УДК 547.97+535.37

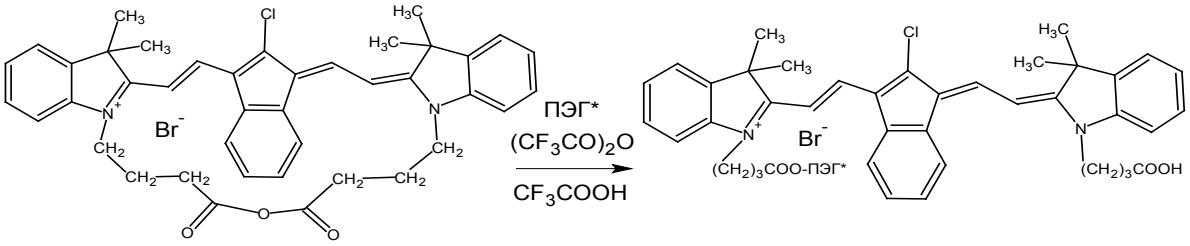
Луговский А.П., Луговский А.А., Самцов М.П., Воропай Е.С., Петров П.Т., Демид Д.И.

СПЕКТРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРОФИЛЬНЫМИ ОЛИГОМЕРАМИ

Синтезирован индотрикарбоцианиновый краситель ковалентно связанный с полиэтиленгликолем. Проведен спектрофлуометрический и хромато-масс-спектрометрический анализ полученного соединения. По основании полученных данных установлено, что присоединение фрагмента полиэтиленгликоля не оказывает негативного влияния на спектрально-люминесцентные характеристики.

Индотрикарбоцианиновые красители в настоящее время являются альтернативой существующим фотосенсибилизаторам для фотодинамической терапии (ФДТ) на основе гематопорфирина. Ранее нами были синтезированы индотрикарбоцианиновые красители, которые проявили высокую фотодинамическую активность в отношении различных штаммов опухолей [1 - 3]. Однако синтезированные соединения имели относительно низкую водорастворимость, и для исследований использовались водно-спиртовые растворы.

Предложено повысить водорастворимость индотрикарбоцианинового красителя путем прививания к нему молекул полиэтиленгликоля различной степени полимеризации. Кроме того, прививание полиэтиленгликоля должно приводить к изменению фармакокинетики препарата, что позволит уменьшать эффективную дозу препарата и увеличивать время полувыведения красителя из организма. Модификация трикарбоцианинового красителя присоединением ПЭГ за счет пролонгирующего эффекта ПЭГ должна способствовать лучшему проникновению в клетку живой ткани, а также повышению водорастворимости красителя. В качестве центра прививания ПЭГ выбрана карбоксильная группа, удаленная на три метиленовые группы от четвертичного атома азота индоленинового гетероциклического основания. Для получения конечного продукта проводился двухстадийный синтез диэфира полиэтиленгликоля. На первой стадии получали моноэфир красителя с полиэтиленгликолем средней молекулярной массы 400 г/моль. Синтез моноэфира красителя (**2**) осуществлялся раскрытием циклического внутреннего ангидрида путем катализа трифторуксусной кислотой полиэтиленгликолем. Выход реакции составляет 50% (рис. 7).



(**1**) (**2**)

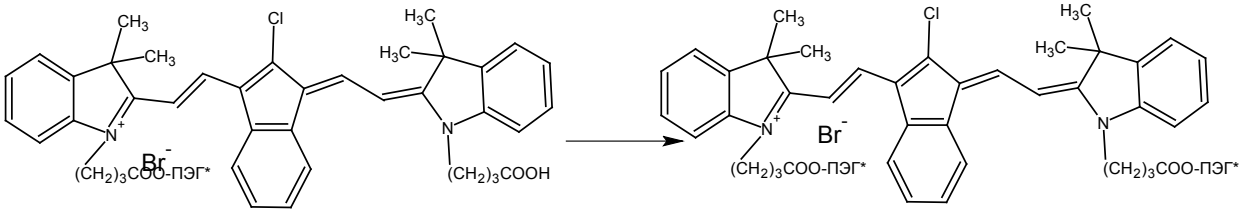
Рисунок 1 – Схема получения красителя (2)

Наличие примесей определялось методом хроматографическими исследованиями и люминесцентными методами. Хромато-масс-спектрометрический анализ конъюгата красителя с полиэтиленгликолем проводился на приборе фирмы Agilent Technologies 6410 Triple Quad LC/MS с двойным детектором: спектрофотометром и масс-спектрометром с ионизацией молекул трифторуксусной кислотой. В качестве образца, вводимого в анализатор, использовался раствор 1 мг красителя в 1 мл ацетонитрила. Оптимальное разделение наблюдалось при использовании градиента концентраций ацетонитрил-вода 0% - 20%.

Спектры поглощения красителей в растворах регистрировались с помощью спектрофотометра PV 1251A фирмы Solar, спектры флуоресценции ─ с помощью спектрофлуориметра Fluorolog фирмы Spex.

Для определения полноты протекания реакции (какой 1-2) и повышения выхода конечного продукта проведен кинетический анализ. С помощью метода хромато-масс спектрометрии проведено сравнение относительных площадей в спектрограмме красителей через одни и трое суток в условиях реакции. Полученные данные свидетельствуют о практически неизменном их составе в при использовании указанных условий. Соотношение продуктов не изменяется и в случае добавления в реакционную массу безводного фторида цезия, а также изменения нуклеофильности среды путем замены неполярного растворителя хлористого метилена на полярный ацетонитрил.

Дальнейшая этерификация приводила к получению диэфиров полиэтиленгликоля и трикарбоцианинового красителя.



(**3**) (**4**)

Рисунок 2 – Схема получения красителя (4)

Пик с временем выхода 6.273 минуты соответствует молекулярной массе 1409 г/моль ± 44*N г/моль, что совпадает с молекулярной массой диэфиров красителя с ПЭГами. Второй пик со временем удержания 9.012 мин соответствует исходному моноэтерифицированному индотрикарбоцианиновому красителю (**2**) с молекулярной массой 1013 г/моль ± 44*N г/моль

Рисунок 3 – Хромато-масс-спектр красителя (4)

Проведен анализ спектров поглощения и флуоресценции нового водорастворимого симметричного индотрикарбоцианинового красителя. Форма спектра поглощения модифицированного гидрофильными олигомерами (**4**) в этаноле практически совпадает со спектром исходного красителя, максимум поглощения расположен на 724 нм, полуширина спектра 50 нм. Экспериментально показано, что новый полиметиновый краситель благодаря наличию полиэтиленгликоля обладает водорастворимостью в концентрации не менее 2 г/л. Определен квантовый выход исследуемого индотрикарбоцианинового красителя в водном растворе 3%, а в этаноле этот параметр составляет 25%. Проведен анализ агрегатного состояния красителя в водном растворе. Установлено, что в диапазоне концентраций ($10^{-6} \div 10^{-4}$ моль/л) водный раствор исследованного красителя

представляет собой двухкомпонентную смесь мономеров и димеров, причем степень ассоциации не превышает (38±2)% в указанном диапазоне концентраций.

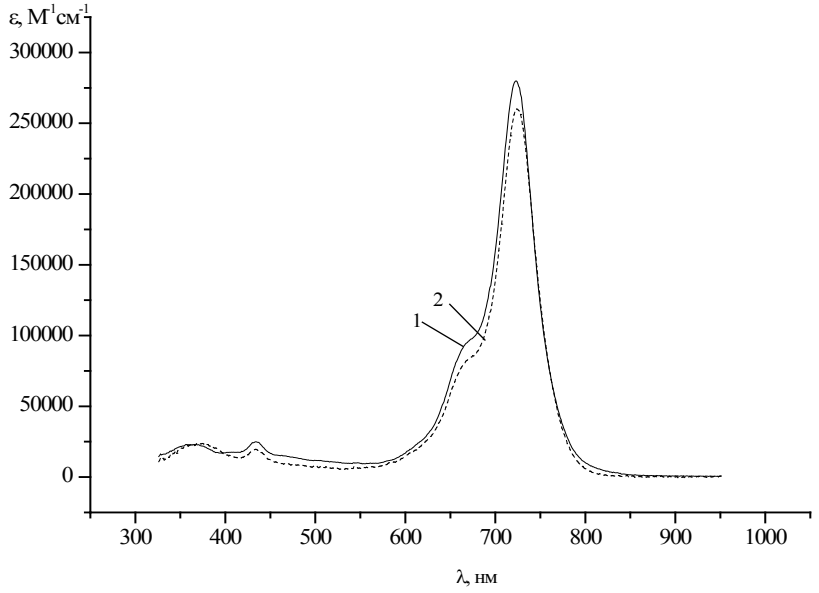


Рисунок 4 − Спектр поглощения модифицированного красителя - 1 и исходного - 2 в этаноле

Синтезирован индотрикарбоцианиновый краситель, модифицированный полиэтиленгликолем со средней молекулярной массой 400 г/моль. В результате исследования модифицированных цианиновых красителей установлено, что привитие биологически активных фрагментов не оказывает негативного влияния на спектрально-люминесцентные характеристики. Показано, что в физиологических растворах цианиновые красители связываются с белками и доля ассоциатов резко снижается. Данный факт, безусловно, подтверждает повышение эффективности полученных соединений в качестве фотосенсибилизаторов при модификации полиэтиленгликолем.

Список литературы

1. Samtsov, M.P.The effect of hypoxia on photocytotoxicity of TICS tricarbocyanine dye in vitro / M.P. Samtsov [et al.] // Experim. oncology. – 2006. – Vol. 28, № 1. – P. 80 – 82.
2. Луговский, А.А. Синтез модифицированных моносахаридами трикарбоцианиновых красителей − новых фотосенсибилизаторов для ФДТ / А.А. Луговский [и др.]// Вестн. БГУ. Сер. 2. − 2012. − № 1. − С. 28 – 33.

The tricarbocyanine dyes covalently bounded with polyethylene glycol are synthesized. Spectrofluorometric and HPLC analysis of the resulting compound are carried out. It was found that the addition of polyethylene glycol fragment has no negative effect on the spectral characteristics of dye.

Луговский А.П., в.н.с. НИИПФП им. А.Н.Севченко БГУ, к.х.н., Минск, Беларусь, e-mail: lugovski@bsu.by