

*Н. А. Недзьведь*

**ИЗУЧЕНИЕ ФОТОУСТОЙЧИВОСТИ КОМПЛЕКСОВ  
ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ mTHPC,  
ПРИМЕНЯЕМЫМ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

*Научные руководители: канд. физ-мат. наук, доц. М. В. Гольцев,  
канд. биол. наук. В. П. Зорин\**

*Кафедра медицинской и биологической физики,  
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск  
\*Белорусский государственный университет, г. Минск*

***Резюме.** В работе исследована фотостойчивость комплексов фотосенсибилизатора mTHPC с различными типами циклодекстринов, как характеристика прочности связывания фотосенсибилизатора с носителем. Сделаны выводы о наиболее подходящем типе циклодекстрина, для которого определено оптимальное соотношение концентраций фотосенсибилизатор-носитель.*

***Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, фотостойчивость, mTHPC.*

***Resume.** We have studied the photostability of complexes of the mTHPC photosensitizer with different types of cyclodextrins. The photostability is a characteristic of the bond strength of the photosensitizer-carrier complex. We made conclusions about the most appropriate type of cyclodextrin for photodynamic therapy. The optimal ratio of photosensitizer and carrier concentrations was determined.*

***Keywords:** photodynamic therapy, photostability, mTHPC.*

**Актуальность.** Фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из актуальных нехирургических методов лечения онкологических и инфекционных заболеваний. В основе метода лежит локальная активация видимым светом специальных веществ — фотосенсибилизаторов, которые избирательно накапливаются в патологических клетках и разрушают их в результате фотохимической реакции в присутствии кислорода тканей.

По характеру первичного процесса все фотодинамические реакции можно разделить на два типа. К первому типу относятся реакции, в которых молекула фотосенсибилизатора непосредственно вступает в химическую реакцию с компонентами молекул. Ко второму типу относятся процессы, в которых молекула фотосенсибилизатора передает избыток энергии молекуле кислорода, которая при этом переходит в возбужденное синглетное состояние. Химически активный синглетный кислород интенсивно вступает в реакцию с липидами и белками, входящими в состав органелл и мембран клеток, разрушая их.

Механизмы деструкции опухоли при проведении ФДТ можно разделить на первичные и вторичные. Первичные механизмы включают в себя некроз и апоптоз опухолевых клеток. Ко вторичным механизмам относится нарушение микроциркуляции крови в результате повреждения клеток сосудистого эндотелия; а также развитие воспалительной реакции, сопровождаемое повышением содержания макрофагов и миелоидных клеток, которые стимулируют выработку противоопухолевых антигенов.

Разработка препаратов для ФДТ является важной и актуальной задачей. К ее приоритетными направлениям принадлежит поиск нетоксичных носителей, обеспечивающих высокую прочность связывания с фотосенсибилизатором и его целевую доставку в опухоль. Кроме того, важной задачей является определение оптимального соотношения концентраций фотосенсибилизатор-носитель.

**Цель:** Сравнительное изучение свойств комплексов фотосенсибилизатора mTHPC с двумя видами циклодекстринов: метил- $\beta$ -циклин и триметил- $\beta$ -циклин, исследование фотоустойчивости и скорости фотовыгорания комплексов в зависимости от типа циклодекстрина и от соотношения концентраций фотосенсибилизатора и циклодекстрина.

**Задачи:**

1. Изучить спектры поглощения комплекса mTHPC-CD при фотовыгорании для разных типов циклодекстринов.
2. Изучить спектры поглощения комплекса mTHPC-CD при фотовыгорании для различных соотношений концентраций ФС-циклодекстрин.
3. Сделать вывод о типе циклодекстрина, наиболее подходящего для использования в комплексе с фотосенсибилизатором, определить оптимальное соотношение концентраций.

**Материал и методы.**

Фотосенсибилизаторы представляют собой вещества, способные повышать чувствительность ткани к воздействию света. Эффективность фотосенсибилизатора вычисляется по формуле:

$$E = \frac{1}{n_{\text{ФС}} \cdot t_{\text{воздействия}}},$$

где  $E$  – эффективность ФС;  $n_{\text{ФС}}$  – количество затраченного фотосенсибилизатора;  $t_{\text{воздействия}}$  – длительность фотооблучения.

Фотосенсибилизатор 5,10,15,20-мета(тетра-гидроксифенил)хлорин mTHPC относится к фотосенсибилизаторам класса хлоринов. Он является одним из наиболее эффективных сенсбилизаторов, применяемых в фотодинамической терапии. К его достоинствам относится неполярная структура, низкая скорость диффузии ( $10^{-2} \text{ nm/s}$ ) и высокая прочность связывания с носителем и мембраной клетки.

Доставка фотосенсибилизатора является одной из важнейших задач при ФДТ. В несвязанном виде в крови фотосенсибилизаторы образуют конгломераты, из-за которых значительно понижается продуктивность доставки ФС, а также может произойти закупорка сосудов. В крови фотосенсибилизатор связывается с сывороточными белками, альбуминами, глобулинами. Транспорт сенсбилизатора к клетке осуществляется за счет различных носителей, среди которых большое значение имеют липосомы, полимерные частицы и циклодекстрины.

Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, состоящие из D-глюкопиранозных звеньев, связанных  $\alpha$ -1,4 глюкозидными связями и стабилизированных водородными связями между ОН-группами. Циклодекстрины обладают уникальной способностью образовывать комплексы типа «гость—хозяин» со множеством органических и неорганических соединений. Они применяются для увеличения растворимости, улучшения фармакокинетики, физической и химической стабильности активных субстанций.

Комплекс фотосенсибилизатор-циклодекстрин обладает большей скоростью достижения максимума накопления по сравнению с чистым фотосенсибилизатором (30 мин против 7 часов). Кроме того, при наличии циклодекстрина, концентрация mTHPC в опухоли на порядок больше, чем при введении только фотосенсибилизатора.

Фотоустойчивость является важной характеристикой комплекса фотосенсибилизатор-носитель, т.к. она гарантирует стабильность целевой доставки фотосенсибилизатора. Такая инкапсуляция позволяет фотосенсибилизатору равномерно распределяться в пораженной ткани, проявляя активность только при фотооблучении, которое становится при этом селективным и управляемым. Следует отметить, что в результате фотохимических реакций окисляются не только биомолекулы, но и молекулы фотосенсибилизатора, что ведет к снижению его концентрации в тканях в процессе облучения. Этот процесс называется «фотовыгоранием», или «фотобличингом».

В ходе работы были исследованы спектры поглощения комплекса циклодекстрин-фотосенсибилизатор при фотовыгорании. Всего было исследовано 12 комплексов mTHPC с тремя видами циклодекстринов: фенил- $\beta$ -циклин, метил- $\beta$ -

циклодекстрин и триметил- $\beta$ -циклодекстрин. Концентрации мТНРС были выбраны равными  $10^{-5}$  моль/л,  $3 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $10^{-6}$  моль/л,  $3 \cdot 10^{-6}$  моль/л. Фотоустойчивость комплекса мТНРС-фенил- $\beta$ -циклин оказалась крайне слабой, по этой причине в дальнейшем выполнялось сравнение комплексов метил- $\beta$ -циклодекстрином и триметил- $\beta$ -циклодекстрином.

Исследование выполнялось на базе НИЛ биофизики и биотехнологии физического факультета БГУ. Фотооблучение выполнялось с помощью диодного лазера LAND, длина волны 660 нм. Спектры поглощения комплексов циклодекстрин-фотосенсибилизатор были получены при помощи спектрофотометра Solar PV1251B.

### Результаты и их обсуждение.

Оптическая плотность раствора, содержащего комплекс циклодекстрин-фотосенсибилизатор зависит от типа циклодекстрина, так как степень включения фотосенсибилизатора в состав комплекса циклодекстрин-фотосенсибилизатор будет разной для разных типов циклодекстринов. В результате фотовыгорания количество фотосенсибилизатора в растворе уменьшается и, соответственно, уменьшается оптическая плотность раствора. Таким образом, изменение значения оптической плотности может служить мерой изменения фотоустойчивости фотосенсибилизатора.

На рисунке 1 приведены спектры поглощения комплекса мТНРС-циклодекстрин при фотовыгорании для одинаковой концентрации  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л двух разных типов циклодекстринов: метил- $\beta$ -циклодекстрина и триметил- $\beta$ -циклодекстрина. Измерения проводились в начальный момент фотооблучения, а затем через 10, 20, 30 и 40 минут.

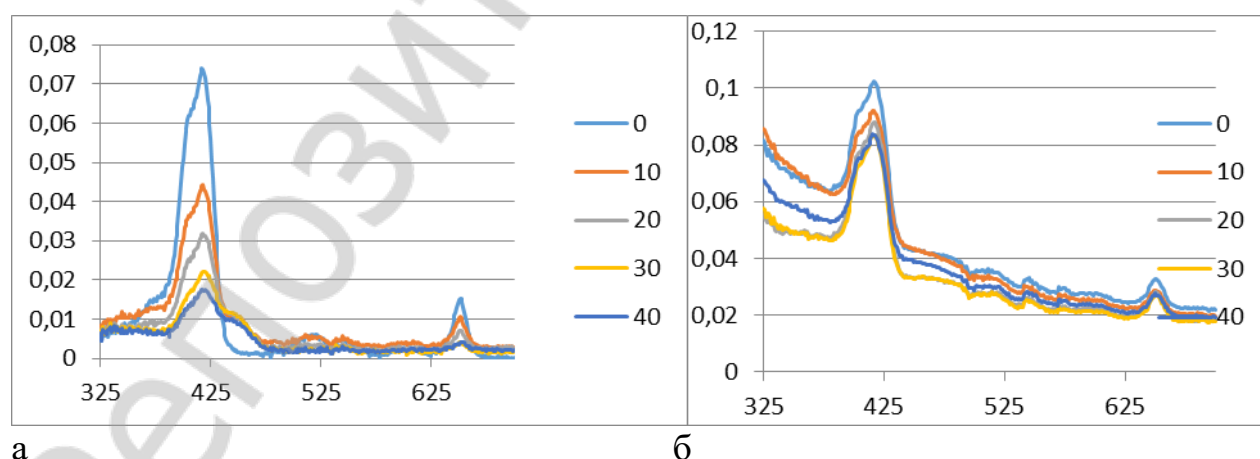
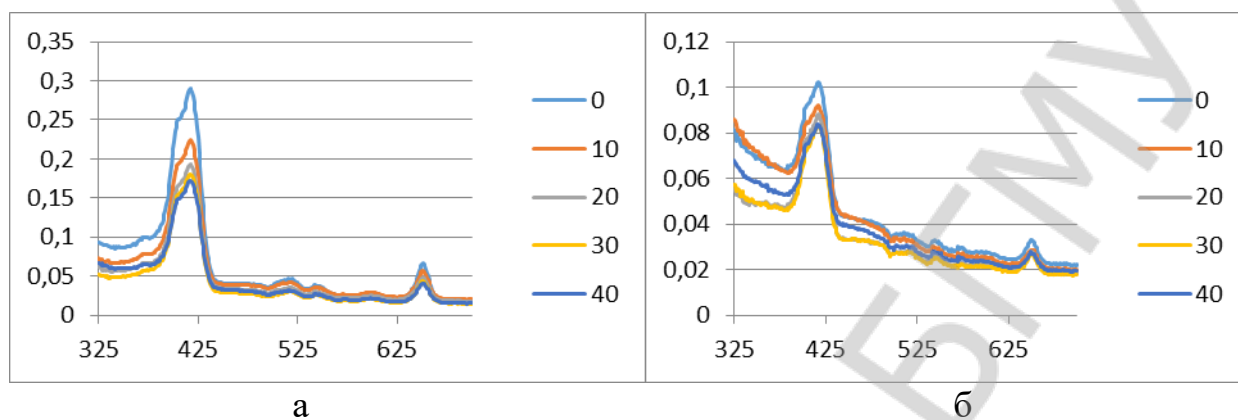


Рисунок 1– а) Спектр поглощения комплекса мТНРС-метил- $\beta$ -циклодекстрин; б) Спектр поглощения комплекса мТНРС- триметил- $\beta$ -циклодекстрин

Из сравнения графиков видно, что наибольшая устойчивость будет наблюдаться у комплекса мТНРС -триметил- $\beta$ -циклодекстрин, так как разброс амплитудных значений для этого комплекса является минимальным.

На рисунке 2 приведены спектры поглощения комплекса мТНРС-триметил- $\beta$ -циклодекстрин при фотовыгорании для концентрации мТНРС, равной  $3 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Концентрация триметил- $\beta$ -циклодекстрина равна  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л.



**Рисунок 2** – а) Спектр поглощения комплекса мТНРС-триметил- $\beta$ -циклодекстрин при концентрации мТНРС =  $3 \cdot 10^{-5}$  моль/л; б) Спектр поглощения комплекса мТНРС-триметил- $\beta$ -циклодекстрин при концентрации мТНРС =  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л

В результате исследования было выявлено, что наибольшей фотостойкостью обладает комплекс мТНРС-триметил- $\beta$ -циклодекстрин, в котором концентрация циклодекстрина в два раза превосходит концентрацию фотосенсибилизатора.

#### **Выводы:**

1. В ходе работы была изучена фотостойкость комплексов фотосенсибилизатора мТНРС и циклодекстринов (метил- $\beta$ -циклин и триметил- $\beta$ -циклин) с учетом того, что фотостойкость комплекса фотосенсибилизатор-циклодекстрин является важной характеристикой прочности связывания фотосенсибилизатора с носителем и гарантирует стабильность его целевой доставки.

2. Установлено, что при концентрации мТНРС  $10^{-5}$  моль/л эффективность связывания триметил- $\beta$ -циклином в 3-4 раза больше по сравнению с комплексом метил- $\beta$ -циклин той же концентрации. Таким образом, комплексы с триметил- $\beta$ -циклином являются гораздо более устойчивыми, чем с метил- $\beta$ -циклином.

3. С помощью исследования спектров поглощения была выявлена зависимость прочности связывания фотосенсибилизатора с циклодекстрином от концентрации фотосенсибилизатора. Для мТНРС наибольшая фотостойкость достигается при отношении концентраций ФС и циклодекстрина как 1:2.

4. Исследование показало, что триметил- $\beta$ -циклин по своим характеристикам является более подходящим для использования в комплексах с фотосенсибилизатором и его аналоги могут быть использованы для регуляции процессов биораспределения фотосенсибилизатора при проведении

фотодинамической терапии.

*N. A. Nedzvedz*

**STUDY OF PHOTOSTABILITY OF COMPLEXES OF CYCLODEXTRIN WITH  
PHOTOSENSITIZER mTHPC FOR PHOTODYNAMIC THERAPY**

*Tutors: PhD, Associate Professor M. V. Goltsev,  
PhD V. P. Zorin\**

*Department of Medical and Biological Physics,  
Belarusian State Medical University, Minsk  
\*Belarusian State University, Minsk*

**Литература**

1. Проблемы регуляции в биологических системах / под ред. А.Б. Рубина. — Москва-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2006. — С. 223–254.
2. Fluence-rate effects upon m-THPC photobleaching in a formalin-fixed cell system / Atif M., Stringer M.R., Cruse-Sawyer J.E., Brown S.B. // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2004. – № 1. – pp. 173–180.
3. Photobleaching of 5,10,15,20-tetrakis(m-hydroxyphenyl)porphyrin (m-THPP) and the corresponding chlorin (m-THPC) and bacteriochlorin (m-THPBC). A comparative study / Bonnett R., Djelal B.D., Hamilton P.A., Martinez G., Wierrani F. // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1999. – №53. – pp 136–143.
4. In Vivo mTHPC Photobleaching in Normal Rat Skin Exhibits Unique Irradiance-dependent Features/ Finlay J.C., Mitra S., Foster T. H. // Photochemistry and Photobiology. – 2002. – № 75(3). – pp 282–288.