

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Е.С. Воропай¹, М.П. Самцов², А.П. Луговский², К.Н. Каплевский¹,
А.А. Луговский¹, Л.С. Ляшенко¹, Д.Г. Мельников¹, А.Е. Радько²,
К.Н. Шевченко², В.Н. Чалов³, Д.С. Тарасов², Э.А. Жаврид³, Ю.П. Истомин³,
Е.Н. Александрова³, П.Т. Петров⁴, Д.И. Демид⁴

¹*Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь*

²*Институт прикладных физических проблем им. А.Н. Севченко БГУ
г. Минск, Беларусь*

³*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова, п. Лесной, Беларусь*

⁴*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь*

Метод фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных опухолей широко применяется во многих странах мира. В основе метода лежит способность препаратов-фотосенсибилизаторов накапливаться в опухолевых тканях и приобретать выраженные цитотоксические свойства при активации светом. В качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ используются, в основном, соединения порфиринового ряда – производные гематопорфирина и хлорина еб. Получены положительные результаты при лечении методом ФДТ рака кожи, злокачественных опухолей головы и шеи, мочевого пузыря, бронхов, женских половых органов, пищевода и желудка, метастазов в коже, рака молочной железы.

Дальнейшие успехи метода ФДТ связывают с использованием нового поколения фототерапевтических препаратов, характеризующихся сильным поглощением света в области «фототерапевтического окна» – от 700 до 900 нм, в которой мало рассеяние света биологическими тканями и практически отсутствует поглощение света эндогенными биомолекулами, такими как гемоглобин, меланин и вода. Это обеспечивает глубокое проникновение света в ткани и позволяет использовать метод ФДТ для лечения не только поверхностных, но и глубокорасположенных опухолей. Необходимым требованием для нового поколения фотосенсибилизаторов является также преимущественное накопление в опухолевой ткани, минимальная токсичность, а также быстрое выведение из нормальных тканей во избежание развития побочных эффектов, вызванных пролонгированной фототоксичностью. Одной из групп соединений нового поколения фототерапевтических препаратов является группа полиметиновых красителей, имеющих определенные преимущества перед соединениями порфиринового ряда. Для трикарбоцианиновых красителей является характерным наличие полосы поглощения света с высоким молярным коэффициентом поглощения (более $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) в более длинноволновой области спектра (700–900 нм), чем производные порфина.

При разработке нового поколения сенсibilизаторов для фотохимиотерапии нами проведены исследования одного из важнейших параметров – их способность к активации световым излучением с длиной волны, соответствующей области прозрачности биологических тканей. Для подавляющего большинства фотосенсibilизаторов повреждение опухолевых клеток при ФДТ зависит от насыщенности среды кислородом. Для создания одинаковой скорости расходования кислорода в процессе фотовоздействия выполнены условия по обеспечению одинакового количества поглощенных квантов света в единицу времени на каждой из использованных длин волн фотовоздействия. Это достигалось выбором для каждого источника своей плотности мощности света падающего на образец. Полученные данные свидетельствуют о том, что эффективность фотоактивации гибели раковых клеток HeLa при обеспечении одинакового количества поглощенных квантов света в единицу времени на всех трёх длинах волн света одинакова. Вместе с тем, между данными, полученными на клетках HeLa и *in vivo*, наблюдаются различия. Повреждение опухолевых тканей *in vivo* возрастает в 3 раза при изменении длины волны фотовоздействия в диапазоне от 668 до 780 нм. Увеличение глубины некроза для источника света с длиной волны 740 нм по сравнению с излучением 668 нм согласуется с ростом пропускания света тканями при переходе к ближнему ИК- диапазону спектра, но не при сравнении этого параметра для воздействия излучением с длиной волны 740 и 780 нм. Из приведенного в литературе спектра действия фотодиссоциации оксигемоглобина на длине волны 780 нм эффективность этого процесса почти в два раза выше, чем на длине волны 740 нм. Следовательно, отличия в глубине повреждения опухоли для источников с различными длинами волн определяются, как различием в пропускании тканей в зависимости от длины волны светового излучения, так различной эффективностью фотодиссоциации комплексов гемоглобина в кровеносных сосудах. Таким образом, фотохимиотерапевтическое повреждение опухолевых тканей возрастает в 3 раза при изменении длины волны фотовоздействия в диапазоне от 668 до 780 нм. В процессе фотовоздействия *in vivo* происходит увеличение полуширины и коротковолновым смещением в спектрах флуоресценции трикарбоцианинов в опухолевых тканях, которое обусловлено различием в пропускании тканей и ростом локальной концентрации кислорода.

Для установления механизма фотоповреждения опухолевых клеток проведены исследования спектрально-кинетических и фотохимических свойств трикарбоцианиновых красителей при условии смещения ионного равновесия в сторону увеличения доли тесных контактных ионных пар. При планировании этих исследований исходили из того факта, что введение в малополярные растворы ПК дополнительной соли приводит к смещению ионного равновесия в сторону увеличения доли контактных ионных пар, в том числе и тесных контактных пар. В малополярном дихлорбензоле при введении соли тетрабутиламмоний бромида уменьшается квантовый выход флуоресценции и время жизни флуоресценции, кроме этого происходит увеличение квантового

выхода фотодеструкции и квантового выхода образования синглетного кислорода. Последнее обстоятельство, свидетельствует о значительном увеличении выхода молекул в триплетное состояние при введении дополнительной соли. Таким образом, введение соли приводит к значительным изменениям фотофизических и фотохимических характеристик красителя, которые обусловлены проявлением увеличения доли тесных контактных ионных пар. Для выяснения влияния увеличения доли тесных контактных пар в растворе на процесс образования радикалов проведены исследования нестационарных спектров поглощения трикарбоцианинового красителя в малополярном ДХБ, а также в диоксане. В спектре наведенного поглощения трикарбоцианинового красителя при введении ТБАБ вклад дополнительной полосы с $\lambda_{\text{макс}} = 735$ нм в суммарный спектр нестационарного поглощения увеличивается, что свидетельствует о росте числа радикалов. При этом, введение соли вызывает падение квантового выхода и времени жизни флуоресценции красителя в пропорции, коррелирующей с изменением интенсивности новой полосы.

Образование радикалов может повлиять на закономерности фотодеструкции красителей в освобожденных от кислорода растворах. В связи с тем, что фотодеструкция красителей в обескислороженных растворах вследствие самосенсибилизированного окисления исключена, то при росте числа радикалов в таких условиях становится более вероятным обнаружение результатов взаимодействия молекул красителя с этими интермедиатами или продуктами их реакции с растворителем.

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 (с точностью определения) для трикарбоцианиновых красителей с разными противоионами и не изменяется при введении соли.

В малополярном ДХБ удаление кислорода также приводит к уменьшению квантового выхода фотодеструкции красителей более чем на порядок и, в отличие от воздухомонасыщенных растворов, имеет постоянное значение для красителей с разными противоионами. Следует учесть, что для трикарбоцианинового красителя с противоионом Γ квантовый выход генерации синглетного кислорода в малополярных растворителях на порядок выше, чем для трикарбоцианинового красителя с противоионами ClO_4^- и Br^- . Следовательно, полученные одинаковые значения квантового выхода фотодеструкции в обескислороженных растворах для красителей с разными противоионами позволяют сделать заключение, что в этих условиях механизм фотодеструкции ПК не связан с выходом молекул в триплетное состояние.

Введение соли приводит к значительному (в 3.5 раза) увеличению квантового выхода фотореакции трикарбоцианинового красителя с противоионом Br^- в обескислороженных растворах дихлорбензола. При этом,

как было показано выше, введение соли приводит к росту числа образовавшихся радикалов. Это позволяет сделать заключение об определяющей роли образования радикалов в фотодеструкции трикарбоцианиновых красителей в обескислороженных растворах.

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.

Таким образом, выполненный комплекс исследований *in vitro* и *in vivo* для разрабатываемого класса позволил определить их особенности и преимущества в сравнении с другими классами, в том числе применимость в качестве фотосенсибилизаторов для диагностики и фототерапии опухолей глубокой локализации, а также в условиях недостатка кислорода. Дана интерпретация механизмов, обуславливающих фотоактивность в гипоксических условиях, предложены методики определения оптимальных доз фотооблучения, основанные на регистрации изменений спектральных характеристик фотосенсибилизаторов, а также оптимизированные методики диагностики областей локализации новообразований.