{Fattore Spaziale}} \underbrace{\langle \psi_f^{spin} | \psi_i^{spin} \rangle}_{\text{Fattore di Spin}} \right|^2 \quad (2.1.2)$$

Nell'espressione integrale 2.1.2, secondo la notazione di Dirac, ψ_f e ψ_i rappresentano le funzioni d'onda dei due stati, er è il momento di dipolo della molecola (di solito indicato con μ), ψ_f^{spin} e ψ_i^{spin} le rispettive funzioni di spin. Il significato fisico-matematico della funzione d'onda ψ e le teorie quantomeccaniche saranno descritte nel capitolo 2, in questo contesto è possibile dedurre le regole di selezione per le transizioni dall'equazione 2.1.2 senza altro apparato matematico. Perché una transizione sia possibile ($P_{if} \neq 0$) i due fattori dell'espressione 2.1.2, evidenziati come termini dipendenti dallo spazio e dallo spin, devono essere diversi da zero. La regola dominante riguarda lo spin dello stato iniziale e finale: 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. Perché la parte spaziale sia diversa da zero, essendo l'operatore er di tipo non-centrosimmetricoⁱⁱ o ungerade (u), è necessario che le funzioni ψ_f e ψ_i abbiano diversa parità, ad esempio transizioni $u \rightarrow u$ e $g \rightarrow g$ (funzioni centrosimmetriche) sono 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 di 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:

ⁱⁱ 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 $f(x,y,z) = f(-x,-y,-z)$.

$$\log_{10} \frac{I_0}{I} = A = \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (2.1.3)$$

in cui I_0 ed I rappresentano l'intensità della radiazione incidente e trasmessa, A è l'assorbanza, ε è il coefficiente di assorbimento molare (espresso in $\text{cm}^{-1} \text{mol}^{-1} \text{ litri}$), 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 ε (o il suo logaritmo decimale) sono espresse in funzione della lunghezza d'onda d'assorbimento λ (in nanometri) o del numero d'onda $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$ (cm^{-1}). Nel caso in cui $\varepsilon = \varepsilon(\bar{\nu})$ l'integrale definito $I = \int_0^\infty \varepsilon(\bar{\nu}) \cdot d\bar{\nu}$, 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 $f = 4.33 \cdot 10^{-9} \int_0^\infty \varepsilon(\bar{\nu}) d\bar{\nu}$. 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 ε ed f e le intensità delle transizioni sono riportate nella seguente Tabella 1.

Tabella 1. Condizioni per le transizioni elettroniche

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

1.2.2 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).¹ 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), come accennato nel punto 4), esiste la possibilità di de-attivare energeticamente (quenching) uno stato eccitato in presenza di una molecola che ritrovi nel suo stato fondamentale. Questo meccanismo di trasferimento di energia elettronica intermolecolare, che è alla base del processo fotodinamico, fu descritto da due scienziati russi (Terenin ed Ermolaev).

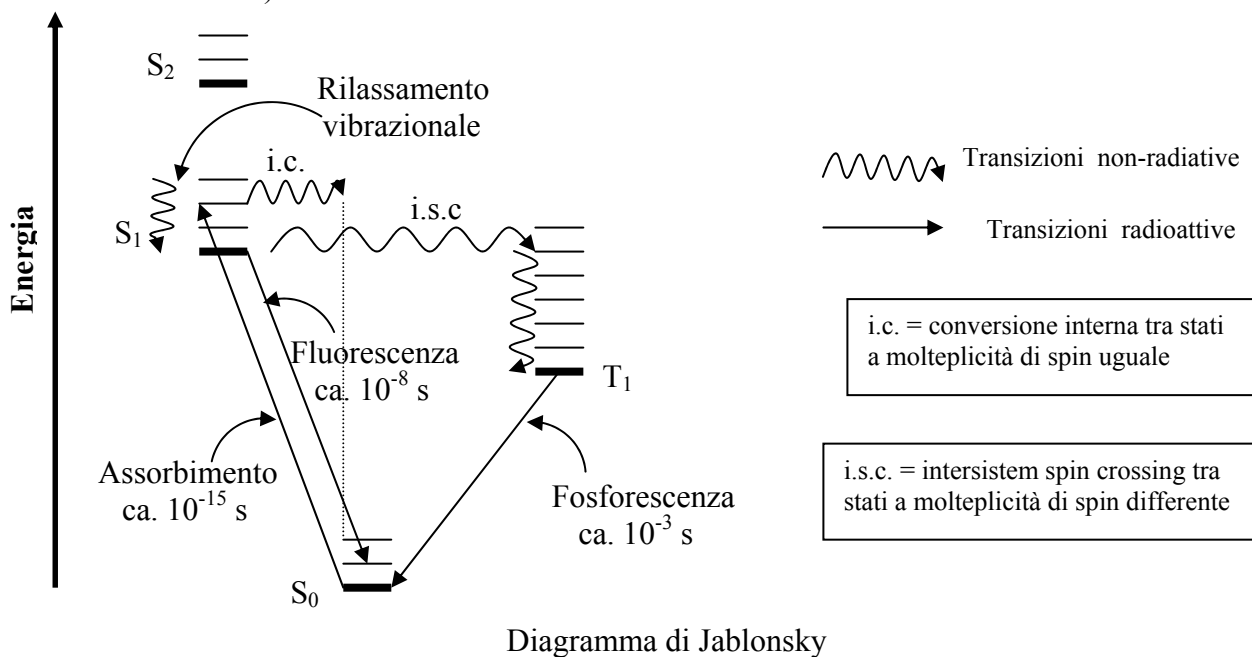
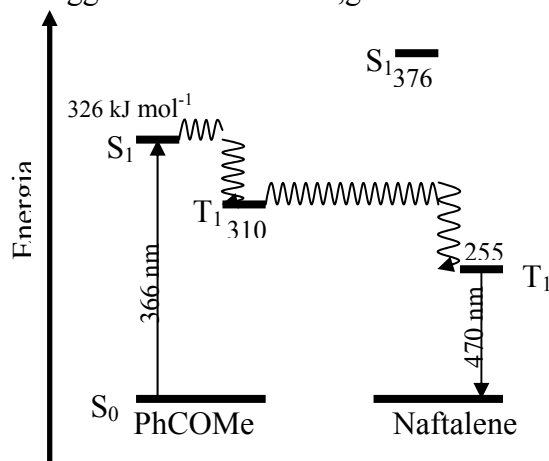


Diagramma di Jablonsky
 Figura 5

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 Φ_F , di fosforescenza Φ_P , dell'incrocio di spin tra sistemi Φ_{ISC} , oppure la resa quantica relativa alla formazione di uno stato di tripletto Φ_T o di singoletto Φ_S . Sulla base della legge di Stark-Einstein, generalmente vale la seguente: $\sum \Phi_x \leq 1$.ⁱⁱⁱ



Trasferimento energetico dall'acetofenone al naftalene

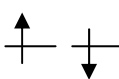
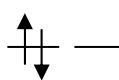
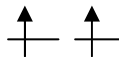
Figura 6

1.2.3 Proprietà dell'Ossigeno Singoletto ed Applicazione in PDT.

L'ossigeno molecolare O_2 (o diossigeno) allo stato fondamentale possiede configurazione elettronica $KK(2\sigma_g)^2(2\sigma_u^*)^2(3\sigma_g)^2(1\pi_u)^4(1\pi_g^*)^2$, i due elettroni che occupano i livelli degeneri π_g^* , in base alla regola di Hund, hanno spin paralleli. Lo stato fondamentale, ${}^3\Sigma_g^-$ nella

ⁱⁱⁱ 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.

notazione spettroscopica, è quindi un tripletto e ciò spiega il carattere paramagnetico di O₂. L'ossigeno possiede due stati eccitati di singoletto, ¹Δ_g e ¹Σ_g⁺, posti energeticamente al di sopra dello stato fondamentale, rispettivamente a 95 (22.5 kcal mol⁻¹) e 158 kJ (31.5 kcal mol⁻¹). La configurazione elettronica degli orbitali molecolari dello stato ¹Δ_g è la seguente: $KK(2\sigma_g)^2(2\sigma_u^*)^2(3\sigma_g)^2(1\pi_u)^4(1\pi_g^*)^1(1\pi_g^*)^1$, mentre la configurazione dello stato ¹Σ_g⁺ è identica a quella dello stato ³Σ_g⁻ ad eccezione degli elettroni che occupano l'orbitale degenero 1π_g^{*} (HOMO), che hanno spin parallelo. Le precedenti considerazioni sono riassunte nella seguente Figura 7.

Stato Elettronico	Configurazione HOMO	Energia Relativa (eV)
¹ Σ _g ⁺		1.37
¹ Δ _g		0.98
³ Σ _g ⁻		0.00

Configurazione elettronica esterna ed energie relative dei primi stati eccitati dell'ossigeno molecolare

Figura 7

Lo stato elettronico ¹Δ_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 ¹Σ_g⁺ ha un tempo di vita di circa 7-12 s, perché la transizione allo stato ¹Δ_g è spin-permessa. In soluzione i tempi di vita si riducono a 10⁻⁶-10⁻³ s per ¹Δ_g e 10⁻¹¹-10⁻⁹ s per ¹Σ_g⁺. La transizione ¹Δ_g ↔ ³Σ_g⁻ è osservata sperimentalmente a 1268.7 nm sia in assorbimento che in emissione nonostante sia proibita per spin e simmetria.³⁵⁻³⁸ Si può generare ossigeno in stato di singoletto ¹Δ_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.

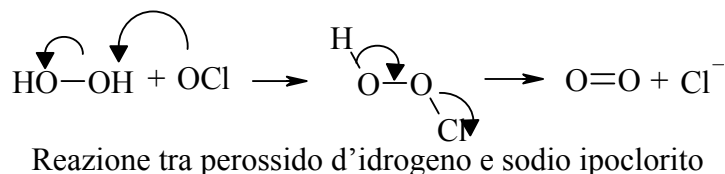
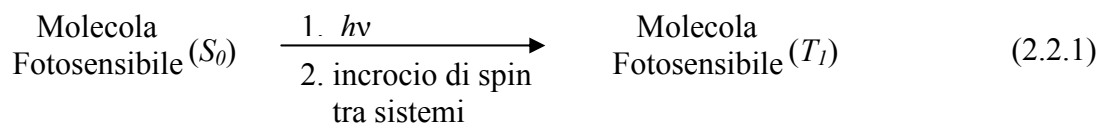
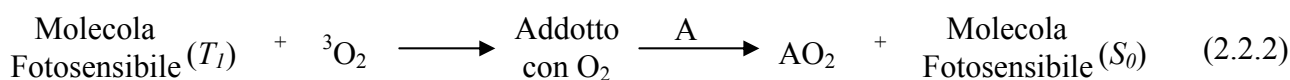


Figura 8

Tra i metodi fisici sono annoverati l'eccitazione diretta, la scarica con microonde e fotosensibilizzazione. Quest'ultimo metodo è il più usato nel produrre in laboratorio ossigeno singoletto ($^1\text{O}_2$) e nei processi fotodinamici. In tal senso i lavori pionieristici sulla reazione tra fotosensibilizzatori, ossigeno e substrati organici furono compiuti da Schönberg (1935) e Kautsky (1937)³⁹ e ripresi da Schenk (1964) e Foote (1968).⁴⁰ 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 era descritto in modo differente. Schönberg propose la seguente reazione:

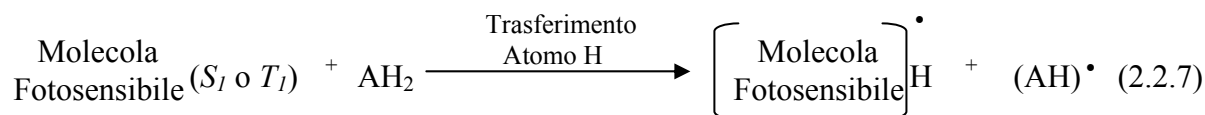
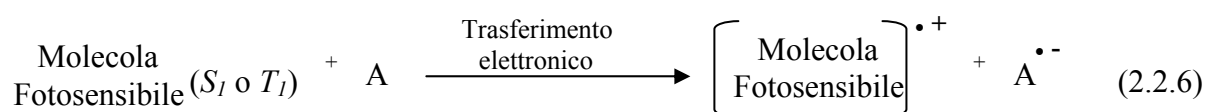
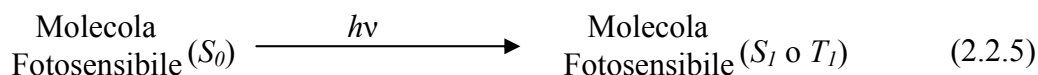


in cui la specie ossidante nei confronti del substrato A, era costituito dal complesso formato dal fotosensibilizzatore e l'ossigeno molecolare. Nella teoria di Kautsky, l'agente ossidante era l'ossigeno in stato di singoletto secondo il seguente schema:

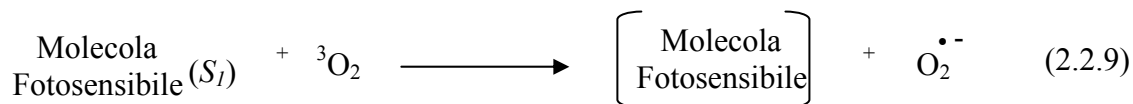


Una dimostrazione della generazione di ossigeno singoletto fu pubblicata da Kautsky nel 1933.³⁹ L'esperimento supponeva l'esistenza $^1\text{O}_2$ di in fase gassosa laddove l'addotto di Schönberg avrebbe avuto una bassa tensione di vapore. La procedura era la seguente: si prendevano due miscele di particelle 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 (una molecola incolore, rappresentante A della schema citato). 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. Gli esperimenti compiuti dopo circa trent'anni da Foote e Wexler, e da Corey e Taylor, confermarono le ipotesi di

Kautsky sulla presenza ed il ruolo dell'ossigeno singoletto. 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 $\text{O}_2^{\bullet-}$ secondo le seguenti reazioni:



oppure:



Nel meccanismo di Tipo I, l'eventuale azione citossica non viene attribuita allo 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 umano. Un diagramma di Jablonsky, adattato alla discussione fin qui svolta sui meccanismi di Tipo I e II, è riportato nella Figura 9 a fondo. Il meccanismo di Tipo II, che si può riassumere nelle equazioni 2.2.1 e 2.2.3 (p.12), richiede la formazione di ossigeno singoletto per svolgere l'azione fotodinamica. Per l'equazione 2.2.3, 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 di 1O_2 (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 Φ_{Δ} . 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, pag. 2) il valore di Φ_{Δ} è rispettivamente di 0.83 (in benzene) e 0.009 (acqua deuterata), mentre per l'ematoporfirina (Figura 2, pag. 3) è di 0.52 (in metanolo). La bassa resa quantica per l' 8-MOP suggerisce un diverso meccanismo d'azione fotodinamica, diversa dalla generazione di 1O_2 .

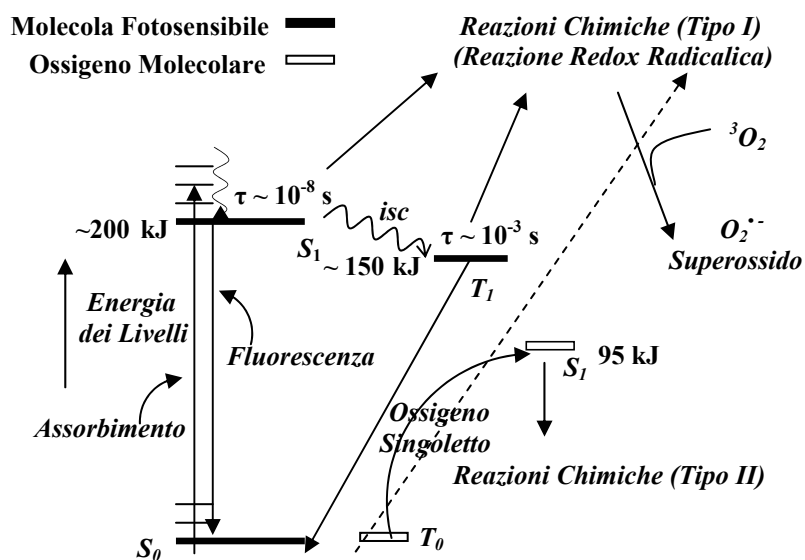


Diagramma di Jablonsky per la formazione di ossigeno singoletto

Figura 9

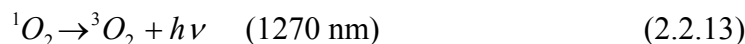
È possibile formulare un'espressione matematica che esprima la resa quantica Φ_{Δ} in funzione di parametri cinetici. In particolare si ottiene che la resa quantica è uguale alla seguente espressione:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_T \Phi_{en} = \Phi_T \frac{k_{en}[O_2]}{k_r + k_{nr} + k_q[O_2]} \quad (2.2.12)$$

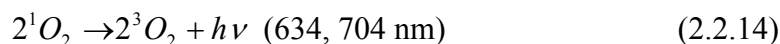
dove Φ_T è la resa quantica di formazione dello stato di tripletto per la molecola, Φ_{en} è l'efficienza del processo di trasferimento energetico, k_{en} è la costante di velocità cinetica dello stesso processo, k_r e k_{nr} le costanti dei processi radiativi e non, k_q è la somma delle costanti cinetiche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

La distinzione tra i meccanismi di Tipo I e II può essere fatta effettuando alcuni esperimenti base.¹ Ad esempio la rivelazione di 1O_2 per luminescenza, il quenching del 1O_2 formatosi con 9,10-difenilantracene con formazione dell'endoperossido o la reazione con il colesterolo, con prodotto principale il 5 α -idroperossido, sono una conferma di un meccanismo d'azione di Tipo II. Inoltre l'ottenimento degli stessi prodotti e la distribuzione degli stessi mediante tecniche di generazione di 1O_2 come NaOCl/H₂O₂ (vedi Figura 8, p. 11) o la scarica elettrica con microonde consentono di attribuire l'attività fotodinamica ad un meccanismo di Tipo II. Per quanto riguarda il meccanismo di Tipo I, il quenching del 1O_2 con il mannitolo o l'idrossitoluene-butilato, o la formazione di una miscela di 7 α e 7 β -idrossiperossidi mediante reazione con il colesterolo, rappresentano dei tests di convalida del meccanismo. Approfondiamo alcune evidenze sperimentali che rivelano la presenza di ossigeno singoletto e quindi di un meccanismo di Tipo II.

- (1) Luminescenza. La rivelazione di luminescenza 1O_2 nella miscela di reazione è dovuta a due emissioni, molto deboli in soluzione. La prima si verifica a 1270 nm da parte di una singola molecola secondo la seguente reazione:

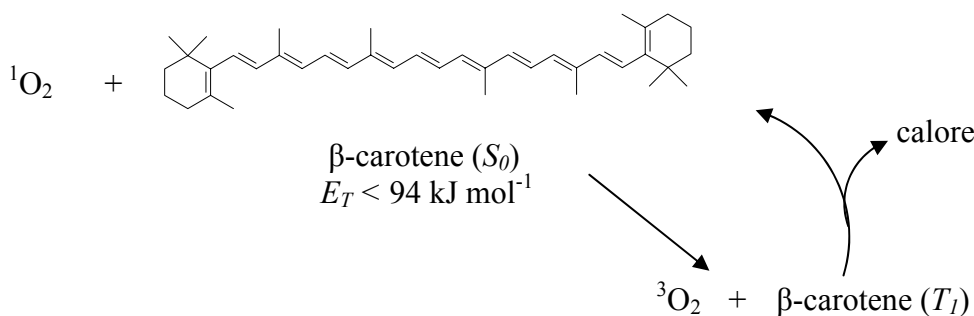


mentre la seconda, ad energia più alta, coinvolge l'interazione di due molecole secondo la reazione:



La prima emissione a 1270 nm, è spin-proibita ($T_1 \rightarrow S_0$) ma cade in una regione dello spettro libera da fenomeni di luminescenza dovute alle molecole che formano il substrato, quindi è un metodo diretto utile alla rivelazione di 1O_2 .

- (2) ‘Trappole chimiche’. La presenza di molecole che in presenza di $^1\text{O}_2$, abbassano la velocità della reazione reagendo con esso, rappresentano le cosiddette trappole chimiche. Esempi del genere sono costituiti dal 1,3-difenilisobenzofurano e dal 9,10-difenilantracene. In questo caso la loro scomparsa può essere monitorata nel tempo con tecniche di spettroscopia elettronica, in virtù della presenza di gruppi cromofori in queste molecole.
- (3) Quenching di $^1\text{O}_2$. Molecole come il β -carotene disattivano l’ossigeno singoletto mediante un meccanismo di trasferimento energetico:



Quenching dell’ossigeno singoletto da parte del β -carotene

Figura 10

1.3 La Radiazione Elettromagnetica in PDT: Sorgenti e Lunghezza d’Onda.

Le proprietà ottimali della radiazione elettromagnetica da impiegare nel processo PDT, saranno l’oggetto di questa sezione. Nel sottoparagrafo 1.3.1 saranno descritte le principali sorgenti di radiazione da impiegare in PDT, nel successivo paragrafo sarà discusso il rapporto che lega la lunghezza d’onda della radiazione impiegata ed il grado di penetrazione nei tessuti biologici.

1.3.1 Le Sorgenti di Radiazione.

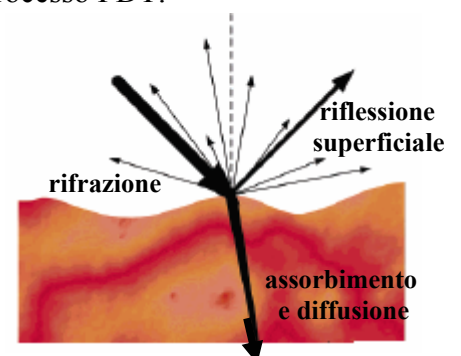
- (1) Lampade ad incandescenza. Rappresentano un primo esempio di sorgente elettromagnetica usate in PDT. Esse sono costituite da un filamento metallico (e.g. tungsteno), che è racchiuso sottovuoto da un bulbo di vetro e riscaldato da una corrente elettrica. Le lampade ad incandescenza sono economiche e furono usate nel trattamento del carcinoma basale utilizzando come agente fotosensibile l’acido δ -aminolevulinico.
- (2) Lampade ad arco. Le lampade ad arco di mercurio sono largamente usate nella fotochimica organica e hanno applicazioni in fotomedicina. 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, vale a dire nella regione spettrale dell’UV-C (Figura 3, p. 5), e per questo motivo sono impiegate come lampade ad azione germicida. Le lampade a media pressione, contengono un numero maggiore di linee di emissione, le

principali cadono 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 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, 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, in cui la sua frequenza può essere modulata in funzione del fotosensibilizzatore da eccitare nel processo PDT.

1.3.3 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 a lato).¹⁶



Interazione luce-tessuto umano

Figura 10

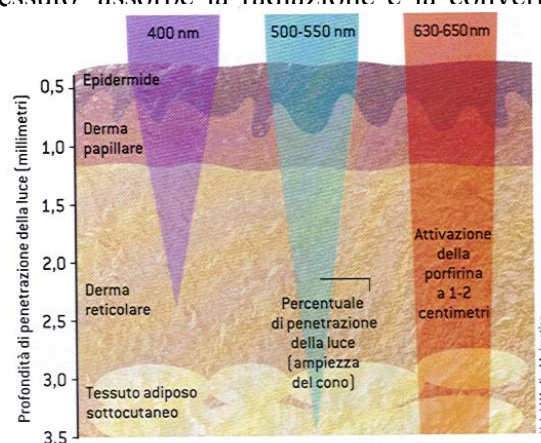
La propagazione della luce nel tessuto è influenzata dalla diffusione dovuta alla presenza di siti disomogenei come le membrane ed i nuclei. La penetrazione della radiazione nel tessuto è influenzata fortemente dalla presenza dell'acqua o di cromofori endogeni fortemente assorbenti, come la melanina, ed è dipendente anche dal tipo di tessuto. Esperimenti compiuti da Svaasand,⁴¹

Wilson et al.,⁴² e Bolin et al.⁴³ 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 α il coefficiente di attenuazione (in 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 Ψ , all'interno di un volume di un mezzo diffondente e ad una distanza r dalla sorgente della radiazione, è uguale alla seguente espressione:

$$\Psi = \Psi_0 \frac{e^{-\alpha r}}{r} \quad (3.2.1)$$

La variazione del flusso decresce esponenzialmente con la distanza r , e piccole variazioni nel coefficiente di attenuazione α 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 α è definito come la profondità di attenuazione (δ , in cm) ed indica la profondità alla quale la radiazione viene attenuata di $1/e$ ($\sim 37\%$). Valori tipici della profondità di attenuazione δ 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 al-

tamente pigmentati che i fotosensibilizzatori con valori elevati di assorbività molare e concentrazione attenuano la profondità di penetrazione della radiazione.⁴⁴



Effetto della lunghezza d'onda sulla penetrazione nel tessuto umano

Figura 11

1.4 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 al fine di ovviare agli inconvenienti. Infine accenneremo agli sviluppi recenti della ricerca in PDT.

1.4.1 Fotosensibilizzatori di Prima Generazione

Il derivato dell'ematoporfirina HpD (figura 2, p. 5) 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, nel paragrafo 1, 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 partir da questa frazione vengono ottenute le varie forme commerciali suddette. 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 deprimono 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, in quanto 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 una 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. L'intensità debole 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.

1.4.2 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'.^{1,45-48} 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.⁴⁹ 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, ma sono non farmaci PDT efficaci, perché presentano un'inadeguata oppure molto generalizzata 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, e rende così difficile stabilire una correlazione precisa tra dosaggio del farmaco ed azione fotodinamica. Inoltre l'ematoporfirina (Figura 2) 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, e per quanto riguarda quest'ultima, la lunghezza d'onda dell' 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 al tempo stesso 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.

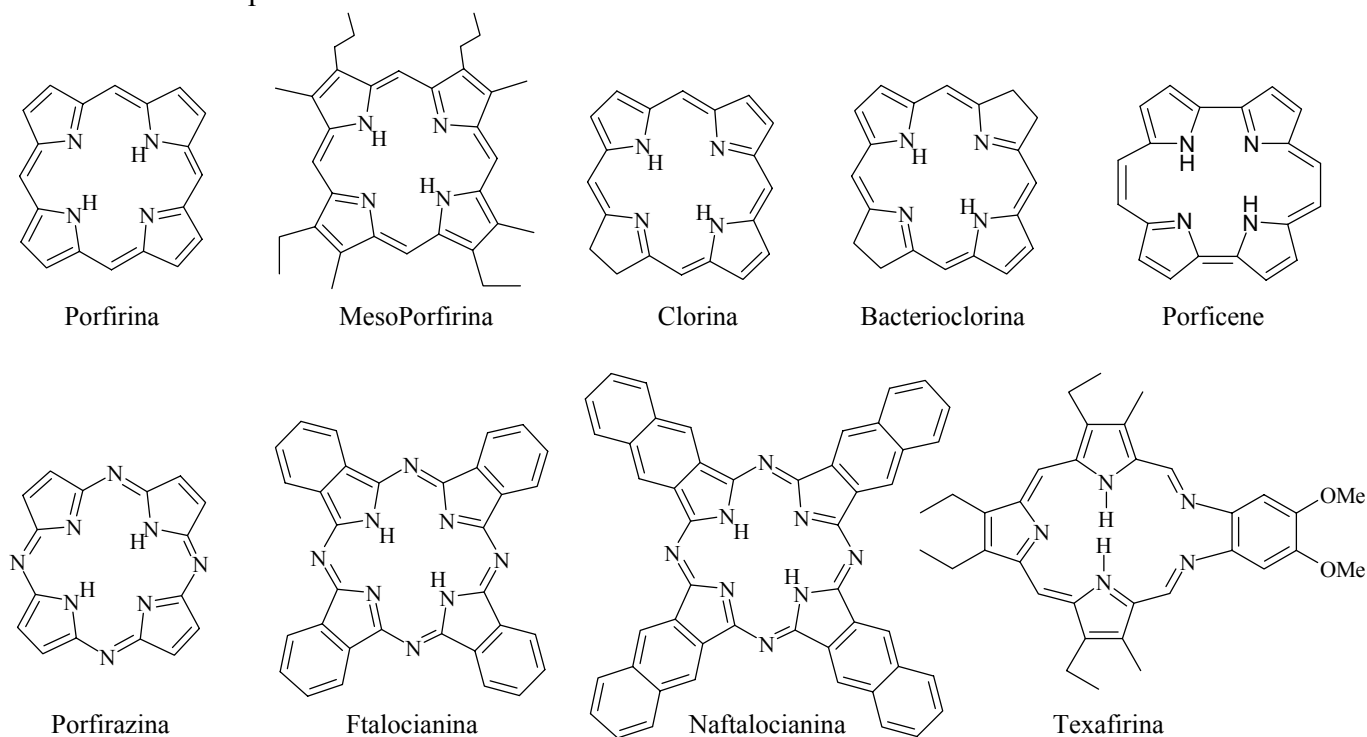


Figura 12

Per aumentare la stabilità in soluzione del fotosensibilizzatore ed evitarne così la precipitazione che lo renderebbe farmacologicamente inattivo, 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 Φ_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 dell'Equivalenza Chimica (paragrafo 1.2.2). Un fotosensibilizzatore per la terapia fotodinamica deve invece possedere: a) uno stato di tripletto ad energia maggiore di 94 kJ mol⁻¹ (vedi anche paragrafo 1.4); b) una buona resa quantica di tripletto; c) un tempo di vita medio dello stato di tripletto, τ_T , tale da formare in modo efficiente l'ossigeno singoletto. Nella maggior parte dei casi, l'azione fotodinamica è dovuta all'ossigeno singoletto, o quest'ultimo è un intermedio importante, allora il parametro che indica meglio l'attività fotodinamica di un fotosensibilizzatore, è dato dalla resa quantica di formazione dell'ossigeno singoletto Φ_Δ . In tabella 2 sono riportati i valori di Φ_T , Φ_Δ , e dove disponibili anche di Φ_F τ_T , per alcuni fotosensibilizzatori suddivisi per classe di appartenenza.

Tabella 2. Rese quantiche di fluorescenza Φ_F , tripletto Φ_T , ossigeno singoletto Φ_Δ , tempi di vita medi dello stato di tripletto τ_T , per alcuni composti macrocicli tetrapirrolici⁴⁵

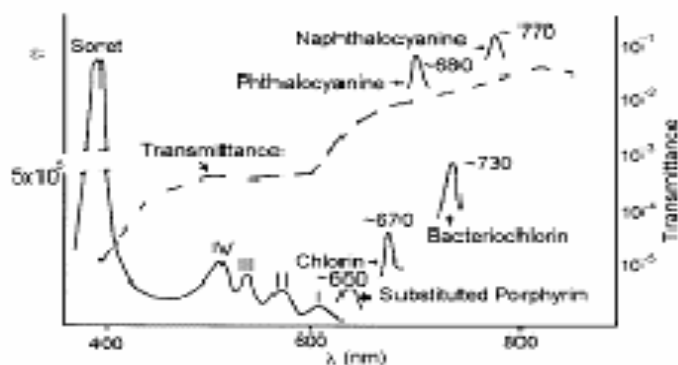
Classe	Complesso	Solvente	Φ_F	τ_T (μ s)	Φ_T	Φ_Δ
Porfirine	Tetrafenilporfirina	toluene	0.10	>10	0.73	0.67
	Zn-Tetrafenilporfirina	toluene	0.333	>10	0.86	0.68
	Cu- Tetrafenilporfirina	toluene	0	0.00178	0.88	0.03
Clorine	octaetilpurpurina	benzene			0.82	0.67
	Zn-etioipurpurina	benzene			0.83	0.57
Bacterioclorine	bacterioclorofilla a	benzene			0.32	0.32
	bacteriofeofitina a	benzene			0.73	0.46
Ftalocianine	ftalocianina	C ₁₀ H ₇ Cl	0.7	140	0.14	0.16
	Al(III)-ftalocianina	C ₁₀ H ₇ Cl	0.58	500	0.4	/
		dms0	/	/	/	0.29
	Zn-ftalocianina	C ₁₀ H ₇ 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

(5) Assorbimento nella regione rossa dello spettro visibile. Nel paragrafo 1.3.3 si è visto come i fotosensibilizzatori con λ_{max} nella zona rossa dello spettro visibile (600-850nm), riescano a

penetrare con maggiore profondità il tessuto biologico. In Tabella 3, sono riportati i valori indicativi di λ_{\max} , per sistemi porfirinici e porfirinoidi, mentre in figura 13 è rappresentata la curva di trasmittanza di questi sistemi in funzione della λ_{\max} della banda d'assorbimento Q, e misurata su un campione di sacco scrotale umano (spessore 7mm) . Da notare la notevole differenza relativa alla λ_{\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 ϵ (rapporto 1:100). Nonostante quanto detto sulla λ_{\max} , esistono tre motivi che limitano i vantaggi derivanti dallo spostamento verso il rosso la λ_{\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 λ_{\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 , d'altra parte l'energia di T_1 deve essere maggiore di 94 kJ mol^{-1} (1270 nm) (paragrafo 1.4), ne consegue che l'energia di S_1 non può essere minore 94 kJ mol^{-1} , cioè la λ_{\max} non può essere maggiore di 1270 nm. 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.

Tabella 3. Valori indicativi di λ_{\max} ed ϵ per sistemi porfirinici e porfirinoidi ⁴⁶

Tipo di Molecola	λ_{\max} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
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



Variazione della trasmittanza in funzione della lunghezza d'onda per alcune classi di fotosensibilizzatori

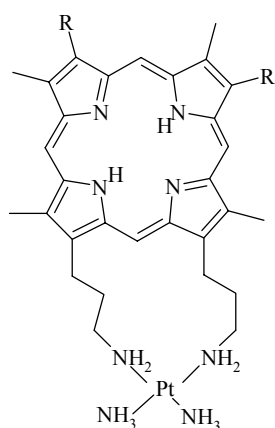
Figura 13

1.5 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.^{35, 50-51} 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),⁵²⁻⁵³ 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, reattività, selettività di questi composti può essere modulata variando i gruppi sostituenti sulla prima sfera di coordinazione del Pt(II) e/o sull'anello porfirinico.

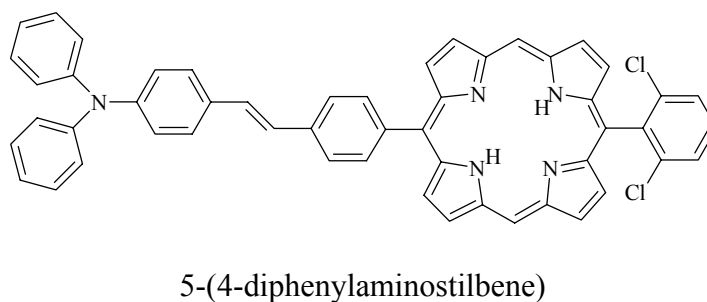
I 'quantum dots' sono invece nanoparticelle con dimensioni comprese tra 1-6 nm, tali da non potersi considerare né molecole piccole né tanto meno cristalli di grossa dimensione. Le dimensioni conferiscono loro particolari proprietà ottiche, che derivano da effetti di confinamento quantico e che possono essere modulate dall'UV alla regione IR cambiando la grandezza e la composizione. Quantum dots formati da semiconduttori (CdSe) sono un esempio di nanoparticelle (5nm) legate assialmente a silicio(IV)-ftalocianina attraverso un legame alchilamminico sono state studiate per loro possibili applicazioni in PDT.⁵⁴ 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),⁵⁵ 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 λ_{\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 Göpper-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 π (Figura 15)



Derivato porfirinico della cisplatina

Figura 14



5-(4-diphenylaminostilbene)

Figura 15

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) Finsen, N. R. *Phototherapy*, Arnold, London, **1901**.
- (5) Jori, G. and Perria C. (Eds) *Photodiagnostic and Phototherapeutic Techniques in Medicine*, Documento Editoriale, Milan, **1995**.
- (6) Bicknell, F. and Prescott *The Vitamins in Medicine*, Heinemann, London, **1942**, 442-503.
- (7) Parrish, J. A., Fitzpatrick, T. B., Tanenbaum, L., Pathak, M. A. *N. Engl. J. Med.*, **1974**, *291*, 1207-1222.
- (8) Cremer, R. J.; Perryman, P. W.; Richards, D. H. *Lancet*, **1958**, 1094-1097.
- (9) Bock, G. and Harnett, S. (Eds) *Photosensitising Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use*, Ciba Foundation Symposium 146, Wiley, London, **1989**.
- (10) Raab, O. *Z. Biol.*, **1900**, *39*, 524-546.
- (11) Tappeiner, H.; Jesionek, A. *Muench. Med. Wochschr.*, **1904**, *1*, 2042-2044.
- (12) Jesionek, A.; Tappeiner, H. *Deut. Arch. Klein. Med.*, **1904**, *82*, 223-227.
- (13) Meyer-Betz, F. *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, **1913**, *112*, 476-503.
- (14) McDonagh, A. F., Bissel, D. M. *Seminars in Liver Disease*, **1998**, *18*, 3-15.
- (15) Henderson, B. W.; Dougherty, T. J. (eds) *Photodynamic Therapy-Basic Principles and Clinical Applications*, Dekker, New York, **1992**.
- (16) MacDonald, I. J.; Dougherty, T. J. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, **2001**, *5*, 105-129.
- (17) Policard, A. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **1924**, *91*, 1423-1424.

- (18) Ronchese, F. *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Path.*, **1954**, 7, 967-971.
- (19) Figge, F. H. J. *AAAS Research Conf. On Cancer*, Moulton FR. (ed.) **1945**, 117-128.
- (20) Figge, F. H. J. *Ann. Int. Med.*, **1947**, 24, 143-146.
- (21) Figge, F. H. J.; Weiland, G.S.; Manganiello, L. O. J. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1948**, 68, 143-146
- (22) Rasmussen-Taxdal, D. S.; Ward D. E., Figge, F. H. J. *Cancer*, **1955**, 8, 78-81.
- (23) Winkelman, J. J. *Natl. Cancer Inst.*, **1961**, 27, 1369-1377.
- (24) Winkelman, J. *Cancer Res.*, **1962**, 22, 589-596.
- (25) Winkelman, J. *Experimentia*, **1962**, 23, 949-950.
- (26) Lipson, R. L. ; Baldes, E. J.; Olsen, A. M. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1961**, 14, 219-221.
- (27) Dougherty, T. J. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, **1996**, 14, 219-221.
- (28) Dougherty, T. J. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1974**, 52, 1333-1336.
- (29) Weishaupt, K. R.; Gomer, C. J.; Dougherty, T. J. *Cancer Res.*, **1976**, 36, 2326-2329.
- (30) Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W. et al. *J. Natl. Cancer Inst.*, **1998**, 90, 889-905.
- (31) Pandey, K. R.; Zheng, G. *Porphyrins as Photosensitizers in Photodynamic Therapy*, vol. 6, Kadish, Smith, Guillard. (eds). Academic Press: San Diego, **2000**.
- (32) Harris, D. C. and Bertolucci M. D. *Symmetry and Spectroscopy*, Dover Publications, inc., New York, **1989**.
- (33) Atkins, P. W. *Molecular Quantum Mechanics*, Oxford University Press, Oxford, **1983**.
- (34) Turro, N. J. *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, **1991**.
- (35) DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coordination Chemistry Reviews*, **2002**, 233-234, 351-371.
- (36) Schweitzer, C.; Schmidt, R. *Chem. Rev.*, **2003**, 103, 1685-1757.
- (37) Schmidt, R. *Photochemistry and Photobiology*, **2006**, 82, 1161-1177.

- (38) Wasserman, H. H.; Murray, R. W. (eds.) *Singlet Oxygen*, Accademic Press, New York, **1979**.
- (39) Kautsky, *Ber. Deutsch. Chem. Gesell.*, **1933**, *66*, 1588.
- (40) Foote, C. S.; Valentine, J. S.; Greenberg, A.; Liebman, J. F. *Active Oxygen in Chemistry*, Blackie Academic and Professional, London, **1995**.
- (41) Svaasand, L. O. In *Porphyrin Localization and Treatment of Tumors*, Doiron and Gomer editors, New York, **1984**, 91-114.
- (42) Wilson, B.C. ; Jeeves, W. P., Lowe D. M., Adam, G. *Ibidem*, 115-132.
- (43) Bolin, F. P.; Preuss, L. E.; Cain, B. W. *Ibidem*, 211-225.
- (44) Dougherty, T. J. ; Potter, W. R. *J. of Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1991**, *8*, 233-234.
- (45) Szacilowsky, K; Macyk, W.; Drzewiecka-Matuszek, A.; Brindell, M.; Stochel, G. *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 2646-2694.
- (46) Nyman, E.; Hynninen, P. H. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **2004**, *73*, 1-28.
- (47) Wainwright, M. *Chemical Society Reviews*, **1996**, *5*, 351-359.
- (48) Sternberg, E. D.; Dolphyn, D. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 4151-4202.
- (49) Bonnett, R. *Chemical Society Reviews*, **1995**, *1*, 19-33.
- (50) Bamias, A.; Keane, P.; Krausz, T.; Williams, G.; Epenetos *J. Photochem. Photobiol.* , **1991**, *51*, 724.
- (51) Redmond, R. W.; Gamlin, J. N.; *Photochem. Photobiol.*, **1999**, *79*, 391.
- (52) Lottner, C.; Knuechel, R.; Bernhardt, G.; Brunner, H. *Cancer Lett.*, **2002**, *203*, 171.
- (53) Brunner, H.; Schellerer, K. M. *Inorg. Chim. Acta*, **2004**, *357*, 1649.
- (54) Sarnia, A. C. S.; Chen, X.; Burda, C. *J. of Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 15736-15737.
- (55) 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 2

METODI TEORICI

2.1 Cenni storici e fondamenti quantomeccanici

Verso la fine del diciannovesimo secolo, l'applicazione delle leggi della fisica classica a sistemi microscopici, atomici e molecolari, mostrò i limiti della meccanica classica e gettò le premesse per la nascita della meccanica quantistica. Lo studio quantomeccanico delle proprietà stazionarie di sistemi microscopici e della loro evoluzione nel tempo fonda le sue basi nell'equazione proposta nel 1926 dal fisico austriaco Erwin Schrödinger e che da lui prende il nome. La risoluzione (analitica o numerica) dell'equazione di Schrödinger per sistemi multielettronici complessi risulta improponibile, anche utilizzando i più potenti ed avanzati calcolatori, a causa della sua esplicita dipendenza dal numero di particelle presenti nel sistema. In meccanica quantistica, in virtù del principio di indeterminazione di Heisenberg, 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, 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 relativamente complessi, data l'impossibilità pratica di risolvere l'equazione di Schrödinger facendo riferimento alla funzione $\Psi(r,t)$, richiede un approccio quantomeccanico fondato su un funzionale non strettamente correlato al 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 particolare funzionale che è strettamente dipendente da tre sole coordinate spaziali a prescindere dal numero di particelle del sistema. Questa prerogativa del "funzionale della densità" rende, quindi, notevolmente più semplice la trattazione numerica di sistemi quantomeccanici complessi. La trattazione matematicamente rigorosa per questo nuovo approccio fu raggiunta attraverso sviluppi teorici gradualmente a partire dal primo tentativo, risalente al secondo decennio del ventesimo secolo con l'introduzione del modello di Thomas-Fermi^{1,2}, di valutare 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 occorre poter esprimere univocamente tutte le proprietà di un sistema attraverso $\rho(\mathbf{r})$ e formulare un principio variazionale che permettesse la minimizzazione dell'energia. Poiché la bontà dei risultati computazionali ottenuti con il metodo DFT è stata ampiamente valutata per confronto con i risultati dei tradizionali calcoli *ab initio*, nei successivi paragrafi, verranno illustrate le differenze basilari tra i due approcci quantomeccanici.

2.2 Il metodo di Hartree-Fock

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

$$H|\Phi\rangle = E|\Phi\rangle \quad (1.2.1)$$

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

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1, j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1, B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (1.2.2)$$

Il primo ed il secondo termine della (1.2.2) rappresentano il contributo ad "H" dell'energia cinetica elettronica e nucleare, mentre il terzo, il quarto ed il quinto rappresentano l'energia potenziale elettrostatica dovuta: all'attrazione nucleo-elettrone, alla repulsione elettrone-elettrone ed 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 ad una prima e fondamentale approssimazione, detta approssimazione di Born-Oppenheimer³, per 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 (1.2.2) trascurando l'energia cinetica dei nuclei, in quanto considerati fissi, e mantenere costante l'interazione nucleo-nucleo. Applicando l'approssimazione di Born-Oppenheimer, quindi, si può prendere in considerazione separatamente il cosiddetto "Hamiltoniano elettronico":

$$\hat{H}_{el} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1, j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (1.2.3)$$

ossia, in forma sintetica:

$$\hat{H}_{el} = \hat{T} + \hat{U}_{ee} + \hat{U}_{ext} \quad (1.2.4)$$

Per ciò che concerne la funzione d'onda associata ad \hat{H}_{el} ovvero Φ_{el} , la prima proposta di Hartree⁴ fu quella di considerare un prodotto di funzioni d'onda monoelettroniche (prodotto di Hartree), il quale, però, non soddisfaceva la condizione di antisimmetria per Φ_{el} imposta dal principio di Pauli.

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

$$\Psi_{HF}(x_1, x_2, \dots, x_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \dots & \chi_i(x_1) & \chi_j(x_1) & \dots & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \dots & \chi_i(x_2) & \chi_j(x_2) & \dots & \chi_N(x_2) \\ \cdot & & \cdot & \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot & \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot & \cdot & & \cdot \\ \chi_1(x_N) & \dots & \chi_i(x_N) & \chi_j(x) & \dots & \chi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad (1.2.5)$$

Dalla (1.2.1) si ricava facilmente l'espressione per il funzionale dell'energia del sottosistema elettronico nello stato Ψ :

$$E[\Psi] = \frac{\langle \Psi | \hat{H}_{el} | \Psi \rangle}{\langle \Psi | \Psi \rangle} \quad (1.2.6)$$

Ipotizzando che Ψ_{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:

$$E_{HF} = \langle \Psi_{HF} | \hat{H}_{el} | \Psi_{HF} \rangle = \sum_{i=1}^N h_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^N (J_{ij} - K_{ij}) \quad (1.2.7)$$

dove:

$$h_i = \int \chi_i^*(x) \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v(x) \right] \chi_i(x) dx \quad (1.2.8)$$

$$J_{ij} = \iint \chi_i^*(x_1) \chi_i(x_1) \frac{1}{r_{12}} \chi_j^*(x_2) \chi_j(x_2) dx_1 dx_2 \quad (1.2.9)$$

$$K_{ij} = \iint \chi_i^*(x_1) \chi_j(x_1) \frac{1}{r_{12}} \chi_i(x_2) \chi_j^*(x_2) dx_1 dx_2 \quad (1.2.10)$$

Mentre sia l' integrale J_{ij} , che rappresenta l'interazione coulombiana tra l'i-esimo ed il j-esimo elettrone, sia il termine $v(x)$, genericamente definito come un 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 Ψ_{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 Ψ_{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:

$$\int \chi_i^*(x) \chi_j(x) dx = \delta_{ij} \quad (1.2.11)$$

e la condizione di minimizzazione:

$$\delta E[\Phi]_{\Phi=\Psi_0} = 0 \quad (1.2.12)$$

$$E_0 = \min_{\Psi_{HF}} E[\Psi_{HF}] \quad (1.2.13)$$

con E_0 pari all'energia del sistema nello stato fondamentale Ψ_0 si giunge alle equazioni differenziali di Hartree-Fock:

$$\hat{F} |\chi_i(x)\rangle = \sum_{j=1}^N \varepsilon_{ij} |\chi_j(x)\rangle \quad (1.2.14)$$

$$\hat{F} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + v + (\hat{j} - \hat{k}) \quad (1.2.15)$$

dove ε è una matrice Hermitiana (in quanto $\varepsilon_{ij} = \varepsilon_{ij}^*$), i cui elementi sono costituiti dai moltiplicatori di Lagrange associati alla condizione (1.2.11).

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

$$\hat{j}(x_1) f(x_1) = \sum \int \chi_k^*(x_2) \chi_k(x_2) \frac{1}{r_{12}} f(x_1) dx_2 \quad (1.2.16)$$

$$\hat{k}(x_1) f(x_1) = \sum \int \chi_k^*(x_2) f(x_2) \frac{1}{r_{12}} \chi_k(x_1) dx_2 \quad (1.2.17)$$

Ciò comporta che le soluzioni della (1.2.14) devono essere ottenute iterativamente, a partire da funzioni χ_k *trial*, seguendo quello che è noto come metodo SCF (Self Consistent Field).

La risoluzione matematica dell'equazione (1.2.14) è notevolmente semplificata da un'importante proprietà della funzione d'onda monodeterminante la quale resta invariata per una trasformazione unitaria degli orbitali occupati χ_k in un altro set ϕ_k . Per cui, ponendo:

$$|\Phi_\mu\rangle = \sum_k U_{\mu k} |\chi_k\rangle \quad (1.2.18)$$

dove U è una matrice unitaria ($U^\dagger U = 1$), l'equazione (1.2.14) diventa:

$$\hat{F}|\Phi_\mu\rangle = \sum_{j=1}^N \varepsilon_{j\mu} |\Phi_j\rangle \quad (1.2.19)$$

dove

$$\varepsilon = U \varepsilon U^\dagger \quad (1.2.20)$$

Si può, quindi, 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 ovviamente soddisfano le equazioni canoniche di Hartree-Fock:

$$\hat{F}\varphi_\mu = \varepsilon_\mu \varphi_\mu \quad (1.2.21)$$

2.3 L'energia di correlazione ed i metodi CI

Il vero limite del metodo Hartree-Fock è quello 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 di cui si fa uso nell'approccio Hartree-Fock è solo una buona approssimazione della funzione d'onda reale di un sistema multielettronico in quanto non prende esplicitamente in considerazione le interazioni istantanee tra gli elettroni. Dato un elettrone che, in un certo istante, si trova in una determinata posizione vicino al nucleo, vi è, per motivi energetici, una bassissima probabilità che un altro elettrone, nello stesso istante, si trovi in prossimità della medesima posizione. 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. L'influenza che la presenza di ciascun elettrone genera sulla posizione di ogni altro elettrone fa sì che il moto degli elettroni sia correlato. 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:

$$\Phi_{CI} = |\Phi\rangle = C_0 |\Psi_0\rangle + \sum_{ir} C_i^r |\Psi_i^r\rangle + \sum_{\substack{i<j \\ r<s}} C_{ij}^{rs} |\Psi_{ij}^{rs}\rangle + \dots \quad (1.3.1)$$

L'utilizzo di questo tipo di funzioni d'onda è 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. Si può pensare di formare la matrice di rappresentazione dell'Hamiltoniano di Born-Oppenheimer dall'espansione (1.3.1) tenendo in considerazione le eccitazioni desiderate e di applicare il principio variazionale. L'energia così ottenuta è l'esatta energia non relativistica dello stato fondamentale del sistema e la differenza tra questa quantità ed il limite di Hartree-Fock (E_{HF}) è proprio l'energia di correlazione trascurata dal metodo Hartree-Fock:

$$E_{corr}^{HF} = E - E_{HF} \quad (1.3.2)$$

2.4 Il metodo del Funzionale della Densità (DFT)

Mentre sul metodo Hartree-Fock pesa, dal punto di vista teorico, la mancata considerazione dell'energia di correlazione, l'uso dei metodi CI e, più in generale, dei metodi post-Hartree-Fock è limitato dallo sforzo computazionale da essi richiesto. L'utilizzo della teoria del funzionale della densità, invece, 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.

Il merito va alle proprietà funzionali della densità elettronica $\rho(\mathbf{r})$ che viene definita come il numero di elettroni per unità di volume e che in termini di funzione d'onda può essere espressa come:

$$\rho(\mathbf{r}_1) = N \int \dots \int |\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)|^2 d\sigma_1 dx_2 \dots dx_N \quad (1.4.1)$$

Integrando la (1.4.1) su tutto lo spazio essa restituisce il numero totale di elettroni:

$$\int \rho(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = N \quad (1.4.2)$$

Sebbene la densità elettronica sia una semplice funzione delle sole tre coordinate spaziali x, y, z essa possiede delle proprietà indubbiamente vantaggiose, che verranno discusse nei successivi paragrafi.

2.4.1 I Teoremi di Hohenberg e Kohn

Come illustrato in precedenza, sia l'energia che la funzione d'onda dello stato fondamentale di un sistema a molti elettroni possono essere ottenute minimizzando il valore di aspettazione dell'Hamiltoniano:

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{est} \quad (1.4.3)$$

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

$$\hat{V}_{ext} = \sum_{i=1}^N v(r_i) \quad (1.4.4)$$

Fissato il numero di elettroni al valore N , l'operatore \hat{H} nella (1.4.3) è determinato proprio dal potenziale esterno $v(r)$ e, conseguentemente, N e $v(r)$ determinano tutte le proprietà dello stato fondamentale non degenere di un sistema.

Il primo teorema di Hohenberg e Kohn⁵ è facilmente dimostrabile ed afferma che, al posto di N e $v(r)$, può essere riconosciuta come unica variabile fondamentale proprio la densità $\rho(\mathbf{r})$ la quale determina *univocamente* il potenziale $v(r)$, quindi l'Hamiltoniano, quindi il valore di aspettazione dell'Hamiltoniano stesso. Essa, inoltre, determina la funzione d'onda Ψ dello stato fondamentale in quanto l'integrale del modulo quadro della Ψ vale proprio la densità. Di conseguenza, il valore di aspettazione di ciascun operatore che compare nella (1.4.3) può essere espresso come un unico funzionale della densità.

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

$$F[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (1.4.5)$$

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

$$E[\rho] = T[\rho] + J[\rho] + \tilde{E}_{xc}[\rho] + V_{ext}[\rho] \quad (1.4.6)$$

dove $J[\rho]$ vale

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \iint r_{12}^{-1} \rho(r_1) \rho(r_2) dr_1 dr_2 \quad (1.4.7)$$

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

$$V_{ext} = \int \rho(r) v(r) dr \quad (1.4.8)$$

In forma più compatta la (1.4.6) diventa:

$$E[\rho] = F[\rho] + \int \rho(r) v(r) dr \quad (1.4.9)$$

L'esatta forma del funzionale universale $F[\rho]$ permetterebbe, quindi, di determinare correttamente la forma funzionale 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 (1.4.9) partendo da un valore di densità tentativo $\tilde{\rho}(r)$, ovvero:

$$E_0 \leq E_v[\hat{\rho}] \quad (1.4.10)$$

dove E_0 l'energia corretta ed $E_v[\hat{\rho}]$ 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 (1.4.10) richiede che venga soddisfatta la condizione di stazionarietà:

$$\delta\{E_v[\rho] - \mu\left[\int \rho(r)dr - N\right]\} = 0 \quad (1.4.11)$$

Da quest'ultima espressione si ricava l'equazione di Eulero-Lagrange:

$$\mu = \frac{\delta E_v}{\delta \rho(r)} = v(r) + \frac{\delta F[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (1.4.12)$$

dove μ rappresenta il potenziale chimico⁶.

2.4.2 Le Equazioni di Kohn-Sham e la loro soluzione

Il primo contributo alla determinazione del funzionale dell'energia cinetica $T[\rho]$ con buoni livelli di accuratezza fu fornito da Kohn e Sham⁷ 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 φ_i :

$$T_s[\rho] = \sum_{i=1}^{occ} \langle \varphi_i | -\frac{1}{2} \nabla_i^2 | \varphi_i \rangle \quad (1.4.13)$$

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^{occ} \sum_s |\varphi_i(r, s)|^2 \quad (1.4.14)$$

Per questo sistema l'Hamiltoniano totale è:

$$\hat{H}_s = \sum_{i=1}^N \left(-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_s(r_i) \right) \quad (1.4.15)$$

dove il potenziale esterno v_s si presume essere 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, quindi, espressa come contributo di due termini:

$$T[\rho] = T_s[\rho] + T_c[\rho] \quad (1.4.16)$$

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

$$F[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (1.4.17)$$

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

$$E_{xc}[\rho] = T_c[\rho] + \tilde{E}_{xc}[\rho] \quad (1.4.18)$$

L'equazione di Eulero-Lagrange, utilizzando la (1.4.17) e la (1.4.18), diviene:

$$\mu = v_{eff}(r) + \frac{\delta T_s[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (1.4.19)$$

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

$$v_{eff}(r) = v(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' + v_{xc}(r) \quad (1.4.20)$$

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

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (1.4.21)$$

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

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{eff}(r) \right] \varphi_j = \varepsilon_j \varphi_j \quad (1.4.22)$$

Poiché le equazioni monoelettroniche (1.4.22) sono mutuamente accoppiate la loro risoluzione necessita di un metodo autoconsistente. Ossia, si parte da una densità tentativo $\rho(r)$ mediante la quale è possibile valutare il potenziale $v_{eff}(r)$, e si risolve la (1.4.22); gli autostati ottenuti vengono utilizzati per costruire una nuova $\rho(r)$, attraverso la (1.4.14), dalla quale si può calcolare un nuovo $v_{eff}(r)$ e così fino alla autoconsistenza. La minimizzazione del funzionale $E(\rho)$ avviene attraverso l'utilizzo del set degli orbitali φ_i con la costrizione che questi debbano rimanere ortonormali durante la procedura:

$$\int \varphi_i^*(x) \varphi_j(x) dx = \delta_{ij} \quad (1.4.23)$$

La differenza formale tra le equazioni differenziali di Hartree-Fock (1.2.14) e le equazioni di Kohn-Sham (1.4.22) risiede sostanzialmente nell'interpretazione di $v_{xc}(r)$ il quale, in un caso, rappresenta le sole interazioni di scambio presenti nell'operatore di Fock che opera sulla funzioni d'onda

monoelettroniche, gli spin-orbital χ_i , e nell'altro comprende tutte le interazioni interelettroniche in maniera indipendente dallo spin-orbital χ_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 $v_{xc}(r)$) *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 $E_{xc}[\rho]$ come somma di due distinti contributi:

$$E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_{corr}[\rho] \quad (1.4.24)$$

Nell'**approssimazione della densità locale (LDA)**, nella quale la densità elettronica è associabile a quella di un gas uniforme di elettroni, la parte di $E_{xc}[\rho]$ dovuta allo scambio ($E_x[\rho]$) è data da quella già ottenuta da Bloch⁸, ed in seguito elaborata da Dirac⁹ nell'ambito del modello di Thomas-Fermi^{1,2}, che ha la forma:

$$E_x(\rho) = -C_x \rho(r)^{1/3} \quad (1.4.25)$$

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

$$v_x^{LDA}[\rho] = - \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \rho(r)^{1/3} \quad (1.4.26)$$

L'utilizzo di questo potenziale di interesse generale è storicamente approvato dal metodo X_α , sviluppato da Slater¹⁰, come approssimazione nel metodo di Hartree-Fock, per il quale il potenziale X_α introdotto nel potenziale di scambio di Hartree-Fock ha la forma:

$$v_{x\alpha}[\rho] = - \frac{3}{2} \alpha \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \rho(r)^{1/3} \quad (1.4.27)$$

Per $\alpha = 2/3$ questo potenziale corrisponde a $v_{xc}^{LDA}[\rho]$ ed il metodo X_α può essere considerato come un'approssimazione della densità locale, in cui non è presa in considerazione alcuna correlazione. 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^{11,12} che hanno fornito dati dai quali Vosko, Wilk e Nusair (VWN)¹³ hanno estrapolato una forma analitica per $\varepsilon_{corr}[\rho]$. L'approssimazione della densità locale si rivela particolarmente 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:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho] = \int \epsilon_{xc}(\rho, |\nabla\rho|, \nabla^2\rho) d^3r \quad (1.4.28)$$

Kohn e Sham¹⁴ proposero di considerare l'approssimazione LDA come il primo termine di una espansione in serie di Taylor per $E_{xc}[\rho]$ (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 (**GGA**) non è di apprezzabile uso pratico ma fu fondamentale per dare l'inizio alla costruzione di numerosi tipi di funzionali per lo scambio e la correlazione tra cui si citano: il funzionale di Perdew e Wang (**PW86**)¹⁵ utile per garantire la condizione di normalizzazione della funzione di scambio; il funzionale di correlazione sviluppato da Perdew¹⁶; quello derivato da Lee, Yang e Parr (**LYP**)¹⁷ che si basa sull'approssimazione dell'energia di correlazione proposta per l'atomo di He da Colle e Salvetti^{18,19}; il funzionale di scambio creato da Becke (**B88**)²⁰ per correzione della GGA e quello proposto da Perdew e Wang nel 1991 (**PW91**).^{21,22} I funzionali ibridi di scambio e correlazione sono attualmente molto usati nella chimica computazionale applicativa. Un funzionale ibrido miscela l'energia di scambio esatto (E_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^{23,24}. Questi autori proposero un funzionale, senza introdurre parametri empirici, in cui il contributo di energia di scambio esatto fosse del 25%, sulla base di argomentazioni di tipo perturbativo:

$$E_{xc}^{ibrido} = E_{xc}^{GGA} + 0.25(E_x^{HF} - E_x^{GGA}) \quad (1.4.30)$$

Se è scelto il funzionale di scambio e correlazione **PBE**²⁵ come componente GGA nella (1.4.30), deriva il modello **PBE0**, anche noto come **PBE1PBE**.

2.5 La Teoria del Funzionale della Densità Dipendente dal Tempo: Fondamenti Teorici²⁶

La generalizzazione della teoria DFT alla descrizione di fenomeni dipendenti dal tempo, come gli spettri elettronici, si basa sul teorema di Runge-Gross,^{27,28} che rappresenta l'analogo del primo

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

$$\hat{H}(t)\Psi(t) = i \frac{\partial}{\partial t} \Psi(t) \quad (2.5.1)$$

con

$$\hat{H}(t) = -\underbrace{\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2}_{\hat{T}} + \underbrace{\sum_{i<j} \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|}}_{\hat{U}} + \underbrace{\sum_{i=1}^N v(\vec{r}_i, t)}_{V(t)} \quad (2.5.2)$$

dove \hat{T} è l'energia cinetica, \hat{U} è l'energia di repulsione interelettronica e $V(t)$ il potenziale esterno, assunto costante per $t < t_0$. Nella presente trattazione saranno considerate solo perturbazioni deboli di natura elettrica, questo consente di considerare il potenziale esterno $V(t)$ costituito da operatori di carattere moltiplicativo. La situazione è diversa se si considera la presenza di campi magnetici. I 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 $\Psi(t)$, quest'ultima è definita ameno di un fattore di fase dipendente dal tempo:

$$\Psi(t) = e^{-i\phi(t)} \Psi[\rho, \Psi_0](t) \quad (2.5.3)$$

dove Ψ_0 indica la funzione d'onda al tempo t_0 . Runge e Gross dimostrarono inoltre che il potenziale esterno $v(\vec{r}, t)$ è determinata univocamente dalla densità di carica $\rho(\vec{r}, t)$, a meno di un fattore dipendente dal tempo $c(t)$, a condizione che: *i*) la densità $\rho(\vec{r}, t)$ derivi da un sistema con stato iniziale Ψ_0 ; *ii*) il potenziale $v(\vec{r}, t)$ sia rappresentabile da un potenziale di tipo elettrico, derivante da una densità di carica normalizzabile, ed abbia un dipendenza temporale esprimibile con uno sviluppo in serie di Taylor attorno a $t = t_0$. Nella teoria della risposta lineare la funzione d'onda Ψ_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 2.5.3 si può riscrivere in funzione solo di $\rho(\vec{r}, t)$. Il valore di aspettazione di un generico operatore $\hat{O}(t)$, 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:

$$\langle \Psi(t) | \hat{O}(t) | \Psi(t) \rangle = O[\rho](t) \quad (2.5.4)$$

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

$$A = \int_{t_0}^t \left\langle \Psi(t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \hat{H}(t) \right| \Psi(t) \right\rangle dt \quad (2.5.5)$$

la densità reale dipendente dal tempo è tale da minimizzare l'espressione (2.5.5):

$$A = \int_{t_0}^t \left\langle \frac{\delta \Psi(t')}{\delta \rho(\vec{r}, t)} \left| i \frac{\partial}{\partial t'} - \hat{H}(t') \right| \Psi(t') \right\rangle dt' \quad (2.5.6)$$

Nonostante il valore di aspettazione di A nella (2.5.5) non sia nella forma prevista in (2.5.4), si può dimostrare che il fattore di fase contribuisce solo per una costante additiva all'azione:

$$A = \int_{t_0}^t \left\langle \Psi[\rho](t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \hat{H}(t) \right| \Psi[\rho](t) \right\rangle dt + \phi(t_1) - \phi(t_0) = A[\rho] + const. \quad (2.5.7)$$

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

$$A[\rho] = B[\rho] - \int_{t_0}^t \int v(\vec{r}, t) \rho(\vec{r}, t) d\vec{r} dt \quad (2.5.8)$$

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

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

$$\rho(\vec{r}, t) = \sum_i f_i |\psi_i(\vec{r}, t)|^2 \quad (2.5.9)$$

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

$$B[\rho] = \sum_i f_i \int_{t_0}^t \left\langle \psi_i(t) \left| i \frac{\partial}{\partial t} - \frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i(t) \right\rangle dt - \frac{1}{2} \int_{t_0}^t \iint \frac{\rho(\vec{r}_1, t) \rho(\vec{r}_2, t)}{|\vec{r}_1 - \vec{r}_2|} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 dt - A_{xc}[\rho] \quad (2.5.10)$$

definendo così un funzionale di scambio e correlazione dell'azione A_{xc} che svolge un ruolo analogo al funzionale dell'energia [eq. (1.4.6) e (1.4.9)] nel caso indipendente nel tempo. La minimizzazione dell'azione (2.5.8) soggetta al vincolo (2.5.9) conduce a:

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{eff}(\vec{r}, t) \right] \psi_i(\vec{r}, t) = i \frac{\partial}{\partial t} \psi_i(\vec{r}, t) \quad (2.5.10)$$

dove

$$v_{eff}(\vec{r}, t) = v(\vec{r}, t) + \int \frac{\rho(\vec{r}', t)}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + v_{xc}(\vec{r}, t) \quad (2.5.11)$$

e

$$v_{xc}(\vec{r}, t) = \frac{\delta A_{xc}[\rho]}{\delta \rho(\vec{r}, t)} \quad (2.5.12)$$

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:

$$A_{xc} = \int_{t_0}^t E_{xc}[\rho_t] dt \quad (2.5.13)$$

dove E_{xc} è il funzionale di scambio e correlazione nella teoria di Kohn-Sham indipendente dal tempo, e ρ_t è la densità calcolata al tempo t . Questa è nota l'approssimazione adiabatica. Mentre il funzionale A_{xc} dipende da ρ 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} :

$$v_{xc}[\rho](\vec{r}, t) = \frac{\delta A_{xc}[\rho]}{\delta \rho(\vec{r}, t)} \cong \frac{\delta E_{xc}[\rho_t]}{\delta \rho_t(\vec{r})} = v_{xc}[\rho_t](\vec{r}) \quad (2.5.14)$$

non è altro che il potenziale di scambio e correlazione del caso indipendente dal tempo, con la densità calcolata al tempo t .

2.6 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 Ψ_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 $\vec{\varepsilon}(t)$, si può esprimere nel seguente modo:

$$\vec{\varepsilon}(t) = \vec{\varepsilon} \cos \omega_0 t \quad (2.6.1)$$

dove ω_0 indica la frequenza angolare della radiazione elettromagnetica e $\vec{\varepsilon}$ la componente spaziale, mentre il potenziale d'interazione $v(\vec{r}, t)$ tra il momento di dipolo elettrico classico del sistema, $\vec{\mu}$, ed il fotone interagente è:

$$v(\vec{r}, t) = e\vec{\varepsilon}(t) \cdot \vec{r} \quad (2.6.2)$$

In meccanica quantistica il valore d'aspettazione un'osservabile fisica, O , cui sia associato l'operatore \hat{O} , per un sistema allo stato fondamentale Ψ_0 , è dato da:

$$\langle O \rangle = \langle \Psi_0 | \hat{O} | \Psi_0 \rangle \quad (2.6.3)$$

Nel caso in cui la grandezza fisica in esame sia il momento di dipolo elettrico permanente $\vec{\mu}$ del sistema, la (2.6.3) diventa:

$$\langle \vec{\mu} \rangle = \langle \Psi_0 | e\vec{r} | \Psi_0 \rangle \quad (2.6.4)$$

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:

$$\delta\vec{\mu}(t) = -e \left(\langle \Psi_0 | \vec{r} | \delta\Psi_0 \rangle + \langle \delta\Psi_0 | \vec{r} | \Psi_0 \rangle \right) \quad (2.6.5)$$

La risposta di 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 nella versione indipendente dal tempo:

$$\hat{H}\Psi_I = E_I\Psi_I \quad (2.6.6)$$

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

$$[\hat{H} + \hat{b}(t)]\Psi_0(t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi_0(t) \quad (2.6.7)$$

La funzione d'onda dello stato Ψ_0 ad un generico istante t , a seguito della perturbazione è esprimibile come:

$$\Psi_0(t) = [\Psi_0 + \delta\Psi_0(t) + \dots] e^{-iE_0 t/\hbar} \quad (2.6.8)$$

e sostituendo nella (2.6.7), si ottiene:

$$\hat{b}(t)\Psi_0 = \left(i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - \hat{H} + E_0 \right) \delta\Psi_0 \quad (2.6.9)$$

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

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega t} f(t) dt \quad (2.6.10)$$

è possibile passare alla sua rappresentazione nel dominio delle frequenze ω

$$f(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-i\omega t} f(\omega) d\omega \quad (2.6.11)$$

si può trasformare la (2.6.9), in:

$$\hat{b}(\omega)\Psi_0 = (\hbar\omega - \hat{H} + E_0)\delta\Psi_0(\omega) \quad (2.6.12)$$

ed applicando metodo il perturbativo di Rayleigh-Schrödinger all'equazione (2.6.12) si ottiene la correzione al primo ordine, $\delta\Psi_0(\omega)$ nel dominio delle frequenze, alla funzione d'onda Ψ_0 :

$$\delta\Psi_0(\omega) = \sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{\langle \Psi_I | \hat{b}(\omega) | \Psi_0 \rangle}{\omega - \omega_I} \quad (2.6.13)$$

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

Tenendo conto delle relazioni:

$$\int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega t} \cos \omega_0 t dt = \pi [\delta(\omega + \omega_0) + \delta(\omega - \omega_0)] \quad (2.6.14)$$

$$\int_{-\infty}^{+\infty} e^{i\omega t} \sin \omega_0 t dt = \frac{\pi}{i} [\delta(\omega + \omega_0) - \delta(\omega - \omega_0)] \quad (2.6.15)$$

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

$$\delta\Psi_0(t) = \left(\sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{\omega_I \langle \Psi_I | \hat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_0^2 - \omega_I^2} \right) \cos \omega_0 t - i \left(\sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{\omega_0 \langle \Psi_I | \hat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_0^2 - \omega_I^2} \right) \sin \omega_0 t. \quad (2.6.16)$$

A questo punto, ottenuta l'espressione (2.6.16), è possibile ricavare per un'osservabile \hat{a} la sua risposta o variazione lineare infinitesima, ad una perturbazione esterna:

$$\delta \langle \hat{a}(t) \rangle = \langle \Psi_0 | \hat{a} | \delta\Psi_0(t) \rangle + \langle \delta\Psi_0(t) | \hat{a} | \Psi_0 \rangle \quad (2.6.17)$$

$$\begin{aligned} \delta \langle \hat{a}(t) \rangle &= \left(\sum_{I \neq 0} \frac{2\omega_I \operatorname{Re} \langle \Psi_0 | \hat{a} | \Psi_I \rangle \langle \Psi_I | \hat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_0^2 - \omega_I^2} \right) \cos \omega_0 t \\ &+ \left(\sum_{I \neq 0} \Psi_I \frac{2\omega_0 \operatorname{Im} \langle \Psi_0 | \hat{a} | \Psi_I \rangle \langle \Psi_I | \hat{b}(t) | \Psi_0 \rangle}{\omega_I^2 - \omega_0^2} \right) \sin \omega_0 t \end{aligned} \quad (2.6.18)$$

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. Vedremo nel seguito come sia legata al momento di dipolo di una molecola ed al suo spettro elettronico.

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:

$$\mu_x(t) = \mu_x + \int_{-\infty}^{+\infty} \alpha_{xz}(t-t') \varepsilon_z(t') dt' + \dots \quad (2.6.19)$$

dove μ_x è il momento di dipolo permanente ed α_{xz} è tale per cui la sua trasformata di Fourier risulta uguale a:

$$\alpha_{xz}(t) = \frac{\delta\mu_x(\omega)}{\varepsilon_z(\omega)} \quad (2.6.20)$$

con $\delta\mu_x(\omega)$ che è la risposta lineare del momento di dipolo [il valore dell'integrale in (2.6.19)].

Da qui applicando il teorema della 'somma sugli stati' (per maggiori dettagli si veda riferimento) si arriva ad esprimere α_{xz} come:

$$\alpha_{xz} = \sum_I \frac{2(E_I - E_0) \langle \Psi_0 | \hat{x} | \Psi_I \rangle \langle \Psi_I | \hat{z} | \Psi_0 \rangle}{(E_I - E_0)^2 - \omega^2} \quad (2.6.21)$$

A questo è possibile stabilire una connessione tra la trattazione fin qui svolta, o meglio l'espressione (2.6.21) per la polarizzabilità α_{xz} , ed uno spettro elettronico. Le due grandezze che caratterizzano uno spettro elettronico sono l'energie di eccitazione ω_I :

$$\omega_I = E_I - E_0 \quad (2.6.22)$$

e la relativa forza dell'oscillatore f_I :

$$f_I = \frac{2}{3} (E_I - E_0) \left(\left| \langle \Psi_0 | \hat{x} | \Psi_I \rangle \right|^2 + \left| \langle \Psi_0 | \hat{y} | \Psi_I \rangle \right|^2 + \left| \langle \Psi_0 | \hat{z} | \Psi_I \rangle \right|^2 \right) \quad (2.6.23)$$

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

$$\bar{\alpha}(\omega) = \frac{1}{3} \text{tr} \bar{\alpha}(\omega) = \sum_I \frac{f_I}{\omega_I^2 - \omega^2} \quad (2.6.24)$$

Questa formula sarebbe utile per ricavare la polarizzabilità media, se si conoscessero i valori esatti di ciascuna ω_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 (2.6.24) 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 (2.5.10), si perviene, con una trattazione matematica laboriosa, ad una formulazione della polarizzabilità dinamica α_{xz} che implica la risoluzione di un'equazione ad autovalori:

$$\Omega F_I = \omega_I^2 F_I \quad (2.6.25)$$

dove Ω è una matrice hermitiana. La risoluzione computazionale della (2.6.25), mediante l'algoritmo di Davidson, permette di ricavare le energie di eccitazione ω_I e le forze dell'oscillatore f_I , rispettivamente come gli autovalori ed autovettori del problema (2.6.25)

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 TERZO

RISULTATI E DISCUSSIONE

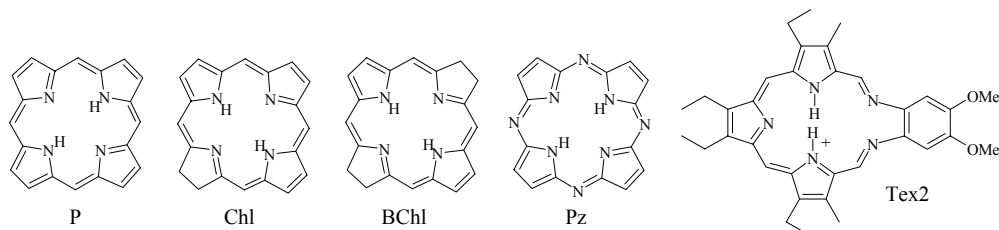
3.1 Introduzione dei Lavori e Discussione.

Nei tre anni di attività di dottorato sono stati svolti lavori riguardanti i seguenti sistemi molecolari, articolati nel modo seguente:

- 1) Porfirina, clorina, bacterioclorina, feofitina a, porfirazina, e texafirina;
- 2) Tetraarilazadipirrometeni chelati del boro;
- 3) Complessi tra i metalli di transizione della seconda riga (Mn-Zn) e la texafirina;
- 4) Ftalocianine non-planari sostituite: basi-libere e relativi complessi con lo zinco;

Prima di illustrare brevemente la lista ed i risultati salienti per ciascun lavoro, diamo alcuni dettagli computazionali. La teoria del funzionale della densità e la sua versione dipendente dal tempo sono state usate per la determinazione delle strutture geometriche e degli spettri elettronici, in combinazione con il funzionale ibrido di scambio e correlazione PBE0 ed i set di funzioni di base SVP e 6-31+G*. Mentre si è fatto uso dei seguenti programmi di calcolo: Gaussian03 versione C2, Turbomole V5.9. L'obiettivo fondamentale è stato quello di simulare gli spettri elettronici con la metodologia suddetta, verificare la bontà del metodo, monitorare gli effetti dei sostituenti sullo spettro e determinare l'energia dello stato di tripletto per ciascuna molecola, perché rappresenta un fattore importante per stabilire se una molecola può agire da agente PDT (valore ideale > 0.98 eV).

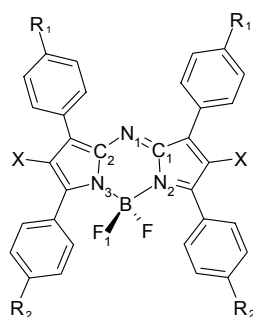
2) Porfirina (P), clorina (Chl), bacterioclorina (BChl), feofitina a, porfirazina (Pz), e texafirine, neutra (Tex1) e carica (Tex2). Queste molecole sono dei macrocicli tetrapirrolici planari (vedi sotto).



Gli spettri elettronici di questi composti sono caratterizzati nel visibile da due bande d'assorbimento, una più intensa (banda B o di Soret) e l'altra meno intensa (banda Q). Quest'ultima come abbiamo visto in precedenza è d'interesse applicativo in PDT. Teoricamente è stato possibile confermare che sia la banda Q che quella B sono costituita dalla sovrapposizione di due gruppi di transizioni elettroniche riguardanti gli orbitali di frontiera, indicate come Q_x e Q_y (B_x e B_y). La

lunghezza d'onda nella banda Q, in queste molecole, varia dai circa 600 nm (transizione Q_x) della porfirina ai 775 (transizione Q_x) della BChl. I risultati teorici forniscono dei valori sovrastimati in energia rispetto ai dati sperimentali, per esempio per la Bchl, le transizioni Q_x e Q_y in fase gassosa cadono a 2.10 e 2.57 eV, contro i valori sperimentali di 1.6 e 2.3 eV (in H_2O). L'introduzione dell'effetto solvente (C-PCM, $\epsilon=78$) porta i valori teorici a 2.01 e 2.55 eV. Per BChl, lo scarto tra l'energia d'eccitazione teorica e quella sperimentale risulta quindi dell'ordine di 0.4 eV, un risultato simile o minore (0.3 eV) è ottenuto per le rimanenti molecole. Tra i sistemi studiati, quelli che hanno una banda Q con lunghezza d'onda spostata maggiormente verso l'infrarosso risultano la bacterioclorina, la feofitina a e la texafirina (Tex2).

2) Tetraarilazadipirrometeni chelati del boro. Le molecole studiate, di recente sintesi (vedi sotto),



- 1a ($R_1=H$, $R_2=H$, $X=H$)
- 1b ($R_1=H$, $R_2=MeO$, $X=H$)
- 1c ($R_1=MeO$, $R_2=H$, $X=H$)
- 1d ($R_1=Br$, $R_2=H$, $X=H$)
- 2a ($R_1=H$, $R_2=H$, $X=Br$)
- 2b ($R_1=H$, $R_2=MeO$, $X=Br$)
- 2c ($R_1=MeO$, $R_2=H$, $X=Br$)

appartengono alla classe di fotosensibilizzatori non-porfirinici e presentano, nelle posizioni indicate in figura come R_1 , R_2 e X , differenti gruppi sostituenti con λ_{max} sperimentale compreso tra i 686 e 675 nm (in etanolo). La presenza di una banda d'assorbimento nella zona rossa (banda Q) è un'altro requisiti perché una molecola sia un agente PDT. Dalla simulazione teorica in vacuo i composti 1b e 2b, contenenti i gruppi *p*-metossifenilici in R_2 , sono quelli con il valore maggiore di λ_{max} , esattamente a 617 nm (valori sperimentali: 1b, 686 nm; 2b, 683 nm). Inoltre se introduciamo l'effetto del solvente (etanolo) con il metodo C-PCM, l'accordo con il dato sperimentale migliora sensibilmente, passando a 674 e 670 nm, rispettivamente per 1b e 2b. L'andamento sperimentale della λ_{max} , all'interno delle molecole del gruppo 1a-1d e del gruppo 2a-2c e tra i due gruppi, è ben riprodotto teoricamente con un errore massimo di 0.08 eV. Le energie elettroniche degli stati di tripletto suggeriscono valori ottimali, per l'applicazione in PDT, soprattutto per le molecole 2a-2c con un intervallo energetico compreso tra 0.9 e 0.95 eV

3) Complessi tra i metalli di transizione della seconda riga (Mn-Zn) e la texafirina; Lo studio di complessi porfirinici con metalli di transizione è la naturale continuazione del lavoro precedente. Abbiamo considerato come macrociclo porfirinoide, la texafirina (Tex2) perché, nel gruppo di molecole precedentemente studiate presenta la banda Q più spostata verso l'infrarosso. I metalli considerati sono stati quelli compresi tra il manganese(II) e lo zinco(II), essendo disponibili i dati

sperimentali riguardanti le strutture e gli spettri elettronici dei relativi complessi con la texafirina. L'effetto del metallo stabilizza dal punto di vista termodinamico la struttura ed influisce sull'intersystem spin-crossing, la cui entità favorisce il processo PDT. Il lavoro è stato articolato nei seguenti passaggi: a) determinazione della molteplicità dello stato fondamentale; b) determinazione delle energie degli stati di 'tripletto'; c) calcolo degli spettri elettronici; d) studio dell'effetto del solvente, sia con il metodo C-PCM, che mediante introduzione di molecole esplicite di solvente. I complessi più stabili energeticamente sono risultati quelli a massima molteplicità di spin. Le energie dei 'tripletti' sono sopra il valore limite di 0.98 eV, tranne che nel caso del complesso con il cobalto con due molecole di solvente coordinate. Lo scarto tra le energie d'eccitazione calcolate e sperimentali è risultato, come nel caso precedente dell'ordine di 0.3 eV, inoltre la presenza del metallo tende a diminuire la λ_{\max} andando dal manganese allo zinco. L'effetto solvente implicito (C-PCM) ed esplicito (con molecole di solvente) non migliora le energie di eccitazione ottenute in vacuo.

4) Ftalocianine non-planari sostituite: basi-libere e complessi con lo zinco. La molecola ftalocianina sostituita con gruppi fenili o metossifenili risulta estremamente deformata, nonostante la non-planarità, i valori di λ_{\max} sperimentali sono compresi all'incirca tra i 790 nm e 825 nm. Le lunghezze d'onda calcolate sono minori di 50 nm. L'energie dei tripletti sono dell'ordine di 0.7 eV.

3.2 Pubblicazioni Scientifiche e Manoscritti.

I lavori citati ai punti 1) -3) del precedente paragrafo, sono stati pubblicati su riviste scientifiche internazionali, mentre il lavoro al punto 4) è stato preparato il manoscritto. Di seguito è data la lista dei lavori seguita dai relativi articoli o manoscritti.

Articolo I

Petit, L.; Quartarolo, A. D.; Adamo, C. ; Russo, N.: "Spectroscopic Properties of Porphyrin-Like Photosensitizers: Insights from Theory" in *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2398.

Articolo II

Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E.: 'Structures and Electronic Absorption Spectra of a Recently Synthesised Class of Photodynamic Therapy Agents' in *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 16797.

Articolo III

Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E.; Lej, F.: 'Absorption Spectra of the Potential Photodynamic Therapy Photosensitizers Texaphyrin Complexes: A Theoretical Analysis in *J. Chem. Theory Comp.* **2007**, 3, 860

Manoscritto

Quartarolo, A. D.; Sicilia, E.; Russo, N.: Substitution Effects on the Q-Band of Non-Planar Phthalocyanines Compounds: A TD-DFT Study. (Manoscritto)

Articolo I

Spectroscopic Properties of Porphyrin-Like Photosensitizers: Insights from Theory

Spectroscopic Properties of Porphyrin-Like Photosensitizers: Insights from Theory

Laurence Petit,^{†,‡} Angelo Quartarolo,[†] Carlo Adamo,^{*,‡} and Nino Russo[†]

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, Italy, and Laboratoire d'Électrochimie et Chimie Analytique, CNRS UMR-7575, École Nationale Supérieure de Chimie de Paris, 11 rue P. et M. Curie, F-75231 Paris Cedex 05, France

Received: September 5, 2005; In Final Form: November 21, 2005

Electronic absorption spectra of six porphyrin-like photosensitizers, porphyrin, chlorin, bacteriochlorin, pheophytin a, porphyrizin, and texaphyrin, have been calculated within the time-dependent DFT framework (TDDFT) in conjunction with the PBE0 hybrid functional. Energetic and orbital aspects are discussed by comparing systems together so as to assess the best molecules for photodynamic therapy applications. Excitation energies and oscillator strengths are found to be in good agreement with both experimental data and previous theoretical works. In particular, whereas significant discrepancies (0.3 eV) appear for Qx bands, results become more reliable as wavelengths decrease. To elucidate the effect of the local environment, we have taken into account solvation either with explicit water molecules interacting via hydrogen bonds with the system or with a continuum model (C-PCM). The supramolecular approach does not affect spectra, while using C-PCM improves Qx and B band values and strengthens intensities significantly. In both gaseous and aqueous phases, texaphyrin, pheophytin a, and bacteriochlorin Qx bands are found in the 600–800 nm range as expected by experimental works. These data are particularly interesting in the perspective of systematic studies of other photosensitizers and should make experimentalists' works easier.

1. Introduction

Porphyrins and their derivatives are commonly found in nature, and they play very important roles in various biological processes.^{1–3} For instance, the heme involved in oxygen transport and storage is based on the complexation of iron by a porphyrin ring. Recently, there has been an increasing interest in the synthesis and characterization of porphyrin-like compounds (e.g., porphyrin, chlorin, bacteriochlorin, porphyrizin, pheophytin, and texaphyrin) due to their use in photodynamic therapy (PDT).^{4–6} The basic principle¹ is to inject into the blood a photosensitizing agent that is going to gather into cells. This photosensitizer can be activated under irradiation, and the energy is then transferred to nearby molecules via a radiationless transition. In particular, triplet molecular oxygen (³O₂) can be excited into the singlet state that is cytotoxic and can then destroy possible cancerous cells. The required excitation energy is quite low, about 1 eV (around 1300 nm), and can be easily obtained through several photosensitizers. Within this perspective, numerous experimental works have been devoted to the synthesis of new photosensitizers designed for their absorption at high wavelengths, some of them being currently used for clinical applications.^{5,6}

At the same time, tetrapyrroles have been the subject of detailed theoretical studies with the aim to reproduce and rationalize their peculiar electronic characteristics.^{7–27} The first theoretical studies are dated back to the late 1940s by Kuhn²¹ and Simpson.²² Semiempirical approaches were then attempted,^{23–25} and the progressive development of quantum methods nowadays enables obtaining of very good agreement

with experimental data for these kinds of systems. Among these techniques, the time-dependent extension of the density functional theory TDDFT²⁸ has proved its efficiency in the evaluation of electronic spectra for a wide range of compounds, including porphine rings.^{7,18,20} Calculations of vertical excitation energies and oscillator strengths are indeed less cumbersome than highly correlated ab initio methods and provide comparable accuracy.²⁹ Such advantages are particularly interesting when dealing with large molecules such as tetrapyrroles. Moreover, the large number of possible candidate photosensitizers⁴ makes it necessary for experimentalists to have a routine methodology to select only the most promising molecules.

In this paper, we have undertaken the systematic study of the excited states of six porphyrin-type systems by using the TDDFT approach, i.e., free base porphyrin (FBP), free base chlorine (FBC, also called dihydroporphyrin), free base bacteriochlorin (FBBC, also called tetrahydroporphyrin), pheophytin a (Pheo a), porphyrizin (Pz, also called tetraazaporphyrin) and texaphyrin (Tex1 and Tex2). Their structures are sketched in Figure 1. These systems should be sufficiently stable in aqueous solution and preserve their spectroscopic properties in biological media. Consequently, any realistic theoretical analysis should be carried out by taking into account the interactions with the local environment (i.e., solvent) in order to give meaningful insights on the elementary excitation mechanisms. Solvent effects on electronic properties have thus been taken into account either by considering a few explicit water molecules (supramolecular approach) around the macrocycle, or implicitly by using a continuum solvent model. The first approach is mandatory because protic solvents (like water) could be involved in H-bonding with the solute, while the reaction field of the bulk solvent could significantly modulate the spectral properties of the systems.^{30,31}

* Corresponding author. E-mail: carlo-adamo@enscp.fr.

[†] Università della Calabria.

[‡] ENSCP.

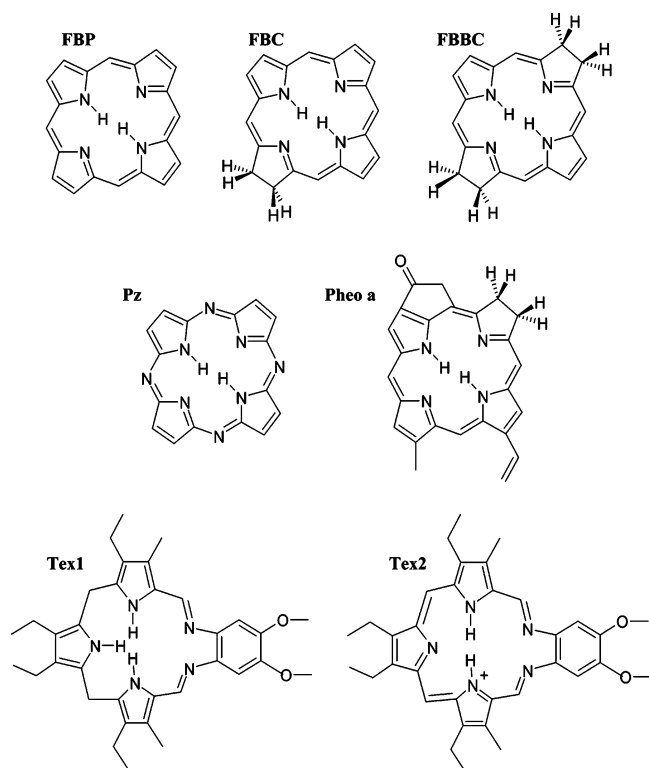


Figure 1. Sketches of the considered molecules: FBP, FBC, FBBC, Pz, Pheo a, Tex1, and Tex2.

2. Computational Details

DFT calculations were carried out with the Gaussian 03 package³² with the hybrid functional PBE0.³³ This functional is based on the generalized gradient functional PBE (Perdew–Burke–Erzenhof)³⁴ with 25% of exact exchange.

Structures have been fully optimized both in vacuo and with explicit water molecules by using the 6-31G(d) basis set³⁵ and the correct symmetry group, i.e., D_{2h} for FBP, FBBC, and Pz, C_{2v} for FBC, C_2 for Tex2, C_s for Pheo a, and without symmetry for Tex1. These symmetries were lowered for calculations with explicit water molecules. Notice that, as reported by Hasegawa and co-workers,³⁶ we have replaced some substituents of Pheo a by hydrogens.

Absorption spectra were computed as vertical excitations from the minima of the ground-state structures by using the TDDFT approach, as implemented in the Gaussian code³⁷ and the 6-31+G(d) basis set.³⁵ On the basis of our previous experience, we expect that this level of theory (PBE0/6-31+G(d)) will provide an error not larger than 0.4 eV on the systems investigated^{20,29}

Solvent effects were evaluated by using the conductor-like approach within the framework of the polarizable continuum model (C-PCM).^{38,39} This approach provides results very close to those obtained by the original dielectric model for high-dielectric-constant solvents, but it is less prone to numerical errors arising from the small part of the solute electron cloud lying outside the cavity (escaped charge effects). Solvent shifts of excitation bands were evaluated by a recent nonequilibrium implementation⁴⁰ of the polarizable continuum model by using gas-phase structures.

3. Results and Discussion

3.1. Excited States in a Vacuum. Because of their highly conjugated ring, porphyrin-like systems show intense absorption around 400 nm, the so-called Soret or B bands, followed by

weaker satellites between 500 and 800 nm, known as Q bands. Their spectra can be roughly rationalized in terms of the four-orbital Gouterman's model, where the principal excitations involve the two highest occupied molecular orbitals (HOMO and next-HOMO) and the two lowest unoccupied molecular orbitals (LUMO and next-LUMO).⁴¹ The substitution or the modification of the porphine ring can affect these levels in different ways. Among these changes, the hydrogenation of outer carbon double bonds, resulting in FBC and FBBC (Figure 1), has a great effect on the absorption spectrum. The direct consequence is a decrease in the number of π electrons involved in the aromatic system, with 22, 20, and 18 π electrons for FBP, FBC, and FBBC, respectively. The related effects on the spectra are clearly evidenced by the results reported in Table 1 and in Figure 2. Qx bands are indeed red-shifted as one goes from FBP (532 nm) to FBC (544 nm) and FBBC (590 nm). These values are in good agreement with experimental data,^{42–44} with a mean absolute error of 0.2 eV. Similar discrepancies were reported by previous TDDFT calculations.^{7,12} A slightly larger variation (0.4 eV) is nevertheless found for FBBC, whose experimental reference does not correspond to the free base bacteriochlorin but rather to the larger bacteriopheophorbide. Some comments about TDDFT failures on the zincbacteriochlorin–chorin complex have been proposed by Dreuw and co-workers, but they are related to intermolecular excitations between two different subunits.⁴⁵

Along this series, the Qx band is mainly composed of the HOMO \rightarrow LUMO transition and in a smaller amount of the next-HOMO \rightarrow next-LUMO. The Qy counterpart equally corresponds to next-HOMO \rightarrow LUMO and HOMO \rightarrow next-LUMO excitations. These orbitals are depicted in Figure 3, and their energies are plotted in Figure 4. An exception is represented by FBP, whose frontier orbitals are quasidegenerate (Figure 4). Therefore, the transition assignment can change from one calculation to another one; there is indeed an inversion in Q band assignments between attributions in vacuo and in aqueous solution (see Table 1).

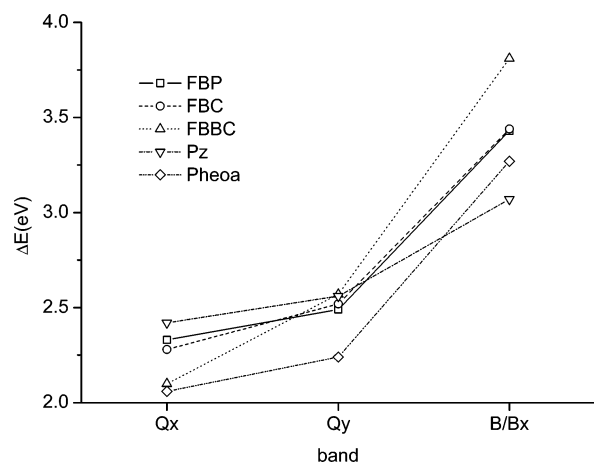
For FBC and FBBC, the reduction of pyrrole rings results in a conjugation breakdown. Figure 3 indeed shows that HOMO and next-LUMO energies increase because there is some amplitude on reduced pyrroles on these levels (see Figure 4). In contrast, there is no participation on next-HOMO and LUMO, so their energies are quite constant whatever the molecule is. The relaxation of degeneracy of HOMO and next-LUMO makes the HOMO/LUMO difference smaller, whereas the next-HOMO/next-LUMO gap is strengthened. Wavelengths of the Qx bands are, therefore, enhanced, and the corresponding oscillator strengths are also affected. As proposed by Weiss,⁴⁶ FBP is perfectly symmetric, so transition moments of the first two excitations are quite the same but in opposite directions. They cancel each other, and the intensity of the excitation is very low (forbidden in our work). In contrast, the symmetry variation in FBC and FBBC induces a partial cancellation of transition moments, and the oscillator strength is consequently raised ($f_{\text{FBC}} = 0.098$; $f_{\text{FBBC}} = 0.243$).

The same trend is observed for Qy bands ($f_{\text{FBP}} = 0.000$; $f_{\text{FBC}} = 0.001$; $f_{\text{FBBC}} = 0.048$), but contrary to the Qx ones, they are slightly blue-shifted from FBP (498 nm) to FBC (491 nm) and FBBC (483 nm). Next-HOMO \rightarrow LUMO and HOMO \rightarrow next-LUMO transitions are indeed affected in a smaller amount, as one can see in Table 1. Note that the agreement with experimental data is better than for Qx bands, with errors of 0.07 eV for FBP, 0.23 eV for FBC, and 0.27 eV for FBBC.

TABLE 1: Excitation Energies (eV and nm), Oscillators Strengths, Configurations, and Experimental Data for FBP, FBC, FBBC, and Pz^a

state	vacuum			solution (water PCM)			expt		
	excitation energy	<i>f</i>	main configuration	excitation energy	<i>f</i>	main configuration	excitation energy	<i>f</i>	assignment
FBP									
B1u	2.33 (532.10)	0.000	45%(1-0) + 55%(0-1)	2.36 (526.24)	0.0003	45% (1-1) + 55% (0-0)	1.98 ^b	0.01	Qx
B2u	2.49 (498.41)	0.000	48% (1-1) + 52% (0-0)	2.50 (496.60)	0.0001	51% (0-1) + 49% (1-0)	2.42	0.06	Qy
B1u	3.43 (361.28)	0.613	40% (3-1) + 38% (1-0) + 22% (0-1)	3.34 (371.19)	1.147	17% (3-0) + 51% (1-1) + 32% (0-0)	3.33	1.15	B
B2u	3.56 (348.16)	0.943	16% (3-0) + 46% (1-1) + 38% (0-0)	3.39 (365.67)	1.386	52% (1-0) + 45% (0-1)			
B3g	3.58 (346.41)	0.000	100% (2-0)	3.64 (340.55)	0.000	100% (2-0)	3.65	<0.1	N
Ag	3.79 (326.95)	0.000	100% (2-0)	3.87 (320.48)	0.000	100% (2-1)			
FBC									
B2	2.28 (543.93)	0.098	32% (1-1) + 68% (0-0)	2.25 (550.47)	0.159	26% (1-1) + 74% (0-0)	1.98 ^c	0.10	Qx
A1	2.52 (491.02)	0.001	54% (1-0) + 46% (0-1)	2.51 (493.63)	0.001	54% (1-0) + 46% (0-1)	2.29	0.06	Qy
A1	3.40 (364.18)	0.123	85% (2-0)	3.35 (370.08)	0.888	81% (1-1)			
B2	3.44 (359.97)	0.529	24% (2-1) + 63% (1-1)	3.36 (369.40)	1.276	37% (1-0) + 53% (0-1)	3.18	0.96	B
A1	3.64 (341.03)	1.069	27% (2-0) + 27% (1-0) + 46% (0-1)	3.61 (343.33)	0.221	97% (2-0)			
B2	3.93 (315.44)	0.330	89% (2-1) + 11% (1-1)	3.98 (311.24)	0.212	27% (5-0) + 73% (2-0)			
FBBC									
B2u	2.10 (589.85)	0.243	77% (0-0) + 23% (1-1)	2.01 (617.81)	0.362	83% (0-0) + 17% (1-1)	1.6 ^d	middle	Qx
B3u	2.57 (483.14)	0.048	64% (1-0) + 36% (0-1)	2.55 (486.29)	0.087	68% (1-0) + 32% (0-1)	2.3	middle	Qy
B3u	3.81 (325.83)	1.138	22% (1-0) + 78% (0-1)	3.61 (343.81)	1.362	19% (1-0) + 81% (0-1)	3.1	strong	By
B1g	3.98 (311.85)	0.000	23% (4-0) + 77% (2-0)	3.94 (314.40)	1.257	100% (1-1)			
B2u	4.10 (302.61)	1.112	96% (1-1) + 4% (0-0)	3.96 (313.06)	0.000	82% (2-0) + 18% (3-0)	3.4	strong	Bx
B3u	4.15 (299.15)	0.044	100% (3-0)	4.15 (298.69)	0.019	100% (4-0)			
Pz									
B1u	2.42 (513.35)	0.157	27% (1-1) + 68% (0-0)	2.37 (523.60)	0.259	19% (1-1) + 75% (0-0)	2.01 ^e		Qx
B2u	2.56 (484.05)	0.153	20% (1-0) + 72% (0-1)	2.50 (496.81)	0.267	12% (1-0) + 80% (0-1)	2.27		Qy
B1u	3.27 (379.65)	0.109	34% (3-1) + 60% (1-1)	3.21 (386.19)	0.145	22% (3-1) + 74% (1-1)	3.30		B
B3g	3.28 (377.38)	0.000	100% (2-0)	3.25 (381.41)	0.000	100% (2-0)			
B2u	3.38 (366.75)	0.048	39% (3-0) + 58% (1-0)	3.34 (371.03)	0.072	75% (1-0) + 25% (3-0)			
Ag	3.43 (361.94)	0.000	100% (2-0)	3.41 (363.52)	0.000	100% (4-0)			

^a 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*). ^b gas phase, ref 43. ^c In benzene, ref 44. ^d Data for bacteriopheophorbide, ref 45. ^e In chlorobenzene, ref 51.

**Figure 2.** Plot of the transition energies (ΔE , eV) corresponding to the Q and Bx bands for some of the considered molecules.

Our results are also consistent with experimental values for B bands. For FBP and FBC, only one peak is observed, whereas the relaxation of degeneracy in FBBC gives rise to two bands (361 and 360 nm, respectively). The Bx band is markedly blue-shifted (303 nm) relative to the By one (326 nm), with high intensities in both cases (1.112 and 1.138, respectively) because the Bx band has a strong next-HOMO \rightarrow next-LUMO character. For these two excitations, our work provides a better accuracy than previous SAC/SAC-CI calculations,¹⁶ performed with a double- ζ Huzinaga's basis sets.

Porphyrazine (Pz) differs from free base porphyrin by the introduction of aza groups in the meso position (see Figure 1). As displayed in Figure 4, the orbital diagram is deeply affected with a significant stabilization of all frontier orbitals. In other words, the high amplitude of the meso nitrogens on the next-HOMO level (Figure 3) explains its strong stabilization ($\Delta E = 1.55$ eV) with respect to FBP. This contribution remains high but is quite similar for LUMO and next-LUMO ($\Delta E_{\text{LUMO}} = 0.96$ eV, $\Delta E_{\text{next-LUMO}} = 0.86$ eV), which are thus degenerate as for porphyrin. This stabilization is lower for the HOMO ($\Delta E = 0.62$ eV). Despite this, the comparison with FBP transitions is not trivial because of an important interconfigurational mixing. As suggested by Parusel and Grimme,¹⁷ all transitions involved in each band must be considered to rationalize the results. The Q bands shifts originate from a balance between the main configuration involved, whose energy is lowered in Pz with respect to FBP, and the second one that follows an opposite trend. Therefore, despite a large lowering of the HOMO/LUMO gap ($\Delta E = 0.34$ eV), the Qx band is only displaced 0.07 eV downward. Likewise, a blue-shift of 0.23 eV is calculated for the Qy counterpart. Interpreting excitation values becomes even more difficult for B bands for which the Gouterman's model breaks down. The observed red-shift of 18 nm is indeed related to the minor HOMO-3 \rightarrow LUMO + 1 transition. Experimental data support these qualitative interpretations and are quite close to our values. Even though the Qx band is overestimated of 0.4 eV, results get better when moving to the UV region. In particular, we found B band at 3.27 eV, that is 0.03 eV below

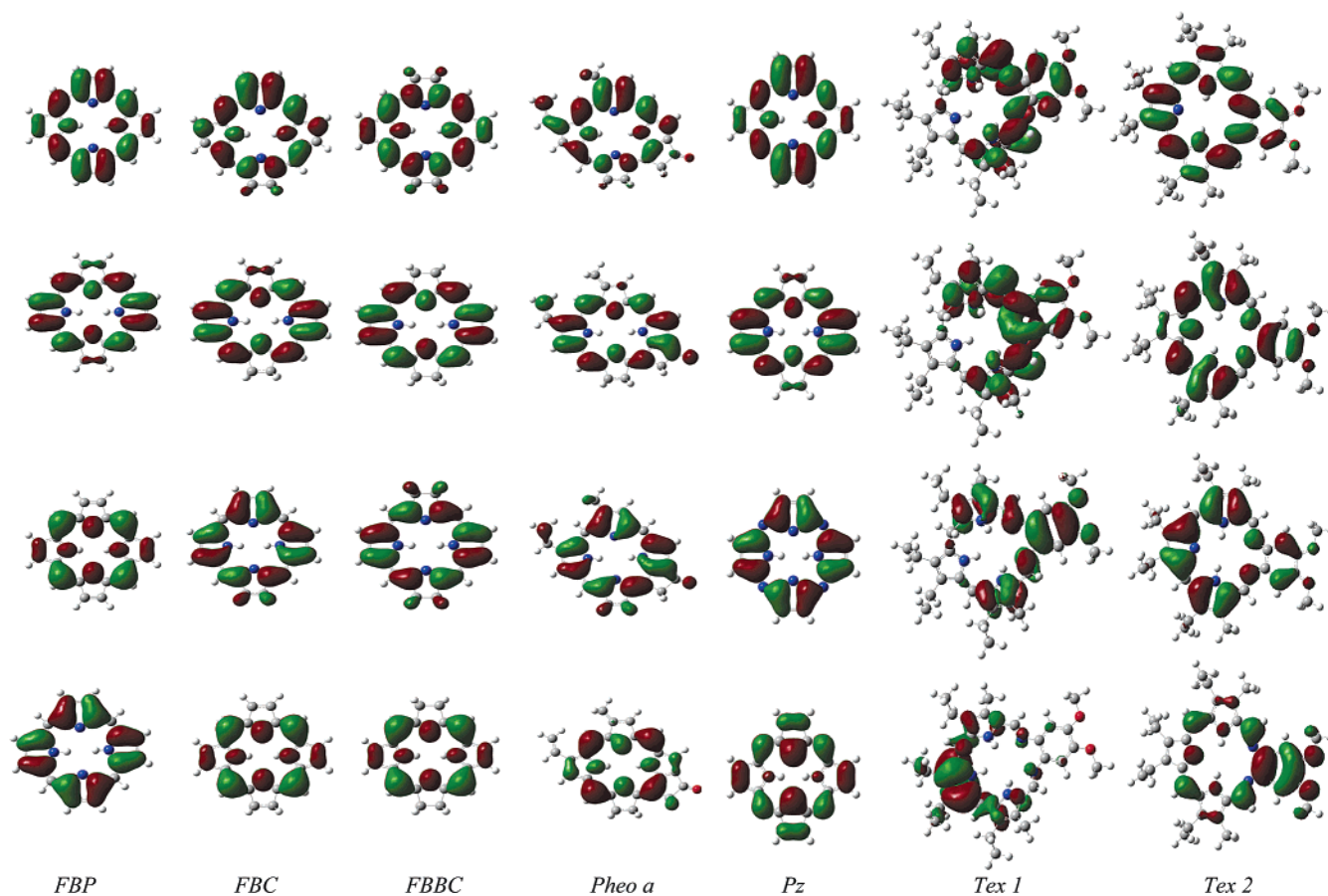


Figure 3. Illustration of the four Gouterman's orbitals for FBP, FBC, FBBC, Pheo a, Pz, Tex1, and Tex2. From top to bottom: next-LUMO, LUMO, HOMO, and next-HOMO.

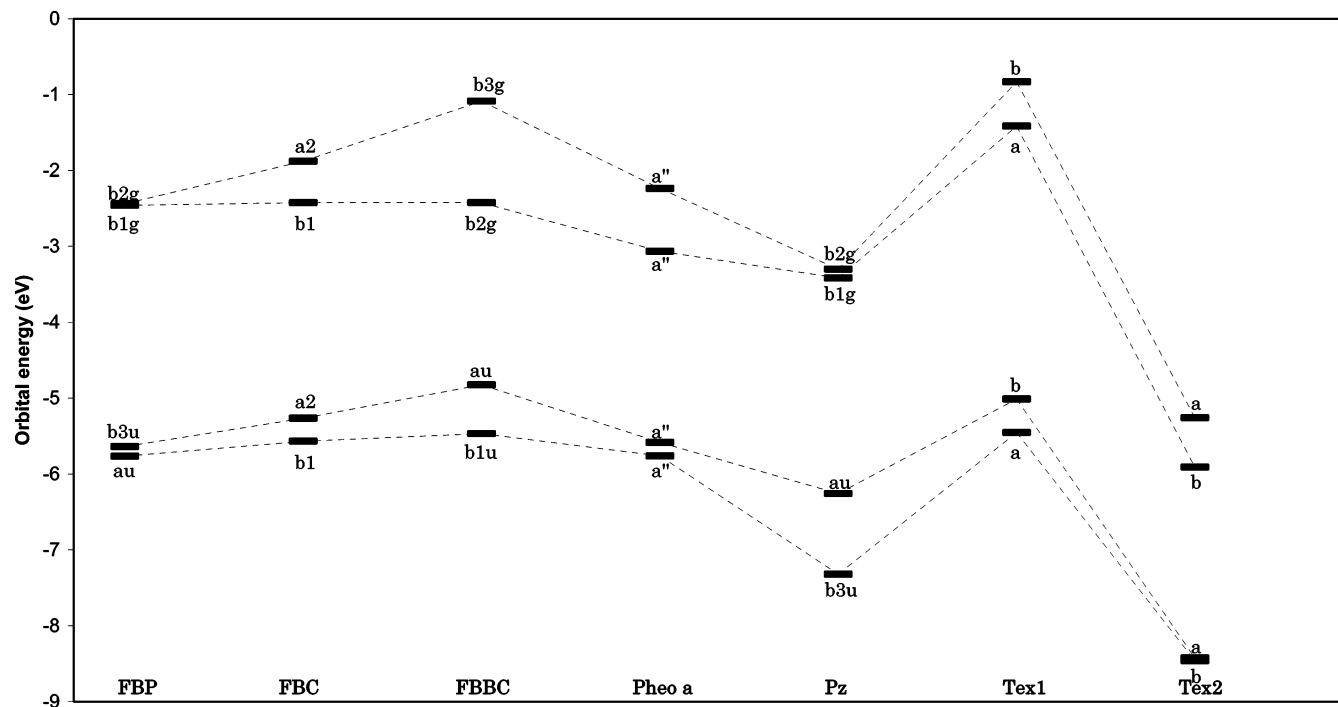


Figure 4. Evolution of the frontier orbitals energies for all the considered molecules.

the experimental counterpart, while SAC-CI and DFT/MRCI calculations give respective transitions at 3.56 and 2.97 eV.^{16,17}

Actually, the noteworthy consequence of the introduction of aza groups is the appreciable intensification of Q bands, which explains why porphyrazines are industrially used as colorants.

The more electronegative nitrogen atoms tend to concentrate the electronic density in the meso positions. The ring is thus polarized, and transition moments increase. As expected, the oscillator strengths in the visible part of the spectrum (Q bands) are found to be larger, with 0.157 and 0.153 for Q_x and Q_y

TABLE 2: Excitation Energies (eV and nm), Oscillator Strengths, Configurations, and Comparison with Experimental Data for Pheo a, Tex1, and Tex2^a

state	vacuum			solution (water PCM)			expt		
	excitation energy, eV (nm)	oscillator strength	main configuration	excitation energy, eV (nm)	oscillator strength	main configuration	excitation energy, eV	oscillator strength	assignment
Pheo a									
A'	2.06 (601.45)	0.211	73% (0-0) + 27% (1-1)	2.00 (618.82)	0.339	80% (0-0) + 20% (1-1)	1.9 ^b , 1.86 ^c , 1.87 ^d		Qx
A'	2.24 (552.96)	0.048	72% (1-0) + 28% (0-1)	2.20 (562.38)	0.087	77% (1-0) + 23% (0-1)	2.3 ^b , 2.33 ^c , 2.30		Qy
A'	2.73 (454.04)	0.001	100% (2-0)	2.77 (448.05)	0.001	100% (2-0)			
A'	3.07 (404.19)	0.333	21% (2-1) + 27% (1-1) + 39% (0-1)	2.99 (415.20)	0.498	69% (0-1) + 15% (1-1)	3.1 ^b , 3.04 ^c		B
A'	3.22 (384.45)	0.550	22% (2-1) + 27% (1-1) + 36% (0-1)	3.12 (397.49)	0.969	55% (1-1) + 15% (0-1) + 12% (3-0)	3.2 ^c		B
A''	3.25 (381.68)	0.000	93% (4-0)	3.18 (389.77)	0.043	88% (3-0)			
Tex1									
B	2.85 (434.79)	0.232	100% (0-0)	2.89 (428.31)	0.303	100% (0-0)			
A	3.37 (367.66)	0.003	63% (1-0) + 37% (0-1)	3.39 (366.15)	0.023	89% (1-0) + 11% (0-1)			
A	3.47 (357.29)	0.270	14% (2-0) + 38% (1-0) + 48% (0-1)	3.49 (354.90)	0.392	79% (0-1) + 11% (1-0) + 10% (2-0)			
B	3.75 (330.76)	0.031	93% (3-0)	3.75 (331.06)	0.030	94% (3-0)			
A	3.87 (320.04)	0.793	90% (2-0)	3.81 (325.22)	0.934	95% (2-0)			
B	3.96 (312.68)	0.007	100% (1-1)	3.96 (312.83)	0.008	100% (1-1)			
A	4.32 (286.88)	0.079	18% (7-0) + 41% (5-0) + 15% (0-5) + 10% (3-1)	4.32 (286.80)	0.023	97% (2-1)			
B	4.33 (286.15)	0.022	92% (2-1) + 8% (4-0)	4.33 (286.42)	0.065	33% (5-0) + 26% (2-1) + 17% (7-0) + 15% (0-3)			
B	4.35 (284.97)	0.005	94% (4-0)	4.34 (285.38)	0.002	100% (4-0)			
B	4.43 (279.75)	0.009	79% (0-2) + 19% (0-4)	4.47 (277.47)	0.106	60% (3-1) + 29% (7-0)			
Tex2									
B	1.98 (624.91)	0.066	71% (0-0) + 29% (1-1)	1.96 (633.64)	0.111	77% (0-0) + 23% (1-1)	1.73 ^e		Qx
A	2.07 (598.65)	0.099	64% (1-0) + 36% (0-1)	2.05 (605.60)	0.181	69% (1-0) + 31% (0-1)			Qy
A	2.46 (505.05)	0.006	100% (2-0)	2.55 (486.61)	0.005	100% (2-0)			
B	2.85 (435.01)	0.130	54% (2-1) + 30% (1-1) + 11% (3-0)	2.85 (435.55)	0.371	57% (1-1) + 16% (2-1) + 18% (3-0)			
A	2.93 (422.95)	0.001	100% (6-0)	2.90 (428.17)	0.018	100% (6-0)			
B	3.04 (407.38)	0.093	45% (2-1) + 32% (3-0) + 14% (1-1)	2.93 (423.71)	1.769	74% (0-1) + 17% (1-0)			
A	3.07 (403.60)	1.310	55% (0-1) + 17% (1-0) + 17% (5-0)	3.08 (403.15)	0.012	90% (4-0) + 10% (2-1)	2.72 ^e		B
B	3.14 (394.53)	0.005	88% (4-0) + 12% (3-0)	3.09 (400.72)	0.001	42% (2-1) + 35% (3-0) + 23% (4-0)			
A	3.17 (391.40)	0.273	89% (5-0)	3.10 (399.52)	0.096	100% (5-0)			
B	3.30 (373.31)	0.709	53% (3-0) + 25% (1-1)	3.21 (386.16)	0.804	53% (3-0) + 16% (2-1) + 20% (1-1)			

^a 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). ^b Reference 45. ^c In ether, ref 47. ^d In benzene, ref 48. ^e Reference 50.

bands, respectively. Moreover, in contrast with other tetrapyrroles, the intensity of Q bands in porphyrazines is higher than for the B ones ($f = 0.109$).

Pheophytin a (Pheo a) corresponds to the free base chlorophyll a. We remind the reader that a simplified form of Pheo a is considered herein. As reported by Hasegawa and co-workers,¹⁶ its absorption spectrum is close to chlorine FBC because they only differ by substituent groups. Our calculations are in very good agreement with experimental data^{44,47-48} for both Q and B bands. We find respective discrepancies of 0.07 eV for the Qx band, 0.06 eV for the Qy band, and around 0.03 eV for the B ones (Table 2). In comparison with previous SAC/SAC-CI results,¹⁶ a similar accuracy is found for Q bands, while B bands are better described in our study. On the whole, both Q and B bands are displaced to higher wavelengths relative to FBC, up to 62 nm for the Qy transition, and indeed, Figure 4 points out that Pheo a frontier orbitals are stabilized, the introduction of a vinyl group and a carbonyl function strengthening the conjugation of the whole porphyrin ring. The greatest stabilization is observed for the LUMO ($\Delta E = 0.64$ eV), where there is a great contribution of both new substituents (see Figure 3). On the

contrary, they do not participate in the next-HOMO level, whose stabilization is therefore the lowest ($\Delta E = 0.19$ eV). Gouterman's orbitals are hence unevenly stabilized. Energy differences between these levels are lower than for FBC, resulting in a global red-shift. Oscillator strengths are also deeply intensified for Q bands ($f_{Qx} = 0.211$; $f_{Qy} = 0.048$) because the substitution breaks down the symmetry. Transition moment components are thereby totally modified.

Experimentally, free base texaphyrin has been synthesized in two forms (Figure 1). The first one, referred to herein as Tex1, is used when preparing metallotexaphyrins and is characterized by sp^3 carbons in the meso position.⁴⁹ Tex2 is the aromatic form of texaphyrin:⁵⁰ it is positively charged and is found as a salt in solid or liquid (acetonitrile, benzonitrile) states. Calculations were performed on these two forms of texaphyrins so as to compare the effect of conjugation on excited states. Indeed, from a geometrical point of view, Tex1 could assume twisted conformations, whereas Tex2 should remain locally planar. That is why the C_2 symmetry was imposed while optimizing Tex2. In contrast, we obviously found Tex1 to be the most stable when relaxing the geometry. Because the main

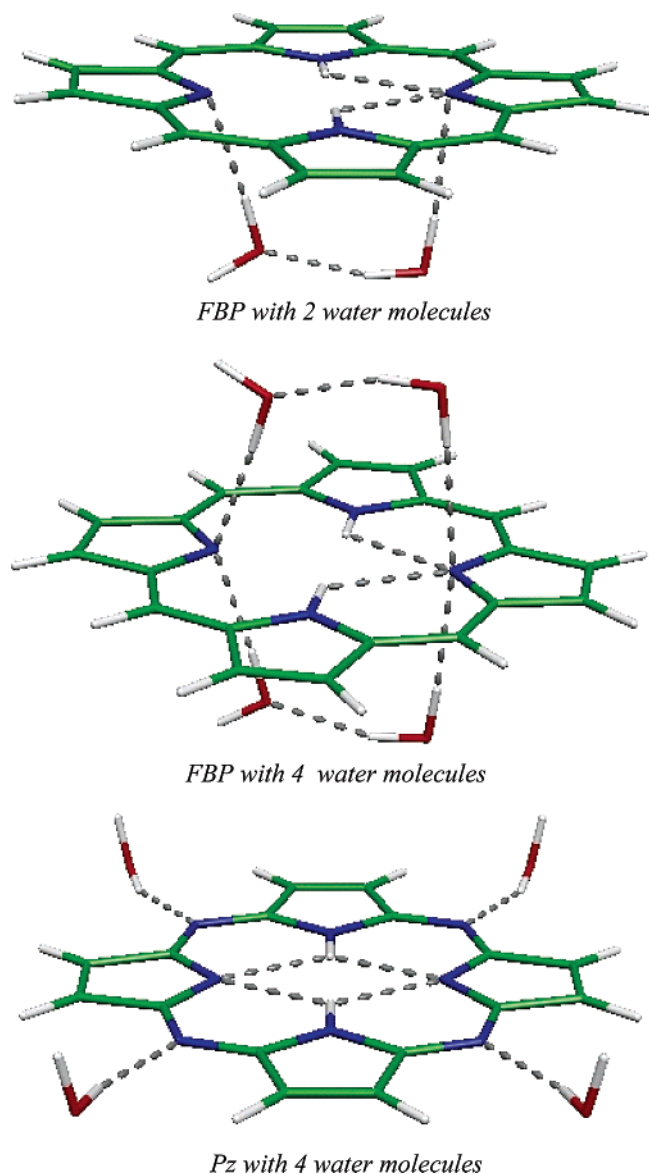


Figure 5. Structures of the free base porphyrin and free base porphyrazine with 2 and 4 explicit water molecules.

ring is not conjugated, frontier orbitals are markedly destabilized, as shown in Figure 4. The Q bands are, therefore, found to be very low in energy, respectively at 2.85 and 3.37 eV, as is their B counterpart (3.87 eV).

Because the ultimate goal of our study is to understand properties of molecules involved in photodynamic therapy, Tex2 seems thus much more interesting thanks to the aromatic ring. As expected, all levels are significantly stabilized with respect to Tex1, and more generally with respect to all other systems studied herein. This is not surprising when one knows that metalated texaphyrins are already used in clinical tests.^{5,6} On the whole, our results are consistent with experimental values,⁵⁰ the mean absolute error being about 12% (Table 2). Tex2 exhibits Qx and Qy bands at 1.98 and 2.07 eV, respectively, whereas the experimental counterpart is observed at 1.73 eV.

3.2. Excited States in Water: Solvation Effects. Using photosensitizers in PDT is quite challenging, notably because the biological environment can modify or even alter their spectral properties. In this regard, the behavior in aqueous solution must be considered. Solvent (water) effects can be theoretically evaluated in two ways. The most straightforward approach is to add explicit water molecules, corresponding to

the first solvation shell. One can indeed foresee that pyrrole nitrogens should form hydrogen bonds with water. We have thus used either 2 or 4 water molecules in interaction with FBP, FBBC, and Pz. Some of the optimized geometries are depicted in Figure 5. On the whole, even if the system slightly tends to lose its planar conformation, geometrical changes remain negligible. Q and B bands are logically almost unaffected, with $Q_{X(\text{FBP}-4\text{H}_2\text{O})} = 532 \text{ nm}$ ($Q_{X(\text{FBP})} = 524 \text{ nm}$) or $B_{(\text{Pz}-4\text{H}_2\text{O})} = 380 \text{ nm}$ ($B_{(\text{Pz})} = 386 \text{ nm}$) for instance. It is in contrast worth noting that the spectral region below can exhibit some charge-transfer transitions between oxygen p orbitals of the solvent molecules and π^* levels of the ligand. They are often mixed with $\pi-\pi^*$ transitions, as in tetrahydrated porphyrin, where intense bands are calculated at 340 nm ($f = 0.27$), 333 nm ($f = 0.15$), or 329 nm ($f = 0.26$).

Solvation effects can also be considered by using a continuum model. The reaction field generated by the interaction with the bulk solvent can greatly modulate the electronic distribution of the solute, thereby affecting its spectral properties.³⁰ Excitation energies, oscillator strengths, and assignments calculated on the seven systems with the C-PCM model are summarized in Tables 1 and 2. The effect of bulk solvent is globally quite low, as expected in the case of $\pi-\pi^*$ transitions. In fact, energy levels and Gouterman's orbitals' shape do not significantly change in the presence of the solvent reaction field. Concerning spectral properties, both Qx and B bands are shifted upward, up to 28 nm for FBBC, while Qy bands are not affected. As one can expect, the red-shift is especially significant for systems with an important symmetry breakdown (FBBC, Pheo a) or for charged systems (Tex2). The reaction field then strongly stabilizes orbitals and makes transition moments higher, thus accounting for the strengthening of the computed excitations. For instance, the increase in oscillator strengths can reach 0.5 units for B bands.

Looking upon spectral properties, Tex2, Pheo a, and FBBC turn out to be the best candidates for applications in photodynamic therapy, as already found experimentally.⁴ They are all the more interesting given that this trend is strengthened when being in aqueous phase.

4. Conclusion

The calculation of the excited states of seven porphine derivatives with a high biological interest, namely porphyrin, chlorin, bacteriochlorin, porphyrazine, pheophytin a, and two different texaphyrins, was carried out. Each complex was carefully studied and compared to the others by analyzing both energetic and orbital aspects within a DFT approach. The electronic spectra, calculated by using the TDDFT route, are in good agreement with experimental data. In the perspective of therapeutic applications, the behavior in aqueous phase was worked out. Whereas the supramolecular approach does not affect results, the C-PCM continuum model shifts Qx and B bands upward, reducing discrepancies with experimental data. The polarization is also improved and greatly strengthens band intensities.

Tex2, Pheo a, and FBBC are found to be the most interesting molecules for potential applications in photodynamic therapy. These results are particularly encouraging for future theoretical studies on metalated complexes as well as for guiding experimentalists' works.

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

acknowledged. C.A. and L.P. are grateful to the French National Computer Center (IDRIS) for a generous grant of computer time (project 41703). L.P. also wishes to thank Università della Calabria for a grant and the kind hospitality shown to her while a visitor.

References and Notes

- (1) MacDonald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 105.
- (2) Sono, M.; Roach, M. R.; Coulter, E. D.; Dawson, J. H. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2841.
- (3) Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. *The Porphyrin Handbook*; Academic: New York, 1978.
- (4) Detty, M. R.; Gibson, S. L.; Wagner, S. J. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3897.
- (5) Rosenthal, D. I.; Nurenberg, P.; Becerra, C. R.; Frenkel, E. P.; Carbone, D. P.; Lum, B. L.; Miller, R.; Engel, J.; Young, S.; Miles, D.; Renschler, M. F.; *Clin. Cancer Res.* **1995**, *5*, 739.
- (6) Rockson, S. G.; Kramer, P.; Razavi, M.; Szuba, A.; Filardo, S.; Adelman, D. C. *Circulation* **2000**, *102*, 2322.
- (7) Sundholm, D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 2275.
- (8) Ghosh, A. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 3290.
- (9) Miwa, H.; Makarova, E. A.; Ishii, K.; Luk'yanets, E. A.; Kobayashi, N. *Chem.—Eur. J.* **2002**, *8*, 1082.
- (10) Parusel, A. B. J.; Ghosh, A. *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 2504.
- (11) Oliveira, K. M. T.; Trsic, M. *J. Mol. Struct.* **2001**, *539*, 107.
- (12) Yamaguchi, Y.; Yokoyama, S.; Mashiko, S. *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 6541.
- (13) Seda, J.; Burda, J. V.; Leszczynski, J. *J. Comput. Chem.* **2004**, *26*, 294.
- (14) Linnanto, J.; Korppi-Tommola, J. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 3855.
- (15) Hashimoto, T.; Choe, Y.-K.; Nakano, H.; Hirao, K. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 1894.
- (16) Hasegawa, J.; Ozeki, Y.; Ohkawa, K.; Hada, M.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 1320.
- (17) Parusel, A. B. J.; Grimme, S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 225.
- (18) Baerends, E. J.; Ricciardi, G.; Rosa, A.; Van Gisbergen, S. J. A. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *230*, 5.
- (19) Kuzmitsky, V. A.; Makarova, E. A.; Pershukevich, P. P.; Shushkevich, I. K.; Solovyov, K. N.; Tusov, V. B. *Chem. Phys.* **2004**, *298*, 1.
- (20) Petit, L.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12214.
- (21) Kuhn, H. *J. Chem. Phys.* **1949**, *17*, 1198.
- (22) Simpson, W. T. *J. Chem. Phys.* **1949**, *17*, 1218.
- (23) Almlof, J. *Int. J. Quantum Chem.* **1974**, *8*, 915.
- (24) Momicchioli, F.; Baraldi, I.; Bruni, M. C. *Inorg. Chim. Acta.* **1983**, *82*, 229.
- (25) Baker, J. D.; Zerner, M. C. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, *175*, 192.
- (26) Parac, M.; Grimme, S. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 6844.
- (27) Liao, M.-S.; Scheiner, S. *J. Chem. Phys.* **2002**, *117*, 205.
- (28) Gross, E. U.K.; Dobson, J. F.; Petersilka, M. In *Density Functional Theory II*; Nalewajski, R. F., Ed.; Springer: Heidelberg, 1996.
- (29) Adamo, C.; Scuseria, G. E.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 2889.
- (30) Adamo, C.; Barone, V. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *330*, 152.
- (31) Guillemoles, J. F.; Barone, V.; Joubert, L.; Adamo, C. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11354.
- (32) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03*, revision B.05; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004.
- (33) Adamo, C.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158.
- (34) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865; **1997**, *78*, 1396.
- (35) Francl, M. M.; Petro, W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S.; Gordon, M. S.; DeFrees, D. J.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1982**, *77*, 3654.
- (36) Hasegawa, J.; Ozeki, Y.; Ohkawa, K.; Hada, M.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 1320.
- (37) Stratmann, R. E.; Scuseria, G. E.; Frisch, M. J. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 8128.
- (38) Tomasi, J.; Persico, M. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2027.
- (39) Barone, V.; Cossi, M. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1995.
- (40) Cossi, M.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 4708.
- (41) Gouterman, M.; Wagniere, G. H.; Snyder, L. C. *J. Mol. Spectrosc.* **1963**, *11*, 108.
- (42) Edwards, L.; Dolphin, D. H. *J. Mol. Spectrosc.* **1971**, *38*, 16.
- (43) Nagashima, U.; Takada, T.; Ohno, K. *J. Phys. Chem.* **1986**, *85*, 4524.
- (44) Scheer, H.; Inhoffen, H. H. In *The Porphyrins*; Dolphin, D., Ed.; Academic Press: New York, 1978; Vol. II, pp 45–90.
- (45) Dreuw, A.; Head-Gordon, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4007.
- (46) Weiss, C. In *The Porphyrins*; Dolphin, D., Ed.; Academic Press: New York, 1978; Vol. III, Part A, Physical Chemistry.
- (47) Houssier, C.; Sauer, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 779.
- (48) Eisner, U.; Linstead, R. P. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3742.
- (49) Hannah, S.; Lynch, V.; Guldi, D. M.; Gerasimchuk, N.; MacDonald, C. L. B.; Magda, D.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8416.
- (50) Hannah, S.; Lynch, V.; Guldi, D. M.; Gerasimchuk, N.; MacDonald, C. L. B.; Magda, D.; Sessler, J. L. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3911.
- (51) Linstead, R. P.; Whally, M. *J. Chem. Soc.* **1952**, 4839.

Articolo II

Structures and Electronic Absorption Spectra of a Recently
Synthesised Class of Photodynamic Therapy Agents

Structures and Electronic Absorption Spectra of a Recently Synthesised Class of Photodynamic Therapy Agents

Angelo Domenico Quartarolo, Nino Russo,* and Emilia Sicilia^[a]

Abstract: A theoretical study was performed on a novel class of boron-containing molecules (various substituted tetraarylazadipyromethenes), which show in vitro activity for application in photodynamic therapy. Geometric optimisation of the structures for the singlet and triplet electronic states was carried out on compounds in vacuo at the density functional level of theory, by employing the PBE0 hybrid func-

tional and the split-valence plus polarisation basis set. The absorbance properties in the UV-visible region were examined by means of time-dependent density functional response theory,

Keywords: density functional calculations · dipyrromethenes · photodynamic therapy · solvent effects · substituent effects

using the same functional as mentioned above. To evaluate the influence of the solvent on the excitation energies, the continuum polarisable model was applied. Calculated electronic excitations, such as those regarding the Q-like band, were found to be in good agreement (within 0.01–0.1 eV) with experimental values and experimental trends on changing both the substituents and solvent.

Introduction

Photodynamic therapy (PDT) is a noninvasive, still under investigation, medical technique for the treatment of different types of diseases in oncology and ophthalmology.^[1–4] The basic principle of PDT is the combination of a photosensitising drug capable of absorbing within the body's therapeutic window ($\lambda = 620\text{--}850\text{ nm}$), a light source (e.g., a laser) of an appropriate wavelength and molecular oxygen. The photosensitiser, which accumulates preferentially in cancer cells and has a low dark toxicity, is injected into human body tissue and then irradiated with visible light. After irradiation, the light-activated molecule undergoes different reactions and can decay from a singlet to a triplet excited state, through a radiationless transition (intersystem spin crossing). The rate of the latter step is enhanced by the presence of an atom with a high atomic number (heavy-atom effect) in the molecule. The key cytotoxic agent is singlet molecular oxygen $^1\text{O}_2$ ($^1\Delta_g$), which is generated by an energy-transfer reaction from the photosensitiser triplet state to the ground-state molecular oxygen $^3\text{O}_2$ ($^3\Sigma_g$).^[5] The photosensitiser trip-

let-state energy should match, for an efficient process, the first excitation energy of molecular oxygen, that is 0.98 eV ($\lambda = 1300\text{ nm}$). Photosensitisers currently approved for clinical use belong to various groups. Photofrin, a derivative of hematoporphyrin, was the first and is actually the most used PDT agent for the treatment of stomach, early-stage cervical and skin cancers.^[6,7] Other classes of polypyrrole macrocyclic compounds, belonging to the so-called second-generation photosensitisers, such as tin etiopurpurin (Purlytin)^[8] or Lutetium texaphyrin (Lutex),^[9] are in different stages of clinical trials. On the other hand, non-porphyrin PDT agents such as methylene blue^[10] or chalcogenopyriliium compounds^[11] have shown only a limited application in PDT due to their dark toxicity and low wavelength absorption ($\lambda < 650\text{ nm}$). Methylene blue, a cationic dye, is applied ex vivo for the inactivation of extracellular enveloped viruses in blood plasma.^[7,12]

In the continued effort to design, synthesise and characterise new photosensitisers that exhibit a high efficiency and a low dark toxicity, information from modern theoretical methods is very useful. Indeed, the a priori knowledge of a series of properties (e.g., absorption band, singlet–triplet energy gap, thermodynamic stability, substituent effects, etc.) can be considered a basic requirement before proceeding to the synthesis, chemical-physical characterisation and in vitro and in vivo tests. For example, compounds that show absorption properties in the red part of the therapeutic window, and for this reason can be considered to be good

[a] Dr. A. D. Quartarolo, Prof. N. Russo, Prof. E. Sicilia
Dipartimento di Chimica and Centro di Calcolo ad Alte Prestazioni
per Elaborazioni Parallele e Distribuite-Centro d' Eccellenza MURST
Università della Calabria, 87030 Arcavacata di Rende (Italy)
Fax: (+39)0984-492-044
E-mail: nrusso@unical.it

candidates for application in PDT, in practice can be inefficient if the singlet–triplet energy gap is lower than the energy required to produce $^1\text{O}_2$. The theoretical work presented here focusses on the structural, energetic and spectroscopic behaviour of a novel class of non-porphyrin molecules, that is, BF_2 -chelated tetraarylazadipyrromethenes, that have been recently synthesised and tested *in vitro* for use in PDT.^[13,14] In particular, we have determined 1) the geometric structures and the conformational behaviour, 2) the absorption spectra and their electronic origin, 3) the singlet–triplet energy gap, 4) the influence of the substituents on the absorption spectra, and 5) the solvent effects. Density functional theory (DFT) and its time-dependent extension (TD-DFT)^[15] were used for this purpose.

Computational Methods

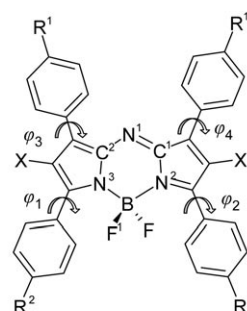
All calculations were carried out by using the Gaussian 03 package.^[16] Geometry optimisations and frequency calculations for all the studied systems were performed at the density functional level of theory, by employing the PBE0^[17,18] hybrid functional, based on the generalised gradient functional proposed by Perdew, Burke and Ernzerhof (PBE)^[19] with 25% of exact exchange, in combination with split-valence basis sets augmented with polarisation functions (SVP).^[20,21] No symmetry constraints were imposed during the geometry optimisations. Restricted formalism was applied for the singlet electronic states and unrestricted formalism for the triplet states. Absorption spectra were computed as vertical electronic excitations from the minima of the ground-state structures by using time-dependent density functional response theory^[22] as implemented in the Gaussian 03 code.^[23,24] The TD-DFT calculations were carried out by using the standard 6-31+G* basis sets^[25,26] and the same PBE0 exchange–correlation functional that was successfully used previously to reproduce absorption spectra of different molecules, including photosensitisers active in PDT.^[27–29] To further verify whether the used basis set was large enough to ensure correct results of excitation energies, we performed TD-DFT computations on compound **1a** (see Figure 1, below) by using basis sets of increasing size. For instance, the first excitation energy, relative to the main absorption band, obtained by employing the 6-31++G**, 6-311+G*, cc-pVDZ and aug-cc-pVDZ basis sets, is 2.13, 2.12, 2.15 and 2.11 eV, respectively. These values agree very well with the 6-31+G* calculation, which gives 2.13 eV at lower computational cost. Moreover, these results agree with the previous studies of Stratmann and Scuseria,^[30] Bauernschmitt and Ahlrichs,^[31] and Jacquemin et al.,^[32] in which the basis-set dependence for excitation energies at the TD-DFT level of theory was carefully investigated. Therefore, the choice of the 6-31+G* basis set seemed to be appropriate.

Solvent effects were evaluated by using the conductor-like approach, in the framework of the polarisable continuum model (PCM),^[33,34] because it provides results close to those obtained from the original dielectric model for solvents with high-dielectric constants. Solvent shifts of the excitation bands were obtained by the nonequilibrium implementation of the PCM^[35] through single-point calculations on equilibrium geometries, obtained in vacuo.

Results and Discussion

This section is organised into three parts in which the determination of the ground-state geometries, excitation energies and solvent effects will be discussed.

Ground-state geometric structures: The investigated systems, shown in Figure 1, are conformationally characterised by four dihedral angles ($\varphi_1, \varphi_2, \varphi_3, \varphi_4$), which define the orientation of the four phenyl rings relative to the central part



1a: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{H}, \text{X} = \text{H}$ **2a:** $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{H}, \text{X} = \text{Br}$
1b: $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{MeO}, \text{X} = \text{H}$ **2b:** $\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{MeO}, \text{X} = \text{Br}$
1c: $\text{R}^1 = \text{MeO}, \text{R}^2 = \text{H}, \text{X} = \text{H}$ **2c:** $\text{R}^1 = \text{MeO}, \text{R}^2 = \text{H}, \text{X} = \text{Br}$
1d: $\text{R}^1 = \text{Br}, \text{R}^2 = \text{H}, \text{X} = \text{H}$

Figure 1. The structure of BF_2 -chelated tetraarylazadipyrromethenes used in this study, with the atom, substituent and free-rotation torsion angle labelling.

of the molecule. As a starting point for our calculations, we took into account the crystal-structure data available for compounds **1b** and **2a**.^[13,14] To investigate the most stable conformer, separate potential energy surface scans of the dihedral angles φ_1 and φ_3 , with a 15° step, were performed starting from the optimised crystal structure, for samples both in vacuo and in ethanol. The energy profiles for φ_1 and φ_3 are very similar in vacuo and in solvent, and are characterised by two minima and two maxima. The minima correspond to the out-of-plane positions of the phenyl rings, whereas the highest energy characterises the planar positions. Similar results were obtained for all the studied systems. Optimised geometric structures corresponding to conformational minima are reported in Figure 2. The structures show a C_2 molecular axis passing through boron and the bridging nitrogen N^1 , so selected geometric parameters, reported in Table 1, were averaged between these two parts of each compound. As can be seen from Table 1, the bond lengths and valence angles do not change significantly within each series of compounds (**1** and **2**), showing a good agreement with experimental (exptl) data, with a deviation of less than 0.03 \AA and 2° for the bond lengths and angles, respectively. For each series, the optimised dihedral angles φ_1 and φ_2 are almost the same, which corresponds to a parallel orientation of the two moieties, with a maximum difference from experimental data of about 10° . The same behaviour was found for dihedral angles φ_3 and φ_4 , with the exception of compounds **2a–2c**, for which the phenyl rings are oriented differently. Experimental X-ray measurements of these compounds show that antiparallel orientation of the two moieties is preferred. For φ_1 and φ_2 this behaviour can be ascribed to the interaction between fluorine and the phenyl-ring hydrogen atoms. For φ_3 and φ_4 , for which this

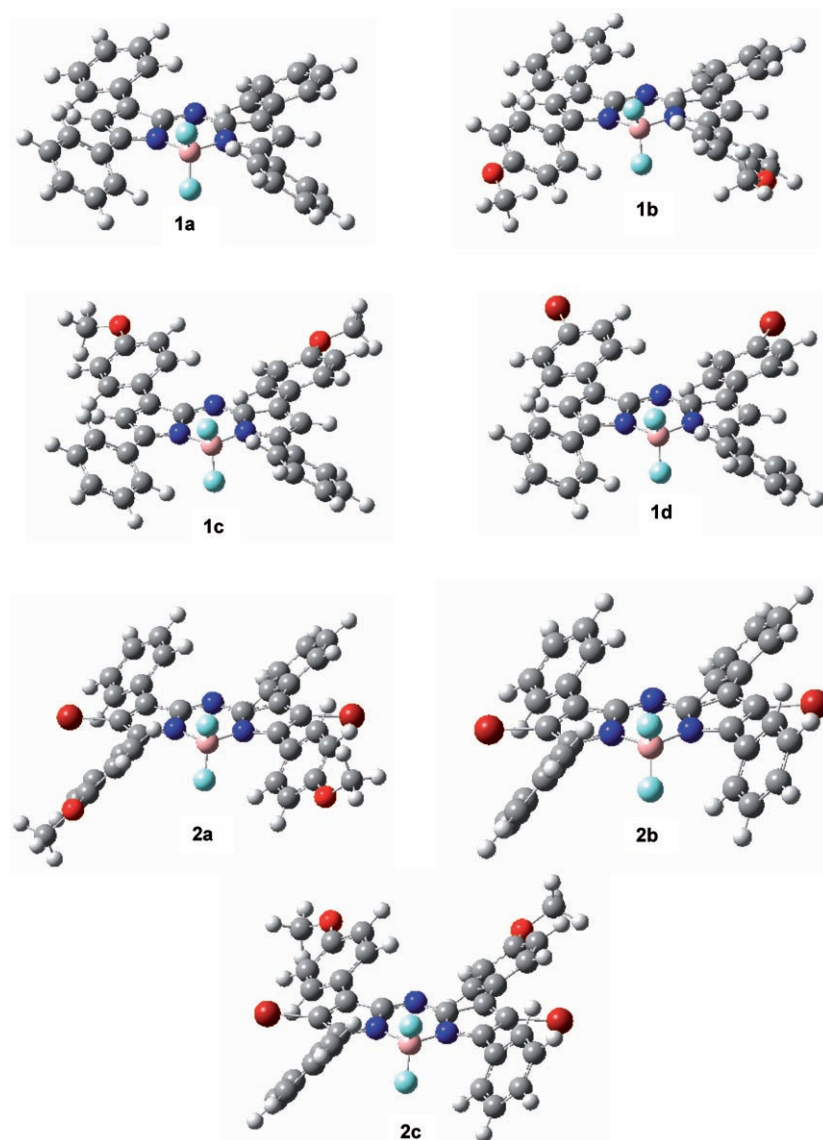


Figure 2. Optimised molecular structures (corresponding to conformational minima) of compounds **1a–1d** and **2a–2c**.

interaction is absent and the rotation is less hindered in the gas phase, the crystal packing is probably the reason for the discrepancy.

Electronic spectra of compounds in vacuo: The experimental electronic spectra of compounds **1a–1d** and **2a–2c**,^[13] are characterised, in the visible part of the spectrum, by a strong absorbance band (≈ 0.8 absorbance units) with a sharp profile. Wavelengths corresponding to this maximum range between 1.90 and 1.78 eV, depending on the substituents present (R^1 , R^2 and X, see Figure 1) and solvent effects. A secondary band appears at higher energies with a very low intensity (< 0.2) and a broad character. First, we computed spin-allowed singlet transitions of the compounds in vacuo; the relative results are reported in Tables 2 and 3 for the main excitation energies falling in the visible region, along with their relative oscillator strengths and the transi-

tion character. For compounds **1a–1d**, the lowest excitation energy gives rise to the more intense transition ($0.7 < f < 1$) and varies from 2.13 to 2.01 eV. This transition stems mainly from the HOMO \rightarrow LUMO excitation (70%)—except for compound **1c** for which there is a small contribution from the HOMO–2 to the LUMO (7%)—and corresponds to the strong experimental band that plays the basic role in PDT applications. This can be assigned to a $\pi \rightarrow \pi^*$ transition (Figure 3). The introduction of substituents on the aryl rings (**1b**, **1c**) causes a redshift relative to the “parent” molecule **1a**. In particular, the presence of an electron-donating group in the two isomers **1b** ($R^2 = \text{MeO}$) and **1c** ($R^1 = \text{MeO}$) causes a shift at lower energy, of 0.12 and 0.10 eV, respectively, with **1b** showing a better conjugation of electronic charge. This effect is less marked for compound **1d**, which has an electron-withdrawing group ($R^1 = \text{Br}$), for which the shift is 0.05 eV. A similar trend, owing to the dependence of the lowest excitation energy upon substituents, is shown by the experimental values measured in different solvents. The second excitation energy for

1a, **1b** and **1d** falls between 2.51 and 2.61 eV and involves electronic transitions from the HOMO–2 and HOMO–1 to the LUMO with a very weak intensity ($0.003 < f < 0.017$), so it does not contribute so much to the spectral band appearance. The next excitation energies contribute to the secondary experimental band and vary between 2.43 and 2.73 eV. This contribution is not uniquely defined: for example, in compound **1a** it stems mainly from a HOMO–2 to LUMO (89%) excitation with an oscillator strength of 0.273, while for **1b** we obtain a contribution either from the HOMO–1 (75%) or the HOMO–3 (15%) to the LUMO ($f = 0.443$). In the latter case, we also have an excitation energy at 3.01 eV ($f = 0.121$) that should overlap in the experimental spectrum with the previous transition, corresponding to the secondary band. For compounds **2a–2c**, in which bromine atoms are directly bound to the central core of the molecule, there is no significant effect on the lowest excitation energy,

Table 1. Selected geometric parameters for PBE0-optimised geometric structures of compounds **1a–1d** and **2a–2c**.

	1a	1b	1c	1d	Exptl (1b)	2a	2b	2c	Exptl (2a)
bond lengths [Å]									
B–F	1.398	1.401	1.399	1.397	1.371	1.391	1.394	1.392	1.376
B–N	1.577	1.574	1.575	1.578	1.562	1.584	1.582	1.582	1.566
N ² –C ¹	1.398	1.398	1.398	1.397	1.402	1.396	1.395	1.395	1.394
C ¹ –N ¹	1.325	1.326	1.326	1.326	1.322	1.325	1.325	1.325	1.322
C ^{phenyl} –O	–	1.356	1.358	–	1.372	1.365	1.369	1.366	1.357
C–Br(core)	–	–	–	–	–	1.885	1.887	1.887	1.875
C–Br	–	–	–	1.901	–	–	–	–	–
valence angles [°]									
F ¹ –B–N ³	111.7	111.8	111.8	111.7	112.0	107.9	107.7	108.0	108.5
B ¹ –N ² –C ¹	122.0	121.9	122.1	122.0	122.0	122.7	122.4	122.8	123.2
F–B–F	111.8	111.3	111.6	111.9	110.1	111.6	112.3	112.4	112.6
C ² –N ¹ –C ¹	121.0	120.9	120.9	120.9	119.7	119.5	120.8	120.9	120.9
torsion angles [°]									
ϕ_1	150.1	153.1	149.8	150.0	140.8	45.9	41.5	46.3	50.4
ϕ_2	150.0	153.0	149.8	150.0	144.0	45.9	41.4	46.3	52.6
ϕ_3	156.1	156.3	158.3	156.6	166.3	146.0	145.0	148.9	29.2
ϕ_4	156.2	156.4	158.3	156.6	175.6	146.0	145.6	148.9	131.8

Table 2. Main excitation energies (ΔE), oscillator strengths (f) and transition coefficients computed for compounds **1a–1d** in vacuo. All electronic states belong to ¹A.

Molecule	Excited state	Transition character	Weight	ΔE [eV]	f
1a	1	HOMO→LUMO	0.580	2.13	0.723
	2	HOMO–1→LUMO	0.668	2.58	0.005
	3	HOMO–2→LUMO	0.667	2.70	0.273
1b	1	HOMO→LUMO	0.583	2.01	0.730
	2	HOMO–2→LUMO	0.668	2.61	0.003
	3	HOMO–3→LUMO	-0.276	2.73	0.443
		HOMO–1→LUMO	0.612		
	4	HOMO–3→LUMO	0.608	3.01	0.121
		HOMO–1→LUMO	0.272		
HOMO→LUMO+3	0.141				
1c	1	HOMO–2→LUMO	0.191	2.03	0.650
		HOMO→LUMO	0.573		
	2	HOMO–2→LUMO	0.636	2.43	0.113
		HOMO→LUMO	-0.131		
3	HOMO–1→LUMO	0.665	2.43	0.361	
1d	1	HOMO–1→LUMO	-0.111	2.08	0.724
		HOMO→LUMO	0.579		
	2	HOMO–2→LUMO	0.661	2.51	0.017
3	HOMO–2→LUMO	0.668	2.59	0.350	

which ranges from 2.17 to 2.01 eV ($0.5 < f < 0.7$), in comparison with that of **1a–1d** (Table 3). Also, in this case we computed a shift to lower energy for **2b** and **2c** of 0.16 and 0.14 eV, respectively, relative to **2a**. In order to relate this behaviour to orbital energies obtained from the geometric optimisation, we sketched correlation energy diagrams (Figure 4) for all of the compounds, reporting the energetic difference between the HOMO and LUMO, which predominantly contributes to the main transition. The trend found is analogous to that found from TD-DFT results: the minimum

energetic gap, HOMO→LUMO, along each series is displayed by compounds **1b** and **2b** with values of 2.20 and 2.22 eV (in toluene), respectively. The lower energy transition for **1b** and **2b**, relative to their corresponding isomers, seems to derive from a better energy stabilisation of the HOMO orbital of 0.07 and 0.09 eV, respectively.

Solvent effects: The available experimental absorbance spectra data have been recorded in toluene, chloroform, ethanol, and water containing the emulsifier Cremophor EL.^[13] In our work, we exploited the bulk sol-

Table 3. Main excitation energies (ΔE), oscillator strengths (f) and transition coefficients computed for compounds **2a–2c** in vacuo. All electronic states belong to ¹A.

Molecule	Excited state	Transition character	Weight	ΔE [eV]	f
2a	1	HOMO→LUMO	0.587	2.17	0.722
	2	HOMO–1→LUMO	0.674	2.41	0.000
	3	HOMO–2→LUMO	0.670	2.53	0.194
	4	HOMO–5→LUMO	0.148	3.01	0.002
		HOMO–3→LUMO	0.680		
2b	1	HOMO→LUMO	0.591	2.01	0.733
	2	HOMO–2→LUMO	0.673	2.48	0.003
	3	HOMO–3→LUMO	-0.364	2.59	0.306
		HOMO–1→LUMO	0.565		
	4	HOMO–3→LUMO	0.568	2.78	0.133
		HOMO–1→LUMO	0.364		
2c	1	HOMO–2→LUMO	0.279	2.03	0.506
		HOMO→LUMO	0.557		
	2	HOMO–1→LUMO	0.636	2.30	0.286
	3	HOMO–2→LUMO	0.602	2.30	0.231
		HOMO→LUMO	-0.213		

vation effect on excitation energies, and considered the two very different dielectric media: toluene ($\epsilon = 2.379$) and ethanol ($\epsilon = 24.55$). Results for each compound are reported in Table 4 for the lowest excitation energy, together with the corresponding experimental data. As a general remark, we observed a constant shift to lower energies (redshifted wavelengths) relative to the data for the compounds in vacuo. The energetic deviation of the main transition from the experimental data ranges between 0.01 and 0.07 eV, with the exception of compound **2a** whose deviation is about 0.12 eV. So, the introduction of solvent effects improves results by about one order of magnitude with respect to the compounds in vacuo, for which the energetic difference ranges

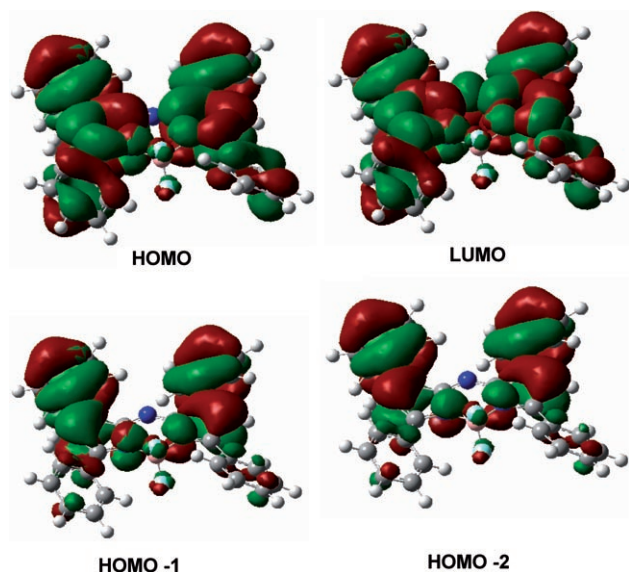


Figure 3. Plot of the HOMO, LUMO, HOMO–1, and HOMO–2 molecular orbitals for compound **1a** in toluene.

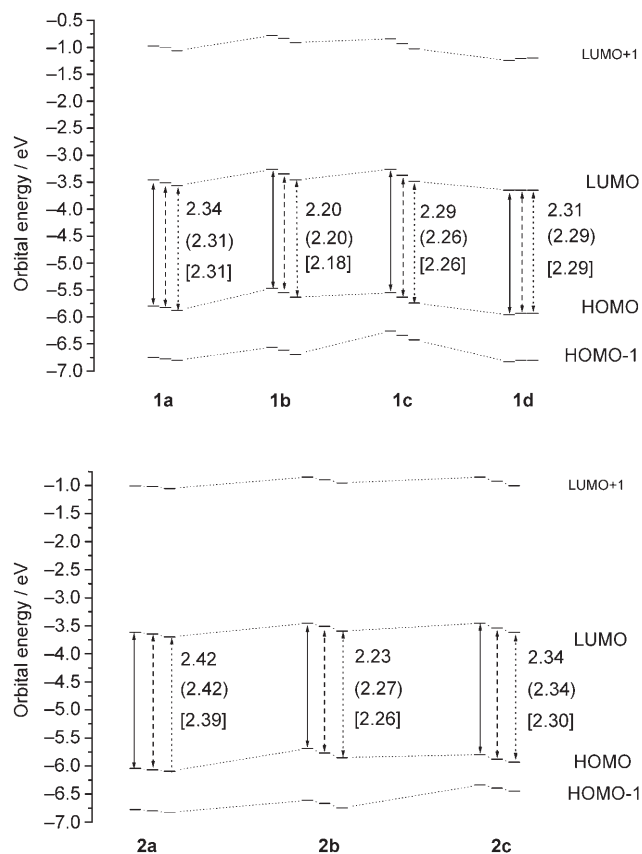


Figure 4. Molecular orbital diagrams of the active orbitals in electronic transitions for **1a–1d** (top) and **2a–2c** (bottom) in vacuo (solid arrows) and in solvent (dashed arrows = toluene; dotted arrows = ethanol). The HOMO–LUMO gaps are reported for the gas phase, in toluene (values in parentheses) and in ethanol (values in square brackets).

Table 4. Lowest excitation energies (ΔE) and oscillator strengths (f) computed for compounds **1a–1d** and **2a–2c** in toluene and in ethanol (in parentheses).

Molecule	ΔE [eV]		f		Exptl	
1a	1.96	(1.99)	0.890	(0.853)	1.89	(1.92)
1b	1.84	(1.86)	0.888	(0.853)	1.79	(1.81)
1c	1.87	(1.89)	0.835	(0.779)	1.86	(1.88)
1d	1.92	(1.95)	0.897	(0.862)	1.87	(1.89)
2a	2.00	(2.04)	0.898	(0.859)	1.90	(1.92)
2b	1.85	(1.89)	0.901	(0.865)	1.82	(1.84)
2c	1.90	(1.91)	0.746	(0.681)	1.89	(1.92)

between 0.17 and 0.27 eV relative to the experimental data in toluene. It is worth noting that a slight hypsochromic shift of the main excitation energy is present on going from toluene to ethanol, despite their different polarities. The calculated difference ranges from 0.01 eV for compound **2c** to a maximum of 0.04 eV for compounds **2a** and **2b**. These values are comparable to the experimental difference of about 0.02 eV. The PCM model does not take into account specific interactions that can be present under physiological conditions and that can affect the magnitude of the solvent shift. The studied compounds, owing to their nature, do not present significant specific interactions in solvent so the PCM model is good enough to take into account the main part of the solvent effects, as demonstrated by the good agreement with the experimental data. Also, in the presence of solvent, the excitation energies and the main configuration for the Q-like band derive mainly from the HOMO \rightarrow LUMO transition (see Figure 3) with increased oscillator strengths with respect to the corresponding values for the compounds in vacuo ($0.681 < f < 0.901$). The role of substituents, in both solvents, is identical to that found in vacuo, with compounds **1b** and **2b** having the lowest excitation energies corresponding to the main transition (1.84 and 1.85 eV in toluene; 1.86 and 1.89 eV in ethanol). A comparison of compounds **1a–1c** with their analogues **2a–2c** shows lower excitation energy values for the former series by about 0.02–0.04 eV in toluene and 0.02–0.05 eV in ethanol. Therefore, the introduction of bromine atoms does not cause appreciable changes in the absorbance properties. The analysis of the molecular orbitals involved in transitions follows the same trends as the results for the compounds in vacuo. The HOMO \rightarrow LUMO gap, for both **1a–1d** and **2a–2c**, does not vary in going from toluene to ethanol, with maximum intensity excitation energies being dependent on the substituent groups on the aryl rings. This gap decreases from **1a** to **1d**, with a minimum for compound **1b** (2.20 eV in toluene); compounds **2a–2c** follow the same trend.

Singlet–triplet energy difference: One of the basic requisites of a photosensitiser for achieving an optimal performance in PDT is represented by its singlet–triplet energy gap (greater or equal to 0.98 eV). The PBE0 singlet–triplet energy gaps (ΔE) are reported in Table 5. At first it appears that ΔE is different for the two series of compounds. The first series

Table 5. Total energies and singlet–triplet energetic gaps (ΔE) for the studied compounds in vacuo.

Molecule	Electronic state	Total energy [hartrees]	ΔE [eV]
1a	¹ A	−1619.8490	–
	³ A	−1619.8167	0.87
1b	¹ A	−1848.6565	–
	³ A	−1848.6255	0.79
1c	¹ A	−1848.6544	–
	³ A	−1848.6227	0.86
1d	¹ A	−6761.4583	–
	³ A	−6761.4265	0.80
2a	¹ A	−6761.4502	–
	³ A	−6761.4153	0.95
2b	¹ A	−6990.2567	–
	³ A	−6990.2235	0.90
2c	¹ A	−6990.2562	–
	³ A	−6990.2220	0.93

has ΔE values ranging from 0.79 eV (**1b**) to 0.87 eV (**1a**) whereas values equal or higher than 0.90 eV are found for the second series. This means that **2a–2c** should induce the triplet–singlet molecular-oxygen transitions. However, it is worth noting that, owing to the small difference in ΔE values, this has to be approached with caution. In fact, compound **1a** is also able to generate singlet oxygen, with a low quantum yield, as found experimentally.^[13]

Conclusion

By using the DFT and TD-DFT tools we examined the structural, energetic and UV-visible spectroscopic properties of a new class of photosensitisers recently proposed for their use in photodynamic therapy. Solvent effects were also taken into account. Our results can be summarised as follows: 1) the electronic spectra were correctly reproduced with a good agreement with the experimental data. The origin of the transition has been explained by using frontier molecular orbital diagrams. The main transitions come from HOMO→LUMO excitations with small contributions arising from other neighbouring occupied molecular orbitals; 2) the relationship between the substituent group and the absorption behaviour was shown. As expected, the presence of an electron-donating group causes small redshifts in the spectra; 3) all of the systems show high conformational flexibility of the torsional angles that link the phenyl groups to the core moiety of the molecules; 4) the singlet–triplet energy gap for compounds containing bromine directly bound to the central core of the molecule (**2a–2c**) is slightly higher than that found for the corresponding hydrogenated systems, suggesting that, in principle, the former should be more effective as photosensitisers in PDT; 5) the introduction of solvent effects for different media improve the agreement with the experimental data. A slight hypsochromic shift was found for the solvents on going from low to high dielectric constants. We hope that our results can help the experimentalists to develop synthetic strategies for new photosensitisers for use in photodynamic therapy.

Acknowledgements

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

- [1] I. J. MacDonald, T. J. Dougherty, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, 5, 105–129.
- [2] Y. Van Tenten, H. J. Schuitmaker, A. De Wolf, B. Willekens, G. F. J. M. Vrensen, M. J. Tassignon, *Exp. Eye Res.* **2001**, 72, 41–48.
- [3] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, 3, 380.
- [4] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, 90, 889.
- [5] R. Bonnett, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 24, 19.
- [6] D. Wöhrle, A. Hirth, T. Bogdahn-Rai, G. Schnurpfeil, M. Shopova, *Chem. Bull.* **1998**, 47, 807.
- [7] W. M. Sharman, G. M. Allen, J. E. VanLier, *Drug Discovery Today* **1999**, 4, 507.
- [8] T. S. Mang, R. Allison, G. Hewson, W. Snider, R. Moskowitz, *Cancer J. Sci. Am.* **1998**, 4, 378.
- [9] S. W. Young, K. W. Woodbourn, M. Wright, *Photochem. Photobiol.* **1996**, 63, 892–897.
- [10] K. J. Mellish, R. D. Cox, D. I. Vernon, J. Griffiths, S. B. Brown, *Photochem. Photobiol.* **2002**, 75, 392.
- [11] M. R. Detty, P. B. Merkel, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 3845.
- [12] L. M. Williamson, R. Cardigan, C. V. Prowse, *Transfusion* **2003**, 43, 1322.
- [13] A. Gorman, J. Killoran, C. O'Shea, T. Kenna, W. M. Gallagher, F. D. O'Shea, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10619–10631.
- [14] J. Killoran, L. Allen, J. F. Gallagher, W. M. Gallagher, D. F. O'Shea, *Chem. Commun.* **2002**, 1862–1863.
- [15] M. Petersilka, U. J. Grossmann, E. K. U. Gross, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, 76, 1212.
- [16] Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- [17] M. Ernzerhof, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.* **1999**, 110, 5029.
- [18] C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.* **1999**, 110, 6158.
- [19] J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, 77, 3865.
- [20] A. Schaefer, H. Horn, R. Ahlrichs, *J. Chem. Phys.* **1992**, 97, 2571.
- [21] A. Schaefer, C. Huber, R. Ahlrichs, *J. Chem. Phys.* **1994**, 100, 5829.
- [22] M. E. Casida in *Recent Advances in Density Functional Methods, Part I* (Ed.: D. P. Chong), World Scientific, Singapore, **1995**.
- [23] R. E. Stratmann, G. E. Scuseria, M. J. Frisch, *J. Chem. Phys.* **1998**, 109, 8218.
- [24] R. Bauernschmitt, R. Ahlrichs, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, 256, 454.
- [25] P. C. Hariharan, J. A. Pople, *Theor. Chim. Acta* **1973**, 28, 213.
- [26] P. M. W. Gill, B. G. Johnson, J. A. Pople, M. J. Frisch, *Chem. Phys. Lett.* **1992**, 197, 499.
- [27] I. Ciofini, C. Daul, C. Adamo, *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 11182.
- [28] I. Ciofini, P. P. Lainé, F. Bedioui, C. Adamo, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10763.

- [29] L. Petit, C. Adamo, N. Russo, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12214–12221.
- [30] R. E. Stratmann, G. E. Scuseria, *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 8218.
- [31] R. Bauernschmitt, R. Ahlrichs, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *256*, 454.
- [32] D. Jacquemin, J. Preat, V. Wathelet, M. Fontaine, E. A. Perpète, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2072.
- [33] J. Tomasi, M. Persico, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2027.
- [34] V. Barone, M. Cossi, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1995.
- [35] M. Cossi, V. Barone, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 4708.

Received: December 29, 2005

Revised: May 4, 2006

Please note: Minor changes have been made to this manuscript since its publication in *Chemistry—A European Journal* Early View. The Editor.

Articolo III

Absorption Spectra of the Potential Photodynamic
Therapy Photosensitizers Texaphyrins Complexes: A
Theoretical Analysis

Absorption Spectra of the Potential Photodynamic Therapy Photosensitizers Texaphyrins Complexes: A Theoretical Analysis[†]

Angelo Domenico Quartarolo,[‡] Nino Russo,^{*,‡} Emilia Sicilia,[‡] and Francesco Lejlj[§]

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, Italy, and Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Via Nazario Sauro, 85, 85100 Potenza

Received December 22, 2006

Abstract: A systematic study of a class of divalent transition-metal texaphyrin complexes (M-Tex⁺, M = Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn), recently proposed as active photosensitizers in photodynamic therapy (PDT), was undertaken for the ground and excited electronic states. Geometry optimizations were performed by using the PBE0 exchange-correlation functional coupled with the 6-31G(d) basis set, while electronic excitation energies were evaluated by means of time-dependent density functional response theory (TD-DFT) at the PBE0/6-31+G(d) // PBE0/6-31G(d) level of theory. Solvent effects on excitation energies were taken into account in two ways: by considering solvent molecules explicitly coordinated to the metal center and as bulk effects, within the conductor-like polarizable continuum model (C-PCM). The influence of the metal cation on the so-called Q-band, localized in the near-red visible region of the spectrum, was carefully examined since it plays a basic role in the drug design of new photodynamic therapy photosensitizers. The differences between experimental and computed excitation energies were found to be within 0.3 eV.

1. Introduction

Texaphyrins are a class of expanded porphyrin macrocycles formed by three tripyrrolyldimethene units connected to a phenylenediamine through two imine-type linkages (see Chart 1).^{1–3} The main structural feature of texaphyrins is the increased cavity size, about 20% larger than porphyrins, that allows a better fit of the nearly coplanar nitrogen donors, to the metal cation. Metallotexaphyrins (M-Tex) for nearly the full series of lanthanide(III),^{4,5} Cd(II),^{1,6} Y(III) and In(III),⁷ and for Mn(II) to Zn(II)^{8,9} as well as a metal free aromatic form¹⁰ were synthesized during the past few years. The synthesis was carried out by treating the “sp²-texaphyrin”, a nonaromatic form, with metal salt and air, through

an oxidation-metalation reaction mechanism. Gadolinium(III)-Tex²⁺ and lutetium(III)-Tex²⁺, in a water soluble form, are in late-stage clinical trials for application as an adjuvant in X-ray radiation therapy and photodynamic therapy (PDT), respectively.^{11,12}

Photodynamic therapy is a noninvasive medical technique for the treatment of different types of diseases in oncology and ophthalmology.^{13–15} The basic principle is the combination of a photosensitizing drug capable of absorbing within the body's therapeutic window (620–850 nm), a light source (e.g., laser) of appropriate wavelength and molecular oxygen. The photosensitizer, which shows preferably high accumulation in cancer cells and low dark toxicity, is injected into human body tissue and then irradiated by visible light. After irradiation the light-activated molecule undergoes different reactions, and it can decay from singlet to triplet excited state, through a radiationless transition (intersystem spin crossing). The rate of the latter step is enhanced by the presence in the

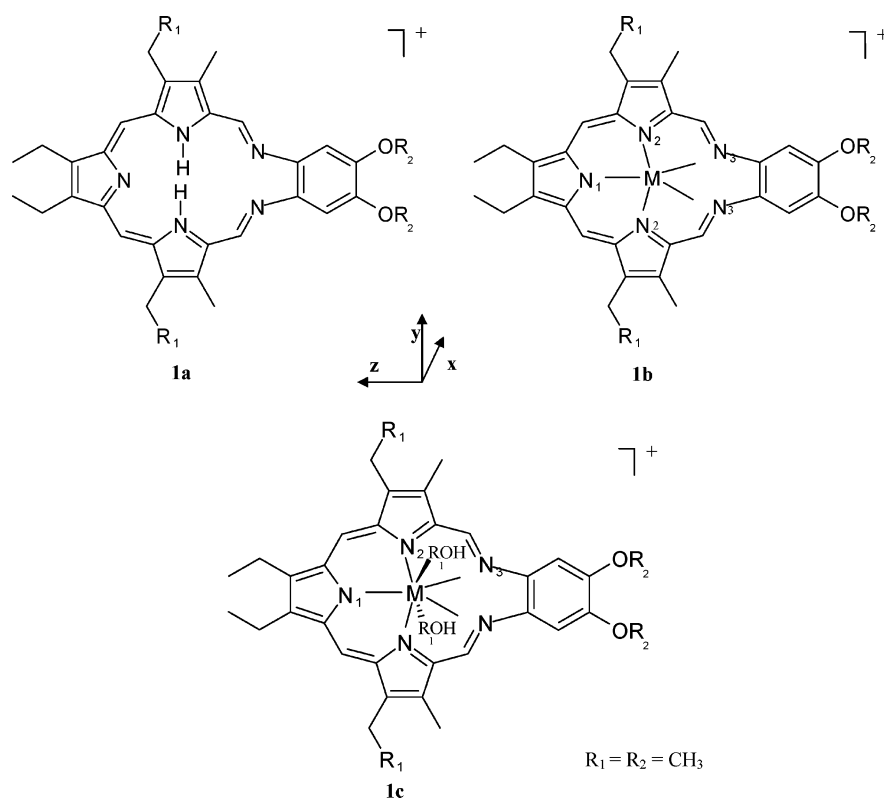
[†] Dedicated to Professor Dennis R. Salahub on the occasion of his 60th birthday.

* Corresponding author: e-mail: nrusso@unical.it.

[‡] Università della Calabria.

[§] Università degli Studi della Basilicata.

Chart 1



molecule of an atom with a high atomic number (heavy atom effect). The key cytotoxic agent is represented by singlet molecular oxygen $^1\text{O}_2$ ($^1\Delta_g$) generated by an energy transfer reaction from the photosensitizer triplet state to the ground state of molecular oxygen $^3\text{O}_2$ ($^3\Sigma_g$).^{16,17} Triplet state energy should match, for a good efficiency, the first excitation energy of molecular oxygen, that is 0.98 eV (1300 nm). The interest in using metallotexaphyrins in PDT is due to their spectral absorbance features. In fact, they exhibit Q-type electronic transitions between 650 and 810 nm and are thus red-shifted by more than 100 nm with respect to porphyrins. This property is related to the increased number of π electrons (22 π -electron system) that causes a greater electron delocalization on the aromatic ring. It is desirable in PDT to have Q-bands in the near-red region of the spectra, since light transmittance into human body changes exponentially with the increasing wavelength of the incident radiation. At present, in literature exist few theoretical works regarding metallotexaphyrins. To our knowledge, a B3LYP density functional study using relativistic ab initio pseudopotentials, was carried out by Cao and Dolg¹⁸ for lanthanide(III) texaphyrins [Ln-Tex(3+), Ln = La, Gd, Lu] and more recently for actinide(III) motexafins [An-Tex(3+), An = Ac, Cm, Lr] by Cao et al.¹⁹ Moreover, a theoretical study for the interpretation of the magnetic circular dichroism spectra (MCD) of texaphyrins was performed by Waluk and Michl.²⁰ The present work deals with a density functional investigation of electronic properties of first-row transition-metal complexes of texaphyrin in organic soluble form (see Chart 1) as well as the evaluation of the electronic excitation energies by means of time-dependent density functional theory (TD-DFT).²¹ Our aim is to give new insights from theory in interpreting spectroscopic properties of metallotexaphyrins

and to contribute to better characterize this novel class of photosensitizers potentially useful in PDT. To account for the interaction with the local environment solvent effects were included both explicitly by considering two methanol solvent molecules directly bound to the metal center and implicitly by using a continuum solvation model.

2. Computational Details

All calculations were carried out at the density functional level of theory with the GAUSSIAN03 program package.²² The hybrid functional approach PBE0^{23,24} was employed for geometry optimization, vibrational frequency analysis, and electronic excitation energy evaluation. The PBE0 exchange-correlation functional is based on the generalized gradient functional of Perdew-Burke-Ernzerhof (PBE)²⁵ with an a priori fixed amount of 25% of Hartree-Fock exchange energy. Restricted formalism was applied for closed shell systems (free base texaphyrin and zinc complex) and an unrestricted one for open shell systems. In the latter case spin contamination, monitored by the expectation value of \hat{S}^2 , was found to be negligible. All molecular structures were fully optimized imposing a C_2 symmetry axis, joining the metal center with the pyrrolic nitrogen atom N₁. For the geometry optimization, a split valence plus polarization basis set 6-31G(d)^{26,27} for H, C, N, and O atoms and a double- ζ quality LANL basis and corresponding pseudopotential for metal atoms (Mn, Fe, Ni, Co, Cu, and Zn) were employed.^{28,29} Vibrational frequency analysis was used to confirm the character of minima of optimized structures. Electronic excitation energies and oscillator strengths were computed within the adiabatic approximation of time-dependent density functional theory (TD-DFT)³⁰ as implemented in Gaussian03. The 6-31+G(d) basis set, which adds

a diffuse function to the 6-31G(d) one for all atoms except hydrogen, was used along with the same pseudopotentials and the corresponding valence basis sets for the metal centers. The influence of scalar relativistic effects of first-row transition metals on excitation energies was evaluated by using the Zn-Tex⁺ complex as a test molecule. For this purpose the Stuttgart relativistic small- and large-core pseudopotentials ECP28SDF and ECP10MWB^{31,32} were used for the zinc atom. In order to characterize the electronic spectra of the examined complexes, the same level of theory used in previous works, which demonstrated as the influence on optical transitions of the basis set choice is minimal and the hybrid functional PBE0 gives usually an accuracy, comparable to refined post-Hartree–Fock approaches at a lower computational cost, of about 0.3 eV for the transition energies.^{33–36} Bulk solvent effects (methanol, $\epsilon = 32.6$) were taken into account within the conductor-like polarizable continuum model (C-PCM).^{37–39} Single-point calculations on the optimized geometries were carried out by the nonequilibrium implementation of C-PCM.^{40–43} The electronic spectra were simulated by means of the SWizard program package.⁴⁴ Here the absorption profile is calculated as a sum of Gaussian functions using the formula

$$\epsilon(\omega) = 2.174 * 10^8 \sum_I \frac{f_I}{\Delta_{1/2}} \exp\left(-2.773 \frac{(\omega - \omega_I)^2}{\Delta_{1/2}^2}\right)$$

where ϵ is the molar absorbance in units of mol⁻¹ cm⁻¹ L, the index sum runs over the number of computed excitation energies ω_I (expressed in cm⁻¹) with corresponding oscillator strengths $\times c4_I$, and $\Delta_{1/2}$ is the half-weight bandwidth assumed constant and equal to 3000 cm⁻¹.

3. Results and Discussion

3.1. Ground-State Spin Multiplicity. Our first task was to determine the ground and lowest excited electronic states for M-Tex⁺ complexes, with and without methanol molecules coordinated to the metal center. As pointed out above, an efficient PDT drug should activate molecular oxygen (³O₂) through an energy transfer, so a preliminary condition to be satisfied is that the electronic gap between ground and first excited states must be greater than or equal to 0.98 eV. For metalloporphyrins-like systems the electronic ground state is influenced by several factors like the ligand size and geometry. For each complex we have considered different spin multiplicities on the basis of the electronic configuration of the divalent metal cation (e.g., ⁶A, ⁴A, and ²A electronic states for Mn (d⁵) complex). The total and relative energies of the two most stable electronic states of each complex are reported in Table 1. As it can be noted, the electronic ground state for every complex, both isolated and coordinated with two solvent molecules, corresponds to a high-spin multiplicity state. For the Mn-Tex⁺ complex doublet, quartet, and sextet states were considered. In this case the ground state for the isolated system was found to be a sextet state, whereas the doublet and quartet states lie 4.01 and 4.38 eV higher in energy than the ground state, respectively. On the other hand, for Mn-Tex(CH₃OH)₂⁺ we found for the first excited state an opposite situation: the ⁴A electronic state is lower in

Table 1. Total (hartrees) and Relative Energies (eV) for All Complexes for Bare Systems and with Two Methanol Molecules Coordinated to the Metal Atom

molecule	molecular symmetry	electronic state	total energy (hartrees)	ΔE (eV)
Isolated Systems				
Mn-Tex ⁺	C ₂	² A	-1844.3437	4.01
Mn-Tex ⁺	C ₂	⁴ A	-1844.3302	4.38
Mn-Tex ⁺	C ₂	⁶ A	-1844.4912	0.00
Fe-Tex ⁺	C ₂	³ A	-1863.9198	1.16
Fe-Tex ⁺	C ₂	⁵ A	-1863.9626	0.00
Co-Tex ⁺	C ₂	² A	-1885.5405	0.99
Co-Tex ⁺	C ₂	⁴ A	-1885.5770	0.00
Ni-Tex ⁺	C ₂	¹ A	-1909.7602	1.56
Ni-Tex ⁺	C ₂	³ A	-1909.8184	0.00
Cu-Tex ⁺	C ₂	⁴ A	-1936.5941	1.14
Cu-Tex ⁺	C ₂	² A	-1936.6022	0.00
Zn-Tex ⁺	C ₂	³ A	-1805.9484	1.32
Zn-Tex ⁺	C ₂	¹ A	-1805.9970	0.00
Complexes Coordinating Two Methanol Molecules				
Mn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	² A	-2075.6041	2.74
Mn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	⁴ A	-2075.6432	1.68
Mn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	⁶ A	-2075.7049	0.00
Fe-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	³ A	-2095.1434	0.99
Fe-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	⁵ A	-2095.1797	0.00
Co-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	² A	-2116.7665	0.84
Co-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	⁴ A	-2116.7974	0.00
Ni-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	¹ A	-2140.9590	1.39
Ni-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	³ A	-2141.0101	0.00
Cu-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	⁴ A	-2167.7654	1.16
Cu-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	² A	-2167.8080	0.00
Zn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	³ A	-2037.1671	1.32
Zn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	C ₂	¹ A	-2037.2157	0.00

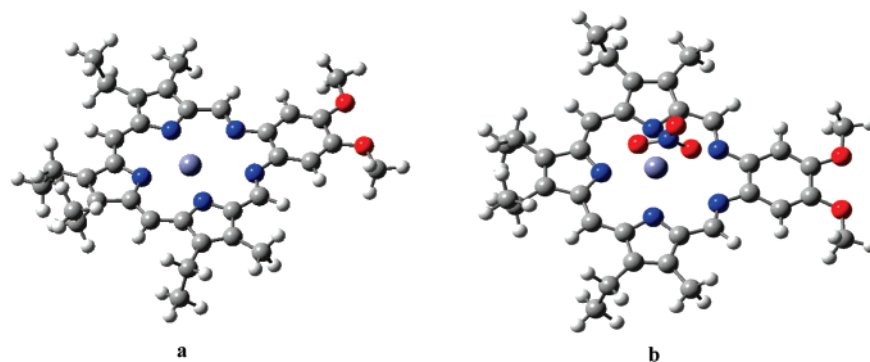
energy than the ²A state (1.68 vs 2.74 eV) with respect to the ⁶A ground state. For the remaining M-Tex⁺ bare systems, the lowest state lies in the range between 1.14 eV (Cu-Tex) and 1.32 eV (Zn-Tex). For the explicitly solvated systems the electronic gap is lower and ranges from 0.84 eV (Co-Tex(CH₃OH)₂⁺) to 1.39 eV (Ni-Tex(CH₃OH)₂⁺). Overall, for the isolated systems all M-Tex⁺ fulfill the ground-excited energetic gap condition (i.e., > 0.98 eV). For systems coordinating two solvent molecules this condition holds for Mn-, Fe-, Ni-, Cu-, and Zn-Tex complexes. These results are in agreement with the experimental measurements of the magnetic moments for each paramagnetic complex,⁹ which gives rise to a high-spin configuration state as confirmed by applying the so-called ‘spin-only formula’. The only exception is represented by the Fe-Tex⁺ complex that exists as a dimer, with two Fe(III) atoms bridged by an oxygen (in a formally trivalent oxidation state).

3.2. Ground-State Geometrical Structures. The geometrical structures of metallotetraporphyrins are formally characterized by five possible coordination sites: three pyrrolic (N₁ and N₂ in Chart 1, structure **1a**) and two imine-nitrogen atoms (N₃ in the same chart). The position of the metal center with respect to the mean plane ($\Delta N5$) formed by the five nitrogen atoms is strongly influenced by the presence, in the crystal structure, of counterions (like Cl⁻, NO₃⁻) and/or solvent molecules (MeOH), directly bound to the metal.

Table 2. Selected Bond Lengths (Å) for M(II)-Texaphyrin Complexes^a

complex	M–N ₁	M–N ₂	M–N ₃	M–O _{MeOH}
Mn-Tex ⁺	2.326 (2.383)	2.179 (2.230)	2.553 (2.539)	/
Mn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	2.348 (2.409)	2.225 (2.236)	2.554 (2.470)	2.265 (2.217)
Fe-Tex ⁺ ^b	2.300	2.137	2.586	/
Fe-Tex(MeOH) ₂ ⁺ ^b	2.280 (2.321)	2.206 (2.201)	2.580 (2.498)	2.169
Co-Tex ⁺	2.103	2.090	2.815	/
Co-Tex(MeOH) ₂ ⁺	2.247 (2.335)	2.177 (2.176)	2.635 (2.524)	2.146 (2.116)
Ni-Tex ⁺	2.046	2.073	2.896	/
Ni-Tex(MeOH) ₂ ⁺	2.119	2.129	2.805	2.111
Cu-Tex ⁺	2.032	2.049	2.923	/
Cu-Tex(MeOH) ₂ ⁺	2.032	2.057	3.049	2.174
Zn-Tex ⁺	2.165 (2.066)	2.113 (2.127)	2.758 (2.912)	/
Zn-Tex(MeOH) ₂ ⁺	2.108 (2.139)	2.152 (2.138)	2.866 (2.790)	2.160 (2.137)

^a In parentheses are reported averaged experimental values obtained from X-ray structures. ^b Experimental data are relative to μ -oxo Fe(III) texaphyrin dimer

**Figure 1.** Optimized molecular structures for the Zn-Tex⁺ bare complex (a) and in the presence of the counterion NO₃[−] (b).

Structural data, obtained from single-crystal X-ray analysis are available for all M-Tex⁺, in organic soluble form, with the exception of Ni- and Cu-Tex⁺ complexes,⁹ so a direct comparison between experimental and computed geometrical data is possible. Selected optimized metal–nitrogen (M–N) and metal–oxygen (M–O) bond lengths are reported in Table 2. Figure 1 shows the resulting optimized structure of Zn-Tex⁺ and Zn-Tex-NO₃. Owing to the symmetry constraint C₂ axis imposed to the nuclear framework, we can distinguish three kinds of metal–nitrogen bonds (M–N₁, M–N₂, M–N₃); the experimental data, given in parentheses, are referred to as the relative bond lengths averaged around the ideal C₂ axis. For the bare systems, the distance M–N₁ (central pyrrolic nitrogen) ranges from 2.030 to 2.326 Å, decreasing slightly on going from Mn- to Cu-Tex⁺ and thereafter increases for Zn-Tex⁺. A similar trend is found for the M–N₂ distance, which changes from 2.049 to 2.225 Å. The metal–imine nitrogen bond length (M–N₃) increases from Fe- to Cu-Tex⁺, as a geometric consequence of the reduced M–N(pyrrolic) distance. For the Mn-Tex⁺ complex the difference between the experimental and the computed metal–nitrogen distance is about 0.05 Å for both M–N₁ and M–N₂ and 0.01 Å for M–N₃. The experimental value of the distance of the metal from the N5 mean plane is 0.37 Å. This value is due to the presence of the counterion Cl[−], directly bound to the metal, that allows an out-of-plane movement of the metal, giving rise to an increased M–N₁ and M–N₂ distances. In all calculated structures the metal results are always coplanar with nitrogen atoms, also by relaxing completely the geometry during optimization.

Similar considerations are valid for the Zn-Tex⁺ complex where the presence in the experimental structure of a NO₃[−] anion, coordinated to the metal, gives rise to a shift of 0.38 Å for the metal relative to the N5 mean plane. The major discrepancy with experimental data concerns the M–N₃ bond length, whose difference was found to be 0.076 Å; by reoptimizing the structure including the NO₃[−] anion, we obtained a good agreement with the experimental counterpart being the difference of 0.01 Å. As a general rule and by excluding the presence of counterions, we found a pentacoordinated geometry for Mn-Tex⁺ and a tricoordinated one for the other complexes in agreement with experimental findings.⁹

3.3. Gas-Phase Electronic Spectra. The electronic spectra of metallotexaphyrins, like those of metalloporphyrins, are composed of two main absorption bands: one at higher wavelengths, in the visible region, called the Q-band, and the other, at lower wavelengths and more intense, called the B- or Soret band. The electronic spectra of porphyrin-like chromophores were first theoretically rationalized by means of the Gouterman four-orbital model.^{45–46} The electronic bands were interpreted in terms of electronic transitions, involving the two highest occupied molecular orbitals (denoted HOMO and HOMO-1) and the two lowest unoccupied orbitals (LUMO and LUMO+1). On the basis of the proposed theoretical model the Q-band is mainly due to two electronic transitions, named Q_x and Q_y. The Q_x transition arises from the HOMO → LUMO (in brief notation 0–0) electronic excitation (around 60% on average) with a contribution from the HOMO-1 → LUMO+1 (1–1 notation)

Table 3. Excitation Energies in eV (in Parentheses in nm), Oscillator Strengths f , Configurations, and Experimental Data for M-Tex⁺ Bare Systems in vacuo and Solution

state	vacuum				solution (C-PCM)			
	ΔE	$\times c4$	λ_{\max}	main configuration ^a	ΔE	$\times c4$	λ_{\max}	expt ^b ΔE
FB-Tex								
1 ¹ B	1.98 (625.1)	0.0661	2.03	70%(0-0) + 28%(1-1)	1.96 (633.4)	0.1083	2.01	1.72
2 ¹ A	2.07 (598.8)	0.0982	(609.8)	64%(1-0) + 37%(0-1)	2.05 (605.5)	0.1761	(617.3)	(721)
Mn-Tex ⁺								
1 B	1.92 (646.0)	0.0766	2.00	20%(0-0) + 30%(1-1)	1.93 (642.5)	0.1357	2.00	1.71
			(621.1)	19%(0-0) + 31%(1-1)			(621.1)	(727)
2 A	2.06 (601.9)	0.0826		28%(0-1) + 28%(1-0)	2.06 (602.8)	0.1411		
				9%(0-1) + 35%(1-0)				
Fe-Tex ⁺								
1 B	1.95 (635.5)	0.0541	2.00	16%(0-0) + 30%(1-1)	1.96 (631.6)	0.1188	2.01	1.73
			(621.1)	34%(0-0) + 3%(1-1)			(617.3)	(717)
2 A	2.05 (605.6)	0.0799		32%(0-1) + 30%(1-0)	2.06 (601.7)	0.1298		
				5%(0-1) + 32%(1-0)				
Co-Tex ⁺								
1 A	1.96 (632.3)	0.0584	2.01	22%(0-0) + 36%(1-1)	1.96 (632.7)	0.1292	2.01	1.74
			(617.3)	37%(0-0)			(617.3)	(713)
2 B	2.05 (604.4)	0.0726		35%(0-1) + 27%(1-0)	2.05 (604.1)	0.1473		
				8%(0-1) + 31%(1-0)				
Ni-Tex								
1 B	1.97 (628.3)	0.0657	2.03	27%(0-0) + 25%(1-1)	1.96 (631.5)	0.1142	2.02	1.76
			609.8	22%(0-1) + 32%(1-2)			(613.5)	(704)
2 A	2.07 (598.8)	0.0924		15%(1-0) + 33%(0-1)	2.07 (598.9)	0.1486		
				22%(0-2) + 32%(1-1)				
Cu-Tex ⁺								
1 B	1.99 (622.2)	0.0593	2.03	27%(0-0) + 19%(1-1)	1.97 (630.1)	0.1013	2.02	/
			(609.8)	35%(0-1)			(613.5)	
2 A	2.07 (597.7)	0.0909		15%(0-1) + 33%(1-0)	2.06 (601.8)	0.1560		
				22%(0-2) + 32%(1-1)				
Zn-Tex ⁺								
1 ¹ B	1.95 (636.0)	0.0774	2.01	74%(0-0) + 21%(1-1)	1.96 (633.8)	0.1367	2.01	1.76
2 ¹ A	2.07 (600.0)	0.0883	(617.3)	65%(1-0) + 37%(0-1)	2.07 (599.2)	0.1400	(617.3)	(704)

^a By convention, in parentheses the first number, n , is referred to as the occupied orbital contribution from HOMO- n , and the second, m , to the virtual one LUMO+ m . ^b See Table 4, footnote *a*.

of about 40%, whereas the Q_y transition is composed of the HOMO-1 → LUMO (1-0) and HOMO → LUMO+1 (0-1) electronic excitations. In the following we will refer as 'main configuration' to the orbital composition of each vertical excitation energy. Experimental spectroscopic data in solution are available for Mn(II)-, Fe(II)- in monomer form, Co(II)-, Ni(II)-, and Zn(II)-Tex⁺ complexes, so a direct comparison with the computed values is possible. For these compounds the absorption wavelengths of maximum intensity relative to the Q-like band fall in the range between 1.71 eV (727 nm) and 1.76 eV (704 nm), decreasing as a function of the identity of the metal center by 23 nm in going from the Mn- to the Zn-Tex⁺ complex. In order to decouple the effect of the metal and the solvent on the excitations energies, we analyzed first the electronic spectra for bare systems in comparison with the metal-free texaphyrin in monoprotonated form FB-Tex (Chart 1, compound **1a**). Computed vertical excitation energies giving rise to the Q-like band are collected in Table 3 together with the maximum absorption excitation energies obtained from the convolution of the theoretical data by the overlapping of Gaussian

functions. From this table we can infer that for each molecule there are only two excitation energies that contribute to the Q-band. For instance, for the closed-shell Zn-Tex⁺, the first excitation energy is at 1.95 eV ($f = 0.0774$) and arises mainly from HOMO → LUMO (74%) and HOMO-1 → LUMO+1 (21%) electronic excitations. Therefore, on the basis of the Gouterman scheme it can be assigned to the Q_x-type transition. The second excitation energy is at 2.07 eV ($f = 0.0883$), and its main configuration is composed by HOMO-1 → LUMO (65%) and HOMO → LUMO+1 (37%) electronic transitions. This means that this is the Q_y transition. In both cases the transitions have a $\pi \rightarrow \pi^*$ type character, as can be deduced from the plot of the frontier molecular orbitals in Figure 2. Similar results are obtained for the free-metal form of texaphyrin, which presents the first excitation energy at 1.98 eV (Q_x-transition) and the second one at 2.07 eV (Q_y-transition). On the other hand, to describe the transitions for the open shell systems, we have to consider the α - and β -electron excitations. For instance, for the Fe-Tex⁺ complex we found the first excitation energy at 1.95 eV ($f = 0.041$), whose main configuration is

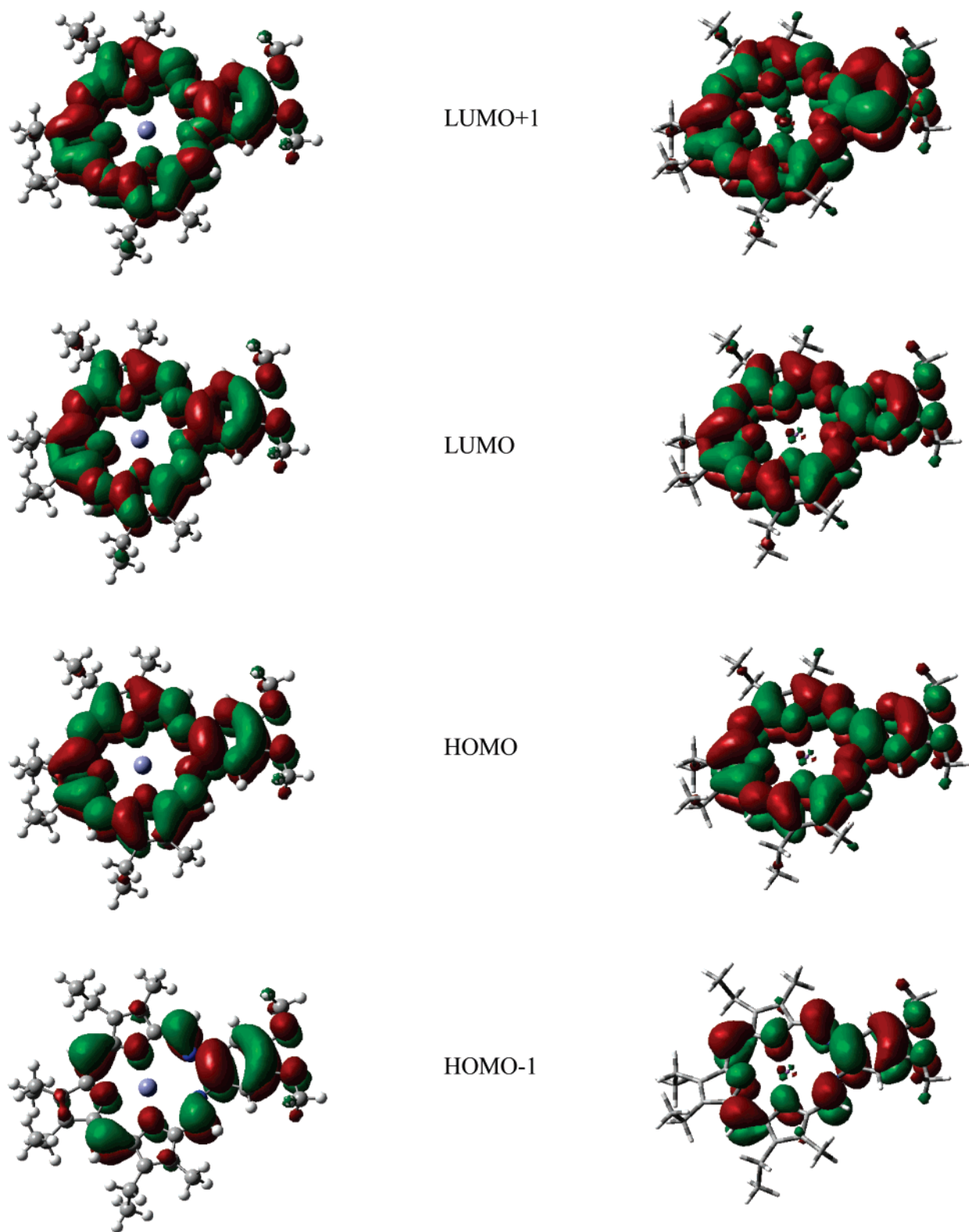


Figure 2. Molecular orbital plot of the four 'Gouterman orbitals' for Zn-Tex⁺ (on the left) and Mn-Tex⁺ (alpha orbitals).

composed of the alpha HOMO \rightarrow LUMO and HOMO $-1 \rightarrow$ LUMO+1 electronic transitions, contributing respectively for 16% and 30%, and the beta HOMO \rightarrow LUMO transition for 34%. The second excitation energy is at 2.05 eV ($f = 0.0799$) and is composed of HOMO-1 \rightarrow LUMO and HOMO \rightarrow LUMO+1 for both alpha and beta electronic transitions. For the other complexes the previously described Gouterman scheme is obeyed with some exceptions that, in any case,

do not introduce significant changes. Since the experimental data are relative to the maximum absorption wavelengths λ_{\max} for the Q- and B-band, it seems more appropriate to compare these data with those obtained from the simulation of the spectra and in particular with the computed maximum absorption wavelengths for the Q-band (Table 3). As can be inferred, all values relative to E_{\max} for the Q-band are overestimated in energy with respect to the experimental

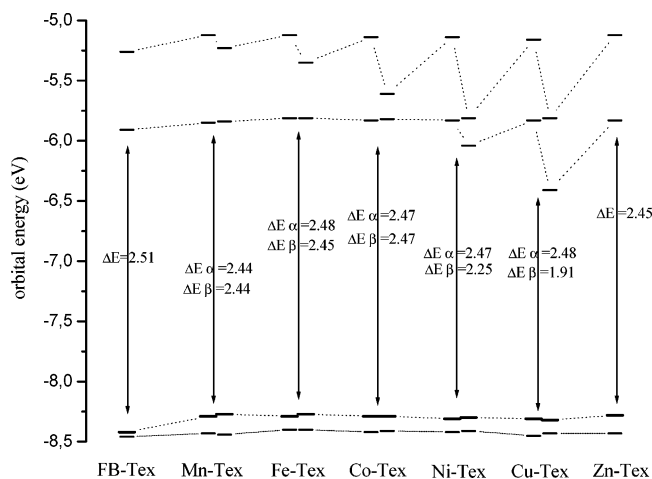


Figure 3. Energy molecular diagram for the four 'Gouterman orbitals' of M-Tex⁺.

ones, and the difference ranges from 0.25 eV for Zn-Tex⁺ to 0.29 eV for Mn-Tex⁺. As found in previous works based on the same level of theory (PBE0/6-31G**//PBE0/6-31+G*), the theoretical error is not larger than 0.3 eV for transition metals containing systems. The influence of the metal on the Q-band relative to the free-metal texaphyrin is in general slight, with the maximum difference of 11 nm for Mn-Tex⁺ and Fe-Tex⁺. As mentioned above, for the experimental spectra the maximum absorption wavelength λ_{\max} for the Q-band is blue-shifted in going from the Mn- to the Zn-Tex⁺ complex. In our case this trend is qualitatively followed except for the zinc complex. It is also worth noting that for Cu-Tex⁺ there are no spectroscopic data since the compound was not well characterized by diffraction analysis. Therefore, we cannot decide whether the breakdown of this trend, at the theoretical level, occurs for the Cu-Tex⁺ or the Zn-Tex⁺ complex. Some hints for the theoretical analysis could come also from the orbital energy diagram in Figure 3, which reports the energetic behavior of the four Gouterman orbitals across the series of the complexes. The first point to note is the regular aspect of the diagram for the energetic gap HOMO–LUMO, which does not show drastic changes along the series. As a consequence, the influence of the metal is confirmed to be small on the excitation energies. An exception could be represented by the β -gap for Cu-Tex⁺ that, however, does not contribute to the transition (see Table 2). The free-metal texaphyrin has the highest gap (2.51 eV), whereas for the unique closed shell Zn-Tex⁺ system a value of 2.45 eV is calculated corresponding to an increased excitation energy E_{\max} . The Zn-Tex⁺ complex has no metal contribution to the frontier orbitals, as deduced from the molecular orbitals plot in Figure 2. For the other systems we have to consider the α and β energetic levels: while the α HOMO–LUMO gap changes little going from Mn- to Cu-Tex⁺ (0.04 eV), the β gap decreases by about 0.5 eV.

4. Solvent Effects

The basic interest in metallotexaphyrins lies in their use as photosensitizers in photodynamic therapy (PDT), so they should be thermodynamically stable in a biological environment in which water is the main component and preserve

their spectroscopic features in this medium. A theoretical analysis accounting for solvent effects on the spectroscopic properties of the photosensitizer can give more insights for a better description of the overall mechanism. The class of metallotexaphyrins under study is soluble in methanol solvent, though water-soluble analogues have been synthesized for Mn(II), Co(II), and Fe(III). The iron complex was characterized by diffraction analysis as a μ -oxo dimer. The water-soluble metal complexes bear an alcohol ($R_1 = -CH_2-CH_2OH$) and a polyethylene glycol [$R_2 = CH_2CH_2O)_3CH_3$] as side-chain substituents that increase their hydrophilic properties. The experimental maximum absorption wavelength in the Q-band region for the water-soluble Mn(II)-Tex⁺ falls at 730 nm, and the wavelength difference with the methanol-soluble form amounts only to 3 nm. For that reason we can argue that the influence of the solubilizing substituents is negligible on the Q-band spectral properties. Therefore, the methanol-soluble complexes can represent an appropriate theoretical model for the study of solvent effects also for biological media. The influence of methanol molecules can be considered implicitly by using a continuum solvent model or explicitly by adding a few solvent molecules to the complex. The latter approach seems reasonable since the metal center tends to complete its coordination sphere as also experimentally found. At the same time, the reaction field generated by the interaction with the bulk solvent could change the electronic distribution and therefore the photochemical properties. In recent works, the coupling of continuum solvent models with explicit treatment of solvent molecules was used to well reproduced UV–vis electronic spectra. As a first step we applied the conductor-like polarizable continuum model (C-PCM) to the optimized M(II)-Tex⁺ structures, as single-point TD-DFT calculations, without adding solvent molecules. From the results reported in Table 3, it is worth noting that the excitation energies are only slightly affected by the reaction field for almost all of the compounds, the difference being within 0.01 eV in the absolute value for the M-Tex⁺s. The oscillator strength for every excitation energy results to be increased for all the compounds with respect to the vacuum state. Regarding the maximum absorption wavelengths λ_{\max} , the FB-Tex, Ni-Tex⁺, and Cu-Tex⁺ are red-shifted, improving the accordance with the experimental data, whereas for the other complexes the λ_{\max} result is unchanged.

4.1. Supramolecular Model. In the supramolecular approach two methanol molecules were added, directly bound to the metal center, as suggested from the crystallographic structures of Mn-, Co-, and Zn-Tex⁺, and the structures were fully optimized in C_2 symmetry. The determination of the most stable electronic state and the gap between the ground and first excited state was discussed previously in section 3.1. The distances between the metal and the oxygen atoms, as listed in Table 2 (M–O), show a good agreement with the experimental bond lengths, with a difference within 0.048 Å. For these structures we reported in Table 4 the vertical excitation energies, the oscillator strengths, and the main configuration computed in vacuo and including also the bulk solvent effects (C-PCM). In both cases the behavior follows again the four-orbitals Gouterman's model. For Mn-, Co-,

Table 4. Excitation Energies in eV (in Parentheses in nm), Oscillator Strengths f , Configurations, and Experimental Data for M-Tex⁺ Complexes with Two Methanol Molecules, in vacuo and Solution

state	vacuum			solution (methanol C-PCM)			expt ^b ΔE
	ΔE	$\times c4$	main configuration ^a	ΔE	$\times c4$	main configuration ^a	
Mn-Tex ⁺							
1 B	1.97 (630.9)	0.0780	28%(0-0) + 29%(1-1) 38%(0-0)	α 1.96 (633.0)	0.1207	27%(0-0) + 28%(1-1) 40%(0-0)	1.71 (727)
2 A	2.11 (586.8)	0.0575	29%(1-0) + 23%(0-1) 35%(1-0) + 12%(0-1)	α 2.09 (592.5)	0.1105	23%(0-1) + 32%(1-0) β 37%(1-0) + 8%(0-1)	
Fe-Tex ⁺							
1 B	1.97 (629.1)	0.0502	29%(0-0) + 5%(1-1) + 6%(3-0) 6%(0-0) + 8%(1-0) + 5%(2-1) + 6%(5-0)	α 1.96 (630.7)	0.0953	34%(0-0) + 3%(1-1) + 5%(3-0) β 5%(0-0) + 14%(1-0) + 38% (2-1)	1.73 (717)
2 B	2.01 (616.3)	0.0372	7%(0-0) + 57%(1-1) 8%(0-0) + 21%(1-0) + 10%(2-1)	α 2.00 (618.8)	0.0444	4%(0-0) + 58%(1-1) β 4%(0-0) + 21%(1-0) + 16%(2-1)	
3 A	2.13 (582.6)	0.0648	32%(1-0) + 14%(0-1) 4%(1-1) + 18%(0-1) + 32%(2-0)	α 2.11 (588.6)	0.1219	35%(1-0) + 10%(0-1) β 13%(0-1) + 8%(1-1) + 35%(2-0)	
Co-Tex ⁺							
1 B	1.99 (621.9)	0.0812	37%(0-0) + 8%(1-1) 37%(0-0) + 13%(1-1)	α 1.97 (628.4)	0.1312	40%(0-0) + 2%(1-1) β 34%(0-0) + 18%(1-1)	1.74 (713)
2 A	2.09 (592.6)	0.0848	34%(1-0) + 13%(0-1) 33%(1-0) + 21%(0-1)	α 2.09 (592.4)	0.1260	36%(1-0) + 11%(0-1) β 35%(1-0) + 19%(0-1)	
Ni-Tex ⁺							
1 B	2.02 (615.0)	0.0822	35%(0-0) + 12%(1-1) 39%(0-0) + 9%(1-1)	α 2.00 (621.5)	0.1327	36%(0-0) + 11%(1-1) β 41%(0-0) + 7%(1-1)	1.76 (704)
2 A	2.10 (589.6)	0.0708	34%(1-0) + 13%(0-1) 32%(1-0) + 22%(0-1)	α 2.10 (590.7)	0.1178	36%(0-1) + 11%(0-1) β 34%(0-1) + 20%(0-1)	
Cu-Tex ⁺							
1 B	1.96 (633.2)	0.0726	19%(0-0) + 28%(1-1) 21%(0-0) + 28%(1-2)	α 1.94 (638.6)	0.1068	39%(0-0) + 3%(1-1) β 36%(0-0) + 15%(1-1)	/
2 A	2.10 (589.5)	0.0745	34%(1-0) + 13%(0-1) 31%(1-0) + 22%(0-1)	α 2.07 (597.6)	0.1450	37%(1-0) + 9%(0-1) β 33%(1-0) + 21%(0-1)	
Zn-Tex ⁺							
1 B	1.97 (629.6)	0.0849	74%(0-0) + 21%(1-1)	1.96 (632.9)	0.1304	77%(0-0) + 18%(1-1)	1.76 (704)
2 A	2.11 (587.2)	0.0582	65%(1-0) + 36%(0-1)	2.09 (594.4)	0.1176	70%(1-0) + 31%(0-1)	

^a By convention, in parentheses the first number, n , is referred to as the occupied orbital contribution from HOMO- n , and the second, m , to the virtual ones LUMO+ m . ^b See Table 3, footnote a.

Ni-, and Zn-Tex⁺, in vacuo, only two excitation energies contribute to the Q-band. On the basis of the main configuration for these compounds we can assign these two excitations to a Q_x-type transition for the lowest excitation energy and to a Q_y-type transition for the next excitation energy, according to what was outlined for the electronic spectra of M-Tex⁺ bare systems (section 3.2). For the Fe-Tex⁺ complex, we found a different behavior regarding the number of excitation energies and their main configuration. Indeed, we found three excitation energies contributing to the Q-like band, with the main configuration that includes also orbital contributions to the electronic transitions other than the four Gouterman's orbitals. The introduction of the bulk solvent effects, through the C-PCM method, in the case of complexes coordinating to solvent molecules results in a slight decrease of the excitation energies (maximum deviation of 0.03 eV for Cu-Tex⁺) and an increase of the relative oscillator strengths. An overall picture of the simulated electronic spectra of Zn-Tex⁺, with and without explicit solvent molecules, and of the theoretical trend for the maximum intensity excitation energies (in eV) of all the compounds are given in Figures 4 and 5, respectively. In

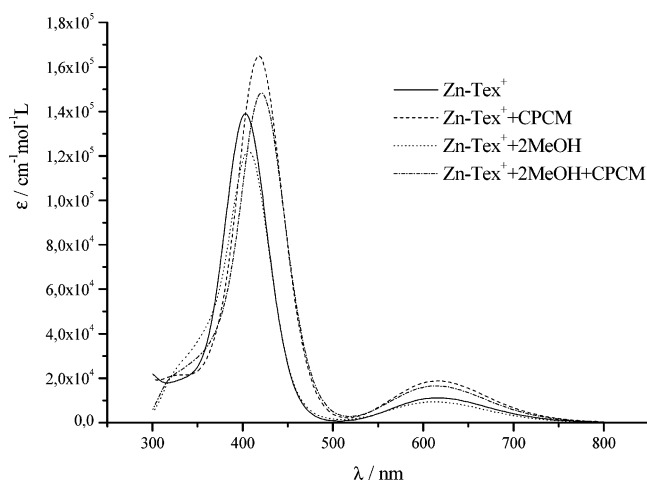


Figure 4. Simulated electronic spectra for the Zn-Tex⁺ complex both in the gas phase and methanol solution (C-PCM), with and without explicit solvent molecules.

the latter case the mean deviation from the experimental data is found to be +0.3 eV, both for the vacuum and implicit solvation models.

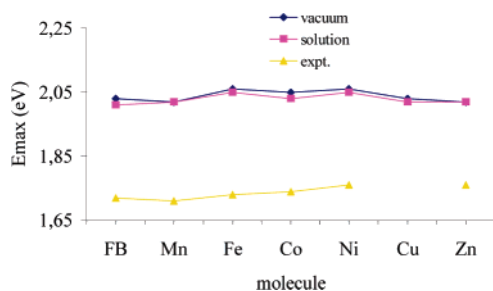


Figure 5. Theoretical and experimental trend of λ_{\max} in the Q-band region for M-TeX⁺ with two methanol molecules, in vacuo and in solution.

As suggested by one of the referees of this work we verified whether the scalar relativistic contributions can account for this error using relativistic pseudopotentials (see Computational Details section) for test calculations on the Zn-TeX⁺ complex. The results clearly show that no significant change for the excitation energies occurs with respect to the chosen pseudopotential (LANL2DZ). In fact, using both relativistic ECPs^{31,32} with 10 and 28 core electrons excitation energies of the Q-band are at 1.95 eV (Q_i) and 2.07 eV (Q_v).

5. Conclusions and Remarks

In the present work we studied the ground-state geometries and electronic absorption spectra of late first-row metal texaphyrin at the density functional level of theory both in vacuo and in methanol solution. Ground-state properties like geometrical parameters and vertical electronic excitations, were computed, analyzed, and compared with available experimental data. Owing to the use of these compounds in photodynamic therapy, particular attention was devoted to two spectral aspects, important for the design of an ideal photosensitizer: (a) determination of the energetic gap between ground and first excited states and (b) computation of the Q-band maximum absorption wavelengths and corresponding molecular orbital contribution to the electronic transitions. The influence of the solvent on the excitation energies was investigated by using polarizable dielectric continuum model (C-PCM) and including explicit solvent molecules as axial ligands to the metal center. In both cases the excitation energies are overestimated by about 0.3 eV in comparison with experimental data. About the energetic behavior, all compounds with two solvent molecules, except Co-TeX⁺, have an energetic gap between the ground and the first excited state greater than 0.98 eV and fulfill one of the requirements for their application as a photosensitizer in PDT. Hopefully this theoretical investigation of the electronic and spectroscopic properties of a class of metallotexaphyrins could give some hints for the design of more efficient agents in photodynamic therapy.

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

References

- (1) Sessler, J. L.; Murai, T.; Lynch, V.; Cyr, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5586–5588.
- (2) Sessler, J. L.; Hemmi, G.; Mody, T. D.; Murai, T.; Burrell, A.; Young, S. W. *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 43–50.
- (3) Sessler, J. L. et al. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *240*, 17–55.
- (4) Sessler, J. L.; Mody, T. D.; Hemmi, G.; Lynch, V. *Inorg. Chem.* **1993**, *32*, 3157–3187.
- (5) Guldi, D. M.; Mody, T. D.; Gerasimchuk, N.; Magda, D.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8289–8298.
- (6) Maiya, B. G.; Harman, A.; Sessler, J. L.; Hemmi, G.; Murai, T.; Mallouk, T. E. *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 8111–8115.
- (7) Sessler, J. L.; Tvermoes, N. A.; Guldi, D. M.; Mody, T. D.; Allen, W. E. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 787–794.
- (8) Shimanovich, R.; Hannah, S.; Lynch, V.; Gerasimchuk, N.; Mody, T. D.; Magda, D.; Sessler, J. L.; Groves, J. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3613–3614.
- (9) Hannah, S.; Lynch, V.; Guldi, D. M.; Gerasimchuk, N.; MacDonald, C. L. B.; Magda, D.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8416–8427.
- (10) Hannah, S.; Lynch, V.; Gerasimchuk, N.; Magda, D.; Sessler, J. L. *Org. Lett.* **2001**, *3*, No. 24, 3911–3914.
- (11) Rosenthal, D. I.; Nurenberg, P.; Becerra, C. R.; Frenkel, E. P.; Carbone, D. P.; Lum, B. L.; Miller, R.; Engel, J.; Young, S.; Miles, D.; Renschler, M. F. *Clin. Cancer Res.* **1999**, *5*, 739–745.
- (12) Viala, J.; Vanel, D.; Meingan, P.; Lartigau, E.; Carde, P. *Radiology* **1999**, *212*, 755–759.
- (13) MacDonald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 105–129.
- (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*, 41–48.
- (15) Dolmans, D. E. J. G. J.; Fukumura, D.; Jain, R. K. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 380–387.
- (16) DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233–234*, 351–371.
- (17) Schweitzer, C.; Schmidt, R. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1685–1757.
- (18) Cao, X.; Dolg, M. *Mol. Phys.* **2003**, *101*, 2427–2435.
- (19) Cao, X.; Li, Q.; Moritz, A.; Xie, Z.; Dolg, M.; Chen, X.; Fang, W. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 3444–3451.
- (20) Waluk, J.; Michl, J. *Org. Chem.* **1991**, *56*, 2729–2735.
- (21) Casida, M. E.; Time-Dependent Density Functional Response Theory for Molecules. In *Recent Advances in Density Functional Methods*, 1st ed.; Chong, D. P., Ed.; World Scientific: Singapore, Singapore, 1995; Vol. 1, pp 155–192.
- (22) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochtersky, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.;

- Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian03, revision B.05*; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004.
- (23) Ernzerhof, M.; Scuseria, G. E. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 5029–5036.
- (24) Adamo, C.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158–6170.
- (25) Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M. *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865–3868.
- (26) Hariharan, P. C.; Pople, J. A. *Theor. Chim. Acta* **1973**, *28*, 213.
- (27) Gill, P. M. W.; Johnson, B. G.; Pople, J. A.; Frisch, M. J. *Chem. Phys. Lett.* **1992**, *197*, 499.
- (28) Hay, P. J.; Wadt, W. R. *J. Chem. Phys.* **1995**, *82*, 270–283.
- (29) Francel, M. M.; Petro, W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S.; Gordon, M. H.; DeFree, D. J.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1982**, *77*, 3654–3665.
- (30) Stratmann, R. E.; Scuseria, G. E.; Frisch, M. J. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 8218–8224.
- (31) Dolg, M.; Wedig, U.; Stoll, H.; Preuss, H. *J. Chem. Phys.* **1987**, *86*, 866–872.
- (32) Schautz, F.; Flad, H. J.; Dolg, M. *Theor. Chem. Acc.* **1998**, *99*, 231–240.
- (33) Petit, L.; Quartarolo, A. D.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2398–2404.
- (34) Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 16797–16803.
- (35) Petit, L.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12214–12221.
- (36) Petit, L.; Maldivi, P.; Adamo, C. *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, *1*, 953–962.
- (37) Tomasi, J.; Persico, M. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2027–2094.
- (38) Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2999–3093.
- (39) Barone, V.; Cossi, M. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 1995–2001.
- (40) Cossi, M.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 4708–4717.
- (41) Scalmani, G.; Frisch, M. J.; Mennucci, B.; Tomasi, J.; Cammi, R.; Barone, V. *J. Chem. Phys.* **2005**, *124*, 94107–94121.
- (42) Santoro, F.; Barone, V.; Gustavsson, T.; Impropa, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16312–16322.
- (43) Impropa, R.; Barone, V.; Santoro, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 405–408.
- (44) Gorelsky, S. I. *SWizard program*; York University: Toronto, Canada, 1998. <http://www.sg-chem.net/> (accessed Sep 2006).
- (45) Gouterman, M. *J. Mol. Spectrosc.* **1961**, *6*, 138–163.
- (46) Gouterman, M.; Wagniere, G. H.; Snyder, L. C. *J. Mol. Spectrosc.* **1963**, *11*, 108–127.

CT600376H

Manoscritto

Substitution Effects on the Q-Band of Non-Planar
Phthalocyanines Compounds: A TD-DFT Study (Manuscript
Text)

Substitution Effects on the Q-Band of Non-Planar Phthalocyanines Compounds: A TD-DFT Study

Angelo Domenico Quartarolo^a, Emilia Sicilia and Nino Russo^{,a}*

a) 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

*Address correspondence to this author: Tel. +39-0984-492048, Fax. +39-0984-492044, E-mail: nrusso@unical.it

A time-dependent density functional study (TD-DFT) is presented regarding the substituent effects on the Q-bands of two classes of non-planar phthalocyanines: the α -octaphenyl and p - α -octamethoxyphenyl substituted compounds, in their free-base and zinc complex form. Structure optimizations were performed in vacuo by density functional methods, by means of the Becke-Perdew exchange-correlation functional (BP86) and a split-valence basis set (SVP) in conjunction with the resolution of identity approximation. Singlet vertical excitation energies were computed at the PBE0/SVP//BP86/SVP level of theory including also bulk solvent effects (COSMO model), and 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 from the nature of substituents and partly from distortion effects of the structures. The energetic gap between singlet ground and triplet excited state of these compounds was calculated to be within 1.45 eV for the unsubstituted zinc complex and lower than

0.98 eV, required to act as a photosensitizer in photodynamic therapy according to Type II reaction mechanism, for the other systems

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).¹⁻⁴ 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.⁵⁻⁷ Photofrin[®], a commercial derivative of hematoporphyrin (Hp) was the first photosensitizer regularly approved for PDT treatment of cancer in several countries.⁸ 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 (Φ_T and Φ_Δ); c) 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.⁹ Lutetium texaphyrin, an expanded porphyrin (Lutex, tradenamed Motexaphyn Lutetium[®]),¹⁰ m-tetrahydroxyphenylchlorin (mTHPC, Foscan[®]),¹¹ and tin etiopurpurin (SnEt2, Purlytin[®])¹² 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 peaks 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.¹³ The

coordination of phthalocyanines with diamagnetic and closed shell ions (e.g. Zn^{2+} , Al^{3+} , 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 free-metal form, in consequence of spin-orbit coupling effects.¹⁴ Zinc phthalocyanine (ZnPc) has a maximum absorption wavelength (λ_{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.^{15,16} 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.^{17,18} 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 (Chart 1, **1a-d**),^{19,20} as well as the analogous *p*-methoxyphenyl substituted systems²¹ (Chart 2, **2a-d**), phthalocyanine (H_2Pc) 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 them 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.

Computational Methods.

All calculations were performed at density functional level of theory with the TURBOMOLE V5.8 program package.²² Molecular structures, both for the singlet and triplet spin states, were fully optimized using the Becke-Perdew gradient-corrected exchange-correlation functional (BP)^{23,24} with the multipole-accelerated resolution of identity approximation (RIDFT module).^{25,26} 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

Chart 1. Structures of octaphenylated and *p*-octamethoxyphenylated H₂Pc and ZnPc

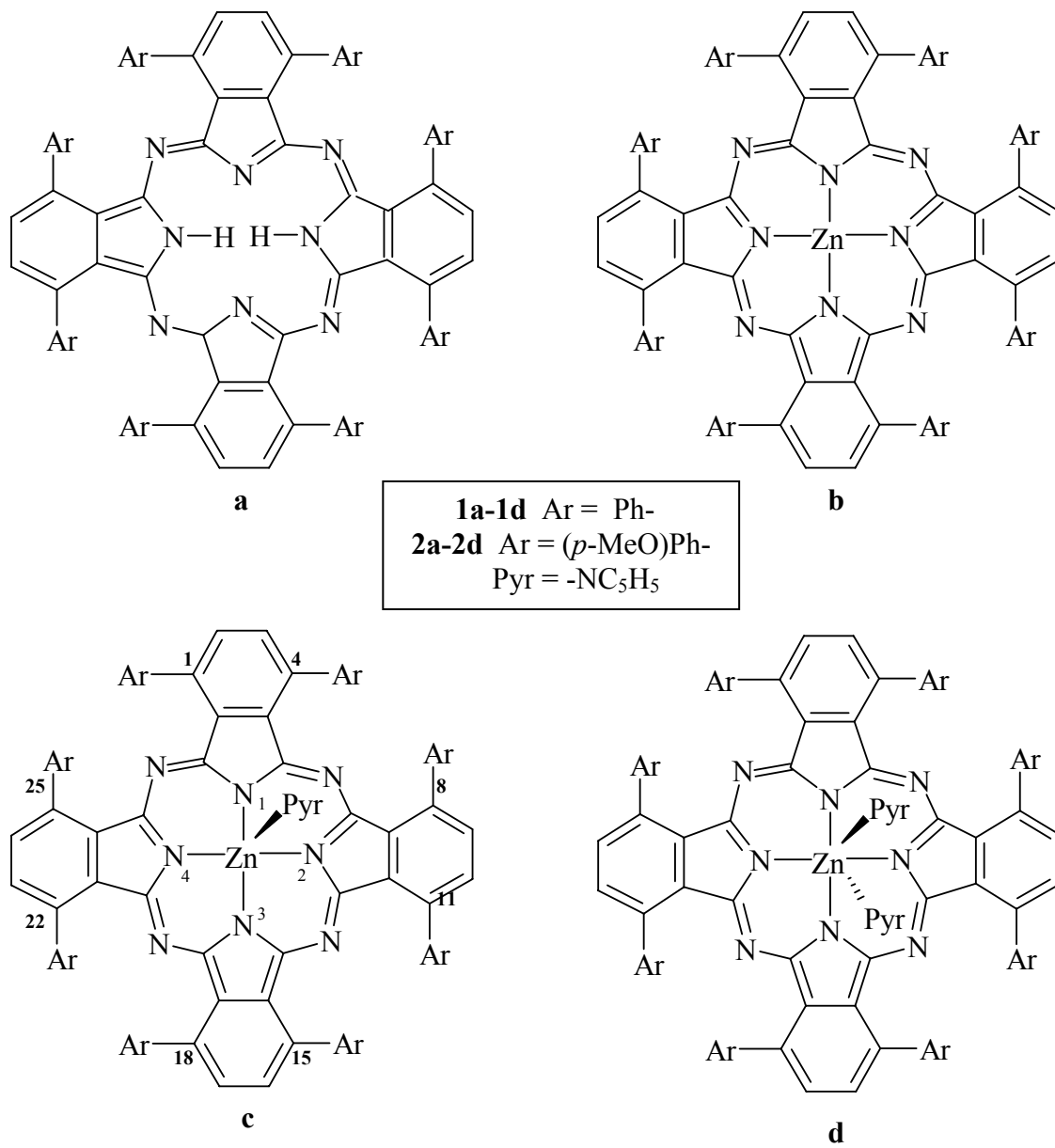
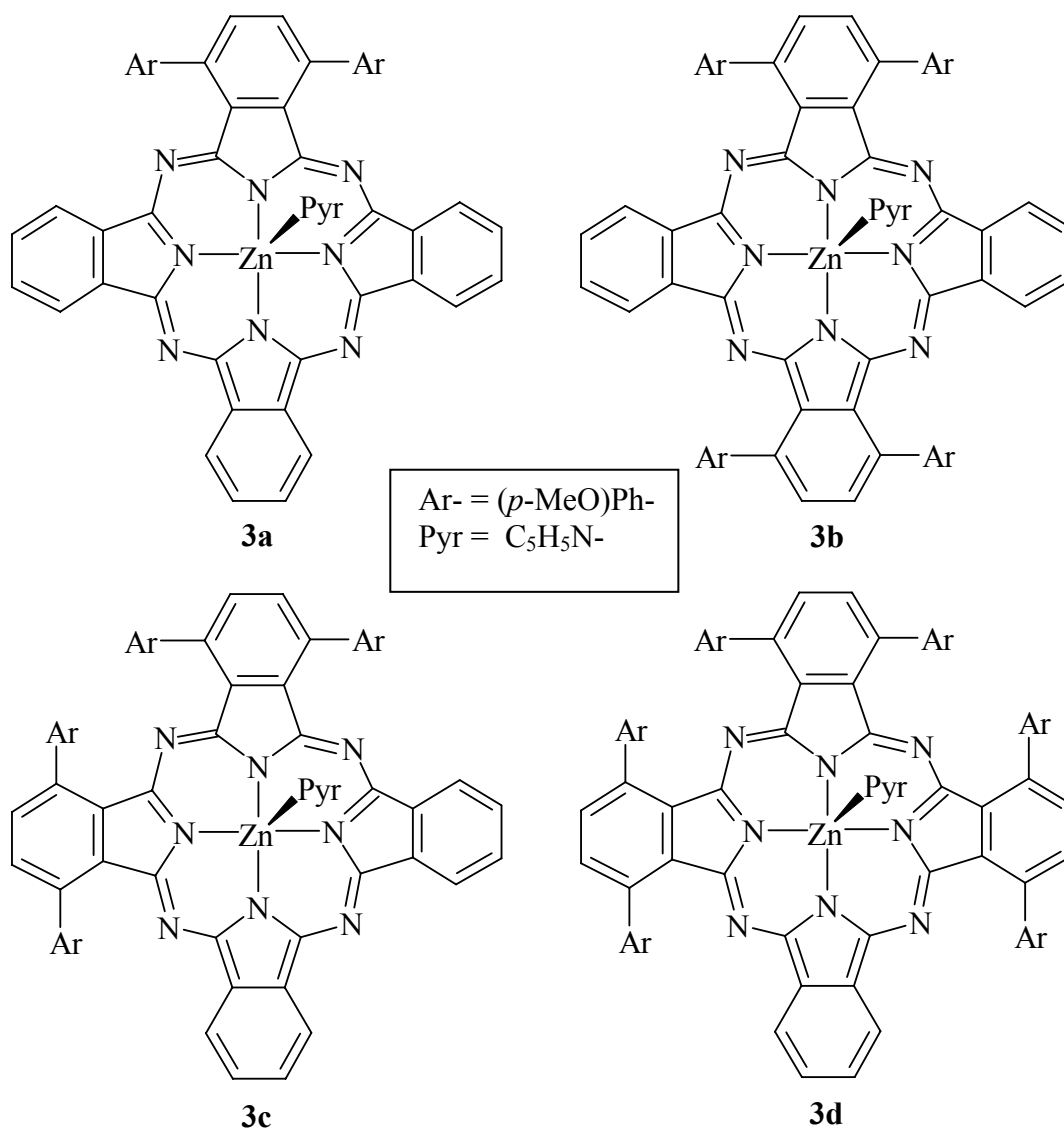


Chart 2. Structures of partly substituted *p*-octamethoxyphenylated H₂Pc and ZnPc



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.^{27,28} Vertical excitations energies were calculated for the optimized structures within the adiabatic time-dependent density functional response theory (TD-DFRT)^{29,30}, by employing the PBE0 free-parameter hybrid functional^{31,32} 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.³³⁻³⁶ 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.³⁷⁻³⁹

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.

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.⁴⁰⁻⁴² The insertion of metal ions, in the macrocycle cavity, with increased ionic radii (e.g. Pb^{2+} , Sn^{2+}), distort the geometry by reducing the molecular symmetry to C_{4v} .⁴³ During the past years, the syntheses of crystal structures of non planar substituted phthalocyanines have been reported like that of the α -octaisopentyl H_2Pc of Chambrier et al.,⁴⁴ the α - and/or β -alkoxy- and the (zinc-) α -phenylated phthalocyanines (fully and partly substituted) of Kobayashi et al.^{45,19-20} Here we will focus on the geometrical structures of fully substituted zinc(II) phthalocyanines bearing α -phenyl and *p*-methoxyphenyl substituents, as well as for the relative free

bases (Chart 1, **1a-d** and **2a-d**).¹⁹⁻²¹ Crystallographic structural data, available for molecules **1a**¹⁹ (free base phthalocyanine derivative) and **1c** (corresponding zinc complex with one pyridine axially coordinated),²⁰ show a high deformation of the four isoindole units from the planarity. This distortion effect was also reproduced at theoretical level by B3LYP/6-31G* calculations²⁰ 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 1 and 2. This class of compounds assume a folded conformation in order to minimize sterical hindrance caused by the simultaneous presence of α -phenyl (or *p*-methoxyphenyl) substituents on adjacent isoindole rings. The distance of the α -carbon atoms, bearing substituents, from the mean plane (ΔN_4) of the four inner nitrogen atoms can give a qualitative information about the degree of deviation from planarity. Considering, for instance, 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 N₁ and N₃ (see Chart 1, **2c**), are respectively 1.71 and 1.79 Å (position 1, 4), 1.74 and 1.83 Å (positions 18, 15) down the ΔN_4 mean plane; for the isoindole units containing nitrogen atoms N₂ and N₄ 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 ΔN_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.⁴⁶ 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 short comparison regarding selected bond lengths of **1c** and **2c** versus the available experimental values of **1c** is reported in Table 1. 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 ΔN_4 owing to the interaction with the pyridine molecule with a bond length from the nitrogen atom Zn-N_{pyridine} 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.⁴⁷ 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.

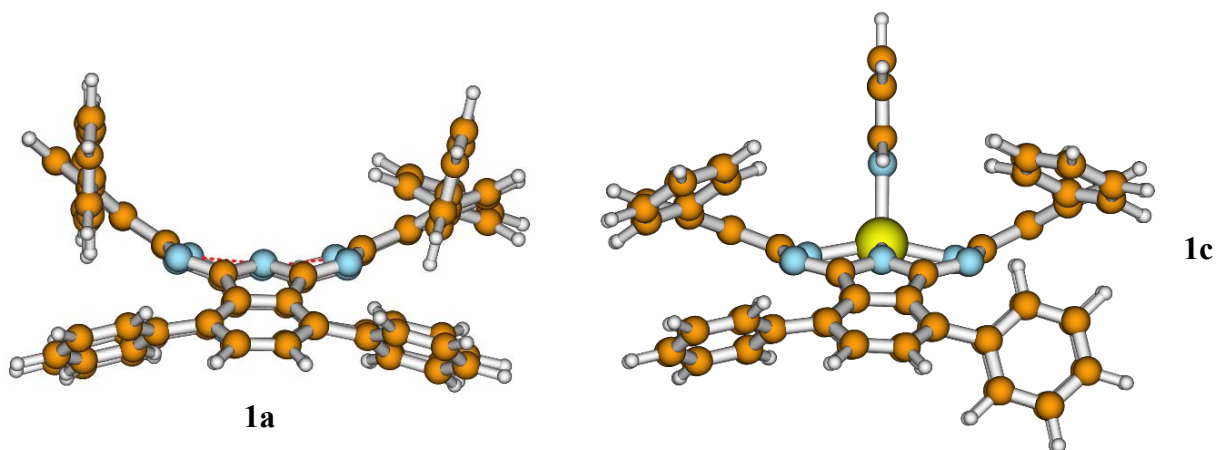


Figure 1. Optimized molecular structures for **1a** and **1c**

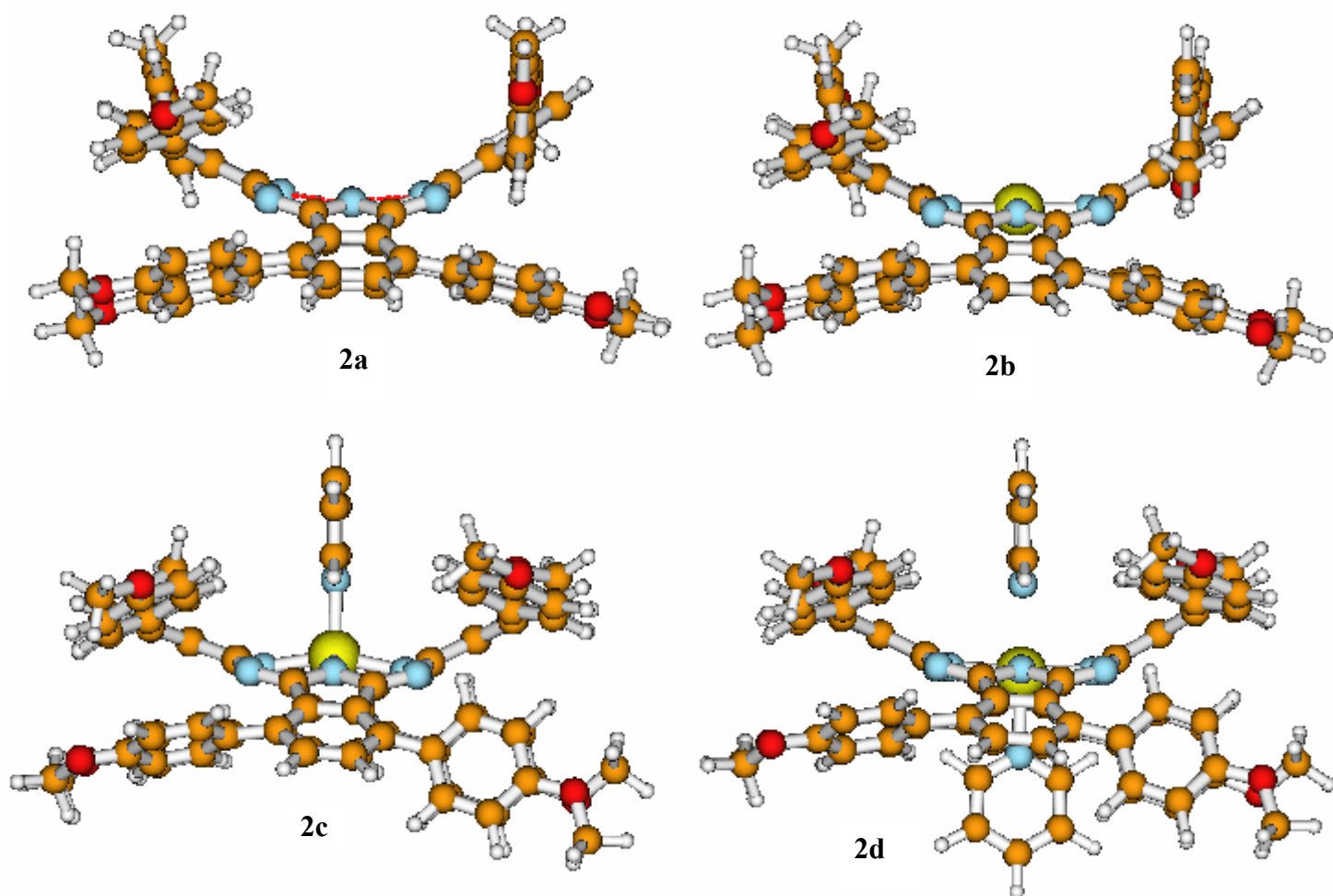


Figure 2. Optimized molecular structures for **2a-d**

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

Bond Length	Molecule		
	1c	2c	Exp. ¹⁾
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 _{pyridine}	2.173	2.177	2.143
Zn- Δ N ₄	0.414	0.406	0.398

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

Electronic Spectra in Q-Band Region.

In this section we are going to report the effect of group substitutions upon the maximum absorbance wavelength, in the near-red part of the visible spectrum (so called Q-band region), for the compounds previously introduced and for comparison will be considered also the free-base phthalocyanine (H₂Pc) and zinc-phthalocyanine (ZnPc) species. The electronic spectrum of H₂Pc, recorded in vapor phase, shows two strong absorption peaks at 1.81eV (685 nm) and 1.99 eV (623 nm) with $\pi \rightarrow \pi^*$ transition character.⁴⁸ These peaks are named respectively Q_x and Q_y bands, the first being more intense. On the other hand the electronic spectrum of ZnPc in gas phase displays only one strong main peak in the Q-band region at 1.88 eV (659 nm)⁴⁸ and in pyridine at 1.84 eV (674 nm) with the presence of a shoulder peak, nearly seven times less intense, at 2.03 eV (609 nm).²⁰ The general results obtained by our TDDFT approach, for H₂Pc, ZnPc, **1a-d** and **2a-d**, giving excitation energies, oscillator strengths, main configurations in vacuo and solvent shifts, for the Q-band transitions, are reported in Table 2. For H₂Pc (*D*_{2h} point group) the two lowest transitions 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 (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]⁴⁹ 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)⁵⁰ For the ZnPc complex (D_{4h} point group), the calculated Q-band in vacuo, 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. The introduction of phenyl substituents in H₂Pc, in the synthesis of the free-base α -octaphenyl H₂Pc (Chart 1, **1a**), gives experimentally a bathochromic shift of λ_{max} , respect to the free base phthalocyanine, to 788 nm (molar absorptivity, $\epsilon \sim 91000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, in chloroform); a shoulder peak is also present, in the Q-band region, at 699 nm ($\epsilon \sim 23400 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).¹⁹ As reported in Table 2, for compound **1a**, in vacuo we obtain a similar bathochromic effect as regards to H₂Pc. 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 (contribution of 94%). In order to get a realistic comparison between experimental λ_{max} and calculated excitation energies generating the Q-band, we simulated the electronic spectrum of the studied compounds in vacuo, by means of Gaussian functions with a half-weight bandwidth of 0.4 eV ⁵¹. The simulated spectrum for **1a** showed an electronic band with λ_{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. As concerns the corresponding zinc complex, in order to investigate also the environment effects upon spectroscopic properties, we have considered three different situations around the zinc atom (Chart 1, compounds **1b-d**), with no, one and two coordinated solvent molecules. As for the free-base **1a**, we can see from the results in Table 2 that the Q-band is composed of two electronic transitions and

similar transition contributions, with increasing λ_{max} going from **1b** (741 nm, 1.67 eV) to **1c** (752 nm, 1.65 eV) and showing in the latter case a better agreement with the experimental λ_{max} (786 nm, 1.57 eV). Theoretical calculations performed by Fukuda et al., which employed the INDO/S method, gave even better results for **1c** with the lowest excitation energies at 1.57 eV (788 nm) and 1.59 eV (781 nm). For structure **1d** (Chart 1), the distances calculated between the zinc and the nitrogens atoms of the two pyridine molecules are quite different being respectively 2.22 Å and 3.39 Å, and the value of λ_{max} (735.3 nm, 1.69 eV) is closer to that obtained for the compound **1a**. It is worth to note that the experimental value of λ_{max} is practically unchanged going from the free-base **1a** to the zinc complex, although it has been reported in two different solvents (788 nm in pyridine vs. 786 nm in chloroform). The introduction of *p*-methoxyphenyl groups in place of phenyl ones at the positions 1,4,8,11,15,18,22,25 (see Chart 1 and Figure 2, **2a-d**) red-shifts further the maximum wavelength absorbance, both experimentally and theoretically as can be seen from Table 2, owing to a better electron-donating effect on the system. The free base form **2a** resulted to have a computed λ_{max} of 758 nm (1.64 eV) and a bathochromic shift, in comparison to the computed λ_{max} of the phenyl-substituted analogue **1a**, of about 28 nm that is very close to that found experimentally (38 nm).²¹ As regards the relative zinc complexes, the structure **2d**, including two pyridine molecules in the coordination sphere of zinc, showed a better agreement with the experimental λ_{max} respect to **2b-c** structures. Indeed the energy difference with experiment is of about 0.05 eV whereas for **2b** and **2c** species the difference is of 0.07 eV, having both the same computed λ_{max} . As seen previously for the phenyl-substituted compounds, the experimental zinc complex exhibits an hypsochromic shift relative to the free base **2a**, of 14 nm that is greater than that found for the phenyl case. Our calculations, which considered different coordination around the metal center (**2b-d**) suggested an opposite trend. In Figure 3 are represented the contour surfaces of the frontier orbital HOMO, LUMO and LUMO+1 of compounds **2a-b**, which are mainly involved in the electronic transitions of interest and showed a strong $\pi \rightarrow \pi^*$ character with negligible contribution of the *p*-methoxyphenyl groups and the zinc atom, in the case of structure **2b**. Solvent

shifts on excitation energies have just been considered explicitly for **1c-d** and **2c-d** through the inclusion of solvent molecules; additional bulk solvent effects for each molecule, by means of the conductor-like screening model (COSMO), have negligible influence on excitation energies as can be seen from Table 1 and are overall of the order of few nanometers.

TABLE 2. Q-band excitation energies, ΔE , in eV (in parenthesis in nm), main transition composition, oscillator strengths f , λ_{\max} and solvent shifts $\Delta\lambda$ (in nm), for H₂Pc, ZnPc and **1a-d** and **2a-d**.

Molecule	Vacuum		Solvent			Exp.
	ΔE	Main configuration	f	λ_{\max}	$\Delta\lambda$	
Pc	2.13 (581.2)	H \rightarrow L 91%	0.427		-0.6	1.81 (685) Q _x
	2.15 (575.9)	H \rightarrow L+1 94%	0.484		+4.8	1.99 (623) Q _y ¹⁾
ZnPc	2.15 (576.2)	H \rightarrow L 94%	0.932	576.2	+1.4	1.84 (674)
						2.04 (609) Q-shoulder ²⁾
1a	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 ³⁾
1b	1.64 (757.2)	H \rightarrow L 96%	0.368	740.7	-2.3	
	1.70 (727.9)	H \rightarrow L+1 95%	0.361		+4.3	
1c	1.65 (752.9)	H \rightarrow L 95%	0.360	751.9	+1.9	1.57 (786)
	1.66 (748.6)	H \rightarrow L+1 95%	0.323		+1.1	1.78 (697) Q-shoulder ⁴⁾
1d	1.65 (750.2)	H \rightarrow L 95%	0.304	735.3	+3.1	
	1.67 (744.2)	H \rightarrow L+1 95%	0.356		-0.5	
2a	1.60 (774.3)	H \rightarrow L 96%	0.397	757.6	+5.4	1.50 (826)
	1.68 (739.0)	H \rightarrow L+1 95%	0.357		+8.7	1.70 (728) Q-shoulder ⁵⁾
2b	1.57 (788.9)	H \rightarrow L 96%	0.375	775.2	+1.5	
	1.64 (756.9)	H \rightarrow L+1 96%	0.350		+6.6	
2c	1.60 (775.0)	H \rightarrow L 94%	0.366	775.2	+6.3	1.52 (814)
	1.61 (771.1)	H \rightarrow L+1 93%	0.335		+2.2	1.70 (728) Q-shoulder ⁵⁾
2d	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	

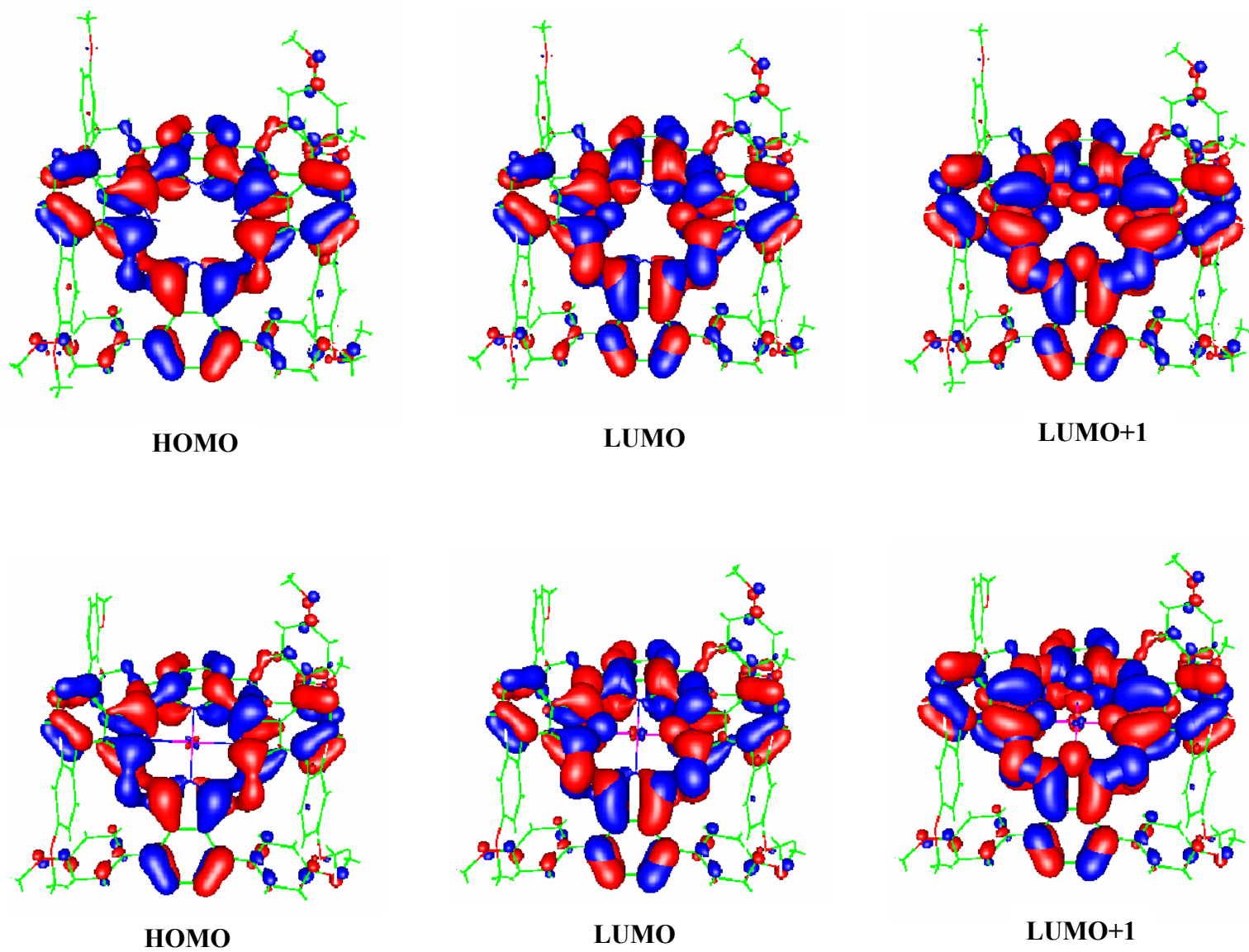


Figure 3. Isodensity surface contour plots for the HOMO, LUMO and LUMO +1 molecular orbitals **2a** (at the top) and **2b** (at the bottom)

Substitution and Non-Planarity Influences on Q-Band Red-Shift.

A further analysis was carried out on the partly *p*-methoxyphenyl substituted phthalocyanines, (not synthesized), by considering the influence of the number of *p*-methoxyphenyl groups, connected to the four isoindole units, on λ_{\max} . For this purpose, theoretical calculations have been performed on four compounds (see Chart 2, **3a-d**), in a similar fashion to that made by Fukuda et al. and based on the corresponding experimentally characterized α -phenyl substituted structures.²⁰ The relative optimized structures are reported in Figure 4, 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 λ_{\max} , obtained from our TD-DFT calculations in vacuo, are listed in Table 4 and compared with those from INDO/S method and the experiment, relative to the partly α -phenyl substituted phthalocyanines.²⁰ The calculated λ_{\max} increases with the number of *p*-methoxyphenyl groups, from 610 to 699 nm going from **3a** to **3d**, as also observed for the experimental data. The compound **3c** presents λ_{\max} higher (654 nm) than that found for the corresponding isomer **3b** (633 nm), whose isoindole rings are almost coplanar for the presence of *p*-methoxyphenyl groups on opposite sides of the molecule. The contribution of non-planarity to the Q-band red-shift of α -phenyl substituted phthalocyanines has been assigned, by Fukuda et al., mainly to ligand deformation.²⁰ Previously, the theoretical works of DiMugno and Ghosh have debated about the origin of the red-shift in the optical spectra of nonplanar porphyrins, and their conclusion converge to the fact that this 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).⁵²⁻⁵³ However in substituted nickel-porphyrin, the role of geometrical distortion on red-shift, have been found to play some role.⁵³ The influence of nonplanarity for the Q-band of α -*p*-methoxyphenyl phthalocyanines was investigated for compounds **3a-d** and **2a-c**, starting from the corresponding optimized structures in which aromatic hydrogens have replaced methoxyphenyl groups. The maximum absorbance wavelengths for these hypothetical structures are showed in Table 3 under the column λ_{\max}^* for **3a-d** and λ_{\max} for **2a** and **2c** (compounds **2a**[†] and

$2\mathbf{c}^\dagger$); λ_{\max} of $2\mathbf{b}^\dagger$ has been omitted since it is equal to that of $2\mathbf{c}^\dagger$. The values of λ_{\max}^* for $3\mathbf{a-d}$ and $2\mathbf{c}^\dagger$ are lower than that of the corresponding λ_{\max} and the difference ($\lambda_{\max} - \lambda_{\max}^*$) increases going from $3\mathbf{a}$ to the more distorted structure $2\mathbf{c}^\dagger$. This implies that the major contribution on the Q-band red-shift of $3\mathbf{a-d}$ seems to depend on the substituent increasing number. However for $2\mathbf{c}^\dagger$, for which the distortion is more marked, the introduction of substituents formally shifts the λ_{\max}^* , in order to form $2\mathbf{c}$, by nearly 110 nm, whereas starting from the complex ZnPc, including one pyridine ($\lambda_{\max} = 590$ nm), the λ_{\max}^* of $2\mathbf{c}^\dagger$ (667 nm) takes into account of nonplanarity for about 80 nm. Similar considerations and results hold also for the λ_{\max} of $2\mathbf{a}^\dagger$ compared to that of $2\mathbf{a}$ and the free-base phthalocyanine.

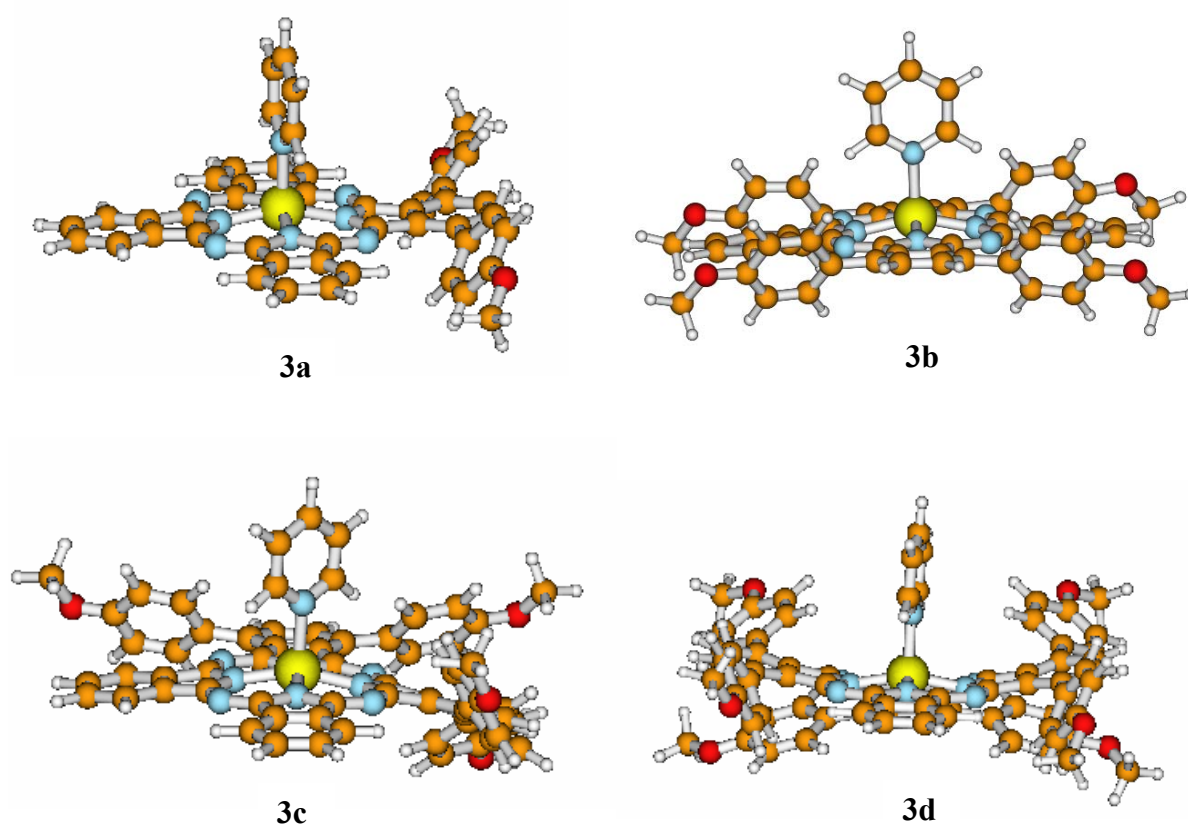


Figure 4. Optimized molecular structures for $3\mathbf{a-d}$

Table 3. Q-band excitation energies ΔE in eV (in parenthesis in nm), oscillator strengths f and λ_{\max} for **3a-d** and for the fully removed *p*-methoxyphenyl **2a-c** (**2a[†]-c[†]**).

Molecule	TD-DFT ¹⁾				INDO/S ²⁾	Exp. ²⁾
	ΔE	f	λ_{\max}	λ_{\max}^* ³⁾	ΔE	ΔE
3a	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)	
3b	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)	
3c	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)	
3d	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)	
2a[†]	1.90 (653.6)	0.364	1.90 (653.6)			
	1.91 (650.0)	0.349				
2c[†]	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 α -phenyl substituted analogous, from Ref. 20; 3) λ_{\max} for fully removed *p*-methoxyphenyl **3a-d**.

Singlet-Triplet Energetic Gaps.

In PDT process, the generation of singlet molecular oxygen by a photosensitizer is described in two ways: Types I and II reaction mechanisms.⁷ In Type I mechanism the excited photosensitizer 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 photosensitizer 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 $^3\text{O}_2$ ($^3\Sigma_g^-$) to the singlet excited state $^1\text{O}_2$ ($^1\Delta_g$). In view of this condition,

the singlet-triplet energetic gap was calculated for the compounds **1a-d**, **2a-d**, H₂Pc 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,⁵⁴ and it is overestimated by 0.22 eV as regards to a previous TD-DFT study.⁵⁵ Although for ZnPc there are experimental evidence that it is able to generate singlet oxygen,⁵⁶ to our knowledge for compounds **1a-d** and **2a-d** there are 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 3, both in vacuo and solution, seem to be discouraging: for **1a-d** compounds, although the gap calculated in vacuo tend 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.

Table 4. Singlet-Triplet energetic gap ΔE_{S-T} in gas-and solvent phase

Molecule	ΔE_{S-T}	
	vacuum	solvent
H₂Pc	1.28	1.26
ZnPc	1.49	1.45
1a	0.68	0.63
1b	0.73	0.71
1c	0.75	0.74
1d	0.78	0.78
2a	0.67	0.63
2b	0.70	0.67
2c	0.75	0.73
2d	0.70	0.71

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. Structure optimization reproduce well the experimental ring deformation of the four isoindole units and other main geometrical parameters of the studied systems. The calculated Q-band λ_{\max} red-shifts changing phenyl substituents by the more electron-donating *p*-methoxyphenyl as observed experimentally. The maximum deviation between theoretical and experimental λ_{\max} is within 0.1 eV. The influence of nonplanarity on red-shift is considerable for compounds **2a** and **2c**, whereas ligand deformations are stronger respect to partly substituted situations. The application of these near-infrared photosensitizers, as agents in photodynamic processes, was investigated with disappointing results. Infact the energetic gaps between ground and first triplet excited states resulted below the required limit of 0.98 eV for singlet oxygen generation.

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.

REFERENCES

- (56) MacDoanald, I. J.; Dougherty, T. J. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 105.
- (57) Bonnett, R. In *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy* Gordon and Breach Science Publishers: Amsterdam, 2000.
- (58) 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.
- (59) Dolmans, D. E. J. G. J.; Fukumura, D.; Jain, R. K. *Nature Reviews Cancer* **2003**, *3*, 380.

- (60) Schweitzer, C.; Schmidt, R. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1685.
- (61) DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233-234*, 351.
- (62) Schmidt, R. *Photochemistry and Photobiology* **2006**, *82*, 1161.
- (63) Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W. et al., *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 889.
- (64) Nyman, E.; Hynninen, P. H. *J. Photochem. Photobiol. B* **2004**, *73*, 1.
- (65) Sessler, J. L.; Miller, R. A. *Biochem. Pharmacol.*, **2000** *59*, 733.
- (66) Fan, K. F. M.; Hopper, C.; Speight, P. M.; Buonocorsi, G. A.; Bown, S. G. *Int. J. Cancer* **1997** *73*, 25.
- (67) Mang, T. S.; Allison, R.; Hewson, G.; Snider, W.; Moskowitz, R. *Cancer J. Sci. Am.* **1998**, *4*, 378.
- (68) Allen, C. M.; Sharman, W. M.; Van Lier, J. E. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 161.
- (69) Lukyanets, E. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **1999**, *3*, 424.
- (70) Szacilowski, K.; Wojciech, M.; Drzewiecka-Matuszek, A.; Brindell, M; Stochel, G. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2647.
- (71) Ali, H.; Van Lier, J. E. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2379.
- (72) *Phthalocyanines: Properties and Applications*; Leznoff, C. C.; Lever, A. B. P., Eds; VCH: New York, 1989-1996; Vols. 1-4.
- (73) Banfi, S.; Caruso, E.; Buccafurni, L.; Ravizza, R.; Gariboldi, M.; Monti, E. *J. Org. Chem.* **2007**, *692*, 1269.

- (74) Kobayashi, N.; Fukuda, T.; Ueno, K.; Ogino, H. , *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10740.
- (75) Fukuda, T.; Homma, S.; Kobayashi, N. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 5205.
- (76) Fukuda, T.; Ishiguro, T.; Kobayashi, N. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 2907.
- (77) 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.
- (78) Becke, A. D., *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098.
- (79) Perdew, J. P., *Phys. Rev. B* **1986**, *33*, 8822.
- (80) Eichkorn, K.; Treutler, O.; Öhm, H.; Häser, M.; Ahlrichs, R.; *Chem. Phys. Letters* **1995**, *242*, 652.
- (81) Sierka, M.; A. Hogekamp, A.; Ahlrichs, R.; *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 9136.
- (82) Schäfer, A.; Horn, H.; Ahlrichs, R.; *J. Chem. Phys.*, **1992** *97*, 2571.
- (83) Eichkorn, K.; Weigend, F.; Treutler, O.; Ahlrichs, R.; *Theor. Chem. Acc.* **1997**, *97*, 119.
- (84) Bauersnschmitt, R.; Ahlrichs, R.; *Chem. Phys. Letters* **1996**, *256*, 454.
- (85) Casida, M. E. In *Recent Advances in Density Functional Methods, Part I*; Chong, D. P., Ed.; Word Scientific: Singapore, 1995.
- (86) Ernzerhof, M.; Scuseria, G. E. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 5029.
- (87) Adamo, C.; Barone, J. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158.
- (88) Petit, L.; Quartarolo, A. D.; Adamo, C. ; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2398.
- (89) Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 16797.

- (90) Petit, L.; Adamo, C.; Russo, N. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 12214.
- (91) Quartarolo, A. D.; Russo, N.; Sicilia, E.; Lelj, F. *J. Chem. Theory Comp.* **2007**, *3*, 860.
- (92) Klamt, A.; Schuurmann, G.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1996**, *5*, 799.
- (93) Klamt, A.; Jonas, V.; *J. Chem. Phys.* **1996**, *105*, 9972.
- (94) Klamt, A.; *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 3349.
- (95) Brown, C. J. *Chem. Soc. A* **1968**, , 2488.
- (96) Robertson, J. M. *J. Chem. Soc.* **1937**, 219.
- (97) Scheidt, W. R.; Dow, W. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1101.
- (98) Friedel, M. K.; Hoskins, B. F.; Martin, R. L.; Mason, S. A. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1970**, 400.
- (99) Chambrier, L.; Cook, M. J.; Wood, P. T. *Chem. Comm.* **2000**, 2133.
- (100) Kobayashi, N.; Ogata, H.; Nonaka, N.; Luk'yanets E. A. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 5123.
- (101) Takei, Y.; Yamaguchi, T.; Osamura, Y.; Fuke, K.; Kaya, K. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 577.
- (102) Hückstädt, H.; Jaouen, C.; Göldner, M.; Cornelssen, U.; Tutaß, A.; Homborg, A. H. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2000**, 626, 671.
- (103) Edwards, L.; Gouterman, M. *J. Mol. Spectrosc.* **1970**, *33*, 292.
- (104) Zhou, X.; Ren, A.; Feng, J.; Liu X. *Can. J. Chem.* **2004**, *82*, 19.
- (105) Toyota, K.; Hasegawa, J.; Nakatsuji, H. *J. Phys. Chem.* **1997**, *101*, 446.

- (106) Gorelsky, S. I. *SWizard Program*, revision 4.2; York University: Ontario, Canada, 1998;
<http://www.sg-chem.net/swizard/>.
- (107) Wertsching, A. K.; Koch, A. S.; DiMugno, S. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3932.
- (108) Ryeng, H.; Ghosh, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8099.
- (109) Ferraudi, G. Phosphorescence of ZnPc. In *Phthalocyanines: Properties and Applications*; Leznoff, C. C.; Lever, A. B. P., Eds; VCH: New York. 1989; Vol. I.
- (110) Ricciardi, G.; Rosa, A.; Baerends, E. J. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 5242.
- (111) Wagner, J. R.; Ali, H.; Langlois, R. ; Brasseur, N. ; Van Lier, J. E. *Photochem. Photobiol.*, **1987**, *45*, 587.