

Спектрально-кинетические характеристики
бискарбоцианинового красителя как фотосенсибилизатора
для фотодинамической терапии

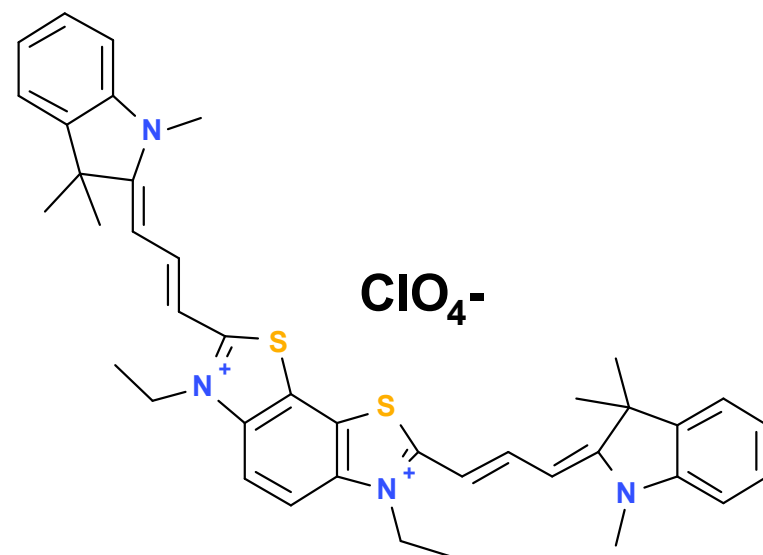
Костюков А.А., Радченко А.Ш., Кузьмин В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

119334 Москва Косыгина 4 akostyukov@gmail.com

Введение

Бискарбоцианиновые красители имеют две сопряженные хромофорные системы, у которых проявляются два эффекта: диполь-дипольное взаимодействие и туннелирование электрона через центральный гетероцикл. Результатом этих эффектов является расщепление возбужденных уровней, что приводит к сильному батохромному смещению в спектре поглощения и увеличивает квантовый выход интеркомбинационной конверсии, что делает эти соединения перспективными фотосенсибилизаторами для фотодинамической терапии. Были исследованы спектрально-кинетические характеристики возбужденных синглетных и триплетных состояний комплексов бискарбоцианинового красителя 1,1'-ди-3,3,3',3'-тетраметил-бисиндокарбо-2,5-диэтил-бензо[1,2-d:4,5-d']-бистиазола (**324**) и альбумина.



Краситель 324

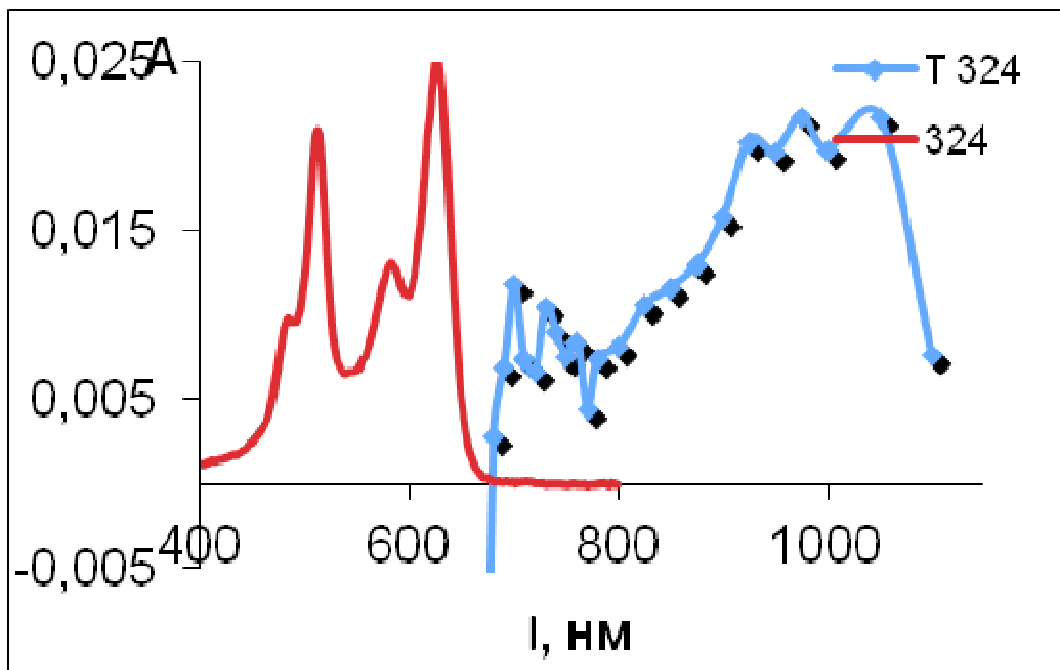


Рисунок 1. Спектры S-S*поглощения и спектры T-T*поглощения красителя 324

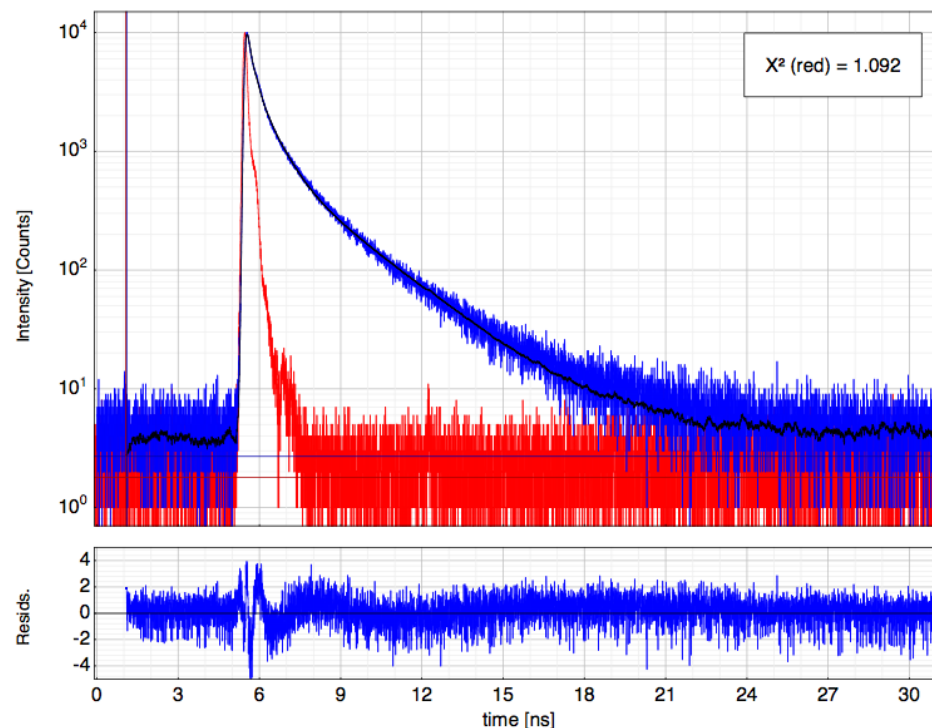
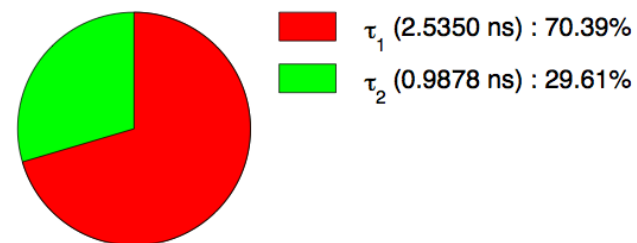


Рисунок 2. Кривая кинетики гибели флуоресценции 324 в растворе БСА $5 \cdot 10^{-5}$

Fractional Intensities of the Positive Decay Components:



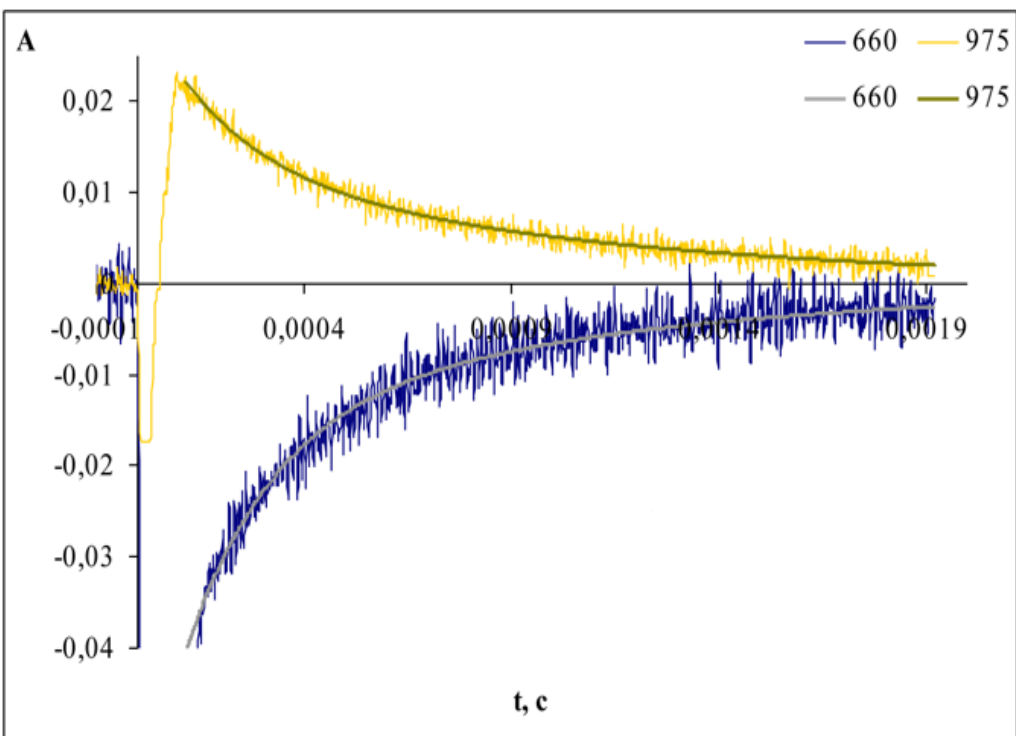


Рисунок 3. Кинетические кривые гибели триплетного состояния комплекса 324 с БСА при 660 и 975 нм

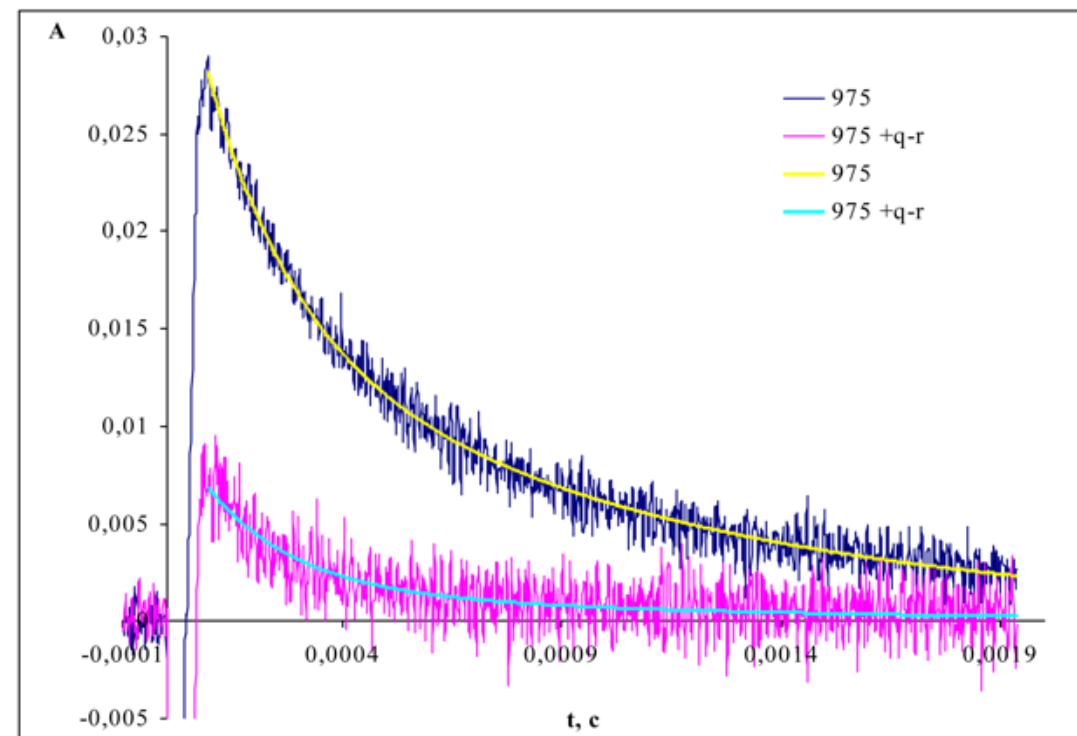


Рисунок 4. Кинетические кривые гибели триплетного состояния комплекса 324 с БСА при 975 нм в присутствии TEMPO (q-r) и без него. $k_0 = 991 \text{ c}^{-1}$ и $k_{\text{eff}} = k_0 + k_q [Q] = 1800 \text{ c}^{-1}$

- При прямом фотовозбуждении методом импульсного фотолиза получены спектрально-кинетические характеристики триплетного состояния красителя 324 и его комплекса с альбумином. В присутствии кислорода воздуха и стабильных нитроксильных радикалов наблюдалось тушение триплетных состояний красителя и его комплекса с альбумином, что доказывает триплетную природу интермедиатов.
- Исследование кинетики гибели флуоресценции комплексов красителя 324 и альбумина выявило два различных времени жизни флуоресценции ($\tau_1 = 2.5$ нс и $\tau_2 = 1$ нс), что указывает на образование двух комплексов различной природы, соответствующих взаимодействию красителя с различными сайтами связывания белка.

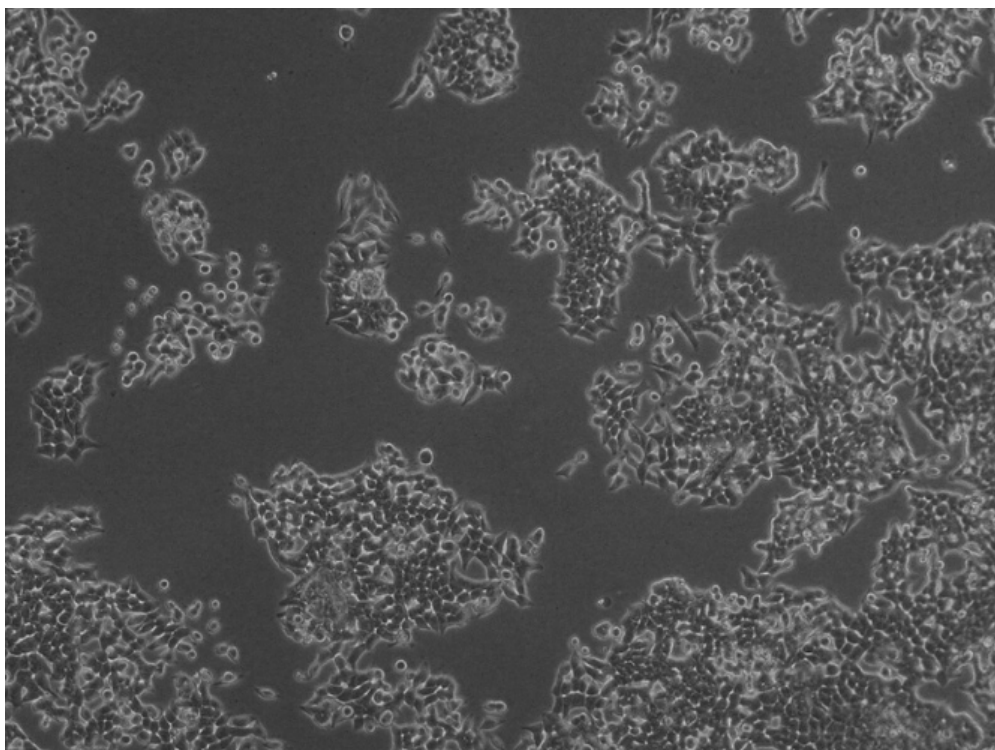


Рисунок 4. Темновая
цитотоксичность 324

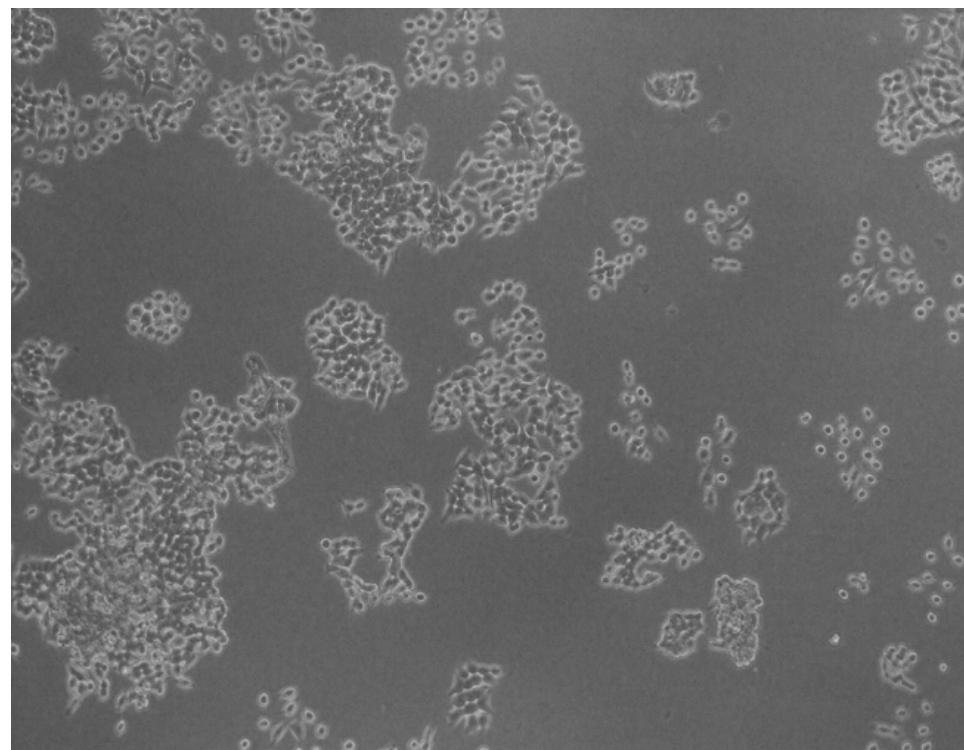
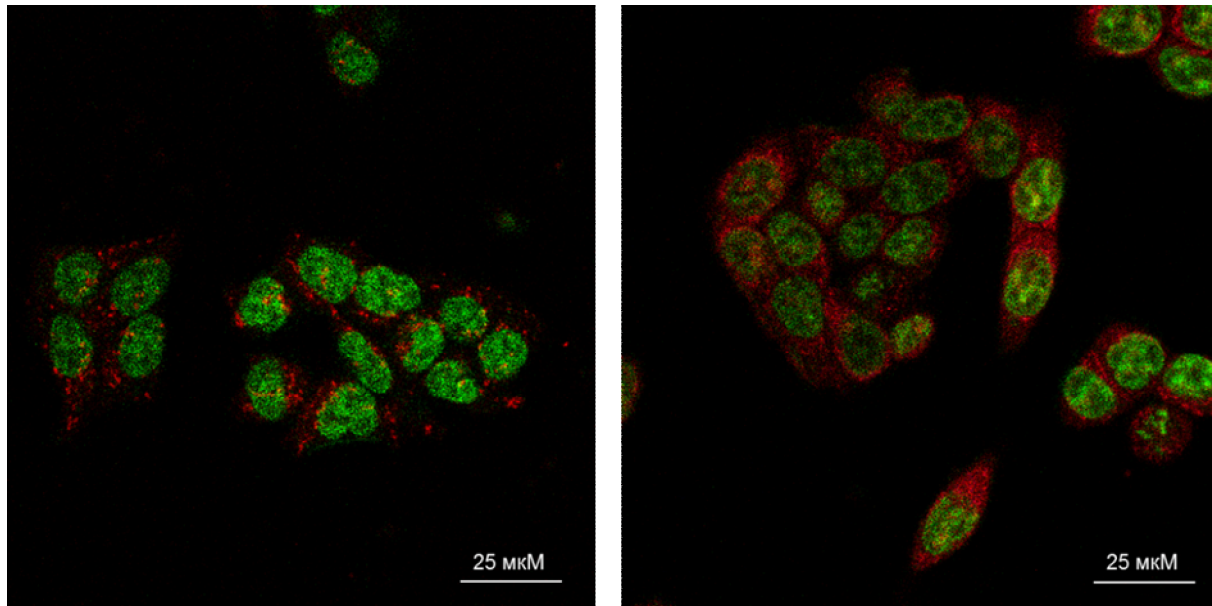


Рисунок 5. Световая
цитотоксичность 324



А

Б

- **Рисунок 6.** Детекция супероксид-анион радикала ($O_2^{\cdot-}$) в intactных клетках HCT116 (А) и в клетках HCT116 с фотоактивированным БКЦ 324 (0,5 мкМ) (Б). Красным цветом обозначен сигнал флуоресценции сенсора супероксид-аниона MitoSOX Red (Ex 458/Em 520-590); зеленым цветом обозначен ядерный краситель Hoechst 33342 (Ex 405/Em 415-480). БКЦ 324 активировали лазером 633 нм в течение 5 с.

Результаты

1. Кроме высокого коэффициента экстинкции бискарбоцианиновые красители имеют высокий квантовый выход триплета и сродство к биологическим структурам, что делает их перспективными фотосенсибилизаторами для фотодинамической терапии.
2. Были произведены измерения оптических характеристик для бискарбоцианинового красителя, исследованы процессы образования и гибели триплетного состояния комплексов красителя и белка.
3. Исследование цитотоксичности показало высокую эффективность красителя как фотосенсибилизатора. Отмечено накоплению красителя в течении 2 часов и практически отсутствию темнового цитотоксического эффекта, а при облучении светом 514 нм приводило к гибели опухолевых клеток карциномы по механизму апоптоза, через образование супероксид аниона и с реакцией переноса электрона от молекулы красителя к биомакромолекуле.