

Климович<sup>1</sup> М.А., Сажина<sup>1</sup> Н.Н., Радченко<sup>1</sup> А.Ш., Замелацков<sup>2</sup> И.А., Шкирдова<sup>2</sup> А.О.,  
Кузьмин<sup>1</sup> В.А.

<sup>1</sup>*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН  
Россия, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4*

*Тел: (495) 939-73-41*

*E-mail: KLIMOVICH-007@yandex.ru*

<sup>2</sup>*Институт физической химии и электрохимии РАН*

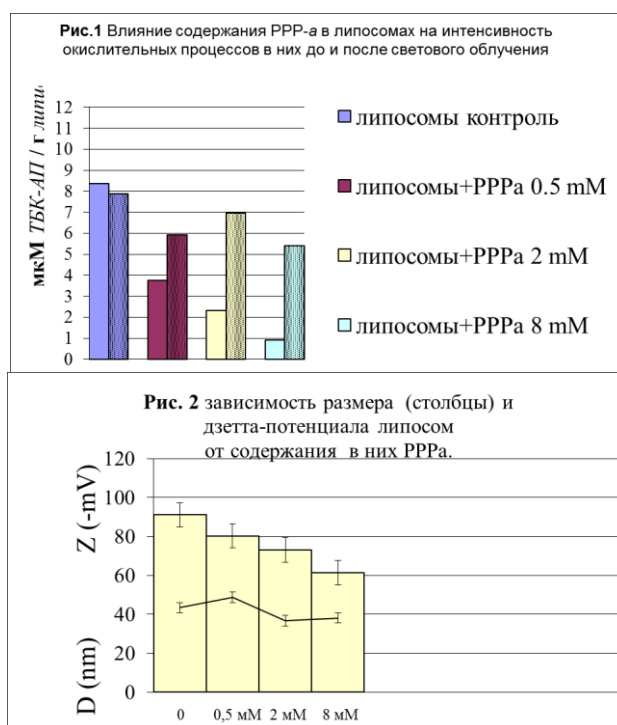
### **Фотоиндуцированные и темновые окислительные процессы в порфириносодержащих липосомах**

Липосомы, с заключенными в них противоопухолевыми препаратами, нашли применение в медицинской практике, например, «Миоцет», «Доксил», «Термодокс» и другие. Однако включение порфиринов в состав бислоя липосом в качестве триггерного механизма высвобождения препаратов в ответ на действие света расширяет возможности в терапии злокачественных новообразований [1-4]. Модифицированные природные хлорофиллы перспективны в качестве таких фотосенсибилизаторов, одним из которых является полусинтетический пиррофеофорбид-а (PPP-а), обладающий рядом замечательных фотосенсибилизирующих свойств. Также он интересен в связи с распространенностью в природе исходного для его синтеза сырья (хлорофилл а выделенный из *Spirulina platensis*). Однако в данной публикации мы делаем акцент на положительную роль PPPа в стабилизации водной суспензии липосом в отсутствие света (или слабом непродолжительном освещении).

Липосомы формировали ультразвуковой обработкой водной суспензии фосфолипидов (1 мг/мл), источник - соевый лецитин фирмы Serva. Размер липосом и дзета-потенциал измеряли на Zetasizer Nano ZS (Великобритания), спектры поглощения на Shimadzu UV 3110 (Япония). PPP-а был предварительно растворен в хлороформе, дихлорметане и толуоле. Плотность применяемого растворителя оказывало влияние на способность PPP-а к включению в состав бислоя липосом. Показано, что наилучшее включение PPP-а было из толуола и дихлорметана (близко к полному включению), из хлороформа - около 9%. Возможно, порфирины из толуола и дихлорметана могут включаться в большем количестве, что также повышает перспективность их использования. Результаты, представленные на рисунках, относятся к суспензиям липосом, содержание PPPа в которых составляло 0,5 мМ, 2 мМ и 8 мМ, для приготовления использовался PPPа в толуоле, длительность светового воздействия 20 минут.

Порфирины в возбужденном триплетном состоянии генерируют АФК, преимущественно синглетный кислород, который окисляет ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов липосом. Для оценки окислительной деструкции жирных кислот мы облучали водные суспензии липосом в кварцевых кюветках в течении 20, 40 и 60 минут, мощность галогеновой лампы 70 Вт (лампа имела водяное охлаждение), расстояние от источника 250 мм, светофильтр КС-11 (полное светопропускание от 640 нм). Окислительную деструкцию мы оценивали по содержанию конечных продуктов окисления липидов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты). Из рис.1 видна обратная концентрационная зависимость содержания ТБК-активных продуктов у необлученных темновых образцов (левые столбцы) от содержания PPP-а. Это связано с увеличением плотности упаковки бислоя, приводящее к снижению средних размеров липосом (рис. 2), что затрудняло диффузию кислорода в гидрофобную часть бислоя в процессе формирования и хранения суспензии липосом. Значение дзета-потенциала в данном диапазоне концентраций PPP-а менялось не значительно. Световое воздействие на суспензию липосом приводило к значительной интенсификации окислительных процессов (правые столбцы), однако содержание ТБК-активных продуктов не превышало значений липосом без порфиринов. Время облучения более 20 минут не оказывало существенного влияния на дальнейшее окисление. Т.о. PPPа, встроенный в бислой лецитиновых липосом, повышает плотность его упаковки, защищает от окисления, что в итоге играет положительную роль в стабилизации суспензии липосом в темноте.

Исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Новые материалы и технологии» ИБХФ РАН.



### Литература

1. Kevin A. Carter, Shuai Shao, Matthew I. Hoopes et al. Porphyrin–phospholipid liposomes permeabilized by near-infrared light // NATURE COMMUNICATIONS 5:3546 2014.
2. Julien Massiot, Veronique Rosilio and Ali Makky Photo-triggerable liposomal drug delivery systems: from simple porphyrin insertion in the lipid bilayer towards supramolecular assemblies of lipid–porphyrin conjugates // J. Mater. Chem. B, 2019, 7, 1805.
3. Johan Stroˆmqvist, D Andriy Chmyrov, D Sofia Johansson et al. Quenching of Triplet State Fluorophores for Studying Diffusion-Mediated Reactions in Lipid Membranes // Biophysical Journal Volume 99 December 2010 3821–3830.
4. Isabel O. L. Bacellar and Mauricio S. Baptista Mechanisms of Photosensitized Lipid Oxidation and Membrane Permeabilization // ACS Omega 2019, 4, 21636–21646.