

ПРОЦЕССЫ СВЯЗЫВАНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО ПОЛИМЕТИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ С КОМПОНЕНТАМИ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Хлудеев И.И.¹, Самцов М.П.²

¹*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

²*НИИПФП им. Севченко БГУ, Минск, Беларусь*

Избирательность воздействия является одним из основных преимуществ метода фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении злокачественных новообразований. Достигается она, в том числе благодаря селективному накоплению фотосенсибилизаторов (ФС) в ткани-мишени. Стандартный протокол ФДТ предусматривает введение препарата в организм путем внутривенной инъекции, поэтому локализация и контрастность накопления ФС зависит от процессов транспорта в кровеносной системе. Большинство используемых в клинической практике ФС в кровотоке находятся в виде комплексов с различными типами белков сыворотки крови [1].

Полиметиновые красители (ПК) считаются перспективными для использования в ФДТ, поскольку эти соединения имеют интенсивную полосу поглощения в дальней красной области (720-750 нм) – в так называемой «полосе прозрачности», где глубина проникновения света в биологические ткани существенно повышена. Однако большинство ПК являются гидрофобными соединениями, которые слабо- или нерастворимы в воде. Это приводит к агрегации ПК в водной среде, следствием которой может являться значительное изменение их фотофизических характеристик. Образование комплексов ПК с белками сыворотки крови также может влиять как на их фармакокинетическое поведение в крови, так и на фотофизические характеристики данных соединений.

В данной работе исследовано связывание полиметиновых красителей с белками сыворотки крови и проведена оценка влияния комплексобразования на спектральные и фотохимические характеристики полиметиновых красителей в процессе фотовоздействия в условиях *in vitro*.

В работе использовали индотрикарбоцианиновые красители, синтезированные в лаборатории спектроскопии НИИ ПФП им. Севченко [2] – P154 и его производное P220, полученное путем замещения двух карбоксильных групп молекулами полиэтиленгликоля с молекулярной массой 400 кДа. Стоковые растворы ПК с концентрацией 5×10^{-4} моль/л готовили в этаноле (P154) и в дистиллированной воде (P220). Спектры по-

глощения и люминесценции регистрировали с помощью спектрофлуориметра СОЛАР СМ 2203. Оценку связывания ПК с компонентами сыворотки крови человека проводили методом эксклюзионной гель-хроматографии на колонках Sigma (1,5×50 см) с гелем Sephadex G-200, уравновешенным фосфатно-солевым буфером Дюльбекко pH 7,4 (ФСБ). Фотооблучение образцов проводили, используя полупроводниковые лазеры ($\lambda_{\text{изл}}=660$ нм и 740 нм) с регулируемой (2-400 мВт) мощностью излучения.

Гель-хроматографическое разделение образцов сыворотки, окрашенной ПК, позволило установить, что исследуемые соединения образуют комплексы с белками сыворотки крови человека и выходят из колонки вместе с фракциями сывороточного альбумина (САЧ) и липопротеинов высокой и низкой плотности (рисунок 1).

Для P154 относительное количество пигмента, связанного с САЧ, почти в 2 раза больше, чем доля пигмента, связанного с липопротеинами. В то же время P220 проявляет более высокое в сравнении с P154 сродство к липопротеинам – с этими компонентами сыворотки крови связывается более половины суммарного количества пигмента. Анализ характеристик связывания методом тушения флуоресценции показал, что расположение мест связывания на молекуле САЧ для катионных ПК отличается от мест связывания, характерных для молекул хлоринов, имеющих анионные боковые группы.

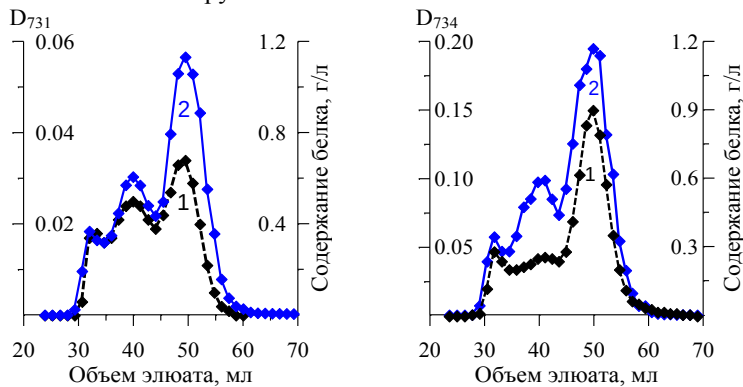


Рисунок 1 – Связывание красителей P220 (левая панель) и P154 (правая панель) с белками сыворотки крови человека:

1 – оптическая плотность фракций в максимуме поглощения ПК,
2 – концентрация белка во фракциях

Исследование спектральных характеристик ПК показало, что в водном растворе (ФСБ рН 7,4) максимумы поглощения красителей смещены в коротковолновую область. По мере роста концентрации сыворотки в образце от 0 до 0,5 % наблюдается сдвиг максимума полосы поглощения P154 от 704 нм (в ФСБ) до 730 нм. Дальнейший рост содержания сыворотки в водной среде вызывает незначительное смещение положения максимума, достигая 732 нм при $C_{\text{сыв}} \geq 0,95$ %.

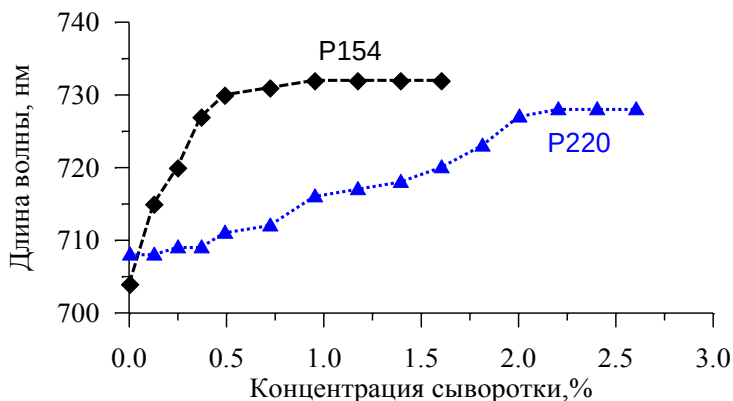


Рисунок 2 – Влияние сыворотки на спектральные характеристики ПК

Следует отметить, что для получения схожего эффекта для P220 требуется существенно большие количества сывороточных белков. Так, при росте концентрации сыворотки в образце с 0 до 0,95 % положение максимума полосы поглощения данного красителя смещается от 709 нм до 716 нм. Максимальный длинноволновый сдвиг максимума поглощения для P220 (до 729 нм) в водных растворах наблюдается при концентрации сыворотки ≥ 2 %.

Представленные результаты показывают, что образование комплексов с белками плазмы крови существенно влияет на фотофизические характеристики полиметиновых красителей, что необходимо учитывать при разработке протоколов применения данных соединений в ФДТ.

Литература

1. Hasan T., Ortel B., Moor A.C.E., Pogue B.W. Photosensitizer Transport and Distribution // Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition. Kufe D.W., Pollock R.E., Weichselbaum R.R., et al., editors. Hamilton: BC Decker; 2003.
2. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A.A. Lugovski [et al.] // J. Photochem. and Photobiol. A: Chem. – 2016. – Vol. 316, № 1. – P. 31-36.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ РЕГУЛЯЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ

Шишкина Л.Н., Бабкин А.Ю., Козлов М.В., Хватов А.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
Москва, Россия*

Эритроцит, являющийся высокоспециализированной клеткой, активно участвует в метаболических процессах, связанных с поддержанием гомеостаза на уровне целого организма. Эритроциты чувствительны к окислительным повреждениям, поскольку в их липидах достаточно высока концентрация субстратов окисления (полиненасыщенные жирные кислоты), а в составе эритроцита присутствует потенциальный промотор окислительных процессов – гемоглобин. Именно эти обстоятельства делают эритроциты чрезвычайно удобной клеточной моделью для исследования как механизмов развития окислительных повреждений, так и для оценки антиоксидантных (АО) и мембранопротекторных свойств различных соединений [1-3]. Ранее было установлено существование физико-химической системы регуляции процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на уровне клеток и тканей различных биологических объектов [4, 5]. Показано, что соотношение сумм более легко (ЛО) – и более трудноокисляемых (ТО) фракций фосфолипидов (ФЛ), т.е. $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$, характеризует способность липидов к окислению, а соотношение основных фракций ФЛ тканей млекопитающих фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин (ФХ/ФЭ) и мольное отношение [стерины]/[ФЛ] отражают структурное состояние мембранной системы клетки или органа [4]. Как известно, эритроциты должны обладать, с одной стороны, механической стабильностью, что необходимо для сохранения це-