

ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ ТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Т. И. Ермилова

ВВЕДЕНИЕ

Фотосенсибилизаторы (далее ФС) – это вещества, способные избирательно накапливаться в патологической области и при воздействии излучения определенной длины волны оказывать цитотоксическое действие. На этом эффекте основан метод фотодинамической терапии (ФДТ), который применяется во многих областях медицины, и в частности, в онкологии [1].

Основное ограничение метода ФДТ связано с конечной глубиной проникновения света в ткани. Биологические ткани наиболее прозрачны для оптического излучения в области так называемого “терапевтического окна” от 700 до 850 нм [1]. Большинство применяемых ФС имеют длинноволновой максимум поглощения в области 630–660 нм [2], поэтому ведется поиск веществ, интенсивно поглощающих излучение в области ближнего ИК диапазона. Перспективными в этом отношении являются индотрикарбоцианиновые красители, синтезированные на основе полиметиновых красителей в НИИ ПФП им. А.Н. Севченко [3]. Максимум поглощения индотрикарбоцианиновых красителей лежит в области 720–750 нм [4], кроме того их коэффициент экстинкции имеет высокое значение порядка $10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [5]. Однако существенным недостатком таких красителей является гидрофобность. В настоящее время ведутся работы по целенаправленному синтезу различных водорастворимых производных трикарбоцианиновых красителей.

Цель данной работы – исследовать растворимость и спектрально-люминесцентные свойства нового водорастворимого фотосенсибилизатора на основе трикарбоцианиновых красителей, провести сравнительный анализ свойств этого красителя с фотосенсибилизатором ТИКС и используемым в клинике препаратом Фотолон.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основным объектом исследования является новый фотосенсибилизатор на основе трикарбоцианиновых красителей, синтезированный в лаборатории НИИ ПФП им. А.Н. Севченко (в дальнейшем – краситель 220, согласно присвоенному лабораторному шифру). Два других фотосенсибилизатора ТИКС (трикарбоцианиновый индолениновый краситель, ковалентно связанный с глюкозой, также синтезированный в НИИ ПФП им. А.Н. Севченко) и Фотолон (комплекс тринатриевой соли хлорина еб и поливинилпирролидона производства РУП «Белмедпрепараты»), использованы с целью проведения сравнительного анализа спектрально-люминесцентных свойств исследуемого красителя. В качестве растворителей были выбраны этанол, физиологический раствор (0.9 % раствор NaCl в воде) и дистиллированная вода. Маточные растворы для трикарбоцианиновых красителей были приготовлены в этаноле ($9.1 \cdot 10^{-4}$ М для ФС ТИКС и $4.4 \cdot 10^{-4}$ М для красителя 220), для Фотолона – в физиологическом растворе ($1.6 \cdot 10^{-3}$ М). Спектрально-люминесцентные свойства фотосенсибилизаторов Фотолон, ТИКС и красителя 220 были исследованы методами абсорбционной и люминесцентной спектроскопии. Измерения проводились для растворов в полистирольных кюветах шириной 1 см. Регистрация спектров осуществлялась на спектрофлуориметре SM 2203 фирмы SOLAR.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Растворимость красителя 220 была проверена в трех выше перечисленных растворителях. В этаноле исследуемый краситель полностью растворяется (концентрация 0.7 мг/мл или $4.4 \cdot 10^{-4}$ М). В физиологическом растворе краситель растворяется частично и сбивается в хлопья (0.5 мг/мл). Следовательно, такая методика приготовления раствора для исследований *in vivo* неприменима.

В ходе данной работы было, тем не менее, установлено, что краситель 220 растворяется в дистиллированной воде (1 мг/мл или $6.3 \cdot 10^{-4}$ М), однако раствор нестабилен и со временем выпадает в осадок. Растворимость красителя в воде является положительным результатом, и этим он отличается от ТИКС, который в воде нерастворим.

Исходя из полученных данных, в качестве методики приготовления раствора можно использовать последовательное растворение красителя в спирту, затем в физиологическом растворе. С применением такой методики в данной работе при концентрации этанола в конечном растворе <0.5 % проблем с растворимостью не возникало.

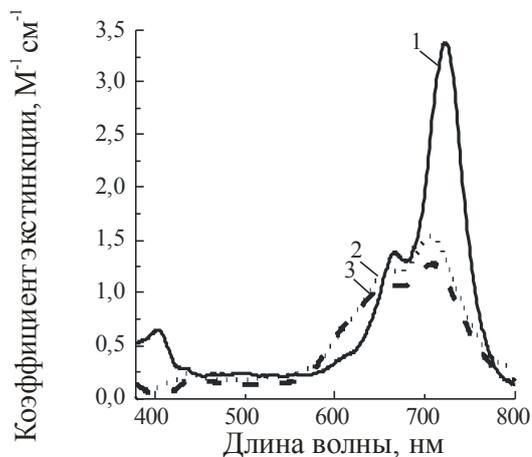


Рис.1. Спектры поглощения красителя 220 в этаноле $1,5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (1), дистиллированной воде $2,2 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (2) и физиологическом растворе $2,2 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (3)

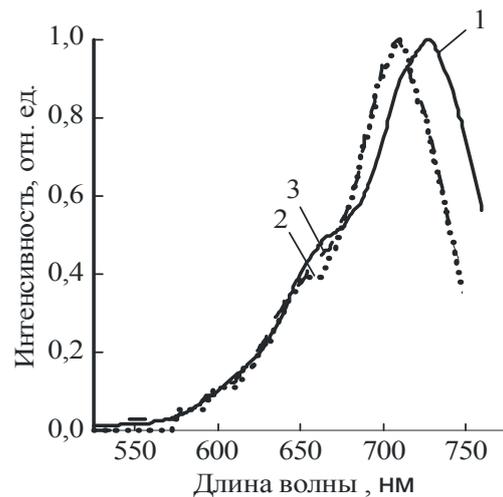


Рис.2. Спектры возбуждения флуоресценции красителя 220 в этаноле $1,5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (1), дистиллированной воде $2,4 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (2) и физиологическом растворе $2,4 \cdot 10^{-7} \text{M}$ (3); $\lambda = 780 \text{ нм}$

Спектры поглощения, возбуждения флуоресценции и спектры испускания для красителя 220 в различных растворителях приведены на рис. 1, 2 и 3 соответственно. Спектральные свойства красителя 220, как можно видеть из полученных данных, зависят от полярности среды. В более полярном растворителе (вода) по сравнению с менее полярным (этанол) спектры поглощения, возбуждения и флуоресценции смещаются в коротковолновую область, увеличивается полуширина. Наличие NaCl в воде при исследованных концентрациях не влияет ни на форму спектров поглощения, ни на положение максимумов спектра поглощения и флуоресценции мономеров красителя.

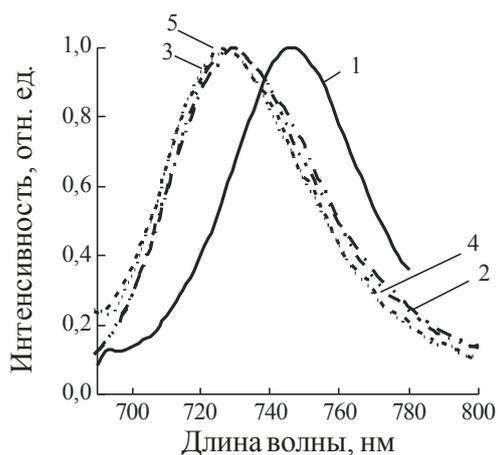


Рис. 3. Спектры флуоресценции красителя 220 в этаноле $1,5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (1), дистиллированной воде $2,2 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (2) и $2,4 \cdot 10^{-7} \text{M}$ (3), физиологическом растворе $2,2 \cdot 10^{-6} \text{M}$ (4) и $2,4 \cdot 10^{-7} \text{M}$ (5)

Форма спектров возбуждения флуоресценции не повторяет форму спектров поглощения, что свидетельствует о присутствии в растворе нефлуоресцирующих компонент. При этом вид спектров поглощения красителя 220 в водных растворах характерен, если краситель в растворе ассоциирует. Такие данные говорят о возможной агрегации красителя.

Поведение красителя 220 и ТИКС в водных и спиртовых схоже – они склонны агрегировать в водных растворах в отличие от Фотолон, который в водных растворах,

как правило, находится в мономерной форме. В спиртовых растворах все три сравниваемых красителя присутствуют преимущественно в мономерной форме, при этом коэффициенты молярной экстинкции на максимумах поглощения ТИКС и красителя 220 близки по значению и на порядок выше коэффициента экстинкции в максимуме поглощения Фотолон. Полосы поглощения мономеров ФС ТИКС и красителя 220 практически идентичны. Положения максимумов спектров флуоресценции красителей совпадают, положения максимумов спектров возбуждения флуоресценции отличаются незначительно.

ВЫВОДЫ

Краситель 220 продемонстрировал значительно лучшую водорастворимость, чем ТИКС. Тем не менее, краситель 220 уступает по этому критерию ФС Фотолон. В водных растворах полиметиновые красители, вероятно, образуют ассоциаты. Полосы поглощения мономеров полиметиновых красителей смещены в ближнюю ИК область («терапевтическое окно») приблизительно на 60 нм по сравнению с Фотолоном. Коэффициент экстинкции красителя 220 выше, чем для Фотолон, в ~6 раз в физиологическом растворе и в ~10 в этаноле.

Литература

1. *Wilson B. C., Patterson M. S.* The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy // *Phys. Med. Biol.* 2008. Vol. 53. P. R61–R109.
2. *Huang Z., Xu H., Meyers A. D. et al.* Photodynamic therapy for treatment of solid tumors – potential and technical challenges // *Technol. Cancer Res. Treat.* 2008. Vol. 4. № 7. P. 309-320.
3. *Воропай Е. С., Луговский А. П., Самцов М. П. и др.* Ковалентно связанный с глюкозой индотрикарбоцианин в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии злокачественных опухолей // Патент ВУ 7296 С1, 2005.
4. *Воропай Е. С., Самцов М. П., Чалов В. Н. и др.* Закономерности флуоресценции симметричных трикарбоцианиновых красителей в биологических тканях // *Вестн. Белорус. ун-та. Сер.1.* 1999. № 1. С. 8-12.
5. *Воропай Е. С., Самцов М. П., Каплевский К. Н. и др.* Спектрально-люминесцентные характеристики симметричного трикарбоцианинового красителя ТИКС в растворах // *Вестн. Белорус. ун-та. Сер.1.* 2000. № 2. С. 28-30.