

АҢДАТПА

Философия докторы (PhD) дәрежесін алу диссертациясы

6D060600 – Химия

Мырзахметов Бауыржан Аскарбекович

Фотодинамикалық терапияда қолданылатын фотосенсибилизаторлардың физика-химиялық қасиеттері және кванттық-химиялық есептеулері

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. ФДТ қолданылатын ФС адам ағзасына енгізілгеннен кейін ортаға қарай өзінің физика-химиялық қасиеттерін өзгертуі мүмкін. Яғни, ортаның табиғатына, температураға, тұтқырлыққа, концентрацияға және рН байланысты алуан түрлі қасиеттер көрсетеді. Сондықтан да, ФС физика-химиялық қасиеттерін зерттеп, оларды ФДТ жолымен емдеуде қолданудың тиімді жағдайларын анықтау өзекті мәселелердің бірі болып саналады.

Биологиялық жүйеде дәрілік заттардың тасымалдануы липофильділік бойынша анықталады. Яғни, осы көрсеткіш бойынша ФС мен рецептор арасында кешеннің түзілу мүмкіндігі анықталады. Дәрілік заттардың сіңуі, таралуы, метаболизмі мен ағзадан шығарылуы, уыттылығы физика-химиялық, фармакокинетикалық және фармакодинамикалық қасиеттерге жатады. Осы аталған қасиеттерді толық түсіну үшін липофильділікті анықтау маңызды болып табылады.

Фотодинамикалық терапия жолымен емдеудің негізіне ФС триплетті күйге ауысып, реактивті оттегінің түрлерін түзу, ФС-дың жасушаға сіңуі, таралуы секілді қасиеттері жатқызылғаны айтылған болатын. Осы қасиеттерді эксперименттік нәтижелермен қатар, кванттық химия есептеулерімен зерттеу маңызды ақпараттарға қол жеткізеді. Яғни, ФС-дың қозған күйін зерттеу арқылы спектрлерін алу, құрылымдарды жобалау, дәрілік заттардың ағзада таралуын бақылау, электрондық ауысулардың қарқындылығы мен энергияларын есептеу нәтижелері фотохимия мен фотобиологияда қосымша мүмкіндірге жол береді.

Фотодинамикалық терапия 1970 жылдардың соңынан бастап қолданыла бастағанымен, біздің елімізге 2016 жылы келіп бастады. ФДТ ресми түрде Қазақстан Республикасы Президентінің іс басқармасы медициналық орталығының (ҚР ПІМ МО) қабырғасында 2016 жылдың қараша айында алғаш қолданылған болатын.

Қазіргі уақытта ФДТ онкология саласымен қатар, гинекология, урология, офтальмология сияқты басқа да салаларда кең қолданысқа ие болуда. Сондықтан да, емдеуде қолданылатын препараттардың физика-химиялық қасиеттерін

зерттеу, оларды қолданудың тиімді параметрлерін эксперименттік және кванттық химия әдістерімен есептеу арқылы анықтау өзекті болып табылады.

Зерттеу жұмысының мақсаты фотодинамикалық терапияда қолданылатын фотосенсибилизаторлардың физика-химиялық қасиеттерін эксперименттік және кванттық химия әдістерімен зерттеу болып табылады.

Зерттеу міндеттері:

- фотосенсибилизаторлардың физика-химиялық қасиеттерін әр түрлі еріткіштерде, тұтқырлықта, концентрацияда, температурада және рН ортада зерттеу;

- бөліну және таралу коэффициентін спектрофотометрлік, хроматографиялық және кванттық химия әдістермен анықтаудың тиімді параметрлерін ұсыну;

- кванттық химия әдісімен фотосенсибилизаторлардың оптикалық және тербелмелі спектрлерін алу, электрондық ауысулардың қарқындылығы мен энергияларын есептеу.

Зерттеу әдістері. Жұмыста келесідей заманауи физика-химиялық және кванттық-химиялық зерттеу әдістері қолданылды: УК-спектроскопия, ИҚ-спектроскопия, флуоресценция, фосфоресценция, уақыт бойынша ажыратымды флуоресценция, тиімділігі жоғары сұйық хроматография (ТЖСХ), тығыздықтың функционалды теориясы (ТФТ).

Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы және негізгі нәтижелері:

1. I және II буын фотосенсибилизаторларының физика-химиялық қасиеттері УК, ИҚ, флуоресценция, фосфоресценция, уақыт бойынша ажыратымды флуоресценция әдістерімен зерттелді. Орта полярлығының өзгеруі ФФ УК-көрінетін жұту спектріне айтарлықтай өзгеріс енгізбегенімен, ПпІХ мен ПФа үшін күрт өзгеріс байқалды. Әдебиеттерде ПпІХ *in vitro* немесе *in vivo* үшін 630 нм толқын ұзындықта қоздыру керек екені жазылған. Алайда, бұл қоздыру толқын ұзындығы этанолдағы жұту спектріне негізделіп таңдалған болатын. Физиологиялық ортаға жақын ФБЕ және ӨҰС еріткіштерінде QI жолағы 641 нм орналасты. Үш ФС ішінен ПФа ең жоғары Φ_f мәнін көрсетті, яғни толуол мен EtOH-та 0,39 шаманы құрады. ПФа-дің τ_f мәні мономерлер үшін 6,1-7,5 нс және агрегаттар үшін 0,3-2,1 нс, ПпІХ-нің τ_f мәні мономерлер үшін 10,3-15,9 нс және агрегаттар үшін 2,5-3,0 нс және ФФ-нің τ_f мәні мономерлер үшін 8,7-15,0 нс және агрегаттар үшін 2,2-3,4 нс аралығында болды. Φ_{Δ} -ның ең жоғары мәні этанолда анықталды, яғни ПФа, ПпІХ және ФФ үшін сәйкесінше 0,53, 0,92 және 0,80 шаманы құрады. τ_{Δ} мәні барлық ФС үшін әрбір еріткіште жуық шаманы көрсетті және әдебиетте келтірілген мәндермен шамалас болды. ФС жасушаларда орналасуына байланысты жергілікті тұтқырлық өзгеруі мүмкін. Еріткіш тұтқырлығының өзгеруі ПпІХ мен ФФ QI жолағының максималды толқын ұзындығына күшті әсер етпегенімен, ПФа үшін ол жолақ 10 нм қысқа толқын аймаққа ығысқаны байқалды (678 нм-ден 668 нм-ге). Үш ФС-дың флуоресценциясы су қосқан сайын төмендеп, тұтқырлық жоғары болған кезде

сәулеленбейтін кемудің төмен болатындығын дәлелдеді. Өкінішке орай, ортаның тұтқырлығы мен мономер/агрегат фракцияларының арасындағы байланыс анықталмады. Бұған себеп, глицерин мен судың әртүрлі мөлшерлері араласқан кезде, ортаның полярлығы да өзгеруі мүмкін. Сондықтан да, С/Г қоспаларында байқалған өзгерістер тек ерітіндінің тұтқырлығымен ғана байланысты болмауы мүмкін. Концентрацияның өзгеруі ФС-лар үшін флуоресценцияның кему және өсу заңдылығын көрсетті. Яғни, ФБЕ-де флуоресценция қарқындылығы төмендеп, агрегацияның жоғары болатындығын көрсетсе, ӨҰС-да кері құбылыс байқалды. Ол дегеніміз, ӨҰС-да болатын ақуыз молекулаларының агрегацияны төмендететіндігін көруге болады. Температураның өзгеруі ПпІХ мен ФФ УК-көрінетін жұту спектрлеріне айтарлықтай өзгеріс көрсетпегенімен, ПФа үшін 10-40°C аралығында УК-көрінетін спектр үлкен өзгеріске ұшырады. Сондықтан да, фотосенсибилизаторларды қолдану кезінде 40°C-тан төмен тиімді температура болып табылады. ФБЕ-дегі ПФа үшін Сорс жолағының қарқындылығы төмендеді және QI жолағының пішіні өзгеріп, қиылысу (изобестикалық) нүктесі 685 нм болатын қызыл аймаққа 680 нм-ден 712 нм-ге ығысты. ӨҰС-да тіркелген қиылысу нүктесі де 685 нм көрсетті. Сондай-ақ, температураның өсуі агрегат/мономер қатынасының төмендеуіне алып келеді. рН өзгерісі де ПФа үшін QI жолағының 25 нм қысқа аймаққа ығысатынын көрсетті (704 нм-ден 679 нм-ге). Ең таңқаларлық нәтиже ретінде әртүрлі еріткіштерде алынған Φ_{Δ} мәндері туралы айтуға болады. Еріткішке байланысты алынған мәндер де әртүрлі болды. ФФ үшін толуолда $^1\text{O}_2$ анықтау қиын болғанымен, ПпІХ мен ПФа үшін осы еріткіште Φ_{Δ} мәні, сәйкесінше 0,68 бен 0,49 құрады. Этанолда Φ_{Δ} мәні ПпІХ, ПФа және ФФ үшін 0,92, 0,53 және 0,80 тең болды. Еріткіш ретінде D_2O қолданған кезде ппІХ мен ПФа үшін $^1\text{O}_2$ анықталмады да, ФФ үшін Φ_{Δ} 0,15 тең болды. Шынайы жағдайда, ақуыздардың, липидтердің және басқа да биомолекулалардың болуы ФС физика-химиялық қасиеттеріне әсер етеді. Бұл дегеніміз, *in vitro* зерттеулері үшін тәжірибе және еріткіштің қолданылуы қадағалануы тиіс;

- Алғаш рет бөліну және таралу коэффициенттері спектрофотометрлік, хроматографиялық және кванттық химия әдістерімен анықталды. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде таралу коэффициентін анықтауда ТЖСХ әдісі дәлдігі жоғары, әрі орындалу уақыты тез әдіс ретінде ұсынылады. ФС-дың алынған $\text{Log}D$ мәндері молекулалардың липофильділік заңдылығына бағынды және ПФа 0,30-0,44 мәндерін көрсете отырып ең гидрофобты болып табылды. ПпІХ-ның $\text{Log}D$ мәні колбаны шайқау және ТЖСХ әдістері бойынша сәйкесінше оң және теріс шамаларды көрсетті, бірақ бұл мәндер бір-біріне жақын болды (0,19 және -0,49). Бір қызығы, ФФ үшін үш жолақ пайда болды, нәтижесінде үш $\text{Log}D$ мәндері есептелініп табылды және бұл осы ФС-дың амфифильді сипатын дәлелдеді. Есептелген екі мән ФФ-нің полярлы, ал бір мән полярлы емес қасиеттерін көрсетті (сәйкесінше -2,73, -1,23 және 0,15). $\text{Log}P$ мәндерін теориялық химияның әртүрлі әдістерімен болжауға болатындығы оның күшті қор екендігін көрсетті

және бұл тәсіл зерттеуге қажетті қосылыстың сынамасы болмаған кезде жасауда үлкен рөл атқаратындығы анықталды. Басқаша айтқанда, гибридті (V3LYP) және ұзақ аймақты (ω B97X-D) функционалдары бар ТФТ ФС-дың липофильділігін есептеудің маңызды әдістемесі ретінде анықталды. TSM, K-ПҮМ және РИТ-ПҮМ еріткіштің жасырын модельдері 6-31G(d), 6-31+G(d,p) және 6-311++G(d,p) көмегімен ПпІХ мен ПФа молекулаларының LogP мәндерін анықтау үшін қолданылды. ФФ құрылымының күрделілігі осы ФС-дың LogP мәнін есептеуге мүмкіндік бермеді. TSM бойынша 6-31+G(d,p) және 6-311++G(d,p) базистер жиынтығында ω B97X-D функционалы көмегімен анықталған LogP мәндері жақсы болжам жасауға болатындығын көрсетті;

- ТФТ әдісімен ФС-ды кванттық-химиялық зерттеу жоғары және айқын нәтижелер беретіндігі анықталды. ПФа және ПпІХ ФС-ның УК-көрінетін және ИҚ-спектрлерін ω B97X-D, V3LYP екі теория деңгейінде және 6-31+G(d,p) базис жиынтығында TSM, K-ПҮМ еріткіш модельдері бойынша есептеу эксперименттік нәтижеге өте жақын мәндерді алуға мүмкіндік берді. Эксперименттік жолмен Core және төрт Q жолақтары алынса, есептеу нәтижесінде қарқынды Core және екі қарқындылығы төмен Q_x және Q_y жолақтары алынды. V3LYP функционалға қарағанда ω B97X-D нәтижесінде есептелініп табылған спектрлер эксперименттік спектрлерге ұқсас болатындығын көрсетті. Яғни, Гутерманның төрт-орбиталь моделі үшін есептелген орбитальдардың энегррия деңгейлері ω B97X-D функционалын қолданған кезде жоғары мәнді көрсеткен болатын. Сондықтан да, электрондық спектрлерді есептегенде де функционалдың маңызы өте зор екендігі анықталды. Эксперименттік және есептеу нәтижесінде алынған жолақтардың қарқындылығы тура тенденцияны көрсетті. Яғни, Core жолағы эксперименттік және есептеу жолмен де жоғары қарқындылықты көрсетті. ПФа молекуласының байл, байл-1 және бос, бос+1 орбитальдарының энергия бойынша айырмашылықтары үлкен болғандықтан, есептеу жолымен алынған спектрлер жоғары дәлдікпен алынды. Сонымен қатар, V3LYP теория деңгейінде және 6-31+G(d,p) базис жиынтығында TSM және K-ПҮМ еріткіш моделі бойынша вакуум мен суда есептелген ПФа молекуласының жалпы ИҚ-спектрі ω B97X-D теориясы бойынша алынған спектрлермен салыстырғанда эксперименттік нәтижелерге жақын нәтиже көрсетті. Болашақта осы ТФТ әдісі синтезделіп алынатын жаңа ФС-дың электрондық және оптикалық/тербелмелі қасиеттерін зерттеуде маңызды рөл атқарады.

Жұмыстың практикалық маңызы. Алынған зерттеу жұмыстарының нәтижелері, ісік ауруларын емдеуде қолданылатын дәрілердің физика-химиялық қасиеттерін зерттеп, оларды қолданудың тиімді жағдайларын анықтаудың практикалық маңызы жоғары екенін айқындады. Сондай-ақ, липофильділікті анықтаудың негізгі ұсынылған тиімді параметрлері мен кванттық-химиялық зерттеу әдістемесі болашақта ФДТ-да қолдануға үлкен мүмкіндік береді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. ПпІХ мен ПФа сіңіру жолақтарында айтарлықтай ығысу өзгерістері тіркелді. Осы уақытқа дейін ПпІХ көмегімен жасалатын *in vitro* немесе *in vivo* зерттеулерінде қоздыратын толқын ұзындығы 630 нм болған болса, физиологиялық ортаға ұқсас болып табылатын фосфатты буфер ерітіндісі мен өгіздің ұрыққа тән сарысуы еріткіштерінде Q1 жолағы 641 нм толқын ұзындығында болады. Сондай-ақ, тұтқырлықтың, температураның және рН әсері ПФа молекулалары үшін үлкен. Аталған фотосенсибилизаторлар үшін сулы ортада синглетті оттегі түзу мүмкіндігі синглетті оттегіні анықтауға арналған жасыл сенсор көмегімен жүзеге асырылып, осы сенсор синглетті оттегінің кванттық шығымы мен өмір сүру уақытын әр түрлі еріткіштерде анықтауға мүмкіндік береді.

2. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде таралу коэффициентін анықтауда ТЖСХ әдісі дәлдігі жоғары, әрі орындалу уақыты тез әдіс ретінде ұсынылады. ТФТ әдісімен ПпІХ және ПФа молекулалары үшін бөліну коэффициенті алғаш рет тығыздыққа негізделген сольватация моделі (ТСМ), кондуктор тәріздес поляризациялық үздіксіз модель (К-ПҮМ) және ресми интегралды теңдеуге негізделген поляризациялық үздіксіз модель (РИТ-ПҮМ) еріткіш модельдерінде есептеліп, эксперименттік жолмен алынған нәтижелерге жақын мәнді көрсетеді. ТЖСХ нәтижесінде ФФ үш липофильділік мәнге ие болады және оның екеуі гидрофильді және біреуі гидрофобды, яғни амфифильді ФС. Сондай-ақ, осы параметрді анықтауда алғаш рет ПпІХ мен ПФа үшін кванттық химия әдісі ретінде ТФТ қолдану басқа әдістерге қарағанда дәлдігі жоғары нәтижелер алуға мүмкіндік береді.

3. Кванттық химия әдісімен ПпІХ және ПФа фотосенсибилизаторларының толуол мен судағы оптикалық және тербелмелі спектрлерін алып, электрондық ауысулардың қарқындылығы мен энергияларын есептеуге болады. Сондай-ақ, ТСМ және К-ПҮМ еріткіш модельдерінде алынған оптикалық спектрлерді талдау нәтижесінде, К-ПҮМ еріткіш моделі эксперименттік нәтижелерге жақын нәтиже көрсетеді.

Диссертациялық жұмыс тақырыбының ғылыми-зерттеу жұмыстарымен және әр түрлі мемлекеттік бағдарламалармен байланысы. Диссертациялық жұмыстың бір бөлігі Еуропалық Одақтың бастамасымен және үдемелі қаржыландыруымен құрылған, студенттердің академиялық ұтқырлық бойынша жоғары білімінің сапасын көтеруге бағытталған Эразмус+ халықаралық бағдарламасы бойынша Лоррейн университетінде орындалды.

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан жеке үлесі.

Диссертациялық жұмыстың нәтижелері келесі ғылыми басылымдарда талқыланды:

1. Larue L., Myrzakhmetov B., Ben-Mihoub A., Moussaron A., Thomas N., Arnoux P., Baros F., Vanderesse R., Acherar S., Frochot C. Fighting Hypoxia to Improve PDT. *Pharmaceuticals* (Q1, IF=5.4) 2019; 12:163 бет;

2. Myrzakhmetov B., Arnoux P., Mordon S., Acherar S., Tsoy I., Frochot C. Photophysical Properties of Protoporphyrin IX, Pyropheophorbide-a, and Photofrin® in Different Conditions. *Pharmaceuticals* (**Q1, IF=5.2**) 2021; 14:138 бет;

3. Myrzakhmetov, B., Honorien, J., Arnoux, P., Fournet, R., Tsoy, I., Frochot, C., *Luminescence* (**Q2, IF=3.7**) 2022, 37, 1597 бет.

Сондай-ақ, зерттеу нәтижелері Францияның Лилль Университеттік ауруханасы, денсаулық және медициналық зерттеулер ұлттық институты, ONCOTHA1 «Онкологиядағы Лазерлік және Иммунотерапия» зертханасында клиникалық апробациядан өтті. Докторант жарық көрген алғашқы (Fighting Hypoxia to Improve PDT) шолу мақаласында зерттеу бағыты бойынша жиналған зерттеу мақалаларына талдау жасап, өзіне тиесілі бөлікті жазды. Мақалаларда (Photophysical Properties of Protoporphyrin IX, Pyropheophorbide-a, and Photofrin® in Different Conditions және Lipophilicity prediction of three photosensitizers by liquid–liquid extraction, HPLC, and DFT methods) эксперименттердің нәтижелері, сондай-ақ алынған деректерді талдау және қорытынды жасау бойынша жұмыстарды докторант өзі орындаған.

Қазіргі кезде кванттық-химиялық есептеу бойынша алынған нәтижелерге байланысты мақаланы жазып, басып шығаратын Q1 дәрежелі журналдың талаптарына сәйкес рәсімдеу жұмыстарын жүргізуде.