

Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin  
Aus der Klinik für Lasermedizin,  
Klinikum Neukölln  
Klinikdirektor: Prof. Dr. H.-P. Berlien

Elektronenspinresonanz-Untersuchungen  
zur Singulett-sauerstoff-Generierung  
verschiedener Photosensibilisatoren für die  
Photodynamische Therapie

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der  
Medizinischen Doktorwürde  
der Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Basil Jamil  
aus London, England

Referent: Prof. Dr. H.-P. Berlien

Korreferent: Prof. Dr. G. Müller

Gedruckt mit Genehmigung der Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 3. 9. 2004

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>5</b>
<b>1.1</b>	<b>Biologischer Hintergrund</b>	<b>7</b>
1.1.1	Die Zelle	7
1.1.2	Das Membransystem von Zellen	8
1.1.3	Membranaufbau	9
1.1.4	Zellorganellen	10
1.1.5	Mitochondrien	11
<b>1.2</b>	<b>Metabolismus</b>	<b>11</b>
1.2.1	Die oxidative Phosphorylierung	11
1.2.2	Tumormetabolismus	12
<b>1.3</b>	<b>Klinik der Photodynamischen Therapie</b>	<b>13</b>
1.3.1	Pharmakokinetik	13
1.3.2	Klinische Ergebnisse	13
1.3.3	Nebenwirkungen	15
1.3.4	Toxizität	15
1.3.5	Stoffwechselstörungen	16
1.3.6	Immunreaktion	16
<b>1.4</b>	<b>Photosensibilisatoren</b>	<b>17</b>
1.4.1	Klassifikation der Photosensibilisatoren	17
1.4.2	Farbstoffe	17
1.4.3	Porphyrine	18
1.4.3.1	Die Rolle von Porphyrinen in der PDT	18
1.4.3.2	Grundstrukturen der Porphyrine und ihrer Derivate	19
1.4.4	Photosensibilisator-Verteilung in Gewebe	21
<b>2</b>	<b>PROBLEMSTELLUNG</b>	<b>23</b>

<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>26</b>
<b>3.1</b>	<b>Geräte</b>	<b>26</b>
3.1.1	Lasersysteme und Parameter	26
3.1.2	Elektronspinresonanzanlage	26
<b>3.2</b>	<b>Puffer und Lösungen</b>	<b>27</b>
3.2.1	Photosensibilisatorlösungen	27
3.2.2	Reaktionslösung für die ESR-Untersuchungen	27
<b>3.3</b>	<b>Methoden</b>	<b>29</b>
3.3.1	ESR-Messung	29
<b>3.4</b>	<b>Physikalischer Hintergrund</b>	<b>29</b>
3.4.1	Die Physik des Lichts	30
3.4.1.1	Licht als Welle	30
3.4.1.2	Das Rutherford'sche Atommodell	31
3.4.1.3	Licht als Teilchen	32
3.4.2	Die Physik der Materie	33
3.4.3	Quantisiertes orbitales Drehmoment und das Bohr'sche Atommodell	33
3.4.4	Die Energiequantisierung der Elektronenzustände	34
3.4.5	Materie als Wellen	34
3.4.6	Elektronenorbitale	35
3.4.7	Die Wechselwirkung zwischen Licht und Materie	35
3.4.7.1	Spin und Spinorbitale	35
3.4.7.2	Spin- und bahnmagnetische Momente	36
3.4.7.3	Das Pauli'sche Prinzip	37
3.4.7.4	Das Aufbauprinzip der Elemente	38
3.4.7.5	Lichtenergie, chemische Reaktivität und Valenzelektronen	40
3.4.7.6	Spektroskopische Aufspaltung in einem Magnetfeld (i)	41
3.4.8	Mehrelektronenzustände: die Ununterscheidbarkeit der Elektronen	42
3.4.9	Symmetrie und Antisymmetrie in der Quantenmechanik	42
3.4.10	Spin als eine binäre Größe	43
3.4.11	Elektronenpaare: Triplet- und Singulettzustände als Spinzustandsprodukte	44
3.4.12	Symmetrie und Parallelität	44
3.4.13	Spektroskopische Aufspaltung in einem Magnetfeld (ii)	45

<b>3.5 Moleküle und Radikale</b>	<b>46</b>
3.5.1 Chemische Bindungen	46
3.5.2 Die Grundzustandsenergie	48
3.5.3 Die Hund'schen Regeln für den Grundzustand	48
3.5.4 Der Sauerstoffgrundzustand	49
3.5.5 Die aktivierten Sauerstoffspezies (ROS)	49
3.5.5.1 Anregung aus dem Grundzustand: erlaubte Übergänge und Spinverbot	49
3.5.5.2 Folgen der Tripletteigenschaft des Sauerstoffgrundzustands	50
3.5.6 Radikale	51
3.5.6.1 Sauerstoffradikale	51
3.5.6.2 Die Superoxidanion- und Hydroperoxyradikale	52
3.5.6.3 Wasserstoffperoxid	53
3.5.6.4 Das OH-Radikal	55
3.5.7 Radikalkettenreaktion und Autooxidation	55
<b>3.6 Photoinduzierter Elektronentransfer</b>	<b>56</b>
3.6.1 Typ I-Sauerstoffaktivierung	57
3.6.1.1 Bildung von Superoxidradikalen	57
3.6.1.2 Bildung von Wasserstoffperoxid	58
3.6.1.3 OH-Radikalbildung	58
3.6.2 Typ II-Sauerstoffaktivierung: Photoinduzierte Energieübertragung	58
3.6.3 Fluoreszenz und Phosphoreszenz	59
3.6.4 Die Spin-Bahn-Kopplung	60
<b>3.7 Photosensibilisator-Anregung</b>	<b>60</b>
3.7.1 Farbstoffe vs Farbstoffe und andere Photosensibilisatoren	60
3.7.2 Die Generation von Singulett-Sauerstoff	61
3.7.3 Die Elektronenspinresonanz	62
3.7.4 Die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie	63
3.7.5 Die Struktur des aufgezeichneten Spektrums	64
3.7.6 Der Einsatz von Spintraps	65
<b>3.8 Detektion der <math>^1\text{O}_2</math>-Erzeugung mit TEMP</b>	<b>67</b>
<b>3.9 Detektion der Sauerstoffradikalbildung mit DMPO</b>	<b>67</b>

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>70</b>
4.1	Spezifität des Meßsystems und Schwankungsbreite von Tag zu Tag	70
4.2	Einfluß der TEMP-Konzentration auf die Bildung des $^1\text{O}_2$ -TEMP-Produktes TEMPO	72
4.3	Einfluß der Photosensibilisator-Konzentration auf die Bildung des $^1\text{O}_2$ -TEMP-Produktes TEMPO	74
4.4	Linearisierung der Generierungsraten von Singulett-sauerstoff	77
4.4.1	Hintergrund	77
4.4.2	Auswertung	78
4.5	Spezifität der Generierung von Singulett-sauerstoff	79
4.6	Vergleichende Untersuchung der Singulett-sauerstoffgenerierung von Photosan 3 <sup>®</sup> und anderen Porphyrinderivaten	83
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>88</b>
5.1	Untersuchung zur Spezifität der Generierung von Singulett-sauerstoff	90
5.2	Vorversuche zur Untersuchung der Singulett-sauerstoffgenerierung	90
5.3	Ergebnisse der quantitativen Vergleiche	91
5.4	Validität der Messungen	93
5.5	Einschränkungen der Methode	94
<b>6</b>	<b>SCHLUßFOLGERUNGEN</b>	<b>95</b>
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>96</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>97</b>