

сены в существующий проект аппаратно-программного устройства «Ключ-ВС», что позволит пользователям осуществить контроль качества СЧП.

Литература

1. Букингем М. Шумы в электронных приборах. М.: Изд. ин. лит., 1986.
2. *Andrey Pykhin, Juan Soto, James Nechavatal.* A statistical test suite for random and pseudorandom number generators for cryptographic application // NIST Special Publication 800-22. 2010.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЖХРОМОФОРНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ М-ТГФХ И М-ТГФБХ В МИЦЕЛЛЯРНЫХ СИСТЕМАХ

И. В. Яковец

ВВЕДЕНИЕ

Структурные и фотофизические характеристики комплексов фотосенсибилизаторов (ФС) с мицеллами представляют интерес для различных областей науки, включая медицину, наноэлектронику, фармакологию и др. Особый интерес к ним в последние годы связан с разработкой наноразмерных фармакологических форм ФС для фотодинамической терапии (ФДТ). В настоящее время в клинической практике используют несколько типов липосомальных форм порфириновых ФС (Fospeg, Foslip, Verteporfin, TUKAD и др.). Введение ФС в состав липосомальных форм позволяют значительно улучшить их фармакокинетические свойства. Одной из характерных особенностей липосомальных форм является высокая локальная концентрация ФС, что может обуславливать сильные межхромоморфные взаимодействия их молекул.

В данной работе проведено исследование процессов переноса энергии возбуждения между двумя структурноподобными ФС (мезо-тетра(гидроксифенил)хлорином (м-ТГФХ) и мезо-тетра(гидроксифенил)бактериохлорином (м-ТГФБХ), находящимися в составе мицеллярных структур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали м-ТГФХ) и (м-ТГФБХ) предоставленные Biolitec (Йена, Германия). Соединения растворяли в 99,6 %-ном этиловом спирте. Концентрация красителей в растворе оценивалась спектрофотометрически.

Малые моноламеллярные везикулы (ММВ) из димиристоилфосфатидилхолина готовили методом инъекции [1]. Красители включали в ММВ на стадии приготовления липосом. Согласно электронной микроскопии размеры ММВ составляли 20–30 нм. При исследовании м-ТГФХ и м-ТГФБХ в составе мицелл детергента Triton® X-100 стоковый раствор детергента (0.1%) добавляли в буфер до конечной концентрации (0.005–0.04%). Triton® X-100 производства Sigma Aldrich (Лион, Франция).

Спектры флуоресценции регистрировались с использованием спектрофлуориметра SOLAR SFL 1211A (Минск, Беларусь) с термостатируемым кюветным отделением с магнитным перемешиванием. Спектры поглощения регистрировались с использованием спектрофотометра SOLAR PV 1251A (Минск, Беларусь).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Спектральные характеристики м-ТГФХ и м-ТГФБХ определяются принадлежностью данных соединений классам хлоринов и бактериохлоринов. Для них характерна интенсивная полоса Core (420 нм для м-ТГФХ и 375 нм для м-ТГФБХ), а также интенсивная длинноволновая полоса поглощения (650 нм для м-ТГФХ и 735 нм м-ТГФБХ). Исследуемые соединения в этаноле интенсивно флуоресцируют. Максимум полосы флуоресценции м-ТГФХ 652 нм с небольшим плечом 730 нм. У м-ТГФБХ максимум полосы флуоресценции 741 нм (табл.).

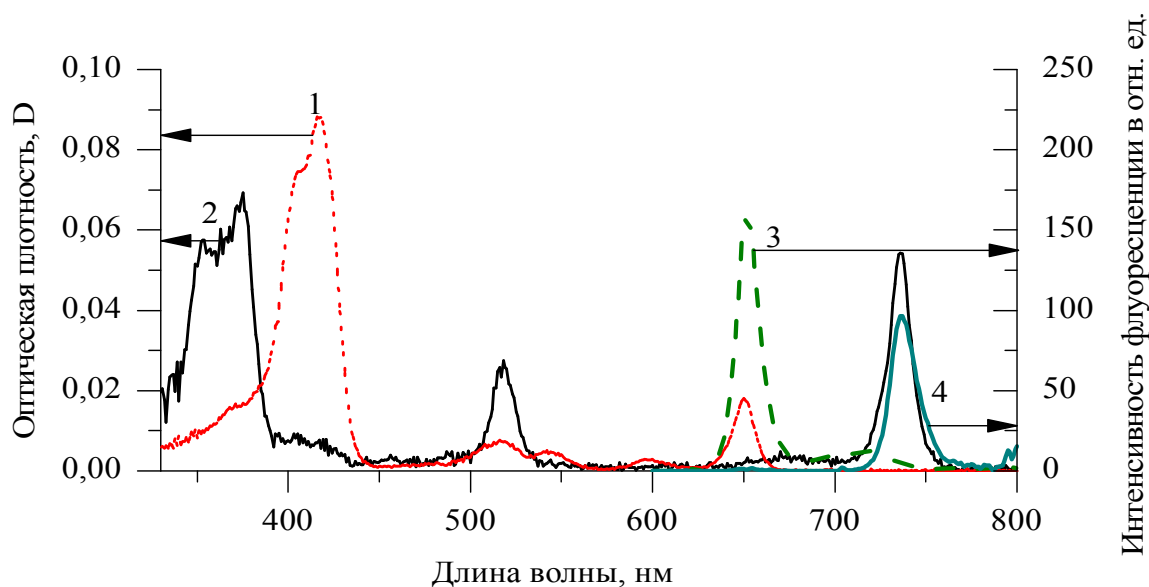


Рис. 1. Спектры поглощения и флуоресценции м-ТГФХ (1,3) и м-ТГФБХ (2,4) в этаноле
 $C_{\text{м-ТГФХ}} = 3 \cdot 10^{-7} \text{ М}$, $C_{\text{м-ТГФБХ}} = 3 \cdot 10^{-7} \text{ М}$

Спектральные характеристики м-ТГФХ и м-ТГФБХ

Спектральная характеристика	м-ТГФХ	м-ТГФБХ
Квантовый выход флуоресценции	0,089	0,11
λ максимума полосы Соре, нм	420	375
Коэффициент экстинкции, л/(моль*см)	29600 (при $\lambda=650$ нм)	91000 (при $\lambda=735$ нм)
λ максимума флуоресценции, нм	652	741

Перевод в водную среду приводит к изменению спектральных свойств исследуемых соединений: наблюдается уширение полосы Соре, снижение коэффициента экстинкции, флуоресценция практически исчезает. Подобные изменения характерны для неполярных тетрапирольных соединений, которые плохо растворимы в водной среде. Перевод в водные растворы сопровождается образованием агрегатов молекул, ведущих к изменению их спектральных характеристик. Зависимости степени агрегации от процентного содержания этанола для м-ТГФХ и м-ТГФБХ полностью совпадают (рис. 2 а). Это связано с тем, что взаимодействие молекул тетрапирольных пигментов с микроокружением практически полностью определяется периферийными группами.

Добиться нахождения неполярных порфиринов в мономерном состоянии в водной среде можно путём включения их в комплексы с мицеллярными структурами. Triton® X-100 образует в водных растворах мицеллы, в которые встраиваются ФС, переходя в мономерное состояние. При 0.1 % концентрации Triton® X-100 спектральные характеристики м-ТГФХ и м-ТГФБХ практически полностью совпадают с аналогичными параметрами их этанольных растворов (рис. 2 б). Аналогичные результаты наблюдаются при включении м-ТГФХ и м-ТГФБХ в состав ММВ.

Размеры ММВ и мицелл Triton® X-100 невелики. Поэтому даже при небольших концентрациях ФС в растворе, их локальная концентрация в мицеллах будет высока, что обуславливает возможность для интенсивных межхромовых взаимодействий. Согласно теоретическим расчётам ферстеровский радиус, для данной пары соединений, составляет 4–5 нм, и сопоставим с толщиной липидного бислоя (≈ 4.5 нм), средними расстояниями между молекулами хромофоров в ММВ [2], и размерами мицелл (2–3 нм) [3].

Мы провели исследование флуоресценции мицелл, окрашенных отдельно и совместно м-ТГФХ и м-ТГФБХ, при возбуждении в полосе Соре хлорина - $\lambda=420$ нм. В этом случае флуоресценция мицелл, окрашенных только одним ФС (м-ТГФХ или м-ТГФБХ), в полосе 740 нм практически не наблюдается. Мицеллы, окрашенные двумя ФС, имеют четко

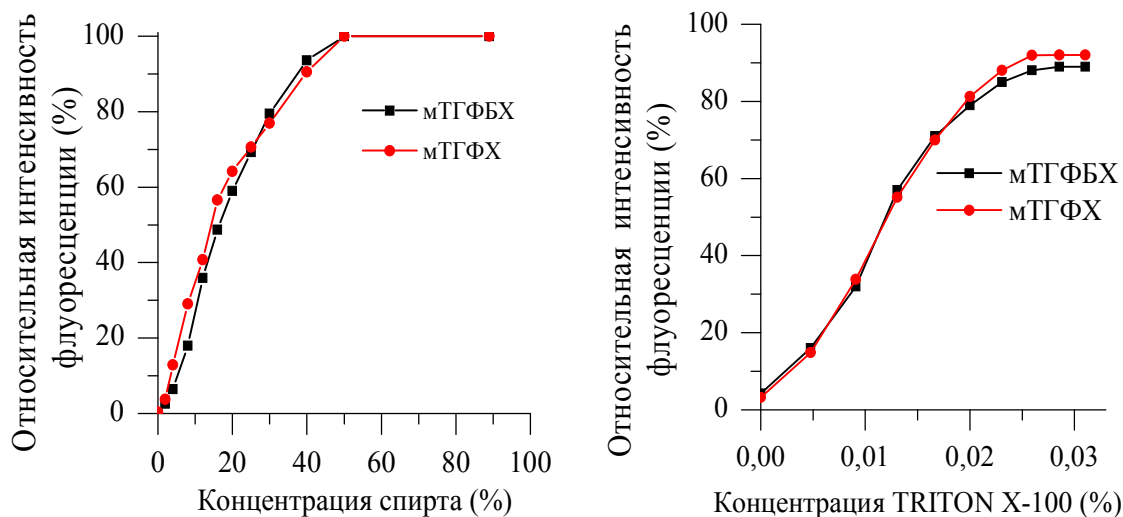


Рис. 2. Зависимость относительного квантового выхода флуоресценции м-ТГФХ и м-ТГФБХ от концентрации этанола (а) и Triton® X-100 (б):

$$\lambda_{\text{м-ТГФХ}}^{\text{возбуждения}} = 420 \text{ нм}, \lambda_{\text{м-ТГФХ}}^{\text{регистрации}} = 650 \text{ нм}, \lambda_{\text{м-ТГФБХ}}^{\text{возбуждения}} = 375 \text{ нм}, \lambda_{\text{м-ТГФБХ}}^{\text{регистрации}} = 740 \text{ нм}$$

выраженную полосу флуоресценции $\lambda=740$ нм, характерную для м-ТГФБХ. Исходя из этого, можно сделать вывод, об эффективном переносе энергии возбуждения между м-ТГФХ (донором) и м-ТГФБХ (акцептором) в составе мицелл. Согласно полученным результатам эффективность переноса энергии возбуждения определяется типом мицелл, локальной концентрацией, соотношением донор:акцептор (рис. 3).

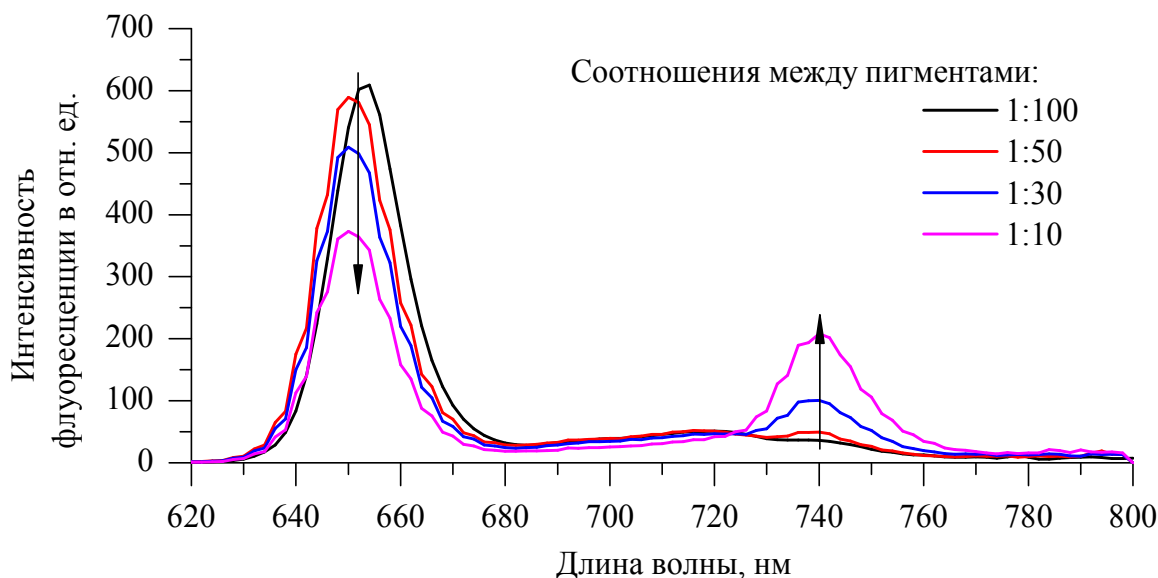


Рис. 3. Спектры флуоресценции ММВ при различных соотношениях м-ТГФХ и м-ТГФБХ

$$\lambda^{\text{возбуждения}} = 420 \text{ нм}, \text{отношение липид:м-ТГФХ} = 50:1, C_{\text{липида}} = 4.4 \cdot 10^{-4} \text{ М}$$

ВЫВОДЫ

Установлен эффективный перенос энергии возбуждения между м-ТГФХ (донором) и м-ТГФБХ (акцептором) в составе мицелл Triton® X-100 и ММВ. Эффективность переноса энергии возбуждения определяется типом мицелл, локальной концентрацией, соотношением донор:акцептор. В практических целях она может быть использована для слежения за процессами перераспределения молекул ФС в биологических системах.

Литература

1. *Batzri S. and Korn E. D.* Single bilayer liposomes prepared without sonication // Biochim. Biophys. Acta 298: 1973 P. 1015–1019.
2. *Zorin V., Zorina T., Mikhailovsky I.* Proc. // SPIE, 2625, 1996. P. 145–155.
3. *Hasko H.* Paradies Shape and Size of a Nonionic Surfactant Micelle. Triton X-100 in Aqueous Solution // J. Phys. Chem, 1980. P. 599–607.