

Исследование фотофизических свойств новых потенциальных агентов для фотодинамической терапии на основе порфиразинов

Сургучев Артём Сергеевич

10 класс, МБОУ Школа № 24 Нижнего Новгорода, Научное объединение «Школа юного исследователя» АНО ДО «Академ клуб», ИПФ РАН

Научный руководитель Шестакова Лидия Николаевна, м.н.с. ННГУ имени Н.И. Лобачевского

Были исследованы спектры поглощения и флуоресценции тетра(бифенил)тетра(циано)порфиразина и его железокомплекса, синтезированных в ИМХ РАН. У обоих соединений пик поглощения находится на длине волны 600 нм, максимум флуоресценции же наблюдается на 650 нм – оба пика лежат в диапазоне оптического окна прозрачности биологических тканей (580-700 нм). Продемонстрировано, что для железокомплекса оптическая плотность и интенсивность флуоресценции ниже. Также была показана прямая пропорциональная зависимость флуоресцентных свойств от вязкости среды и подтверждена принадлежность исследуемых соединений к классу молекулярных роторов.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод лечения заболеваний, заключающийся в введении красителя-фотосенсибилизатора (ФС), его избирательном накоплении в патологически изменённых тканях и световом воздействии на них определённой длины волны. ФДТ применяется во многих сферах медицины, особенно широко в онкологии. Ведутся поиски «идеального» ФС [1][2]. Кроме того, в последнее время разрабатываются методы персонализации терапии, в частности на основе использования агентов со свойствами молекулярных роторов.

Молекулярные роторы – это соединения, молекулы которых состоят из нескольких фрагментов (ротора и статора), способных к вращению друг относительно друга. Для этих веществ характерна зависимость флуоресценции от вязкости окружающей среды. Процесс фотоиндуцированной гибели клеток сопровождается локальным увеличением внутриклеточной вязкости [5]. Потенциально фотосенсибилизаторы со свойствами молекулярных роторов могут быть использованы как флуоресцентные вязкостные сенсоры для оценки эффективности проведённой ФДТ.

Цель исследования: анализ фотофизических свойств тетра(бифенил)тетра(циано)порфиразина (pzBiPh) и его железокомплекса (FepzBiPh). Исследуемые вещества представлены на рис. 1.

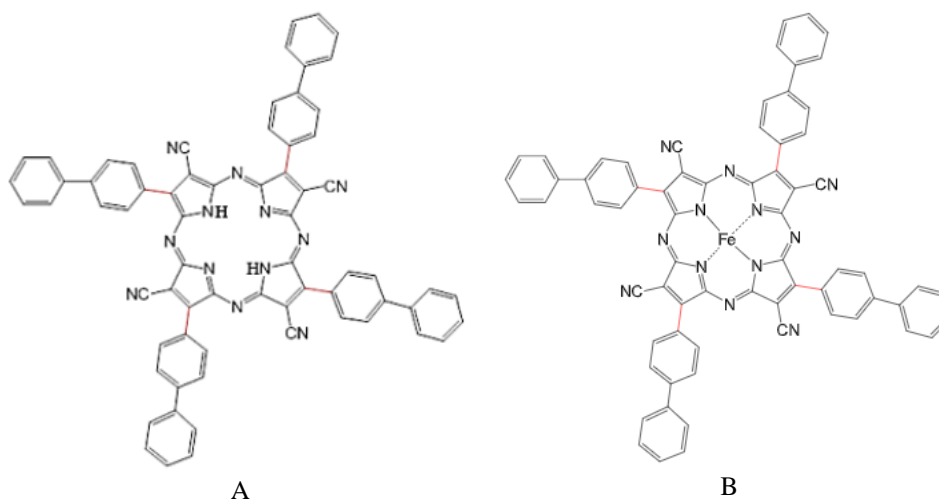


Рис. 1. Структурные формулы А) pzBiPh и В) FepzBiPh

Для получения спектров поглощения и флуоресценции исследуемых соединений в различных растворителях использовался спектрофлуориметр SynergyMx («BioTek», США). При построении спектров поглощения из средних значений раствора вычитались средние значения растворителя.

Результаты. В первом эксперименте (рис. 2-3) в качестве растворителей использовалась сверхчистая вода (система очистки воды Simplicity, «Millipore», Германия), культуральная среда DMEM («ПанЭко», Россия) с 10% содержанием эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) и 96%-спирт. Интенсивность флуоресценции возрастает в среде DMEM с 10% содержанием FBS. Мы

предположили, что это связано с большей вязкостью данного растворителя по отношению к двум другим. Также следует отметить, что оптическая плотность и интенсивность флуоресценции FerzBiPh значительно ниже, чем у pzBiPh. Порфиразиновые свободные основания и их железокомплексы поглощают и флуоресцируют в диапазоне оптического окна прозрачности биологических тканей (580-700 нм), что позволяет рассматривать их в качестве фотосенсибилизаторов для флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии.

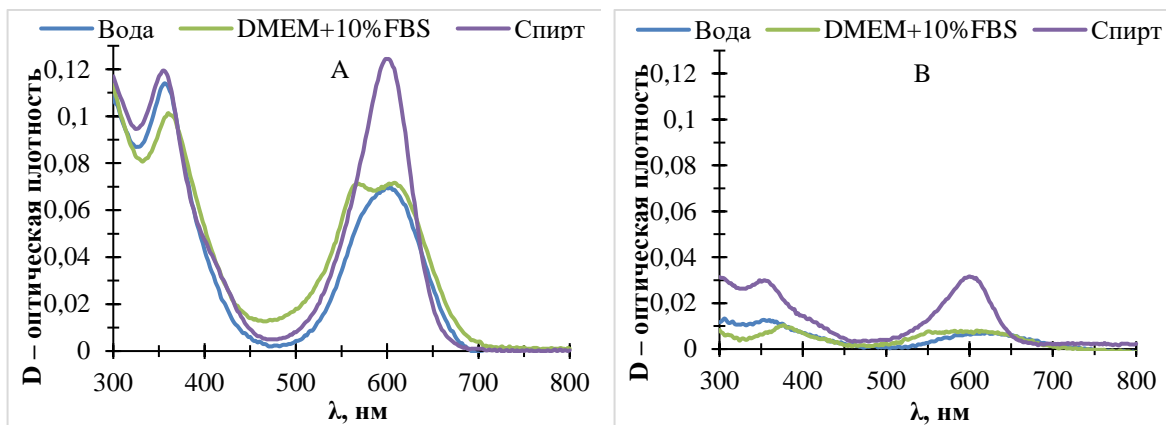


Рис. 2. Спектры поглощения А) pzBiPh и В) FerzBiPh

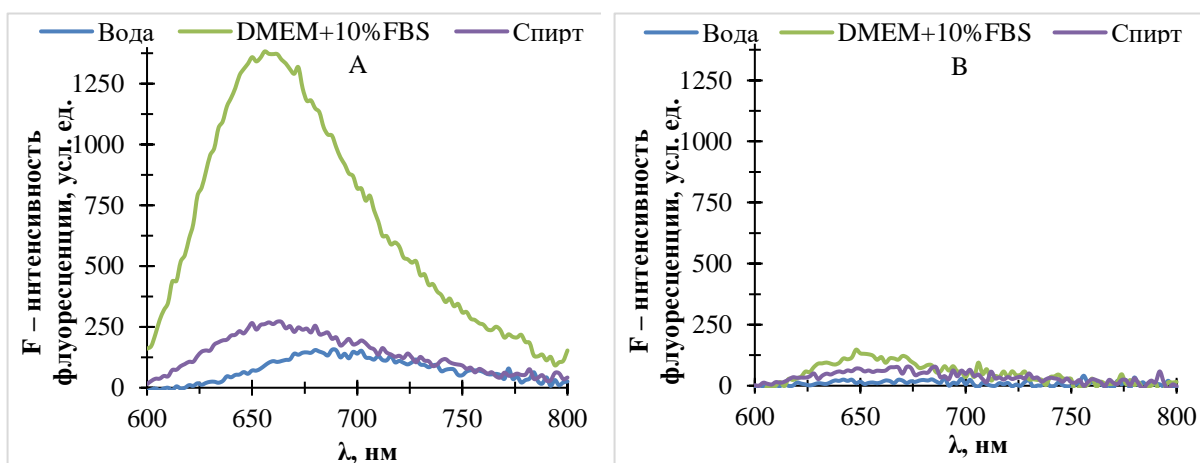


Рис. 3. Спектры флуоресценции А) pzBiPh и В) FerzBiPh

Во втором эксперименте (рис. 4) проводили съёмку спектров поглощения и флуоресценции в серии спирто-глицериновых растворов для изучения зависимости фотофизических свойств от вязкости среды. При повышении процентного содержания глицерина (повышении вязкости) интенсивность флуоресценции значительно возрастает для обоих исследуемых соединений, что может свидетельствовать о принадлежности соединений к классу молекулярных роторов. Для FerzBiPh интенсивность флуоресценции ниже, чем для pzBiPh.

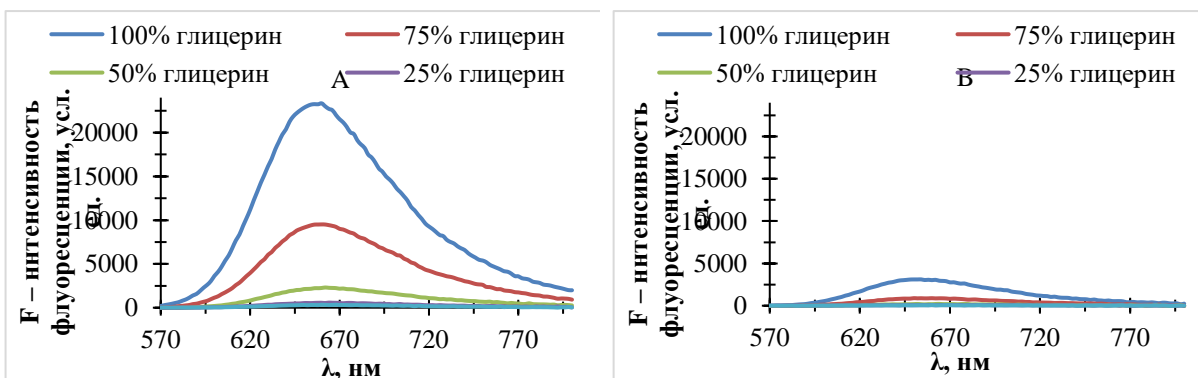


Рис. 4. Спектры флуоресценции А) pzBiPh и В) FepzBiPh

Чтобы подтвердить принадлежность соединений к классу молекулярных роторов, нами были построены прямые зависимости квантового выхода флуоресценции от вязкости среды (рис. 5). Для этого была использована следующая формула:

$$\varphi_1 = \frac{\varphi_2 F_1 D_2}{F_2 D_1},$$

где φ – квантовый выход, φ_1 – параметры исследуемого красителя, φ_2 – параметры контрольного вещества. В качестве контроля использовали Родамин В в этаноле ($\varphi = 0.7$ [3]).

Значения вязкости спирто-глицериновых растворителей были выведены с помощью калибровочной кривой, полученной в научном коллективе. Исходя из рассчитанных уравнений прямых нами были установлены коэффициенты для pzBiPh и FepzBiPh: 0.63 и 0.53 соответственно. Из литературных данных нам известно, что для молекулярных роторов коэффициент α уравнения прямой равен, по разным источникам 0.5-0.75 [4][6] или 0.37-0.67 [7]. Таким образом, мы можем говорить о том, что оба исследуемых вещества являются молекулярными роторами.

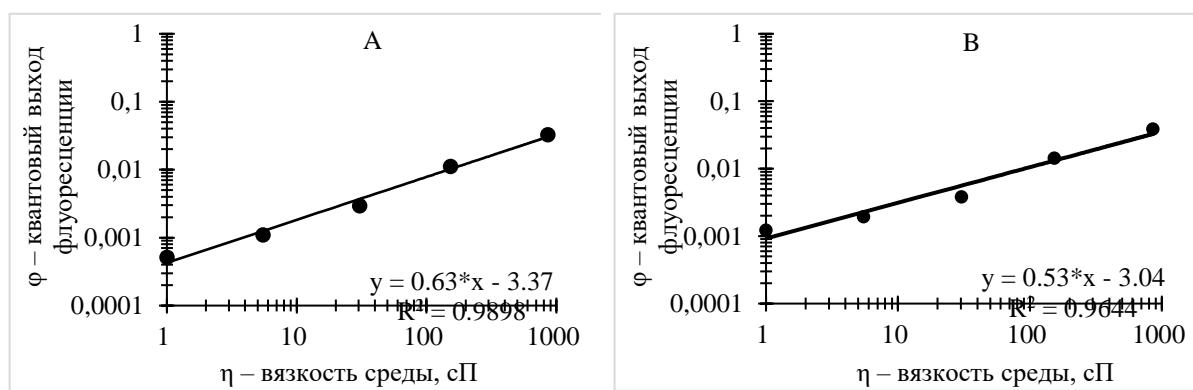


Рис. 5. Зависимость квантового выхода флуоресценции от вязкости среды: А) pzBiPh и В) FepzBiPh

Заключение

В ходе проведённого исследования нами установлено, что тетра(бифенил)тетра(циано)порфиразин и его железокомплекс поглощают и флуоресцируют в рамках биологического окна прозрачности; фотофизические свойства pzBiPh выражены сильнее, чем у FepzBiPh; при повышении вязкости среды интенсивность флуоресценции значительно возрастает для обоих соединений. Продемонстрирована принадлежность обоих исследуемых соединений к классу молекулярных роторов. Мы предполагаем, что полученные данные позволят в дальнейшем использовать исследуемые соединения в качестве агентов для персонализированной ФДТ. Планы по продолжению работы: исследование фотовыгорания и квантового выхода синглетного кислорода.

Литература

1. Коршунова О.В., Плехова Н.Г. Фотодинамическая терапия в онкологии: настоящее и будущее // Тихоокеанский медицинский журнал. 2020. №4. С. 15–19.
2. Узденский А.Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. СПб.: Наука, 2010. 327 с.
3. Arbeloa F.L., Ojeda P.R., Arbeloa I.L. Fluorescence self-quenching of the molecular forms of Rhodamine B in aqueous and ethanolic solutions // Journal of Luminescence, 1989. V. 44, №1-2. P. 105–112.
4. Haidekker M.A., Theodorakis E.A. Molecular rotors-fluorescent biosensors for viscosity and flow // Org Biomol Chem, 2007. V.5, №11. P. 1669-78
5. Izquierdo M.A., Vysniauskas A., Lermontova S.A., Grigoryev I.S., Shilyagina N.Y., Balalaeva I.V., Klapshina L.G. and Kuimova M.K. // J. Mater. Chem. (B). 2015. №3. P. 1089.
6. Jin H., Liang M., Arzhantsev S., Li X., Maroncelli M. Photophysical characterization of benzylidene malononitriles as probes of solvent friction // J Phys Chem B, 2010. V.114, №22. P. 7565-78

7. Yoon H.-J., Dakanali M., Lichlyter D., Chang W.M., Nguyen K.A., Nipper M.E., Haidekker M.A., Theodorakis E.A. Synthesis and evaluation of self-calibrating ratiometric viscosity sensors // Org Biomol Chem, 2011. V.9, №9. P. 3530-3540.