

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 535.37; 541.14

Ляшенко
Людмила Сергеевна

Фотофизика фотоактивных трикарбоцианиновых красителей

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

по специальности 01.04.05 – оптика

Минск, 2011

Работа выполнена в Белорусском государственном университете и НИУ «Институт прикладных физических проблем имени А.Н. Севченко» Белорусского государственного университета.

Научный руководитель – Самцов Михаил Петрович,
доктор физико-математических наук, доцент, заведующий лабораторией спектроскопии НИУ «Институт прикладных физических проблем имени А.Н. Севченко» Белорусского государственного университета.

Официальные оппоненты: Зенькевич Эдуард Иосифович,
доктор физ.-мат. наук, профессор, профессор кафедры физики факультета инновационных технологий и робототехники Белорусского национального технического университета;

Лешенюк Николай Степанович,
доктор физ.-мат. наук, профессор, профессор кафедры естественных наук Государственного учреждения образования "Командно-инженерный институт" Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь.

Оппонирующая организация – Государственное научное учреждение «Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси».

Защита состоится 23 декабря 2011 г. в 14⁰⁰ часов на заседании совета по защите диссертации Д 02.01.17 при Белорусском государственном университете по адресу: 220030, г. Минск, ул. Ленинградская, 8 (корпус юридического факультета), ауд. 407; тел. учёного секретаря: 209-57-09.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Белорусского государственного университета.

Автореферат разослан " " ноября 2011 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертации
доктор физико-математических наук, профессор

И.М. Гулис

КРАТКОЕ ВВЕДЕНИЕ

Полиметиновые красители (ПК) широко применяются в устройствах квантовой электроники, в оптических дисках записи информации, в качестве биосенсоров различного назначения. В последнее время в литературе рассматриваются возможности их применения в качестве фотосенсибилизаторов для фотохимиотерапии и оптической диагностики локализации опухолей. При фотохимиотерапии в организм вводится фотосенсибилизатор, который накапливается в опухолевых тканях, а затем проводится локальное фотовоздействие излучением подходящей длины волны. В основе этого метода лежат фотохимические реакции, эффективность которых определяется фотосенсибилизатором и зависит от параметров светового потока и иных условий фотовоздействия. В связи с ростом резистентности микроорганизмов к антибиотикам, фототерапия становится перспективным методом для лечения и бактериальных инфекций.

Трикарбоцианиновые красители, относящиеся к классу полиметиновых красителей, имеют полосы поглощения расположенные в ближнем ИК-диапазоне. Некоторые красители обладают способностью избирательно накапливаться в раковых клетках и проявляют выраженные фототоксические свойства, что делает их перспективными фотосенсибилизаторами для фотохимиотерапии новообразований. Наличие у ПК интенсивного поглощения в области “окна прозрачности” биотканей позволяет получать информацию не только с поверхности, но и из глубины тканей. Применение соединений этого класса в медико-биологических аспектах предполагает проведение анализа их флуоресцентных свойств в биологических системах. В связи с этим важно определить условия, которые обеспечат возможность корректной регистрации характеристик фотолюминесценции красителей в тканях *in vivo*.

Актуальным является изучение вопросов фотофизики биоактивных соединений, имеющих интенсивное поглощение в спектральной области прозрачности биологических тканей, которые к моменту постановки диссертационной работы оставались малоизученными. Несомненный интерес представляет изучение спектрально-люминесцентных свойств трикарбоцианиновых красителей в культуре опухолевых клеток, в модельных биологических средах и в тканях животных *in vivo*. Исследования по выявлению взаимосвязи между спектральными характеристиками локализованных в опухолевых клетках красителей, флуоресцирующих в ближнем ИК-диапазоне, с эффективностью повреждения опухолевых тканей в процессе фотохимиотерапии позволяют выработать на этой основе рекомендации по оптимизации условий их практического применения.

Исследования механизма фотоактивности катионных трикарбоцианиновых красителей, который не укладывается в рамки схемы повреждения опухолевых клеток вследствие образования синглетного кислорода, представляют интерес не только с практической точки зрения, но и в плане построения общей картины протекания фотопроцессов в сложных органических молекулах.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Основные результаты диссертационной работы получены при выполнении заданий Государственных программ научных исследований в области естественных наук:

«Разработать флуоресцентные инфракрасные спецметки, аппаратные средства их обнаружения и идентификации на документах и ценных бумагах» ГНТП «Защита документов» Задания 3-5 (№ гос. регистрации 20065022, 2006 – 2007 г.г.).

«Разработка фотосенсибилизаторов на основе трикарбоцианиновых красителей, оптимизация их свойств и методик применения для лазерно-оптической диагностики и терапии онкологических заболеваний» ГКПНИ «Фотоника» (№ гос. регистрации 2007452, 2006 – 2010 г.г.).

«Фотоиндуцированные лазерным излучением процессы в модифицированных полиметиновых красителях связанных с макромолекулами» ГКПНИ «Кристаллические и молекулярные структуры» (№ гос. регистрации 2007455, 2006 – 2010 г.г.).

«Разработка методов исследования и диагностики систем с низкоразмерным структурированием на основе спектроскопии комбинационного рассеяния и люминесценции» ГКПНИ "Наноматериалы и нанотехнологии" (№ гос. регистрации 20063892, 2006 – 2010 г.г.).

«Развитие физических основ и разработка эффективных лимитеров лазерного излучения на основе новых полиметиновых красителей» ГКПНИ «Фотоника» (№ гос. регистрации 2007453, 2006 – 2010 г.г.).

«Разработка способа синтеза сенсибилизатора нового поколения для фотохимиотерапии новообразований с активацией светом ближнего ИК-диапазона, исследование его физико-химических и медико-биологических свойств» (№ гос. регистрации: 20103307, 2010 – 2011 г.г.).

Тема диссертационной работы «Фотофизика фотоактивных трикарбоцианиновых красителей» отвечает современным тенденциям развития науки и

соответствует перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь (п.п.3.5; 3.12; 4.1; 4.4).

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы являлось установление закономерностей протекания фотофизических и фотохимических процессов в симметричных трикарбоцианиновых красителях, влияния на них физико-химических параметров среды и возбуждающего излучения, выработка на этой основе рекомендаций по оптимизации условий применения ПК в качестве фотосенсибилизаторов для диагностики и лечения рака и фотодинамической антибактериальной терапии.

Для достижения поставленной в диссертационной работе цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Выяснить оптимальные условия, которые обеспечивают возможность корректной регистрации характеристик фотолюминесценции соединений в тканях *in vivo* с помощью спектрометра со световодом.

2. Изучить спектрально- флуоресцентные характеристики трикарбоцианинового красителя в опухолевых и мышечных тканях *in vivo*.

3. Выявить корреляции между спектральными характеристиками локализованного в опухолевых клетках, флуоресцирующего в ближнем ИК-диапазоне, красителя с эффективностью повреждения опухолевых тканей в процессе фотохимиотерапии.

4. Изучить влияние энергии фотона на эффективность фотохимиотерапии с трикарбоцианиновыми красителями.

5. Изучить механизм фотоактивности трикарбоцианиновых красителей в гипоксических условиях.

Объект и предмет исследования

В качестве объектов исследования выбраны уже известные и новые трикарбоцианиновые красители, которые синтезированы в лаборатории спектроскопии НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ. Предметом исследования являлись фотофизические и фотохимические процессы, спектрально-флуоресцентные характеристики трикарбоцианиновых красителей в растворах, биологических структурах и живом организме, а также фототоксичность новых красителей.

Положения, выносимые на защиту

1. Различия в форме и положении максимума спектра флуоресценции трикарбоцианинового красителя при регистрации *in vivo* в опухолевых и нормальных тканях обусловлены: (а) понижением полярности окружения молекул при перераспределении фотосенсибилизатора из крови в ткани, (б) отличием

спектров пропускания тканей вследствие изменения концентраций различных форм гемоглобина.

2. Фотохимиотерапевтическое повреждение опухолевых тканей возрастает в 3 раза при изменении длины волны фотовоздействия в диапазоне от 668 до 780 нм, сопровождается увеличением полуширины и коротковолновым смещением в спектрах флуоресценции трикарбоцианинов *in vivo*, и обусловлено различием в пропускании тканей и ростом локальной концентрации кислорода.

3. Необходимыми условиями корректной регистрации флуоресценции фотосенсибилизаторов для области 710-900 нм в биотканях *in vivo* являются: (а) для снижения уровня фоновой флуоресценции – использование в качестве источников возбуждения лазеров с длиной волны генерации более 670-680 нм; (б) для обеспечения пропорциональности сигнала флуоресценции фотосенсибилизатора его концентрации – контроль глубины проникновения света в ткань и изменений формы спектров со временем после введения фотосенсибилизатора.

4. Причиной изменения фотофизических и фотохимических характеристик трикарбоцианинового красителя в малополярных растворителях при введении тетрабутиламмоний бромида является увеличение доли тесных контактных пар и образование свободных радикалов в результате сверхбыстрого (≤ 150 фс) переноса электрона между катионом и анионом молекул.

Личный вклад соискателя

Основные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно. Все основные результаты, определяющие научную и практическую значимость работы, проведение исследований, статистическая обработка данных и их интерпретация получены и проработаны автором или при его непосредственном участии. Все приведенные с участием автора в диссертации публикации подготовлены либо лично автором, либо по его инициативе и непосредственном участии. Постановка задач, определение целей исследования и интерпретация экспериментальных результатов проводилась совместно с научным руководителем Самцовым М.П. В обсуждении результатов принимали участие соискатель, научный руководитель, а также доктор физико-математических наук Воропай Е.С. и кандидаты физико-математических наук Каплевский К.Н. и Мельников Д.С.

Луговский А.П. и Луговский А.А. осуществляли синтез исследованных соединений. Александрова Е.Н., Ермакова Т.С., Истомина Ю.П., Чалов В.Н. участвовали в обсуждении методики проведения отдельных экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Буганов О.В., Тихомиров С.А., Широканов А.Д. принимали уча-

стие в планировании эксперимента по изучению нестационарных спектров индотрикарбоцианиновых красителей с фемтосекундным разрешением. Демид Д.И., Петров П.Т. принимали участие в обсуждении методов синтеза и очистки соединений. Радько А.Е., Тарасов Д.С., Шевченко К.А. принимали участие в разработке отдельных узлов спектрометрической аппаратуры.

Апробация результатов диссертации

Основные результаты работы докладывались автором лично и обсуждались на следующих конференциях:

1. Международных научных конференциях «Волны -2006, -2007, -2008» (Москва - 2006, 2007, 2008).
2. 3 Международной конференции по молекулярной спектроскопии (Самарканд, 2006).
3. V Международной конференции молодых ученых и специалистов «Оптика-2007» (Санкт- Петербург, 2007).
4. XIV – XIX Республиканской научной конференции аспирантов, магистрантов и студентов (Гродно 2006 - 2011).
5. VIII и VIV Съездах белорусского общества фотобиологов и биофизиков (Минск - 2008, 2010).
6. VII и VIII Международных конференциях «Лазерная физика и оптические технологии» (Минск, 2008, 2010).
7. II и III Конгрессе физиков Беларуси (Минск - 2008, 2011).
8. 4-th International conference on materials science and condensed matter physics (Chisinau, 2008).
9. International Conference «Optical Techniques and Nano-Tools for Material and Life Sciences» (Minsk, 2010).
10. VIII Международной конференции «Лазерная физика и оптические технологии» (Минск, 2010).
11. 2 - 4 Международной научно- технической конференции «ПРИБОРОСТРОЕНИЕ» (Минск -2009, -2010, -2011).
12. XXIV Съезде по спектроскопии (Троицк - 2010).
13. VIII Международной научно-технической конференции "Квантовая электроника" (Минск, 2010).
14. Международной научно-практической конференции «Белорусские лекарства» (Минск, 2010).
15. Международной научно-практической конференции «Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния» (Минск, 2011).

Опубликованность результатов диссертации

Результаты диссертации опубликованы в 41 научной работе, из них: 7 статей в реферируемых научных журналах (общим объёмом 3,35 авторского листа), 17 статей в сборниках научных трудов и материалов научных конференций, 17 тезисов докладов на научных конференциях. На основе результатов диссертации получен 1 патент и опубликована 1 заявка на патент.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа включает перечень условных обозначений, введение, общую характеристику работы, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, три главы, посвящённые изложению оригинальных исследований, заключение, библиографический список и 1 приложение. Полный объём диссертации составляет 147 страниц. Диссертация содержит 12 таблиц на 7 страницах и 59 рисунков на 28 страницах. 1 приложение занимает 2 страницы. Библиографический список состоит из 267 наименований, включая собственные публикации автора.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ

Глава 1 является литературным обзором. Приведен обзор работ по исследованию спектрально-люминесцентных и фотохимических свойств ПК в растворах, а также при их взаимодействии с биологическими структурами и непосредственно в живом организме (*in vivo*). Проведен анализ литературных данных по использованию оптических фантомов эквивалентных биологической ткани при оптической медицинской диагностики и терапии. На основании анализа проблем и достижений, описанных в данной главе, сформулирована цель работы и основные задачи исследования.

Глава 2 является методической. В этой главе приведены структурные формулы исследованных соединений с условными обозначениями ПК1 – ПК13, дано описание экспериментальных методов и аппаратуры для проведения спектрально-люминесцентных исследований трикарбоцианиновых красителей в растворах и биологических структурах, а также методики работы с микробиологическими структурами.

Описаны основные параметры разработанной управляемой газоразрядной импульсной лампы наносекундной длительности для использования в качестве источника возбуждения вторичных свечений в аппаратуре по исследованию быстропротекающих процессов в оптической спектроскопии, биологии, медицине. Разработанное устройство входит в состав спектрометрического комплекса для спектрально-кинетических измерений в наносекундном временном диапазоне и предназначено для измерения временных параметров флуоресценции.

Глава 3 посвящена выяснению оптимальных условий, которые обеспечивают возможность корректной регистрации характеристик фотолюминесценции соединений в тканях *in vivo*. Показано, что для уменьшения влияния собственного свечения биотканей при регистрации флуоресценции в спектральном диапазоне 710-900 нм *in vivo* следует использовать для возбуждения излучение лазерных источников с длиной волны более 676 нм.

Для определения размеров области, с которой регистрируется флуоресценция красителя в конкретных экспериментальных условиях, проведен анализ влияния толщины образцов тканей на величину сигнала флуоресценции. Экспериментально установлено, что флуоресценция регистрируется от молекул красителя находящихся не только в коже и непосредственно прилегающих к ней слоях опухолевой ткани, но и на значительной глубине (~ 2 см). На основании теории переноса излучения построена математическая модель для расчета интенсивности флуоресценции красителя, находящегося в биологической ткани. Суммарная интенсивность флуоресценции на поверхности ткани в направлении световода рассчитывалась по формуле (1):

$$F(0, \infty) = \varphi_f \int_0^{\infty} E(0, z) \cdot \Phi(z) \mu_{a\Phi C} dz \quad (1)$$

где $\Phi(z)$ – интегральная интенсивность света на глубине z , определялась из диффузионного уравнения теории переноса, $\mu_{a\Phi C}$ – коэффициент поглощения фотосенсибилизатора, φ_f – квантовый выход флуоресценции фотосенсибилизатора. Доля света флуоресценции, которая достигает поверхности ткани от молекул красителя на глубине z , определялась по формуле (2):

$$E(0, z) = \frac{1}{2} \cdot \exp(-\mu_{eff} z) \cdot \left[1 + \exp\left(-\frac{4A\mu_{eff}}{3\mu'_t}\right) \right] \quad (2)$$

где $\mu'_t = \mu_s(1 - g) + \mu_a$, $\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s(1 - g))}$ – коэффициент эффективно-го ослабления, μ_s – коэффициент рассеяния ткани, μ_a – коэффициент поглощения ткани, g – параметр анизотропии, A – параметр, зависящий от коэффициента преломления ткани и окружающей среды.

Сравнение теоретической функции $F(0, z)$ с экспериментальной зависимостью величины сигнала флуоресценции от толщины образца позволило численными методами рассчитать параметры среды, при которых практически наблюдается их совпадение (рисунок 1).

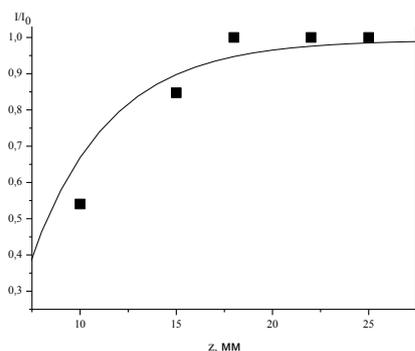


Рисунок 1 – Зависимость рассчитанная (сплошная линия) и экспериментальная (точки) сигнала флуоресценции ПК от толщины опухолевой ткани

Показано, что путем увеличения площади поверхности, с которой регистрируется излучение, и ослабления механической нагрузки разброс интенсивности в спектрах флуоресценции фотосенсибилизатора примерно на порядок уменьшается при съеме информации *in vivo*.

Приведены результаты исследований по разработке модели имитирующих мер, обеспечивающих возможность их использования в качестве элемента контроля стабильности оптических параметров спектрометра, используемого для определения интенсивности флуоресценции ПК в биологической ткани. Установлено, что имитирующие меры на основе целлюлозы и ПК могут достаточно долго сохранять неизменными флуоресцентные свойства, обеспечивают возможность регистрации концентрации фотосенсибилизатора в тканях *in vivo* и контроль стабильности параметров спектрометра. Установлено, что для обеспечения пропорциональности сигнала флуоресценции фотосенсибилизатора его концентрации *in vivo* необходимо контролировать глубину проникновения света и форму спектров флуоресценции при введении нескольких концентраций фотосенсибилизатора.

Глава 4 посвящена изучению фотофизических свойств и фотоактивности трикарбоцианиновых красителей в биологических структурах.

В результате исследований спектров флуоресценции ПК *in vivo* фотосенсибилизатора установлено, что форма и положение спектров красителей в опухолевых и здоровых тканях с течением времени после внутривенного введения изменяются (рисунок 2).

Происходит увеличение полуширины и длинноволновое смещение спектра флуоресценции ПК в опухоли и в бедре. Наблюдаемые изменения спектров развиваются в течение 40 – 100 минут после введения препарата, при этом интенсивность флуоресценции красителя в тканях уменьшается в несколько раз и примерно на порядок уменьшается концентрация красителя в крови животных.

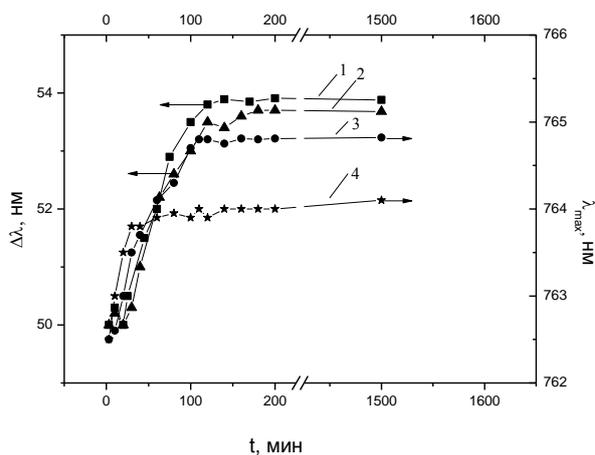


Рисунок 2 - Зависимость полуширины (1, 2) и положения максимума (3, 4) спектра флуоресценции от времени после введения фотосенсибилизатора (1, 3) в опухолевой ткани SM-1, (2, 4) в бедре *in vivo*

Проведено сравнение спектральных свойств ПК в ряде сред для определения природы окружения молекул красителя в опухолевых тканях *in vivo*. Определено, что молекулы красителя *in vivo*, как и в клетках Hela, локализованы в среде с низкой диэлектрической проницаемостью, что характерно для соединений этого класса при образовании комплексов с белками или при встраивании в малополярные области липидного бислоя клеточных мембран. На основании полученных данных сделано заключение о том, что в течение первого часа после введения фотосенсибилизатор преимущественно локализован в крови, а затем перераспределяется по тканям. Показано, что отличия в спектрах флуоресценции зарегистрированные в здоровой и опухолевой тканях, связаны с повышенным содержанием дезоксигемоглобина в опухоли. Отмечено, что на основании анализа спектров флуоресценции полиметиновых красителей можно делать качественную оценку уровня оксигенации тканей.

Приведены результаты исследований по выявлению взаимосвязи между спектральными характеристиками локализованных в опухолевых клетках, флуоресцирующих в ближнем ИК-диапазоне красителей, с эффективностью повреждения опухолевых тканей в процессе фотохимиотерапии. Проведены исследования спектрально-люминесцентных свойств полиметинового красителя в тканях *in vivo* в процессе проведения сеанса фотохимиотерапии (энергетическая экспозиционная доза 280 Дж/см^2) и в течение двух часов после его завершения. На основании данных по фармакокинетике *in vivo* для каждого штамма опухоли выбрано оптимальное время для начала фотовоздействия. Выявлено, что по окончании фотовоздействия в облученном участке опухоли наблюдается падение интенсивности флуоресценции, увеличение полуширины спектра красителя и коротковолновое смещение максимума полосы. В течение двух часов после фотовоздействия сигнал и форма спектра флуоресценции в облученном участке опухоли в большинстве случаев оставались неизменными.

Проведен анализ соответствия степени повреждения опухолевых тканей и наблюдаемых в результате фотовоздействия спектральных изменений. Установлено, что некрозу опухолей глубиной до 2 см сопутствует коротковолновое смещение спектра флуоресценции ПК и увеличение его полуширины, после завершения фотовоздействия интенсивность флуоресценции в образцах не восстанавливается до исходного уровня.

Некроз опухолевой ткани при фотовоздействии с плотностью мощности 200 мВт/см² наблюдался во всех случаях, при 300 мВт/см² некрозы наблюдались для образцов, в которых после окончания фотовоздействия сигнал и форма спектра флуоресценции в облучённом участке опухоли оставались неизменными, а при 600 мВт/см² некроз тканей уменьшался до глубины 5 мм.

Продемонстрировано, что основной причиной деформации спектра флуоресценции в процессе сеанса фотохимиотерапии является изменение соотношения различных форм гемоглобина (увеличение доли метгемоглобина) в крови.

Проведено сравнение эффективности фотохимиотерапии при использовании источников света с разной длиной волны излучения (668, 740 и 780 нм). Сравнение эффективности фотоповреждения опухолевых клеток проводилось при одинаковых концентрациях сенсibilизатора в опухолевой ткани и клетках в процессе проведения измерений, одинаковых скоростях расхода кислорода и красителя в процессе фотовоздействия для каждой из использованных длин волн излучения. Для этого были выполнены условия, обеспечивающие поглощение фотосенсibilизатором в биологических структурах одинакового количества квантов света в единицу времени (рисунок 3).

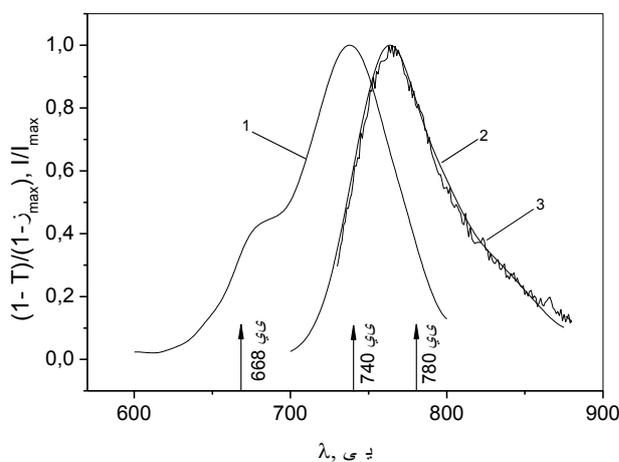


Рисунок 3 - Спектр поглощения (1) и флуоресценции (2, 3) фотосенсibilизатора в клетках HeLa (1, 3), *in vivo* с учётом влияния поглощения биоткани (2)

Установлено, что фотоцитотоксичность трикарбоцианинового красителя в культуре раковых клеток HeLa не зависит от длины волны воздействующего излучения при обеспечении поглощения фотосенсибилизатором одинакового числа квантов света в единицу времени. В экспериментах на животных *in vivo* средняя глубина повреждения перевиваемых опухолей штаммов РС-1 и Са М-1 крыс при поддержании одинакового числа поглощенных фотосенсибилизатором квантов света в единицу времени в единице объема опухолей растёт с увеличением длины волны возбуждающего света (668 нм, 740 нм, 780 нм). Отличия в глубине повреждения опухоли для источников с различными длинами волн (668 нм, 740 нм, 780 нм) определяются как различием в пропускании тканей, так и различной эффективностью фотодиссоциации гемоглобина.

Выявлена высокая антистафилококковая и противогрибковая активность ряда симметричных трикарбоцианиновых красителей, прослеживается корреляция между строением исследованных соединений и их антимикробной активностью. Установлено, что наиболее фототоксичным соединением по отношению к клеткам *S. enterica* является краситель с противоионом Br^- . При этом квантовый выход образования синглетного кислорода для красителя с противоионом Br^- составляет 4,8 %, а для красителя с анионами I^- и BF_4^- 6,1 % и 7,9 % соответственно. Сопоставление фотоактивности исследованных соединений и значений выхода генерации ими синглетного кислорода демонстрирует несоответствие между этими параметрами. Это указывает на то, что механизм фотобактерицидной активности трикарбоцианиновых красителей в целом определяется не только взаимодействием с синглетным кислородом. Установлено сохранение эффективности фотоинактивации бактериальных клеток с исследованными фотосенсибилизаторами при фотовоздействии источниками света с $\lambda=740$ нм и $\lambda=780$ нм.

Глава 5 посвящена исследованию фотофизических и фотохимических свойств трикарбоцианиновых красителей в полярных и малополярных растворителях.

Показано, что для красителей в полярных растворителях катион и анион красителя находятся на удалении и не взаимодействуют, то есть соединения находятся в виде свободных ионов. В малополярных дихлорбензоле и хлороформе исследованные соединения находятся в виде контактных ионных пар, а в диоксане присутствует равновесная смесь ионных форм (свободных ионов и контактных ионных пар).

Обнаружены качественные различия в регистрируемых спектрах поглощения из возбужденных электронных состояний красителя для мало- и высокополярных растворителей. Показано, что наблюдаемые различия обусловлены

сверхбыстрым переносом заряда в контактных ионных парах, вследствие которого происходит образование свободных радикалов.

Показано, что введение в малополярные растворы ПК соли тетрабутиламмоний бромид (ТБАБ) приводит к значительным изменениям фотофизических и фотохимических характеристик красителя, которые обусловлены проявлением увеличения доли тесных контактных ионных пар (таблица 1).

Таблица 1 – Фотофизические свойства красителя ПК1(Br⁻) в растворах

Растворитель	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{п}}$, нм	$\Delta\lambda_{1/2}^{\text{abs}}$, нм	$\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$, нм	$\Delta\lambda_{1/2}^{\text{f}}$, нм	τ , нс	Φ_f	Φ	B , %
дихлорбензол	768	54	795	45	1.6	0.36	$1.2 \cdot 10^{-6}$	0.68
дихлорбензол (10 ⁻² М ТБАБ)	763	67	791	59	1.5	0.32	$4.3 \cdot 10^{-6}$	1.03
этанол	742	53	773	48	1.4	0.28	$4.7 \cdot 10^{-7}$	0,1
этанол (10 ⁻² М ТБАБ)	742	53	773	48	1.4	0.28	$4.7 \cdot 10^{-7}$	0,1

Примечание – $\lambda_{\text{макс}}^{\text{фл}}$ – длина волны максимума флуоресценции; $\Delta\lambda_{1/2}^{\text{f}}$ – полуширина спектра флуоресценции; $\lambda_{\text{макс}}^{\text{п}}$ – длина волны максимума поглощения; $\Delta\lambda_{1/2}^{\text{abs}}$ – полуширина спектра поглощения; τ – время жизни молекул в первом возбужденном синглетном состоянии, зарегистрировано в максимуме спектра флуоресценции; Φ_f – квантовый выход флуоресценции; Φ – квантовый выход фотодеструкции; B – квантовый выход генерации синглетного кислорода.

В нормированном на возбуждение (пересчитанном на одинаковое количество возбуждаемых центров) спектре наведенного поглощения ПК1 при введении ТБАБ вклад дополнительной полосы с $\lambda_{\text{макс}} = 736$ нм в спектр нестационарного поглощения увеличивается (рисунок 4), что свидетельствует о росте числа радикалов.

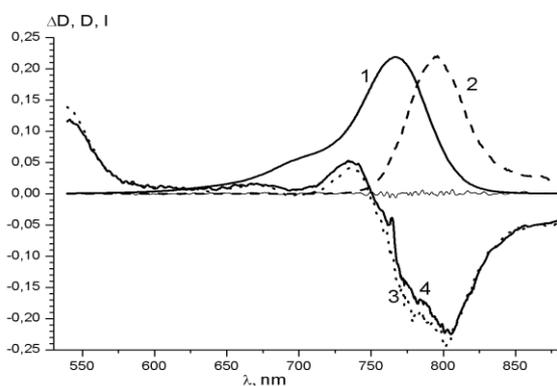


Рисунок 4 - Спектры нестационарного поглощения ПК1(Br⁻) в ДХБ (3) и при введении 10⁻²М тетрабутиламмоний бромид (4). Стационарные спектры поглощения (1) и флуоресценции (2)

Исследованы закономерности фотодеструкции красителей в освобожденных от кислорода растворах, проведено сравнение значений квантового выхода фотодеструкции ПК с разными противоионами в воздухомонасыщенных и обезгаженных растворах и изучено влияние на этот параметр увеличения в растворе доли тесных контактных пар (таблица 2). В воздухомонасыщенных спиртовых растворах фотодеструкция красителей с разными противоионами протекает с одинаковым квантовым выходом, значение которого не зависит от наличия соли. В обескислороженных спиртовых растворах квантовый выход фотодеструкции красителей уменьшается более чем на порядок, имеет одинаковые значения для ПК1 с разными противоионами и не изменяется при введении ТБАБ. В малополярном ДХБ удаление кислорода также приводит к уменьшению квантового выхода фотодеструкции красителей более чем на порядок и, в отличие от воздухомонасыщенных растворов, не зависит от противоиона.

Таблица 2 - Квантовый выход фотодеструкции ПК1 (ClO_4^- , Br^- , I^-) в дихлорбензоле и этаноле в воздухомонасыщенных и обескислороженных растворах при фотовоздействии излучением 740 нм

Противоион	ClO_4^-		I^-		Br^-			
	ДХБ	этанол	ДХБ	этанол	ДХБ	ДХБ+ 10^{-2}M ТБАБ	этанол	этанол+ 10^{-2}M ТБАБ
$^3\text{O}_2$	$1,6 \cdot 10^{-6}$	$1,3 \cdot 10^{-6}$	$3,2 \cdot 10^{-6}$	$1,4 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$4,3 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$
Без $^3\text{O}_2$	$7,9 \cdot 10^{-8}$	$7,2 \cdot 10^{-8}$	$8,9 \cdot 10^{-8}$	$7,4 \cdot 10^{-8}$	$8,0 \cdot 10^{-8}$	$2,8 \cdot 10^{-7}$	$7,0 \cdot 10^{-8}$	$6,0 \cdot 10^{-8}$

Следует учесть, что квантовый выход генерации синглетного кислорода для ПК1(I^-) - 9 %, для ПК1(ClO_4^-) – 0,45% и ПК1(Br^-) – 0.68 %. В связи с этим, одинаковые значения квантового выхода фотодеструкции в обескислороженных растворах для красителей с разными противоионами свидетельствуют о том, что в этих условиях механизм фотодеструкции ПК не связан с выходом молекул в триплетное состояние. Наблюдаемое увеличение квантового выхода фотодеструкции ПК1(Br^-) в ДХБ при введении ТБАБ, а также рост при этом числа образовавшихся радикалов, позволяет сделать заключение об определяющей роли образования радикалов в фотодеструкции ПК1 в обескислороженных растворах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Установлено, что для уменьшения влияния собственного свечения биотканей при регистрации флуоресценции в спектральном диапазоне 710-900 нм *in vivo* следует использовать для возбуждения излучение лазерных источников с длиной волны более 676 нм. Показано, что для обеспечения пропорциональности сигнала флуоресценции фотосенсибилизатора его концентрации *in vivo* необходимо контролировать глубину проникновения света и форму спектров флуоресценции на протяжении всего времени наблюдения при введении нескольких концентраций фотосенсибилизатора. Показано, что путем увеличения площади поверхности регистрации излучения *in vivo* и ослабления механической нагрузки разброс интенсивности в спектрах флуоресценции фотосенсибилизатора уменьшается примерно на порядок. Установлено, что имитирующие меры на основе ПК в целлюлозе могут достаточно долго сохранять неизменными флуоресцентные свойства, обеспечивают контроль стабильности параметров спектрометра и возможность регистрации концентрации фотосенсибилизатора в тканях *in vivo* [5, 23, 33, 38, 40].

2. Установлено, что форма и положение максимума спектра флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя в опухолевых и нормальных тканях *in vivo* изменяются с течением времени после его внутривенного введения. На основании анализа спектральных свойств красителя *in vivo* и в плазме крови, кинетики их изменения от времени после введения показано, что у молекулы красителя в живом организме меняется окружение по мере перераспределения фотосенсибилизатора из крови в ткани. Установлено, что в тканях *in vivo* молекулы красителя локализованы в области с низкой диэлектрической проницаемостью среды. Показано, что изменение соотношения концентраций различных форм гемоглобина в крови оказывает влияние на положение и форму спектра флуоресценции красителя в тканях *in vivo* [1, 5, 6, 8, 10, 15, 17, 18, 20, 26, 27, 31, 39, 41].

3. Установлено, что при фотовоздействии на краситель в опухолевых тканях происходят изменения положения и полуширины спектров флуоресценции красителя, а в культуре клеток HeLa его спектральные характеристики постоянны. На основании анализа влияния перекрытия спектров поглощения эндогенных биомолекул со спектрами флуоресценции красителя и сравнения экспериментальных данных с результатами численного моделирования сделано заключение, что наблюдаемые деформации спектров флуоресценции ПК *in vivo* обусловлены изменением соотношения в опухолевой ткани различных форм гемоглобина. Показано, что спектральные характеристики ПК, флуоресцирующего в ближнем ИК-диапазоне, коррелируют с глубиной полученного при фотовоздействии некроза опухолевых тканей. Установлено, что для всех штаммов (S-45, SM-1 и W-256) некроз опухолевых тканей глубиной до 2 см

образуется, при этом наблюдается увеличение полуширины и коротковолновое смещение спектра флуоресценции ПК, а также не восстанавливается интенсивность его флуоресценции [6, 7, 19, 20-22, 24, 32, 34-37].

4. Установлено, что при фотовоздействии на трикарбоцианиновые красители в клетках HeLa квантами света разной энергии при обеспечении условия поглощения фотосенсибилизатором одинакового количества фотонов в единицу времени повреждение клеток происходит с одинаковой эффективностью. В экспериментах на животных *in vivo* для двух штаммов опухолей при изменении длины волны фотовоздействия в диапазоне от 668 до 780 нм и поддержании одинакового числа поглощенных квантов света в единицу времени в единице объема опухолей глубина их повреждения возрастает в 3 раза. Наблюдаемые изменения связаны как с различием в пропускании тканей *in vivo* при увеличении длины волны светового излучения, так и с ростом локальной концентрации кислорода. Установлено, что фотобактерицидная активность трикарбоцианиновых красителей не обусловлена взаимодействием с синглетным кислородом [2, 11-14, 28-30].

5. Показано, что введение в малополярные растворы трикарбоцианинового красителя тетрабутиламмоний бромида приводит к значительным изменениям фотофизических и фотохимических характеристик красителя, которые обусловлены проявлением увеличения доли тесных контактных ионных пар. Показано, что механизм фотодеструкции трикарбоцианинового красителя в обескислороженных растворах не связан с выходом молекул в триплетное состояние. Увеличение квантового выхода фотодеструкции трикарбоцианинового красителя в малополярном растворителе при введении тетрабутиламмоний бромида, а также рост при этом числа образовавшихся радикалов свидетельствует об определяющей роли образования радикалов в фотодеструкции красителя в обескислороженных растворах [3, 4, 16, 9, 25].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Полученные экспериментальные данные важны для понимания механизмов фотоактивности индотрикарбоцианиновых красителей в опухолевых клетках и могут служить основой для оптимизации структуры молекул ПК при их использовании в качестве сенсибилизаторов для фотодинамической терапии онкологических заболеваний.

Значительное повышение эффективности ФДТ с использованием трикарбоцианиновых сенсибилизаторов при увеличении длины волны фотооблучения до 780 нм не обусловлено особенностями их строения и может быть использовано для любых фотосенсибилизаторов этого спектрального диапазона. Показано, что путем использования спектральных характеристик на разных стадиях

фотовоздействия можно оптимизировать протокол сеанса фотохимиотерапии и повышать его эффективность.

Полученные данные по фотобактерицидной активности ПК свидетельствуют о целесообразности и перспективности поиска среди этой группы соединений новых высокоактивных химиотерапевтических средств, которые найдут применение при лечении инфекционных болезней стафилококковой и грибковой этиологии. Полученные результаты исследований могут найти применение при создании новых питательных дифференциально-диагностических сред.

Разработанная управляемая газоразрядная импульсная лампа наносекундной длительности может быть использована в качестве источника возбуждения вторичных свечений в аппаратуре по исследованию быстротекающих процессов в оптической спектроскопии, биологии, медицине.

Результаты исследования фотофизических свойств трикарбоцианиновых красителей в растворах и в целлюлозе использованы при разработке и серийном производстве флуоресцентных инфракрасных меток для повышения степени защиты ценных бумаг и документов.

Список публикаций соискателя по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных журналах:

1. Фотодинамическая лазерная терапия и диагностика областей локализации на основе новых типов фотосенсибилизаторов / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // Известия РАН. Серия физическая. – 2007. - Т. 71, № 1. – С. 145–149.
2. Влияние энергии фотона на эффективность фотохимиотерапии / М.П. Самцов, Е.С. Воропай, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Ю.П. Истомин, Л.С. Ляшенко // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2009. - Т. 76, № 4. - С. 576-582.
3. Быстротекающие фотопротекции в симметричном индотрикарбоцианиновом красителе НТС в растворах / М.П. Самцов, С.А. Тихомиров, О.В. Буганов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2009. - Т. 76, № 6. - С. 830-838.
4. Фотообесцвечивание полиметиновых красителей в малополярных растворителях / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко, А.А. Луговский // Известия Гомельского государственного университета имени Ф.Скорины. – 2009. – Т. 56, №5. - С. 134-136.
5. Спектрально-люминесцентные свойства индотрикарбоцианинового красителя в биотканях / М.П. Самцов, Е.С. Воропай, Д.Г. Мельников, Л.С.

Ляшенко, А.А. Луговский, Ю.П. Истомин // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2010. - Т. 77, № 3. - С. 437-443.

6. Ляшенко, Л.С. Влияние гемоглобина на флуоресценцию полиметиновых красителей *in vivo* / Л.С. Ляшенко // Вестн. Бел. Гос. ун-та. Сер.1. – 2011. - №1. - С. 10-13.

7. Флуоресценция фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового красителя при фотохимиотерапии / М. П. Самцов, Е.С. Воропай, Л.С. Ляшенко, Д.Г. Мельников, К.Н. Каплевский, А.П. Луговский // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2011. – Т. 78, №1. - С. 121-127.

Статьи в сборниках материалов научных конференций:

8. Мельников, Д.Г. Особенности флуоресценции трикарбоцианинового красителя в тканях *in vivo* / Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XIV Республиканской научной конференции аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 26-28 апреля 2006 г. / редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2006. – С. 233–235.

9. Мельников, Д.Г. Состояние ионного равновесия индотрикарбоцианинового красителя НТС в растворах / Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XV Республиканской конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 25-27 апреля 2007 г.: в 2 ч. / редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2007. – Ч. 2. – С. 10–13.

10. Влияние компонент крови на флуоресценцию полиметинового красителя *in vivo* / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // XI Всеросс. науч. школа-семинар «Волны – 2007»: труды школы семинара, Москва, Россия, 21-26 мая 2007 г. / МГУ; редкол.: А.П. Сухорук [и др.]. – Москва, 2007. – С. 19–21.

11. Влияние оптических свойств биоткани на эффективность фотохимиотерапии / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // XI Всеросс. науч. школа-семинар «Волны – 2008»: труды школы семинара, Москва, Россия, 26-31 мая 2008 г. / МГУ; редкол.: А.П. Сухорук [и др.]. – Москва, 2008. – С. 26–28.

12. Фотосенсибилизаторы и фотоактивируемые антимикробные препараты для медицинских применений / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // Лазерная физика и оптические технологии: VII Международная научная конференция: сб. научн. тр. конф., Минск, 17-19 июня 2008 г.: в 3 томах / НАН Беларуси, Институт физики имени Б.И. Степанова Национальная академия наук Беларуси, Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований, Российский фонд фундаменталь-

ных исследований, Белорусское физическое общество; под ред. Н.С. Казак [и др.]. – Минск, 2008. – Т. 2. – С. 318–321.

13. Фотодинамическая антимикробная активность индотрикарбоцианиновых красителей / Л.С. Ляшенко, М.П. Самцов, Т.С. Ермакова, Е.С. Воропай, Д.Г. Мельников, А.П. Луговский // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.: сб. ст., Минск, 25–27 июня 2008 г.: в 2 ч. / Восьмой съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков; под ред. С.Н. Черенкевич [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – Ч. 2. – С. 98–100.

14. Влияние длины волны излучения на эффективность фотохимиотерапии рака с фотосенсибилизатором ТИКС / Д.Г. Мельников, М.П. Самцов, Е.Н. Александрова, Ю.П. Истомин, Е.С. Воропай, Л.С. Ляшенко // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.: сб. ст., Минск, 25–27 июня 2008 г.: в 2 ч. / Восьмой съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков; под ред. С.Н. Черенкевич [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – Ч. 2. – С. 107–109.

15. Люминесценция симметричных индотрикарбоцианиновых красителей при связывании с полимерами / К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, А.П. Луговский, Л.С. Ляшенко, М.П. Самцов, Е.С. Воропай // Лазерная и оптико-электронная техника: межвуз. сб. науч. ст. / Бел. гос. ун-т ; редкол.: И.С. Манак [и др.]. – Минск, 2008. - В.11 – С. 154-162.

16. Механизм образования радикалов индотрикарбоцианиновым фотосенсибилизатором / М.П. Самцов, С.А. Тихомиров, Л.С.Ляшенко, Д.Г. Мельников, О.В. Буганов, А.Д. Широканов, Е.С. Воропай // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.: сб. ст., Минск, 23-25 июня 2010 г.: в 2 ч. / Девятый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков; под ред. С.Н. Черенкевич [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2010. – Ч. 2. – С.243-245.

17. Спектральные свойства индотрикарбоцианинового красителя в биотканях / М.П. Самцов, Е.С. Воропай, Д.Г. Мельников, Л.С.Ляшенко, А.А. Луговский, Ю.П.Истомин // Молодежная школа по оптике и спектроскопии: труды XXIV-го Съезда по спектроскопии, Москва, Троицк, 28 февраля – 5 марта 2010 г.: в 2 т. - Москва, 2010. – Т. 2. - С. 380-381.

18. Флуоресценция индотрикарбоцианинового фотосенсибилизатора в биотканях / Л.С. Ляшенко, А.А. Луговский, Д.Г. Мельников, М.П. Самцов, Е.С. Воропай, Ю.П. Истомин // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.: сб. ст., Минск, 23-25 июня 2010 г.: в 2 ч. / Девятый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и

биофизиков; под ред. С.Н. Черенкевич [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2010. – Ч. 2. – С. 246-248.

19. Влияние фотовоздействия на флуоресценцию ик- фотосенсибилизатора *in vivo* / К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко, М.П. Самцов, Е.С. Воропай, В.Н. Чалов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.: сб. ст., Минск, 23-25 июня 2010 г.: в 2 ч. / Девятый съезд Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков; под ред. С.Н. Черенкевич [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2010. – Ч. 2. – С. 213-215.

20. Фотоника молекул трикарбоцианинового красителя НТС в растворах / М.П. Самцов, С.А. Тихомиров, Л.С. Ляшенко, О.В. Буганов, Д.Г. Мельников, Е.С. Воропай // VIII Международная научная конференция «Лазерная физика и оптические технологии»: сборник науч. трудов конф., Минск, 27-30 сентября 2010 г.: в 2 т. / НАН Беларуси, Мин-во обр. РБ, Инс. физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, ГрГУ, Бел. респуб. фонд фундам. иссл, Бел. физич. о-во, Науч.-тех. ассоциация «Оптика и лазеры»; под ред.: В.А. Орловича [и др.]. – Минск, 2010. – Т.1. - С. 89-92.

21. Трикарбоцианиновые красители – фотосенсибилизаторы для лазерно- оптической диагностики и фототерапии / Е.С. Воропай, А.П. Луговский, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Л.С. Ляшенко // VIII Международная научная конференция «Лазерная физика и оптические технологии»: сборник науч. трудов конф., Минск, 27-30 сентября 2010 г.: в 2 т. / НАН Беларуси, Мин-во обр. РБ, Инс. физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, ГрГУ, Бел. респуб. фонд фундам. иссл, Бел. физич. о-во, Науч.-тех. ассоциация «Оптика и лазеры»; под ред.: В.А. Орловича [и др.]. – Минск, 2010. – Т.1. - С. 231-234.

22. Индотрикарбоцианин с модифицированной структурой в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии злокачественных опухолей / М.П. Самцов, П.Т. Петров, А.П. Луговский, Е.С. Воропай, А.А. Луговский, Л.С. Ляшенко, Д.И. Демид, Д.С. Тарасов, Ю.П. Истомин // Белорусские лекарства: материалы международной научно-практической конференции, Минск, 2-3 ноября 2010 г. / НАН РБ. – Минск, 2010. - С. 181-183.

23. Особенности регистрации флуоресценции полиметиновых красителей в биотканях / М.П. Самцов, Л.С. Ляшенко, Д.С. Тарасов, К.Н. Каплевский, А.Е. Радько // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы международной научно-практической конференции посвященной 40-летию НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ, Минск, 28 февраля 2011 г. / НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ; под ред. В.И. Попечиц [и др.]. – Минск, 2011. - С. 63-64.

24. Фотосенсибилизаторы нового поколения для фотодинамической лазерной терапии и оптической диагностики онкологических заболеваний / М.П. Самцов, Е.С. Воропай, А.П. Луговский, А.А. Луговский, К.Н. Каплевский, Л.С. Ляшенко // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы международной научно-практической конференции посвященной 40-летию НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ, Минск, 28 февраля 2011 г. / НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ; под ред. В.И. Попечиц [и др.]. – Минск, 2011. - С. 65-66.

Тезисы докладов конференций:

25. Ляшенко, Л.С. Особенности фотодеструкции полиметиновых красителей в биологических структурах при облучении лазером в условиях гипоксии / Л.С. Ляшенко, К.Н. Каплевский // X Республиканская научная конференция студентов и аспирантов высших учебных заведений РБ (НИРС-2005): сборник статей науч. конф., Минск, 14-16 февраля, 2005 г.: в 3 ч./ БГУ; редкол.: С.К. Рахманов [и др.]. - Минск, 2005. - Ч.2. – С. 235.

26. Люминесцентная диагностика локализации злокачественных новообразований / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // III Международная конференция по молекулярной спектроскопии: тезисы докладов Международной конференции, Самарканд, Узбекистан, 29–31 мая 2006 г. / Самаркандский гос. ун-т. - Самарканд, 2006. – С. 144–145.

27. Фотодинамическая лазерная терапия на основе индотрикарбоцианиновых типов фотосенсибилизаторов / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Л.С. Ляшенко, Д.М. Мельников // IV Международный оптический конгресс «Оптика - XXI век»: труды международной молодежной школы “Оптика-2006”, Санкт-Петербург, Россия, 16-20 октября 2006 г. / СПбГУ ИТМО; редкол.: Ю.Л. Колесников [и др.]. - Санкт-Петербург, 2006. - С. 2-4.

28. Ляшенко, Л.С. Антибактериальное действие индотрикарбоцианиновых красителей / Л.С. Ляшенко, Д.Г. Мельников // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XVI Республиканской конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 23-25 апреля 2008 г.: в 2 ч. / редкол.: Е. А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2008. - Ч.1. - С. 211- 213.

29. Мельников, Д.Г. Фотохимиотерапевтические свойства трикарбоцианинового красителя с источниками света разной длины волны / Д.Г. Мельников, Л.С. Ляшенко // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XVI Республиканской конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 23-25 апреля 2008 г.: в 2 ч. / редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2008. - Ч.1. - С. 220- 221.

30. Influence of photons energy the efficiency of photochemotherapy with thio-carbocyanine dye / E.S. Voropay, M.P. Samtsov, K.N. Kapleusky, D.G. Melnikov, L.S. Liashenko // 4th International conference on materials science and condensed matter physics (MSCMP 2008), Chisinau, Moldova, 23-26 september 2008. - Chisinau, 2008. – P. 82.

31. Спектрально – люминесцентные свойства полиметинового красителя при связывании с целлюлозой / Д.Г. Мельников, М.П. Самцов, Е.С. Воропай, А.А. Луговский, Л.С. Ляшенко // II конгресс физиков Беларуси: сборник науч. трудов, Минск, 3-5 ноября 2008 г. / НАН Беларуси, Мин-во образ., Институт физики им. Б.И. Степанова, ОО «Белорусское физическое общество», Бел. респуб. фонд фундам. иссл.; редкол.: С.Я. Килин [и др.]. – Минск, 2008. - С. 16.

32. Тарасов, Д.С. Флуоресцентный анализ динамики накопления трикарбоцианиновых красителей в раковых клетках / Д.С. Тарасов, Л.С. Ляшенко // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XVII Республиканской конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 16-17 апреля 2009 г./ редкол.: Е. А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2009. - С. 116-117.

33. Мониторинг содержания фотосенсибилизатора в крови с помощью флуоресцентных инфракрасных изображений / Л.С. Ляшенко, Е.С. Воропай, К.Н. Каплевский, М.П. Самцов, В.Н. Чалов // Приборостроение–2010: материалы 3-й международной научно-технической конференции, Минск, 10–12 ноября 2010 г. / БНТУ. – Минск, 2010. - С. 250-252.

34. Особенности фотофизических свойств растворимого в воде индотрикарбоцианинового красителя / Д.С. Тарасов, Л.С. Ляшенко, А.А. Луговский, А.П. Луговский, М.П. Самцов, Е.С. Воропай // Квантовая электроника: материалы VIII Международной научно–технической конференции, Минск, 22-25 ноября 2010 г. / Акад. упр. при Президенте Респ. Беларусь; под ред. И.С. Манака. – Минск, 2010. – С. 70.

35. Модифицированные трикарбоцианиновые красители потенциальные фотосенсибилизаторы для лазерной диагностики и фототерапии / Л.С. Ляшенко, А.П. Луговский, А.А. Луговский, К.Н. Каплевский, Д.С. Тарасов, Е.С. Воропай, М.П. Самцов, Ю.П. Истомин // Квантовая электроника: материалы VIII Международной научно–технической конференции, Минск, 22-25 ноября 2010 г. / Акад. упр. при Президенте Респ. Беларусь; под ред. И.С. Манака. – Минск, 2010. – С. 200.

36. Ляшенко, Л.С. Особенности флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя *in vivo* / Л.С. Ляшенко, Д.С. Тарасов // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XVIII Респ. науч. конф. аспирантов, маги-

странтов и студентов, Гродно, 21-23 апреля 2010 г./ редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2010. – С. 167-168.

37. Optical diagnostics of the tumor tissue damage efficiency as a result of photochemotherapy / M.P. Samtsov, E.S. Voropay, L.S. Liashenka, K.N. Kapleusky, D.G. Melnikau // International Conference «Optical Techniques and Nano-Tools for Material and Life Sciences» (OTN4MLS-2010), Minsk, Belarus, 15-19 June 2010. – Minsk, 2010. – P. 53.

38. Тарасов, Д.С. Неинвазивная регистрация фотосенсибилизатора в крови с помощью лазероиндуцированных инфракрасных изображений / Д.С. Тарасов, Л.С. Ляшенко // Физика конденсированного состояния: тезисы докладов XIX Республиканской науч. конф. аспирантов, магистрантов и студентов, Гродно, 19-20 апреля 2011 г./ редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2011. – С. 216–218.

39. Фотофизические свойства новых трикарбоцианиновых красителей с полиэтиленгликолем / Д.С. Тарасов, Л.С. Ляшенко, А.А. Луговский, М.П. Самцов, Е.С. Воропай // III Конгресс физиков Беларуси: сборник тезисов, Минск, 25-27 сентября 2011. / НАН Беларуси, Мин-во образ., Институт физики им. Б.И. Степанова, ОО «Белорусское физическое общество», Бел. респуб. фонд фундам. иссл.; редкол.: С.Я. Килин [и др.]. – Минск, 2011. – С. 26.

40. Специфика регистрации флуоресценции фотосенсибилизаторов для ближнего ик- диапазона в биообъектах / Л.С. Ляшенко, Д.С. Тарасов, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Е.С. Воропай // III Конгресс физиков Беларуси: сборник тезисов, Минск, 25-27 сентября 2011. / НАН Беларуси, Мин-во образ., Институт физики им. Б.И. Степанова, ОО «Белорусское физическое общество», Бел. респуб. фонд фундам. иссл.; редкол.: С.Я. Килин [и др.]. – Минск, 2011. – С. 83.

41. Тарасов, Д.С. Фотофизические свойства трикарбоцианиновых красителей с направленной доставкой в злокачественные опухоли / Д.С. Тарасов, Л.С. Ляшенко // Республиканской научной конференции студентов и аспирантов вузов РБ (НИРС–2011): сборник тезисов докладов, Минск, 18 октября 2011. / БГУ ; редкол.: С.В. Абламейко [и др.]. – Минск : Издат. центр БГУ, 2011. – С. 17.

Патенты:

42. Устройство для создания импульсов света наносекундной длительности: пат. 2808 Респ. Беларусь, Н 01J 61/02, 61/80 / Е.С. Воропай, М.П. Самцов, А.Е. Радько, К.А. Шевченко, Л.С. Ляшенко; заявитель Белорусский государственный университет. - № и 20050846; заявл. 28.12.2005; опубл. 30.06.2006

// Официальный бюл. / Нац. центр интеллектуал. собственности. – 2006. - № 3. – С. 222.

43. Средство, подавляющее стафилококковую и противогрибковую активность: заявка на патент Респ. Беларусь, С 07D 209/00, А 61К 31/33 / М.П. Самцов, Т.С. Ермакова, А.П. Луговский, Д.Г. Мельников, А.А. Луговский, Л.С. Ляшенко, Е.С. Воропай, Л.П. Титов; заявитель Гос. учр. "Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии", Белорусский государственный университет. - № а 20091891; заявл. 29.12.2009; опубл. 08.30.2011 // Официальный бюл. / Нац. центр интеллектуал. собственности. - 2011. - №4. - С. 22.

РЕЗЮМЕ

Ляшенко Людмила Сергеевна

Фотофизика фотоактивных трикарбоцианиновых красителей

Ключевые слова: трикарбоцианиновые красители, фотофизика, ионные пары, фемтосекундная спектроскопия, *in vivo*, фотоактивность.

Целью диссертационной работы являлось установление закономерностей протекания фотофизических и фотохимических процессов в симметричных трикарбоцианиновых красителях, влияния на них физико-химических параметров среды и возбуждающего излучения, выработка на этой основе рекомендаций по оптимизации условий применения ПК в качестве фотосенсибилизаторов для диагностики и лечения рака и фотодинамической антибактериальной терапии.

Исследование методами стационарной и фемтосекундной кинетической спектроскопии фотофизических и фотохимических свойств трикарбоцианиновых красителей в полярных и неполярных растворителях, позволило установить, что механизм фотодеструкции ПК в обескислороженных растворах не связан с выходом молекул в триплетное состояние, а обусловлен сверхбыстрым (≤ 150 фс) переносом заряда в тесных контактных ионных парах, результатом которого является образование свободных радикалов.

Показано, что фотохимиотерапевтическое повреждение опухолевых тканей возрастает при изменении длины волны фотовоздействия в диапазоне от 668 до 780 нм и обусловлено различием в пропускании тканей и ростом локальной концентрации кислорода. Обнаруженное увеличение полуширины и коротковолновое смещение в спектрах флуоресценции трикарбоцианинов *in vivo* при фотовоздействии позволяет оптимизировать протокол сеанса фотохимиотерапии.

Разработанная газоразрядная лампа наносекундной длительности может быть использована в качестве источника возбуждения вторичных свечений в аппаратуре по исследованию быстропротекающих процессов в оптической спектроскопии.

Проведенные исследования фотофизических свойств ПК в растворах и в целлюлозе использованы при разработке флуоресцентных ИК- меток в качестве элемента защиты от фальсификации ценных бумаг и документов.

РЭЗІЮМЭ

Ляшэнка Людміла Сяргееўна

Фотафізіка фотаактыўных трыкарбацыянінавых фарбавальнікаў

Ключавыя словы: трыкарбацыянінавыя фарбавальнікі, фотафізіка, іонныя пары, фемтасекундная спектраскапія, *in vivo*, фотаактыўнасць.

Мэтай дысертацыйнай работы з'яўлялася ўсталяванне заканамернасцяў працякання фотафізічных і фотахімічных працэсаў у сіметрычных трыкарбацыянінавых фарбавальніках, уплыву на іх фізіка-хімічных параметраў асяроддзя і узбуджальнага выпраменьвання, выпрацоўка на гэтай аснове рэкамендацый па аптымізацыі ўмоў прымянення ПК у якасці фотасенсібілізатараў для дыягностыкі і лячэння рака і фотадынамічнай антыбактэрыяльнай тэрапіі.

Даследаванне метадамі стацыянарнай і фемтасекунднай кінетычнай спектраскапіі фотафізічных і фотахімічных уласцівасцяў трыкарбацыянінавых фарбавальнікаў у палярных і малапалярных растваральніках, дазволіла ўсталяваць, што механізм фотапашкоджання ПК у абезкіслароджаных растворах не звязаны з выходам малекул у трыплетны стан, а абумоўлены звышхуткім (≤ 150 фс) пераносам зараду ў цесных кантактных іённых парах, вынікам якога з'яўляецца ўтварэнне вольных радыкалаў.

Паказана, што фотахіміатэрапеўтычнае пашкоджанне пухлінных тканін ўзрастае пры змене даўжыні хвалі фотаўздзеяння ў дыяпазоне ад 668 да 780 нм і абумоўлена адрозненнем у прапусканні тканін і ўзростам лакальнай канцэнтрацыі кіслароду.

Выяўленае павелічэнне паўшырыні і караткахвалевае зрушэнне ў спектрах флуарэсцэнцыі трыкарбацыянінаў *in vivo* пры фотаўздзеянні дазваляе аптымізаваць пратакол сеансу фотахіміатэрапіі.

Распрацаваная газаразрадная лампа наносекунднай працягласці можа быць выкарыстана ў якасці крыніцы ўзбуджэння другасных свячэння ў апаратуры па даследаванні хуткапраходзімых працэсаў у аптычнай спектраскапіі.

Праведзеныя даследаванні фотафізічных уласцівасцяў ПК у растворах і ў цэлюлозы выкарыстаны пры распрацоўцы флуарэсцэнтных ІК-пазнак у якасці элемента абароны ад фальсіфікацыі каштоўных папер і дакументаў.

SUMMARY

Lyashenko Lyudmila Sergeevna
Photophysics of photoactive tricarbo-cyanine dyes

Key words: tricarbo-cyanine dyes, photophysics, ion pairs, femtosecond spectroscopy, *in vivo*, photoactivity.

The main objective of this thesis is to determine the pattern of the photophysical and photochemical processes proceeding in symmetric tricarbo-cyanine dyes, the effect exerted by the physical and chemical parameters of the medium and exciting radiation; working out of the recommendations for optimization of the polymethine dye (PD) use as a photosensitizer for diagnostics and treatment of cancer, and for photodynamic antibacterial therapy.

Based on a study of the photophysical and photochemical properties characteristic for tricarbo-cyanine dyes with the use of stationary and femtosecond kinetic spectroscopy, it has been found that a photodestruction mechanism of PD in deoxygenated solutions is not due to the transition of molecules to the triplet state, being conditioned by a superfast (≤ 150 fs) charge transfer in close-contact ion pairs that is responsible for the formation of free radicals.

It has been demonstrated that photochemotherapeutic damage of tumor tissues is growing with a change of the phototreatment wavelength over the range from 668 to 780 nm, and is caused by the difference in the tissues transmission and by the increased local concentration of oxygen. The revealed half-width increase and the shift to the short-wavelength region in fluorescence spectra of tricarbo-cyanines *in vivo* when subjected to the photoeffect make it possible to optimize the protocol of photochemotherapeutic treatment.

The developed nanosecond gas-discharge tube may be used as an excitation source for secondary radiation in the equipment intended for studies of fast processes in optical spectroscopy.

The conducted studies of the PD photophysical properties in solutions and in cellulose have been used for the development of fluorescent IR-markers as protective elements against counterfeiting of valuable documents and papers.