

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 541.14+535.37+535.34+543.426+538.958

ТАРАСОВ
Дмитрий Сергеевич

**ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ
КРАСИТЕЛЕЙ С ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯМИ ДЛЯ
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук
по специальности
01.04.05 – Оптика

Минск – 2019

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

Научные руководители – **Самцов Михаил Петрович**,
доктор физико-математических наук, доцент,
заведующий лабораторией спектроскопии
НИУ «Институт прикладных физических проблем
имени А.Н. Севченко» Белорусского
государственного университета;
Воропай Евгений Семенович
доктор физико-математических наук, профессор,
профессор кафедры лазерной физики и
спектроскопии Белорусского государственного
университета.

Официальные оппоненты: **Маскевич Александр Александрович**,
доктор физико-математических наук, доцент,
заведующий кафедрой общей физики
УО «Гродненский государственный университет
им. Я. Купалы»;
Стельмах Георгий Фомич,
кандидат физико-математических наук, доцент,
доцент кафедры физической оптики и
информатики Белорусского государственного
университета.

Оппонирующая организация – **ГНУ «Институт физики им. Б.И. Степанова
НАН Беларуси».**

Защита состоится **20 декабря 2019 г. в 14.00** на заседании совета
по защите диссертаций Д 02.01.17 при Белорусском государственном
университете по адресу: г. Минск, ул. Ленинградская 8 (корпус юридического
факультета), ауд. 407. Телефон учёного секретаря: 209-57-09.
Почтовый адрес: пр-т Независимости 4, Минск, 220030.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке
Белорусского государственного университета.

Автореферат разослан «___» ноября 2019 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат физ.-мат. наук доцент

О.Г. Романов

ВВЕДЕНИЕ

Полиметиновые красители (ПК) широко используются в ряде областей человеческой деятельности. Индолениновые полиметиновые красители применяются в качестве биологических флуоресцентных зондов различного назначения. Красители с полосами поглощения и испускания в ближнем ИК диапазоне по своим фотофизическим свойствам перспективны в качестве фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) и диагностики локализации злокачественных новообразований. Метод ФДТ основан на способности фотосенсибилизаторов приобретать выраженные цитотоксические свойства в результате фотовоздействия. Индотрикарбоцианиновые красители характеризуются интенсивным поглощением в окне прозрачности биотканей (700-900 нм), благодаря чему возможно осуществлять фотоактивацию ПК не только в поверхностном слое, но и в глубине тканей, что выгодно их отличает от соединений порфиринового ряда. В последнее десятилетие модификация соединений данного класса ведется в направлении улучшения их водорастворимости и повышения биосовместимости.

В ряде случаев выявлено повышение усиления противоопухолевой активности антибиотиков при использовании конъюгатов препаратов с полиэтиленгликолем (ПЭГ). В связи с этим создание содержащих в структуре молекул полиметиновых красителей заместители полиэтиленгликоли и изучение свойств фотосенсибилизаторов на их основе представляется перспективным. В связи с тем, что активация фотосенсибилизаторов происходит при поглощении света, то исследование фотофизических свойств новых соединений является актуальной задачей при создании препаратов на их основе для тераностики. Изучение влияния наличия полиэтиленгликолей в структуре полиметиновых красителей на их агрегатное состояние, спектрально-люминесцентные и фотофизические свойства в модельных средах и биологических структурах являлись малоизученными на момент постановки диссертационной работы.

Фотосенсибилизированное образование синглетного кислорода вносит основной вклад в процессы повреждения опухолевых тканей для разрешенных к использованию в клинической практике препаратов. Хотя механизм фотоактивности класса полиметиновых красителей не укладывается в рамки схемы связанной исключительно с генерацией синглетного кислорода, но для понимания механизма фотоактивности новых соединений следует знать закономерности образования этого активного интермедиата.

Актуальными являются исследования по выяснению возможности использования новых соединений в качестве биозондов. В связи с этим изучение влияния наличия объемных заместителей молекул на их фотофизические свойства в биологических структурах и модельных средах является важной задачей с точки зрения перспектив их дальнейшего применения.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Основные результаты диссертационной работы получены в ходе выполнения следующих проектов и программ: государственная программа научных исследований «Электроника и фотоника», «Разработка препаратов и высокочувствительных лазерно-оптических методов медицинской диагностики биотканей, определение критериев эффективности терапевтического воздействия факторов физической природы; создание научной базы лечебного применения препаратов и лазерно-оптической аппаратуры нового поколения» (№ гос. рег. 20112921; срок выполнения 2011-2013 гг.); государственная программа научных исследований «Функциональные и машиностроительные материалы, наноматериалы», подпрограмма «Кристаллические и молекулярные структуры», «Разработка и исследование оптических свойств наноструктурированных материалов на основе полиметиновых красителей и соединений четырех- и пятивалентного урана для экологических и медицинских применений» (№ гос. рег. 20141902; срок выполнения 2014-2015 гг.); государственная программа научных исследований «Фундаментальная и прикладная медицина», подпрограмма «Фармакология и фармация», «Разработать лекарственное средство на основе сенсibilизатора нового поколения для фотодинамической терапии новообразований с активацией светом ближнего ИК диапазона» (№ гос. рег. 20121830; срок выполнения 2011-2015 гг.); государственная программа научных исследований «Электроника и фотоника», подпрограмма «Фотоника-2015», «Разработка методов, аппаратных средств и препаратов для оптической диагностики и фототерапии патологических состояний организма с использованием лазерных и светодиодных источников» (№ гос. рег. 20141900; срок выполнения 2014-2015 гг.); государственная программа научных исследований «Химические технологии и материалы», подпрограмма «Фармакология и фармация», «Изучение химико-фармацевтических свойств субстанции фотосенсibilизатора на основе трикарбоцианинового красителя и ее стабильности; оптимизация условий фотовоздействия на опухолевые ткани

в процессе фотодинамической терапии» (№ гос. рег. 20161463; срок выполнения 2016-2018 гг.); проект Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Ф11ОБ-049 «Генерация синглетного кислорода трикарбоцианиновыми красителями – фотосенсибилизаторами для лазерно-оптической диагностики и фототерапии» (№ гос. рег. 20114496; срок выполнения 2011-2013 гг.); проект Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Ф16-131 «Исследование наноструктурированного фотосенсибилизатора на основе нового индотрикарбоцианинового красителя для тераностики злокачественных новообразований: фотофизические и биофизические свойства» (№ гос. рег. 20163387; срок выполнения 2016-2018 гг.).

Тема диссертационной работы отвечает Приоритетным направлениям, утвержденным Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12 марта 2015 г. № 190 «О приоритетных направлениях научных исследований Республики Беларусь на 2016-2020 годы» (п. 2. Химический синтез и продукты; п. 4. Медицина и фармация; п. 6. Электроника и фотоника).

Цель и задачи исследования

Цель работы: установление закономерностей протекания фотофизических процессов в новых симметричных индотрикарбоцианиновых красителях с объемными заместителями в растворах и биологических структурах, выработка на этой основе рекомендаций по оптимизации условий применения красителей в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии злокачественных новообразований.

Для достижения поставленной цели сформулированы и решены следующие задачи:

- определить фотофизические свойства индотрикарбоцианиновых красителей с ПЭГ и их аналогов без ПЭГ в водных растворах, установить влияние объемных заместителей на агрегатное состояние молекул в водном окружении;
- исследовать спектрально-люминесцентные свойства индотрикарбоцианиновых красителей с ПЭГ и их аналогов без ПЭГ в органических растворителях различной полярности;
- изучить спектрально-люминесцентные характеристики индотрикарбоцианинового красителя с ПЭГ в биологических системах;
- исследовать возможность использования индотрикарбоцианинового красителя с ПЭГ в качестве флуоресцентного маркера для оценки эффективности фотодинамического воздействия.

Объектами исследования являются известные индотрикарбоцианиновые красители и новые ковалентно связанные с двумя цепочками полиэтиленгликоля молекулярной массой 200, 300 или 400 г/моль.

Предметом исследования являются фотофизические свойства, спектрально-люминесцентные характеристики индотрикарбоцианиновых красителей с ПЭГ и их аналогов без ПЭГ в растворах, биологических структурах различной степени сложности, методические вопросы применения новых красителей для диагностики и фотодинамической терапии злокачественных новообразований.

Научная новизна

1. Впервые показано, что наличие двух полиэтиленгликолей с молекулярной массой 300 – 400 г/моль в структуре индотрикарбоцианинового красителя повышает их растворимость в воде и уменьшает степень агрегации красителей.

2. Обнаружено концентрационное усиление генерации синглетного кислорода катионных индотрикарбоцианиновых красителей с анионом Γ^- в малополярных растворителях в диапазоне концентраций 10^{-8} – 10^{-5} М и показано, что это явление обусловлено увеличением с концентрацией доли контактных ионных пар и проявлением эффекта тяжелого атома аниона.

3. Установлено, что нарушение пропорциональности сигнала флуоресценции и концентрации фотосенсибилизатора на основе нового индотрикарбоцианинового красителя в биологических структурах обусловлено безызлучательным переносом энергии электронного возбуждения от мономеров на его нелюминесцирующие ассоциаты.

4. Установлено, что при фотохимиотерапии величина деформации в области 760-880 нм спектра флуоресценции *in vivo* индотрикарбоцианинового красителя, когда он используется в качестве самостоятельного ФС или дополнительно вводимого с ФС Фотолон биозонда, коррелирует со степенью повреждения опухолевых тканей.

Положения, выносимые на защиту

1. Введение в структуру молекул индотрикарбоцианиновых красителей полиэтиленгликолей с молекулярной массой 300-400 г/моль увеличивает растворимость в воде до $2 \cdot 10^{-3}$ М и уменьшает степень агрегации до ассоциатов с размером менее 200 нм, что обеспечивает возможность их использования для фотодинамической терапии.

2. Увеличение доли контактных ионных пар при повышении концентрации катионных индотрикарбоцианиновых красителей с анионом Γ^- в

малополярных растворителях приводит к возрастанию квантового выхода генерации синглетного кислорода вследствие увеличения выхода молекул в триплетное состояние за счет эффекта тяжелого атома.

3. Установленные характеристики флуоресценции новых красителей в модельной среде – сыворотке крови позволяет корректно определять спектры и кинетику затухания флуоресценции фотосенсибилизатора в биологических тканях, установить его концентрацию с помощью контактной спектрометрии и флуоресцентной томографии.

4. В качестве диагностической характеристики степени повреждения опухолевых тканей *in vivo* при фотодинамическом воздействии может использоваться деформация спектра флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя в области 760-880 нм, обусловленная трансформацией спектра пропускания в подвергнутом фотооблучению участке опухолевой ткани.

Личный вклад соискателя ученой степени

Представленные в диссертации основные результаты исследований получены автором самостоятельно. Все основные результаты, определяющие научную и практическую значимость работы, проведение исследований, статистическая обработка данных и их интерпретация получены и проработаны соискателем или при его непосредственном участии. Постановка цели и задач исследования, интерпретация экспериментальных результатов проводились совместно с научными руководителями Самцовым М.П и Воропаем Е.С.

Луговский А.П. и Луговский А.А. осуществляли синтез исследованных соединений. Комаров Ф.Ф., Гусаков Г.А., Мильчанин О.В., Белько Н.В., Тихомиров С.А., Буганов О.В., Сташевский А.С., Галиевский В.А. участвовали в проведении отдельных экспериментов по установлению свойств индотрикарбоцианиновых красителей в растворах. Истомин Ю.П., Петров П.Т., Насек В.М., Савин А.О., Зильберман Р.Д., Демид Д.И., Казачкина Н.И., Савицкий А.П., Жердева В.В., Меерович И.Г., Горященко А.С. участвовали в проведении отдельных экспериментов *in vivo* и *ex vivo* с экспериментальными животными.

Каплевский К.Н. и Ляшенко Л.С. принимали участие в обсуждении результатов.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты исследований, вошедшие в диссертацию, были представлены на следующих международных научных конференциях и съездах:

Международная научно-практическая конференция аспирантов, магистрантов и студентов «Физика конденсированного состояния» (Гродно, 2010, 2011, 2013, 2014); Международная научная конференция «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 2012, 2016, 2018); Международная научная конференция «Молодежь в науке – 2102» (Минск, 2012); Международная научно-практическая конференция «Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния» (Минск, 2013, 2015, 2017, 2019); Международная научно-техническая конференция «Квантовая электроника» (Минск, 2013, 2015, 2017); Международная конференция «Фундаментальные проблемы оптики» (Санкт-Петербург, 2016); Международная научная конференция «Проблемы взаимодействия излучения с веществом» (Гомель, 2018); Международная научно-техническая конференция «Медэлектроника» (Минск, 2016, 2018); Международная научная конференция «Материалы и структуры современной электроники» (Минск, 2018); VII, VIII съезды Российского фотобиологического общества (п. Шепси, Россия, 2014, 2017).

Практическая значимость результатов диссертации подтверждена 1 патентом.

Результаты диссертации внедрены в учебный процесс физического факультета БГУ (1 акт о внедрении), используются при выполнении научных проектов в Институте биоорганической химии НАН Беларуси (1 акт о внедрении).

Опубликованность результатов диссертации

Основные результаты диссертации опубликованы в 21 научной работе, из которых: 12 статей в научных изданиях в соответствии с п. 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (общим объемом 6,1 авторского листа), 1 статья в журнале «Доклады БГУИР», 8 статей в сборниках материалов научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из перечня сокращений и условных обозначений, введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, библиографического списка и трех приложений. Полный объем диссертации составляет 184 страницы, в том числе 65 рисунков занимают 36 страниц, 8 таблиц на 5 страницах, 4 приложения занимают 14 страниц. Библиографический список содержит 343 наименования, включая собственные публикации соискателя ученой степени.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В главе 1 представлен обзор литературных данных по фотонике красителей полиметинового класса в растворах и модельных биологических системах. Раздел 1.1 посвящен рассмотрению особенностей спектральных и фотофизических свойств полиметиновых красителей в растворах. Во втором разделе приведена актуальная на момент написания диссертации информация о свойствах фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии. Третий раздел посвящен вопросам проявления в спектрально-люминесцентных свойствах взаимодействия молекул полиметиновых красителей с окружением в биологических объектах.

Во второй главе представлены структурные формулы исследованных соединений, использованные экспериментальные методы и аппаратура. Основными объектами исследования диссертационной работы выступали новые водорастворимые индотрикарбоцианиновые красители с двумя ковалентно связанными цепочками полиэтиленгликоля (ПЭГ) молекулярной массы 300 – 400 г/моль (ПК212 и ПК220), нерастворимые в воде их аналоги без ПЭГ (ПК148 и ПК154, ПК7031), а также хорошо известный краситель НТС.

В третьей главе приведены результаты исследований спектрально-люминесцентных свойств симметричных индотрикарбоцианиновых красителей, которые различаются набором заместителей в полиметиновой цепи сопряжения и в концевых группах, в полярных органических растворителях и водных растворах.

Показано, что в полярных органических растворителях в диапазоне концентраций 10^{-8} – 10^{-4} М не обнаружено влияние противоиона представленных в работе красителей на их фотофизические и спектрально-люминесцентные свойства, а их молекулы находятся в форме мономеров, полностью диссоциированных на свободные ионы (рисунок 1). Введение ортофениленового мостика в полиметиновую цепь сопряжения приводит к гипсохромному смещению полос поглощения и флуоресценции красителей, происходит уменьшение квантового выхода флуоресценции (таблица 1).

Дальнейшее усложнение структуры красителя путем присоединения к концевым группам остатка масляной кислоты, а затем полиэтиленгликолей уменьшает гипсохромное смещение основной полосы поглощения, способствует росту квантового выхода флуоресценции до значений, которые сопоставимы с таковыми для эффективных флуоресцентных зондов в ИК-области (20 % и выше).

Таблица 1. – Спектрально-люминесцентные характеристики индотрикарбоцианиновых красителей в этаноле

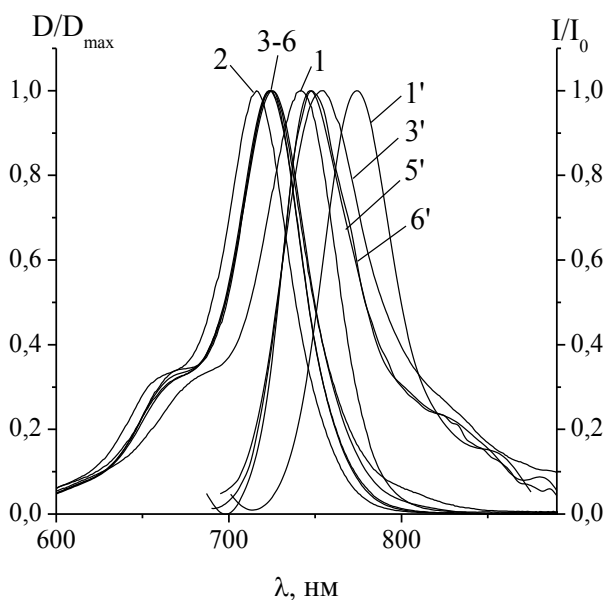
Краситель	λ_{abs}^{max} , нм	λ_f^{max} , нм	$\Delta\lambda_{abs}^{1/2}$, нм	$\varepsilon \cdot 10^5$ $M^{-1}cm^{-1}$	ϕ_f (20 °C)	τ (20 °C), нс
НТС(ClO ₄) НТС(Br)	742	773	53	2,5	0,28	1,4
ПК7031	720	746	49	2,8	0,10	0,7
ПК148	724	755	50	2,6	0,21	0,9
ПК154	724	755	50	2,6	0,21	0,9
ПК212(ПЭГ300)	723	749	48	2,5	0,24	1,2
ПК220	723	749	48	2,5	0,24	1,2

Исследовано состояние индотрикарбоцианиновых красителей в водном окружении. Красители без ПЭГ (ПК148 и ПК154) обладают низкой растворимостью в воде, приготовление их водных растворов в воде требует небольшого содержания этилового спирта (5 %). Модифицированные с помощью ПЭГ с молекулярной массой 300-400 г/моль красители (ПК212, ПК220) свободно растворяются в воде вплоть до концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ М. Показано, что исследованные красители склонны к ассоциации в воде.

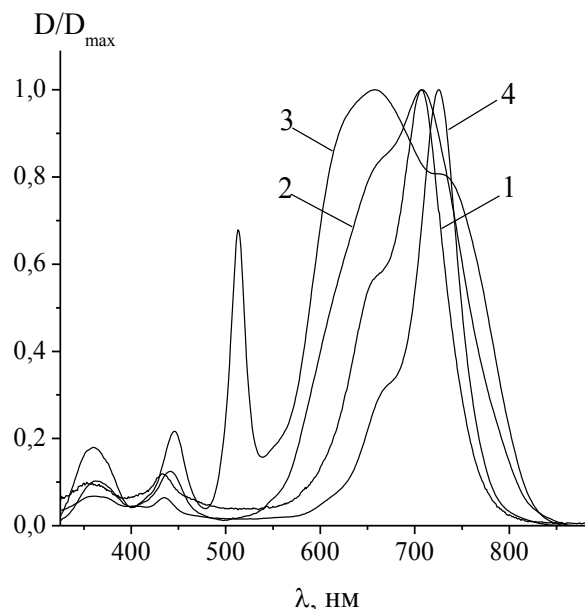
Посредством анализа спектров поглощения водных растворов ПК212/ПК220 при различных концентрациях, температурах, а также люминесцентных характеристик, показано, что образуются неструктурированные агрегаты Н-типа. На основании выполненного разделения спектра поглощения красителей в водных растворах определены порядок и степень агрегации красителей ПК212/ПК220 в диапазоне концентраций 10^{-8} - 10^{-3} М. Показано, что красители с ПЭГ (ПК212 и ПК220) в водном окружении в указанном диапазоне концентраций присутствуют в виде устойчивой равновесной смеси мономеров и димеров, а также агрегатов более высокой степени ассоциации, размер которых не превышает 200 нм. Установлено, что красители без ПЭГ (ПК148 и ПК154) при концентрациях выше 10^{-6} М образуют высокомолекулярные агрегаты, размер которых более 450 нм: неструктурированные Н-агрегаты со степенью агрегации выше двух, а также Н*-агрегаты (рисунок 2).

В четвертой главе приведены результаты исследований фотофизических свойств и эффективности фотоиндуцированной генерации синглетного кислорода индотрикарбоцианиновыми красителями в органических растворителях различной полярности.

Показано, что в органических растворителях с низкой полярностью полиморфизм фотофизических и спектрально-люминесцентных свойств катионных индотрикарбоцианиновых красителей обусловлен нахождением их молекул в виде смеси свободных ионов, сольватно-разделенных и контактных ионных пар.



1 – НТС; 2 – ПК7031; 3 – ПК148; 4 – ПК154; 5 – ПК212(ПЭГ300); 6 – ПК220
Рисунок 1. – Нормированные спектры поглощения (1-6) и флуоресценции (1'-6') красителей в этаноле при концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М

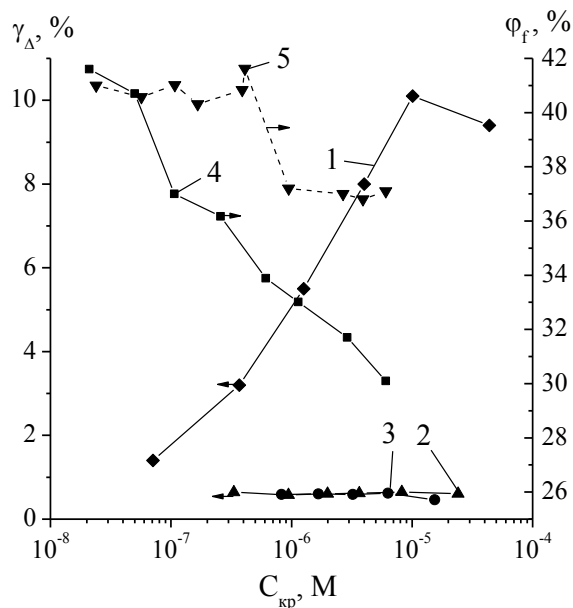


1 – ПК220 в воде; 2 и 3 – ПК148 и ПК154 в водно-спиртовом растворе с объемной долей этанола 5 %
Рисунок 2. – Нормированные спектры поглощения растворов красителей при концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М

На основании анализа люминесценции синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) установлено, что в этанольных растворах НТС при изменении концентрации красителей с любым противоионом в пределах от 10^{-7} М до 10^{-5} М квантовый выход образования синглетного кислорода (γ_Δ) имеет одинаковое значение $\gamma_\Delta = 0,006 \pm 0,001$ (рисунок 3), при этом постоянство длительности затухания люминесценции $^1\text{O}_2$ (12 ± 1 мкс) указывает на отсутствие процессов его тушения красителем.

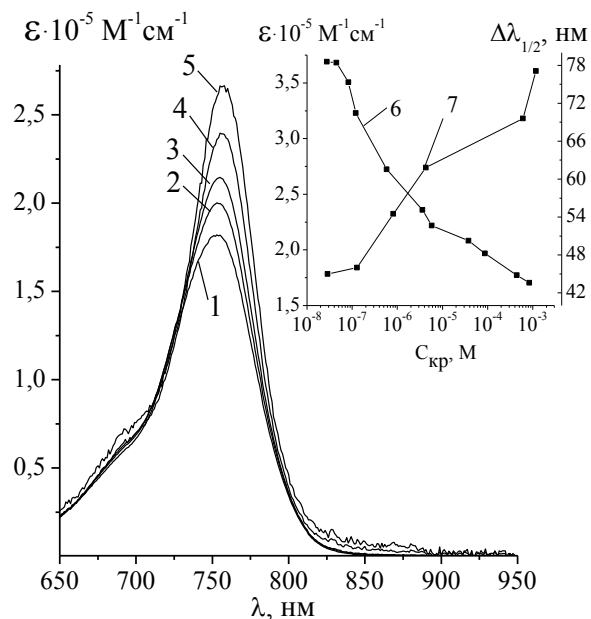
В малополярных хлороформе и о-дихлорбензоле у красителя НТС с противоионом Γ^- наблюдается значительный рост γ_Δ при изменении концентрации в диапазоне 10^{-7} – 10^{-5} М (рисунок 3). Так в хлороформе при изменении концентрации от $1,1 \cdot 10^{-7}$ М до $7,7 \cdot 10^{-6}$ М, когда остается постоянной длительность затухания люминесценции $^1\text{O}_2$ (248 ± 6 мкс), квантовый выход генерации синглетного кислорода для красителя НТСИ растет примерно на порядок с $\gamma_\Delta = 0,014 \pm 0,002$ до $\gamma_\Delta = 0,10 \pm 0,01$ соответственно,

что сопровождается деформацией спектров поглощения и флуоресценции, падением квантового выхода его флуоресценции с 0,37 до 0,30, а также уменьшением длительности флуоресценции с 1,6 нс до 1,2 нс.



1, 4 – НИТС(Г⁻) в хлороформе;
3 – НИТС(Г⁻) в этаноле; 2, 5 – НИТС(СlО₄⁻)
в хлороформе

Рисунок 3. – Квантовые выходы генерации синглетного кислорода (1-3) и флуоресценции (4, 5) красителя НИТС при изменении концентрации



1 – $1,0 \cdot 10^{-5}$ М, 2 – $5,3 \cdot 10^{-6}$ М, 3 – $2,6 \cdot 10^{-6}$ М,
4 – $6,3 \cdot 10^{-7}$ М, 5 – $3,3 \cdot 10^{-7}$ М;

6 – молярный коэффициент поглощения,
7 – полуширина спектра поглощения
Рисунок 4. – Спектры поглощения и их параметры красителя НИТС(Г⁻) в хлороформе при изменении концентрации

Сравнительный анализ спектральных и фотофизических параметров красителей НИТС с анионом Г⁻ или СlО₄⁻ в малополярных хлороформе и о-дихлорбензоле при изменении концентрации красителя показал, что концентрационное усиление образования синглетного кислорода в малополярных растворах индотрикарбоцианинового красителя НИТС обусловлено ростом доли его молекул в форме контактных ионных пар и проявлением эффекта тяжелого атома аниона Г⁻ (рисунок 4).

На основании сравнения спектрально-люминесцентных и фотофизических свойств красителей ПК220 и ПК154 в малополярных хлороформе и о-дихлорбензоле при увеличении концентрации красителя, а также при введении 10^{-2} М соли тетрабутиламмоний бромида установлено, что краситель ПК154 в диапазоне концентраций 10^{-7} – 10^{-5} М присутствует в таких растворах в виде равновесной смеси свободных ионов и контактных ионных пар, тогда как для его модификации с ПЭГ (ПК220) равновесие ионных форм с смещается в сторону преобладания контактных ионных пар.

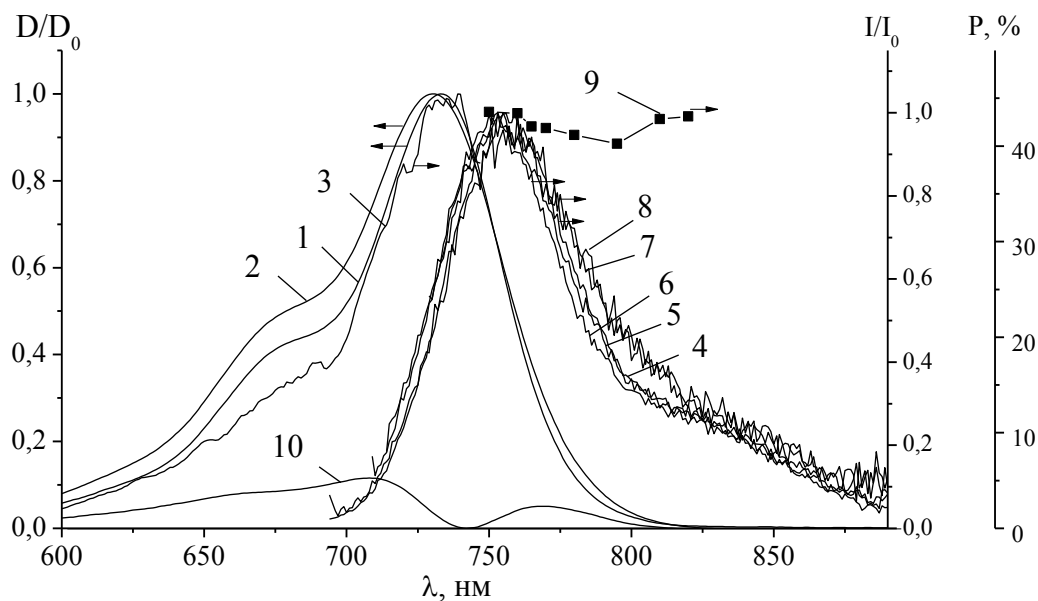
Разработана экспресс методика анализа чистоты субстанции фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианиновых красителей с ПЭГ (ПК212/ПК220), в которой используются различия спектров поглощения в хлороформе красителей с ПЭГ и без него.

В главе 5 приведены результаты исследований спектрально-люминесцентных и фотофизических свойств красителя в ряде модельных биологических системах. Установлено, что в биологических объектах индотрикарбоцианиновый краситель с ПЭГ (ПК220) переходит из водной среды в окружение с низкой диэлектрической проницаемостью, которое характерно для различных белковых и липидных компонент биологических систем. Показано, что наблюдаемая деформация спектральных параметров красителя *in vivo* в течение 40-60 минут после внутривенного введения обусловлена образованием более прочных вторичных комплексов.

Присутствие полосы нелюминесцирующих Н-агрегатов в биологических модельных средах указывает на то, что краситель при изменении концентрации способен входить в различные домены белка как в форме мономеров, так и в форме димеров (рисунок 5). Установлено, что кинетика затухания флуоресценции ПК220 в биологических объектах носит одноэкспоненциальный характер. Вследствие перекрытия спектра поглощения Н-агрегатов ПК220 со спектром флуоресценции его мономеров в таких средах при увеличении концентрации наблюдается динамическое тушение флуоресценции, которое обусловлено безызлучательным переносом энергии электронного возбуждения от мономеров на нелюминесцирующие ассоциаты. Показано, что для обеспечения корректного определения флуоресцентными методами концентрации красителя в тканях и органах лабораторных животных *in vivo* и *ex vivo* необходимо выполнение условия равенства времени затухания флуоресценции красителя в пределах всей области регистрации, а также совпадения данного параметра в тканях органов животных и в используемых для калибровочных целей модельных средах.

С помощью диффузионного флуоресцентного томографа (FMT 4000, PerkinElmer) зарегистрированы флуоресцентные изображения распределения фотосенсибилизатора на основе ПК220 в организме мыши Nu/Nu на разных временных отсчетах после внутривенного введения. Показано, что в качестве среды для создания раствора для калибровочного фантома томографа оптимальным является использование сыворотки крови при концентрации красителя не превышающей 4 мкМ. Определены концентрации фотосенсибилизатора в опухолевом узле, здоровой мышечной ткани и печени в зависимости от времени после внутривенного введения. Полученные с помощью флуоресцентной томографии результаты коррелируют с

фармакокинетикой ПК220, которая получена с помощью контактного флуоресцентного спектрометра, в котором подвод возбуждающего излучения и сбор флуоресценции осуществляется с помощью световода. Установлено, что при микромолярных концентрациях фотосенсибилизатора на основе ПК220 методы контактной флуоресцентной спектрометрии и диффузионной флуоресцентной томографии дают сопоставимые результаты для профиля кинетики накопления в тканях *in vivo*.

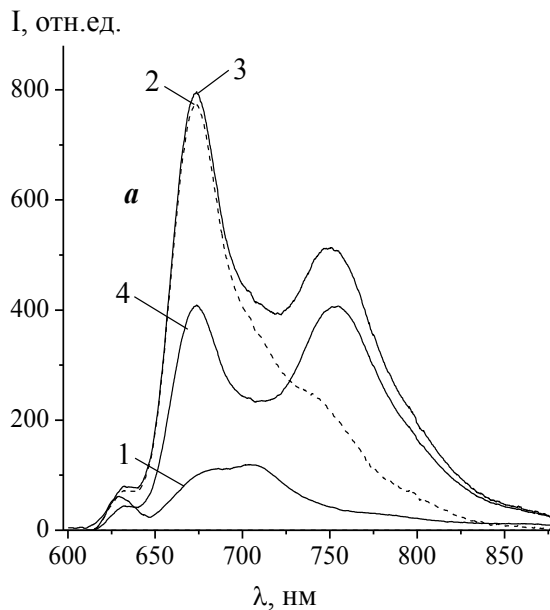


1, 2 – спектры поглощения; спектр возбуждения флуоресценции при регистрации на длине волны 755 нм; спектры флуоресценции при возбуждении излучением с длиной волны: 4, 8 – 682 нм, 5, 7 – 700 нм, 6 – 720 нм; 9 – поляризационный спектр; 10 – разностный спектр поглощения

Рисунок 5. – Спектрально-люминесцентные свойства индотрикарбоцианинового красителя с ПЭГ в сыворотке крови при концентрации $C = 1,39 \cdot 10^{-6}$ М (1, 4, 5, 6) и $C = 1,03 \cdot 10^{-5}$ М (2, 3, 7, 8)

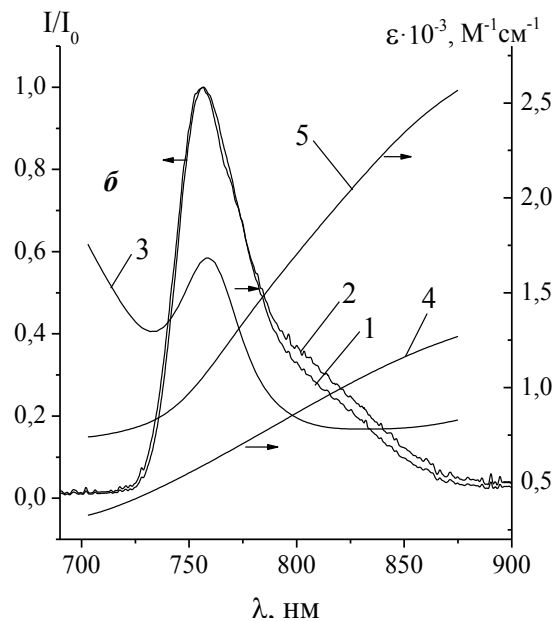
Методом контактной флуоресцентной спектроскопии исследованы спектрально-люминесцентные свойства индотрикарбоцианинового красителя ПК220 в опухолевых тканях в процессе фотохимиотерапии, когда он используется в качестве самостоятельного ФС или дополнительно вводимого с ФС Фотолон® биозонда. В первом случае облучение осуществлялось полупроводниковым лазером с длиной волны 750 нм. Во втором случае краситель вводился в меньшей на порядок концентрации совместно с ФС Фотолон® и фотодинамическом воздействии диодным лазером с длиной волны 667 нм. Установлено, что при ФДТ в облученной части опухоли концентрация фотосенсибилизатора Фотолон® уменьшается примерно в 2

раза, а концентрация индотрикарбоцианинового красителя в любой области опухолевого узла не изменяется (рисунок 6).



1 – интактной крысы; 2 – при введении животному Фотолон 2,5 мг/кг; 3 и 4 – при введении Фотолон 2,5 мг/кг и ПК220 1 мг/кг до начала фотовоздействия при ФДТ и после фотовоздействия лазером 667 нм с экспозиционной дозой 100 Дж/см² соответственно

Рисунок 6. – Спектры флуоресценции при возбуждении излучением He-Ne лазера с длиной волны 632,8 нм опухолевых тканей *in vivo*



1 и 2 – до и после фотовоздействия на Фотолон в опухолевых тканях лазером 667 нм с экспозиционной дозой 100 Дж/см² и некрозе глубиной 15 мм соответственно; 3-5 – спектры поглощения дезокси-, окси- и метгемоглобина соответственно
Рисунок 7. – Нормированные спектры флуоресценции ПК220 в опухолевых тканях *in vivo* при возбуждении излучением полупроводникового лазера с длиной волны 683 нм

В обоих случаях обнаружено соответствие величины деформации спектров флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя *in vivo* в области 760–880 нм с глубиной повреждения опухолевых тканей в результате фотодинамического фотовоздействия (рисунок 7). Изменения формы спектра интерпретированы в рамках модели влияния поглощения расположенных в тканях различных форм гемоглобина на достигшую поверхности опухоли флуоресценцию красителя. В результате расчета установлено, что наилучшее совпадение экспериментального и рассчитанного спектров флуоресценции красителя в облученном участке опухоли при ФДТ с ФС Фотолон® наблюдается при увеличении концентрации дезоксигемоглобина с 14–15 % до 20% и симбатном уменьшении концентрации оксигемоглобина с 85% до 79%. Концентрация метгемоглобина при этом практически не меняется и не

превышает 1%. При использовании в качестве и фотосенсибилизатора и зонда ПК220 наблюдалось локальное повышение до 50 % концентрации метгемоглобина в облучаемом участке опухолевой ткани от общей концентрации гемоглобина в крови, доля оксигемоглобина составляла около 30 % и дезоксигемоглобина около 20 %.

Значительные различия в изменении содержания различных форм гемоглобина при одинаковой степени повреждения опухолевых тканей при ФДТ с фотосенсибилизатором Фотолон и фотосенсибилизатором ПК220 при глубине некроза опухолевых тканей ~ 15 мм указывает на то, что для этих фотосенсибилизаторов различается механизм повреждения. С учетом спектрально-люминесцентных и фотофизических свойств индотрикарбоцианинового красителя с ПЭГ в различных модельных объектах, приведены результаты определения оптимальных условий проведения сеанса фотодинамической терапии. Установлено, что при фотовоздействии на фотосенсибилизатор на основе индотрикарбоцианинового красителя с ПЭГ, в клетках HeLa квантами света с разной энергией и при обеспечении условия поглощения фотосенсибилизатором одинакового количества фотонов в единицу времени доля погибших раковых клеток для обоих случаев одинакова.

В экспериментах на лабораторных животных *in vivo* для штамма опухолей саркома М-1 установлено, что для красителя с ПЭГ при увеличении длины волны фотовоздействия с 740 нм до 780 нм и поддержании одинакового числа поглощенных квантов света в единицу времени в единице объема опухолей глубина их повреждения возрастает в 1,5 раза и превышает этот параметр для соединений без ПЭГ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. На основании анализа фотофизических свойств симметричных индотрикарбоцианиновых красителей ковалентно связанных с полиэтиленгликолями массой 200 – 400 г/моль и их аналогов без ПЭГ в полярных органических растворителях установлено, что в таких средах молекулы исследованных соединений находятся в мономерном состоянии в форме свободных ионов. Показано, что наличие объемных заместителей на концевых группах молекул практически не влияет на положение электронно-колебательных уровней молекул и вероятности переходов между ними. [1, 2, 6, 7, 9, 14]

2. Установлено, что индотрикарбоцианиновые красители с ПЭГ с молекулярной массой 300–400 г/моль присутствуют в водном окружении в диапазоне концентраций от 10^{-8} М до $2 \cdot 10^{-3}$ М в виде равновесной смеси мономеров и димеров, а также агрегатов более высокой степени ассоциации, размер которых не превышает 200 нм. [7, 9, 11, 15, 16, 17, 20]

3. На основании анализа спектральных и фотофизических характеристик индотрикарбоцианинового красителя НТС с противоионом Γ^- и ClO_4^- в малополярном хлороформе и дихлорбензоле установлено, что в средах с низкой полярностью при концентрациях менее 10^{-5} М происходит диссоциация красителя на свободные ионы. Показано, что концентрационное усиление образования синглетного кислорода в малополярных растворах индотрикарбоцианинового красителя НТС с анионом Γ^- обусловлено ростом с концентрацией доли молекул в форме контактных ионных пар и проявлением эффекта тяжелого атома аниона Γ^- . [1, 2, 3, 5, 6]

4. На основании анализа спектрально-люминесцентных свойств индотрикарбоцианинового красителя с ПЭГ (ПК220) в тканях лабораторных животных *in vivo* и *ex vivo* и в модельных биологических средах установлено, что в биологических объектах краситель переходит из водной среды в окружение с низкой диэлектрической проницаемостью, которое характерно для различных белковых и липидных компонент. Установлено, что краситель способен входить в домены белка как в форме мономеров, так и в форме димеров. Показано, что с увеличением концентрации красителя в биологических средах происходит динамическое тушение его флуоресценции вследствие безызлучательного переноса энергии электронного возбуждения от мономеров красителя на нелюминесцирующие Н-агрегаты. [10, 13, 18, 19]

5. Совпадение фотофизических характеристик красителя ПК220 в биологических тканях и сыворотке крови, а также кинетики их трансформации со временем после введения позволяет использовать эту модельную среду для калибровки аппаратуры по определению концентрации фотосенсибилизатора в тканях *in vivo*; определить условия, которые обеспечивают корректное определение спектров и кинетики затухания флуоресценции фотосенсибилизатора в биологических тканях *in vivo*. Установлено, что при микромолярных концентрациях красителя методы контактной флуоресцентной спектрометрии и диффузионной флуоресцентной томографии дают сопоставимые результаты для профиля кинетики накопления в тканях *in vivo* фотосенсибилизатора на основе ПК220. [4, 10, 12, 13, 18, 19, 21]

6. На основании анализа данных контактной флуоресцентной спектрометрии обнаружено, что как при ФДТ с ФС на основе красителя ПК220, так и при ФДТ с ФС Фотолон® при совместном введении с

индотрикарбоцианиновым красителем глубина повреждения опухолевых тканей соответствует величине деформации спектра флуоресценции красителя в области 760-880 нм. Установленное изменение формы спектра флуоресценции красителя интерпретировано в рамках модели влияния поглощения излучения различными формами гемоглобина, соотношение которых в облучаемой части опухоли меняется вследствие расхода молекулярного кислорода. [8, 9]

Рекомендации по практическому использованию результатов

Полученные результаты по оптимизации условий проведения сеансов ФДТ на лабораторных животных позволили обеспечить высокую эффективность фототерапии при использовании новых индотрикарбоцианиновых фотосенсибилизаторов. Показано, что путем анализа флуоресценции индотрикарбоцианиновых красителей в спектральном диапазоне 760–880 нм на разных стадиях фотодинамического воздействия *in vivo* с фотосенсибилизатором Фотолон® можно диагностировать эффективность фототерапии.

Результаты исследования фотофизики индотрикарбоцианиновых красителей с объемными заместителями на полиметиновой цепи сопряжения и в концевых группах могут служить для дальнейшей оптимизации структуры фотосенсибилизатора (1 патент).

По результатам исследования фотофизических свойств новых индотрикарбоцианиновых красителей в биологических системах разработана и внедрена методика фармакокинетических исследований накопления фотосенсибилизаторов активируемых излучением ближнего инфракрасного диапазона в опухолевых тканях экспериментальных животных *in vivo* (1 акт о внедрении).

Результаты исследования фотофизических свойств трикарбоцианиновых красителей в растворах использованы в технологическом процессе производства флуоресцентных инфракрасных меток для документов строгой отчетности (1 акт о внедрении).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в научных изданиях в соответствии с п. 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь

1. Генерация синглетного кислорода индотрикарбоцианиновым красителем НІТСІ / К.Н. Каплевский, М.П. Самцов, А.С. Сташевский, В.А. Галиевский, Д.С. Тарасов, Е.С. Воропай // Вестник БГУ. Сер.1. – 2012. – №2. – С.7-11.
2. Фотофизические и фотохимические свойства молекул индотрикарбоцианинового красителя НІТС в растворах / М.П. Самцов, С.А. Тихомиров, Л.С. Ляшенко, Д.С. Тарасов, О.В. Буганов, В.А. Галиевский, А.С. Сташевский, Е.С. Воропай // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2013. – Т.80, №2. – С.177-182.
3. Закономерности фотодеструкции индотрикарбоцианинового красителя НІТС в малополярных средах / Д.С. Тарасов, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Л.С. Ляшенко // Вестник БГУ. Сер.1. – 2013. – №1. – С.17-22.
4. Особенности регистрации флуоресценции индотрикарбоцианиновых красителей в биотканях / К.Н. Каплевский, А.А. Луговский, Л.С. Ляшенко, Д.С. Тарасов // Молодежь в науке – 2012: прил. к журн. «Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». В 5 ч. Ч 3. Серия физико-математических наук / Нац. акад. наук Беларуси. Совет молодых ученых НАН Беларуси ; редкол. С.В. Абламейко (гл. ред.), С.Я. Килин [и др.] – Минск: Беларус. Навука, 2013. – С. 14-20.
5. Тарасов, Д.С. Фотофизические свойства симметричного индотрикарбоцианинового красителя в малополярном диоксане / Д.С. Тарасов // Молодежь в науке – 2012: прил. к журн. «Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». В 5 ч. Ч 3. Серия физико-математических наук / Нац. акад. наук Беларуси. Совет молодых ученых НАН Беларуси ; редкол. С.В. Абламейко (гл. ред.), С.Я. Килин [и др.] – Минск: Беларус. Навука, 2013. – С. 58-62.
6. Концентрационное увеличение квантового выхода образования синглетного кислорода индотрикарбоцианиновым красителем / М. П. Самцов, Д. С. Тарасов, А. С. Сташевский, К. Н. Каплевский, Е. С. Воропай // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2014. – Т.81, № 2. – С.219-227.
7. Анализ спектральных свойств многокомпонентных растворов нового индотрикарбоцианинового красителя / Д.С. Тарасов, К.Н. Каплевский, М.П. Самцов, Е.С. Воропай // Вестник БГУ. Сер.1. – 2015. – №2. – С. 8-12.

8. Флуоресцентная диагностика повреждения опухолевых тканей при фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором Фотолон® / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, К.Н. Каплевский, Е.С. Воропай, П.Т. Петров, Ю.П. Истомин // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2016. – Т.83, № 1. – С. 89-95.

9. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A.A. Lugovski, M.P. Samtsov, K.N. Kaplevsky, D.S. Tarasau, E.S. Voropay, P.T. Petrov, Y.P. Istomin // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. – 2016. – Vol.316. – P.31-36.

10. Оптимизация параметров фантома для диффузионной флуоресцентной томографии биотканей *in vivo* / М. П. Самцов, Д. С. Тарасов, А. С. Горященко, Н. И. Казачкина, В. В. Жердева, А. П. Савицкий, И.Г. Меерович // Журн. Белорус. гос. ун-та. Физика. – 2018. – № 1. – С. 33-40.

11. Спектрально-люминесцентные свойства и морфология самоорганизованных наноструктур индотрикарбацианинового красителя / Н.В. Белько, М.П. Самцов, Г.А. Гусаков, Д.С. Тарасов, А.А. Луговский, Е.С. Воропай // Журнал Прикладной Спектроскопии. – 2018. – Т.84, №6. – С.868-878.

12. Оптимизация параметров источника фотовоздействия при фотохимиотерапии опухолевых тканей лабораторных животных / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, Е.С. Воропай, Л.С. Ляшенко, П.Т. Петров, В.М. Насек, А.О. Савин, Р.Д. Зильберман // Журнал Белорусского государственного университета. Физика. – 2019. – № 1. – С. 19-26.

Статьи в других научных изданиях

13. Распределение фотосенсибилизатора на основе индотрикарбацианинового красителя в тканях животных *in vivo* / Д.С. Тарасов, М.П. Самцов, Н.И. Казачкина, А.П. Савицкий, В.В. Жердева, А.О. Савин, Р.Д. Зильберман, В.М. Насек, П.Т. Петров // Доклады БГУИР. – 2018. – № 7. – С. 69-73.

Статьи в сборниках материалов научных конференций

14. Фотофизические свойства наносомальных форм трикарбацианиновых красителей / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, К.Н. Каплевский, Е.С. Воропай, А.П. Луговский, А.А. Луговский // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы второй Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27-28 фев. 2013 г. / М-во образования Респ. Беларусь, НИУ

«Ин-т приклад. физ. проблем им. А.Н. Севченко» Беларус. гос. ун-та; редкол: В.И. Попечиц (гл. ред.), Ю.И. Дудчик. – Минск, 2013. – С. 75–77.

15. Оптические свойства индотрикарбоцианинового красителя с полиэтиленгликолями в водных растворах / Д.С. Тарасов, М.П. Самцов, К.Н. Каплевский, Е.С. Воропай, А.П. Луговский // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы второй Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27-28 фев. 2013 г. / М-во образования Респ. Беларусь, НИУ «Ин-т приклад. физ. проблем им. А.Н. Севченко» Беларус. гос. ун-та; редкол: В.И. Попечиц (гл. ред.), Ю.И. Дудчик. – Минск, 2013. – С. 84–86.

16. Образование наноструктурированных объектов в результате самоорганизации полиметинового красителя / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, К.Н. Каплевский, Е.С. Воропай, О.В. Мильчанин, Ф.Ф. Комаров // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы третьей Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 28-29 апр. 2015 г. / М-во образования Респ. Беларусь, НИУ «Ин-т приклад. физ. проблем им. А. Н. Севченко Беларус. гос. ун-та; редкол.: В.И.Попечиц (гл. ред.), Ю.И.Дудчик, И.И.Шугалей. – Минск, 2015. – С. 269-271.

17. Оптические свойства самоорганизованных наноструктур индотрикарбоцианинового красителя / Н.В. Белько, Г.А. Гусаков, М.П. Самцов, Д.С. Тарасов // Сборник трудов IX Международной конференции «Фундаментальные проблемы оптики – 2016», Санкт-Петербург, 17-21 октября 2016 / СПб: Университет ИТМО; под ред. проф. В.Г. Беспалова, проф. С.А. Козлова. – Санкт-Петербург, 2016. – С. 313-315.

18. Свойства нового наноструктурированного индотрикарбоцианинового красителя для оптической томографии / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, К.Н. Каплевский, В.В. Жердева, И.Г. Меерович, Л.С. Ляшенко, А.П. Луговский, А.А. Луговский, Е.С. Воропай, А.П. Савицкий, В.М. Насек, П.Т. Петров // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: сборник статей Междунар. науч. конф.; Двенадцатый съезд Белорус. обществ. объединения фотобиологов и биофизиков, Минск, 28—30 июня 2016 г.: сб. ст. : в 2 ч. / Изд. центр БГУ; редкол. : И. Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2016. – Ч.1. – С.351-353.

19. Оптимизация параметров фантома для диффузионной флуоресцентной томографии биотканей in vivo / М.П. Самцов, Д.С. Тарасов, Н.И. Казачкина, В.В. Жердева, А.С. Горященко, А.П. Савицкий // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы IV Международной научно-практической конференции, Минск, 11–12 мая 2017 г. / М-во образования Респ. Беларусь, НИУ И-т

приклад. физ. проблем им. А.Н.Севченко Белорус. гос. ун-та; редкол.: В.И. Попечиц (гл.ред), Ю.И. Дудчик, Г.А. Сенкевич. – Минск, 2017. – С.133-135.

20. Экспресс методика анализа состава субстанции фотосенсибилизатора на основе индотрикарбоцианинового красителя с полиэтиленгликолем / Д.С. Тарасов, М.П. Самцов, Н.В. Белько, А.П. Луговский, А.А. Луговский, Е.С. Воропай // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы пятой Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 16-17 мая 2019 г. / Мин. обр. РБ, Науч.-исслед. ин-т прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко Белорус. гос. ун-та; редкол. В.И. Попечиц [и др.]. – Минск, 2019. – С. 100-102.

21. Тарасов, Д.С. Фармакокинетика накопления фотосенсибилизатора в тканях экспериментальных животных *in vivo* / Д.С. Тарасов, М.П. Самцов, Н.И. Казачкина, А.П. Савицкий, В.В. Жердева, И.Г. Меерович, А.О. Савин, Р.Д. Зильберман, В.М. Насек, П.Т. Петров // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния: материалы пятой Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 16-17 мая 2019 г. / Мин. обр. РБ, Науч.-исслед. ин-т прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко Белорус. гос. ун-та; редкол. В.И. Попечиц [и др.]. – Минск, 2019. – С. 103-105.

Патенты

22. Модифицированный полиэтиленгликолем водорастворимый фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии злокачественных опухолей : пат. ВУ 21252 / М.П. Самцов, А.П. Луговский, А.А. Луговский, П.Т. Петров, Е.С. Воропай, Ю.П. Истомин, К.Н. Каплевский, Д.И. Демид, Д.С. Тарасов. – Оpubл. 30.08.2017.

РЕЗЮМЕ

Тарасов Дмитрий Сергеевич

ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯМИ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Ключевые слова: трикарбоцианиновые красители, полиэтиленгликоль, синглетный кислород, агрегация, ионные пары, флуоресценция, фотодинамическая терапия.

Цель работы: установление закономерностей протекания фотофизических процессов в новых симметричных индотрикарбоцианиновых красителях с объемными заместителями в растворах и биологических структурах, выработка на этой основе рекомендаций по оптимизации условий применения красителей в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии злокачественных новообразований.

Методы исследования: спектрофотометрия, стационарная и кинетическая флуориметрия.

Использованная аппаратура: спектрофотометр, спектрофлуориметр, диффузионный флуоресцентный томограф, лазерные и диодные источники излучения, микроскоп, CCD-камера, персональные компьютеры.

Полученные результаты и их новизна. Впервые обнаружен рост на порядок квантового выхода генерации синглетного кислорода катионных индотрикарбоцианиновых красителей в малополярных растворителях при увеличении их концентрации и показано, что это явление обусловлено увеличением с концентрацией доли контактных ионных пар и проявлением эффекта тяжелого атома аниона Г⁻. Установлено, что присутствие двух цепочек полиэтиленгликолей с молекулярной массой 300 или 400 г/моль в структуре катионных индотрикарбоцианиновых красителей смещает ионное равновесие в сторону увеличения доли контактных ионных пар, повышает растворимость и уменьшает степень агрегации красителей в воде. Установлено, что существует корреляция между величиной деформации спектра флуоресценции индотрикарбоцианинового красителя *in vivo* со степенью повреждения опухолевых тканей при фотохимиотерапии.

Рекомендации по использованию и область применения. Полученные результаты позволяют предложить новые эффективные фотосенсибилизаторы для тераностики и рекомендации для оптимизации режима фотодинамической терапии, значимы для понимания фотофизики полиметиновых красителей. Область применения – спектроскопия, фототопфизика, биофизика, фотодинамическая терапия.

РЭЗЮМЕ

Тарасаў Дзмітрый Сяргеевіч

**ФОТАФІЗІЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ ІНДАТРЫКАРБАЦЫЯНІНАВЫХ
ФАРБАВАЛЬНІКАЎ С ПОЛІЭТЫЛЕНГЛІКОЛЯМІ ДЛЯ
ФОТАДЫНАМІЧНАЙ ТЭРАПІІ**

Ключавыя словы: трыкарбацыянінавыя фарбавальнікі, поліэтыленгліколю, сінглетны кісларод, агрэгатыя, іонныя пары, флуарэсцэнцыі, фотадынамічная тэрапія.

Мэта работы: ўсталяванне заканамернасцяў працякання фотафізічных працэсаў у новых сіметрычных трыкарбацыянінавых фарбавальніках з аб'ёмнымі намеснікамі ў растворах і біялагічных структурах, выпрацоўка на гэтай аснове рэкамендацый па аптымізацыі ўмоў прымянення фарбавальнікаў у якасці фотасенсібілізатараў для фотадынамічнай тэрапіі злаякасных новаўтварэнняў.

Метады даследавання: спектрафотаметрыя, стацыянарная і кінетычная спектрафлуараметрыя.

Скарыстаная апаратура: спектрафотометр, спектрафлуаріметр, дыфузійны флуарэсцэнтны тамограф, лазерныя і дыядныя крыніцы выпраменьвання, мікраскоп, CCD-камера, персанальныя кампутары.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню выяўлены рост на парадак квантавага выхаду генерацыі сінглетнага кіслароду катыённых індатрыкарбацыянінавых фарбавальнікаў у малапалярных растваральніках пры павелічэнні іх канцэнтрацыі і паказана, што гэта з'ява абумоўлена павелічэннем з канцэнтрацыяй долі кантактных іонных пар і праявай эфекту цяжкага атама аніёны Г. Устаноўлена, што прысутнасць двух ланцужкоў поліэтыленгліколей з малекулярнай масай 300 або 400 г/моль ў структуры катыённых індатрыкарбацыянінавых фарбавальнікаў ссоўвае іонную раўнавагу ў бок павелічэння долі кантактных іонных пар, павышае растваральнасць і памяншае ступень агрэгатыі фарбавальнікаў у вадзе. Устаноўлена, што існуе карэляцыя паміж велічынёй дэфармацыі спектру флуарэсцэнцыі індатрыкарбацыянінавага фарбавальніка *in vivo* са ступенню пашкоджання пуховых тканін пры фотохіміотэрапіі.

Рэкамендацыі па выкарыстанню і вобласць прымянення. Атрыманыя вынікі дазваляюць прапанаваць новыя эфектыўныя фотасенсібілізатары для тэранастыкі і рэкамендацыі для аптымізацыі рэжыму фотадынамічнай тэрапіі, значныя для разумення фотафізікі поліметрынавых фарбавальнікаў. Вобласць прымянення – спектраскапія, фотафізіка, біяфізіка, фотадынамічная тэрапія.

SUMMARY

Tarasau Dzmitry Sergeevich

PHOTOPHYSICAL PROPERTIES OF INDOTRICARBOCYANINE DYES WITH POLYETHYLENEGLYCOLS FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

Keywords: tricarbo cyanine dyes, polyethyleneglycol, photophysics, singlet oxygen, aggregation, ion pairs, fluorescence, photodynamic therapy.

The aim of this work: to determine the pattern of photophysical processes in new symmetric tricarbo cyanine dyes with bulky substituents in solutions and biological structures, development on this basis recommendations for optimizing the conditions of use dyes as a photosensitizers for photodynamic therapy of malignant neoplasms.

Methods of research: spectrophotometry, steady state and time-resolved fluorescence.

Used equipment: spectrophotometer, spectrofluorometer, diffusion fluorescence tomography, laser and diode radiation sources, microscope, CCD-camera, personal computers.

The results obtained and their novelty. For the first time, an increase in the quantum yield of singlet oxygen generation by cationic indotricarbo cyanine dyes in low-polar solvents with an increase in their concentration was found, and it was shown that this phenomenon is due to an increase in the concentration of contact ion pairs and the manifestation of the heavy atom effect by the anion I^- . It was established that the presence of two chains of polyethylene glycols with a molecular weight of 300 or 400 g/mol in the structure of cationic indotricarbo cyanine dyes displaces its ionic equilibrium towards an increase in the part of contact ion pairs, increases solubility and reduces the aggregation degree of dyes in water. It was found that there is a correlation between the deformation value of the indotricarbo cyanine dye fluorescence spectrum *in vivo* with the degree of tumor tissues damage during photochemotherapy.

Recommendations for future use and application fields. The obtained results allow us to propose new effective photosensitizers for theranostics and recommendations for optimizing photodynamic therapy regime, are significant for understanding the photophysics of polymethine dyes. Application field – spectroscopy, photophysics, biophysics, photodynamic therapy.