

## СПЕКТРАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ДИССОЦИИИ ТЕМОПОРФИНА ИЗ КОМПЛЕКСОВ ВКЛЮЧЕНИЯ С ПОЛИМЕРНЫМ ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова» БГУ, Минск, Беларусь

В работе показана возможность использования спектральных характеристик фотосенсибилизатора мета-тетрагидроксибензилхлорина (мТГФХ) для анализа процессов его ассоциации и диссоциации из состава комплексов с полимерным циклодекстрином. В качестве характеристики, позволяющей следить за процессом выхода мТГФХ может выступать изменение формы спектра флуоресценции. С использованием установленных спектральных методов показано, что скорость выхода мТГФХ из комплексов с полимером значительно ниже в сравнении с комплексами с мономерным циклодекстрином.

$\beta$ -циклодекстрины ( $\beta$ -ЦД), получаемые ферментативным путём из крахмала углеводы, представляют собой циклические олигосахариды торической формы с сквозной гидрофобной полостью [1]. Подобное строение обуславливает возможность образовывать комплексы включения посредством взаимодействия гость-хозяин с различными органическими молекулами [2]. Использование  $\beta$ -ЦД для создания платформ фармакологических форм препаратов, позволяет улучшить растворимость и биодоступность молекул лекарственного соединения [3].

Считается, что повысить эффективность и применимость  $\beta$ -ЦД возможно путем их включения в полимерные структуры. За счёт высокой гибкости полимерной цепи возможно установление нескольких контактов молекул лекарственного соединения с одной молекулой носителя (Рисунок 1). Следовательно, использование ЦД-содержащих полимеров, а также материалов на их основе позволит существенно увеличить время существования фармпрепарата по сравнению с нативным ЦД [4]. Подобные изменения свойств комплексов включения расширяют возможности регуляции фармакокинетики лекарств в организме. Применение полимеров на основе ЦД в качестве наноносителей предполагает необходимость разработки методов контроля выхода лекарств из комплексов с ними.

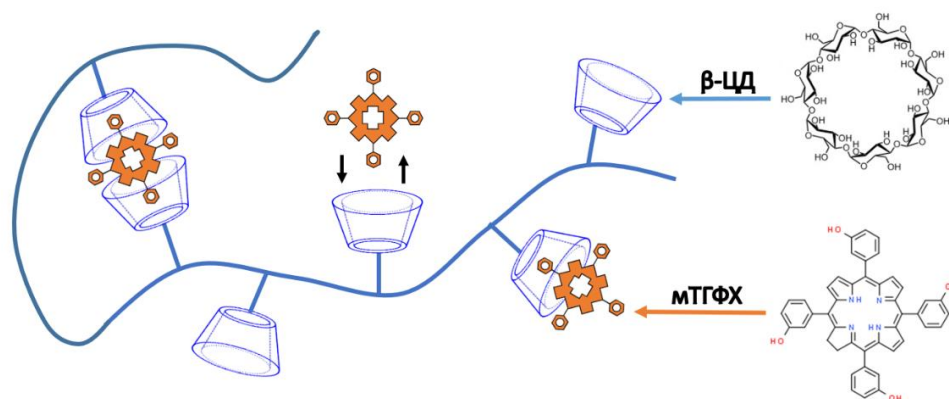


Рисунок 1 – Схематическое изображение образования комплексов включения фотосенсибилизатора Темопорфин (мТГФХ) с полимерными ЦД.

В нашей работе с использованием спектральных методов проведено сравнение скоростей процесса диссоциации мета-тетрагидроксибензилхлорина (мТГФХ) из состава комплексов включения с мономерным/полимерным ЦД. мТГФХ – это фотосенсибилизатор (ФС) второго поколения, который в настоящее время используется в клинической практике для фотодинамической терапии [5].

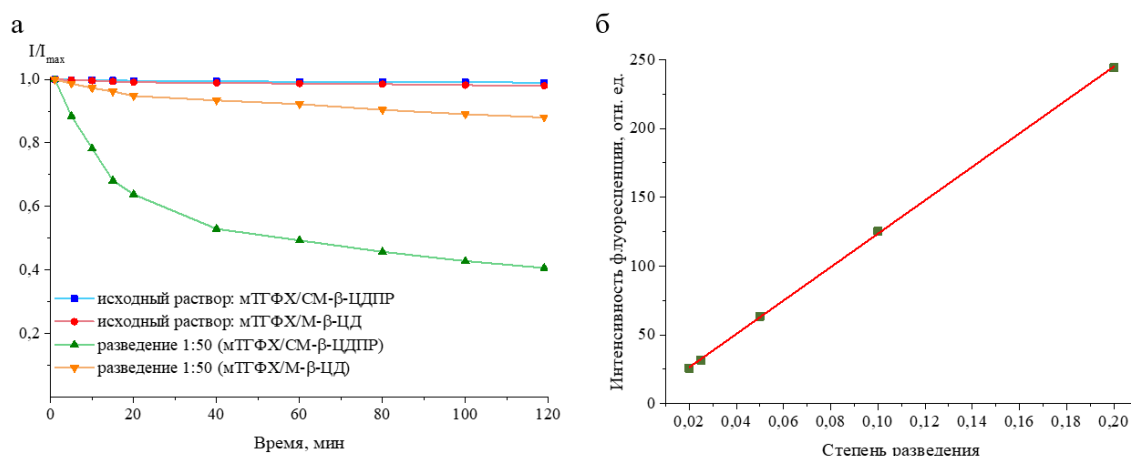
мТГФХ был предоставлен компанией Biolitec Research GmbH (Йена, Германия). Растворимый полимер карбоксиметил- $\beta$ -циклодекстрина (КМ- $\beta$ -ЦДПР) был приобретен у фирмы CYCLOLAB R&D. Ltd., (Будапешт, Венгрия). КМ- $\beta$ -ЦДПР получают случайным сшиванием мономеров циклодекстрина. Средняя молекулярную массу полимера – 153 кДа. Расчетное содержание циклодекстрина 50–70%. Метил- $\beta$ -ЦД (М- $\beta$ -ЦД) был получен из AraChem (Нидерланды).

Регистрация флуоресцентных характеристик проводилась на спектрофлуориметре «Solar CM-2203» (Республика Беларусь), оборудованном термостатируемой ячейкой с магнитной мешалкой и съемными поляризаторами. Оптическая плотность всех образцов на длинах волн возбуждения и регистрации флуоресценции не превышала 0,3.

В силу высокой степени неполярности молекулы мТГФХ в водной среде агрегируют, что сопровождается значительным изменением спектров поглощения, флуоресценция практически полностью исчезает. Добавление в водный раствор мТГФХ мономерных и полимерных производных  $\beta$ -ЦД сопровождается восстановлением их флуоресцентных свойств. Это является следствием мономеризации молекул ФС в водной среде из-за образования комплексов включения мТГФХ/ ЦД [5].

Процесс образования комплексов включения между мТГФХ и производными ЦД носит равновесный характер. Поэтому при недостатке свободных центров связывания молекулы мТГФХ диссоциируют из комплексов и агрегируют. Анализ изменений интенсивности флуоресценции может быть использован для определения количественных характеристик процесса выхода мТГФС из комплексов ЦД.

На рисунке 2а представлены графики зависимости изменения интенсивности флуоресценции мТГФХ после разведения комплексов включения фосфатно-солевым буфером Дюльбека. Для Темопорфина в комплексах с КМ- $\beta$ -ЦДПР, интенсивности флуоресценции меняется пропорционально изменению концентрации комплексов (линейная зависимость,  $R^2 = 0.9998$ ) (рисунок 2б) и претерпевают 10% снижение интенсивности флуоресценции за время порядка двух часов. Значения степени поляризации флуоресценции при разведении испытывают незначительные колебания около 22%. Исходя из этого можно сделать вывод о высокой устойчивости комплексов с полимером. Согласно ранее полученным результатам, скорость выхода мТГФХ из комплексов включения с нативными  $\beta$ -ЦД при разведении существенно выше.



Концентрации в исходных растворах:  
 мТГФХ ( $2 \times 10^{-6}$  моль/л), КМ- $\beta$ -ЦДПР ( $1 \times 10^{-5}$  моль/л), М- $\beta$ -ЦД ( $1 \times 10^{-5}$  моль/л).

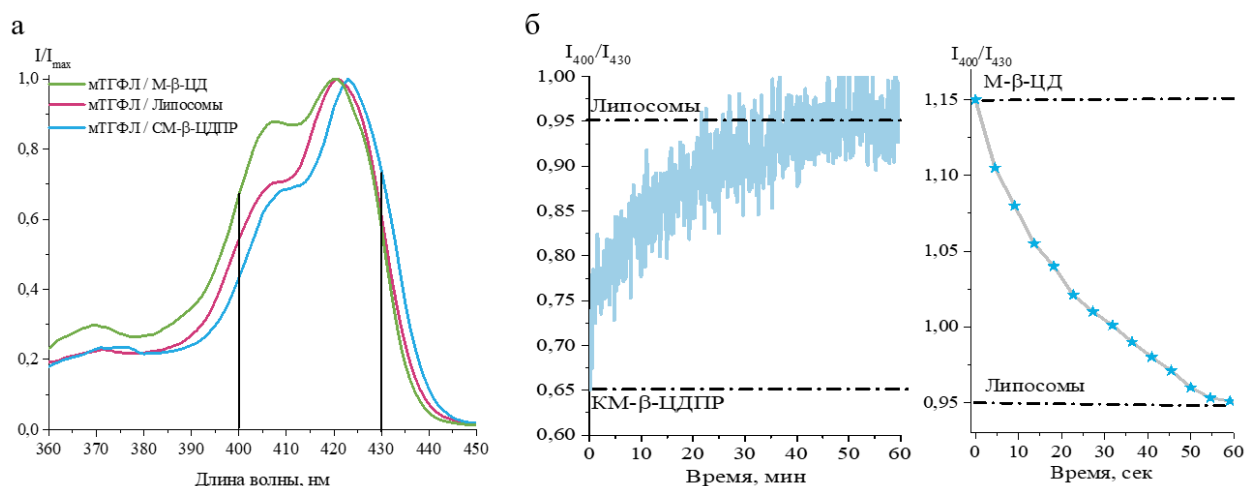
Рисунок 2 – Особенности процесса диссоциации ФС из комплексов с производными  $\beta$ -ЦД.

- а) Кинетические кривые агрегации мТГФХ при разбавлении растворов комплексов включения с мономерным и полимерным производными  $\beta$ -циклодекстрина;  
 б) Зависимость интенсивности флуоресценции в максимумах полосы Соре для мТГФХ в составе комплексов включения с полимером от разбавления ( $\tau_{\text{инк}} - 2$  ч).

Ранее проведенные исследования показали, что характерной особенностью спектральных характеристик мТГФХ при связывании с различными типами наноносителей явля-

ется изменчивость формы полосы Soret [6]. Наблюдая за изменением формы спектра для ФС, введенного в составе комплекса, в раствор липосом, можно оценивать скорость выхода пигмента из комплексов (рис. 3.а). Для количественного описания спектральных особенностей использовались отношения интенсивностей флуоресценции мТГФХ при возбуждении в различных участках полосы Soret:  $I_{400}/I_{430} = 0,65$  соответствует полному связыванию с ФС с КМ-β-ЦДПР,  $I_{400}/I_{430} = 0,95$  свидетельствуют о нахождении мТГФХ в липидных везикулах, для М-β-ЦД характерно отношение  $I_{400}/I_{430} = 1,15$ .

С использованием описанного подхода было показано, что скорость диссоциации ФС из комплексов мТГФХ /КМ-β-ЦДПР в значительной мере ниже скорости диссоциации из комплексов с М-β-ЦД (рисунок 3б). Полученные данные подтверждают вывод о более высокой устойчивости комплексов включения с полимерным β-ЦД по сравнению с нативным β-ЦД.



а) Спектры возбуждения флуоресценции мТГФХ в комплексах с производными β-ЦД и с липосомами;  
 б) Зависимость отношения двух длин волн  $I_{400}/I_{430}$  от времени инкубирования.

Рисунок 3 – Кинетики перераспределения мТГФХ из состава комплексов включения на липосомы.

Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что особенности процесса взаимодействия мТГФХ с полимерными ЦД обуславливают более высокую устойчивость и крайне низкую скорость выхода молекул ФС из комплексов с полимерными производными ЦД по сравнению с мономерными производными.

Работа выполнена при поддержке ГПНИ «Конвергенция-2025» (задание 3.03.7.2) и ГПНИ «Биотехнологии-2» (задание 1.4.6).

#### Список литературы

1. Yakavets I. Current state of the nanoscale delivery systems for temoporfin-based photodynamic therapy: Ad-vanced delivery strategies // J. Control Release. – 2019. – Vol. 304. – P. 268-287.
2. Cova Tania F. Cyclodextrin polymers and cyclodextrin-containing polysaccharides for water remediation // J. Polysaccharides. – 2021. – Vol. 2. – № 1. – P. 16-38.
3. Yankovsky I. Inclusion complexation with β-cyclodextrin derivatives alters photodynamic activity and biodistribution of meta-tetra(hydroxyphenyl)chlorin // Eur J Pharm Sci. – 2016. – Vol. 25. – P. 172-82.
4. Yang, C. A cost-effective crosslinked β-cyclodextrin polymer for the rapid and efficient removal of micropollutants from wastewater // Polym. Int. – 2019. – Vol. 68. – P. 805–811.
5. Wiehe A., Senge MO. The photosensitizer Temoporfin (mTHPC) - chemical, pre-clinical and clinical developments in the last decade // Photochem Photobiol. – 2023. – Vol. 99. – № 2. – P. 356-419.
6. Yankovsky I. Soret band shape indicates mTHPC distribution between bcyclodextrins and serum proteins // Daes and Pigment. – 2017. – Vol. 137. – P. 299-306.