

Saopćenje  
UDK 615.099

## FOTODINAMSKO DJELOVANJE NEKIH OPTIČKIH BJELILA

E. KUNEC-VAJIĆ i Z. SUPEK

*Zavod za farmakologiju, Medicinski fakultet, Zagreb*

*(Primitljeno 14. I 1981)*

Fotodinamsko djelovanje optičkih bjelila Leukophor BS, Leukophor RG i Uvitex RT ispitivano je u paramecija i miševa. Najjače fotodinamsko djelovanje pokazao je Leukophor BS. Ova supstanca u roku od 5 minuta ubija sve osvijetljavane paramecije. Nakon intraperitonealne primjene izaziva češća i teža oštećenja kože u osvijetljenih nego u neosvijetljenih miševa. Nakon lokalne primjene ovog bjelila patološke promjene na koži zabilježene su samo u osvijetljenih miševa. Ostale dvije ispitivane supstancije manje su toksične, a imaju i slabije fotodinamsko djelovanje.

Optička bjelila su organski spojevi koji emisijom svjetla fluorescencije povećavaju bjelinu materijala na čijoj se površini nalaze. Te tvari apsorbiraju dugovalno ultraljubičasto svjetlo u spektralnom području između 300 i 400 nm, te fluoresciraju intenzivno u plavom području spektra (400—500 nm), naročito u adsorbatima. Upotrebljavaju se u mnogim granama industrije za povećanje bjeline različitih proizvoda. Najviše se primjenjuju u proizvodnji sredstava za pranje, zatim pri izradi papira, tekstila, plastičnih masa, kozmetičkih proizvoda, pa čak i kao dodatak prehrambenim artiklima. Činjenica da se svakodnevno susrećemo s proizvodima koji sadržavaju optička bjelila navela nas je na to da ispitamo da li ove tvari djeluju fototoksično. Poznato je naime da mnoge fluorescentne supstancije pokazuju fotodinamsko djelovanje u prisutnosti svjetla. Fotodinamsko djelovanje je oksidativno razaranje nekog biološkog sistema ili supstancije pod utjecajem kombiniranog djelovanja vidljivog svjetla i supstancije koja fotosenzibilizira. Ovaj fenomen je prvi opisao Raab (1) 1900. godine, primijetivši da je uništavanje infuzorija akridinom znatno ubrzano ako su organizmi izloženi svjetlu. Efekti fotodinamskog djelovanja ne ovise ni o prirodi supstancije koja je taj efekt izazvala, ni o valnoj dužini upotrijebljenog svjetla (osim

kratkovalnog UV svjetla). Posljedica fotodinamskog djelovanja je poremećenje funkcije i oštećenje stanica koje se u sisavaca očituje na koži u pojavi eritema, edema, ulceracija i nekroze. Ovi simptomi se javljaju nakon sistemske kao i nakon lokalne primjene različitih fotodinamskih agensa (razne boje: eozin, metilensko modrilo, akridin; zatim flavini, porfirini, furokumarini, neki lijekovi kao fenotijazini, benzotiadiazinski diuretici, sulfanilamid, sulfonilurea itd.). Mehanizam fotodinamskog djelovanja nije još potpuno objašnjen, ali je sigurno da se radi o oksidaciji s elektronski ekscitiranim molekularnim kisikom  $^1O_2$  (2).

#### MATERIJAL I METODE

Ispitivano je fotodinamsko djelovanje ovih optičkih bjelila: Uvitex RT, Leukophor BS i Leukophor RG. To su derivati Bis-triazinil-diamino-stilben-disulfonske kiseline.  $LD_{50}$  tih supstancija određivana je na miševima metodom »up and down« (3) nakon intravenske odnosno intraperitonealne primjene. Miševi su bili iz uzgoja našeg Instituta, muškog spola, težine oko 20 g.

Fotodinamsko djelovanje ispitano je na tri načina:

1) Dodana je kap otopine optičkog bjelila u vodu iz bare koja je sadržavala paramecije. Preparat je osvijetljivao mikroskopskom lampom jačine 100 W i registrirano je ugibanje paramecija.

2) Miševima je injicirana intraperitonealno vodena otopina optičkog bjelila jedanput na dan dozom od 350 mg/kg (Leukophor RG i Uvitex RT) i 250 mg/kg (Leukophor BS) tokom 7 odnosno 14 dana i osvijetljivani su visokotlačnom živinom svjetiljkom s kremenim žiškom, sa staklenim plaštom jačine 400 W. Kao kontrola služila je grupa tretiranih miševa držanih u mraku.

3) 1% otopina optičkog bjelila primijenjena je lokalno, mazanjem obrijane kože leđa miša jedanput na dan tokom 20 dana. Tretirane životinje su kao i u gornjem pokusu bile podijeljene u dvije grupe: jedna je bila izložena svjetlu, a druga je bila u mraku.

#### REZULTATI I DISKUSIJA

U pokusu s paramecijama dobiveni su ovi rezultati: parameciji izloženi svjetlu u prisutnosti 0,1%-tne otopine Leukophora BS ugibali su svi u roku od 5 do 10 minuta. Za izazivanje tog efekta s ostala dva bjelila bile su potrebne veće koncentracije, a i vrijeme za postizanje efekta je bilo duže. Tako je 0,5%-tna otopina Uvitexa RT i Leukophora RG u roku od 10 do 15 minuta usmrtila paramecije. Na neosvijetljenim parameci-

jima nije primijećen letalni učinak ispitivanih tvari primijenjenih u koncentraciji od 0,1% odnosno 0,5%.

Prije pokusa na miševima određen je LD<sub>50</sub> navedenih optičkih bjelila metodom »up and down«. Otopina Leukophora BS i Uvitexa RT primjenjivana je intravenski, a Leukophor RG zbog slabe topljivosti u vodi se davao u obliku suspenzije intraperitonealno. Dobivene su ove vrijednosti LD<sub>50</sub>:

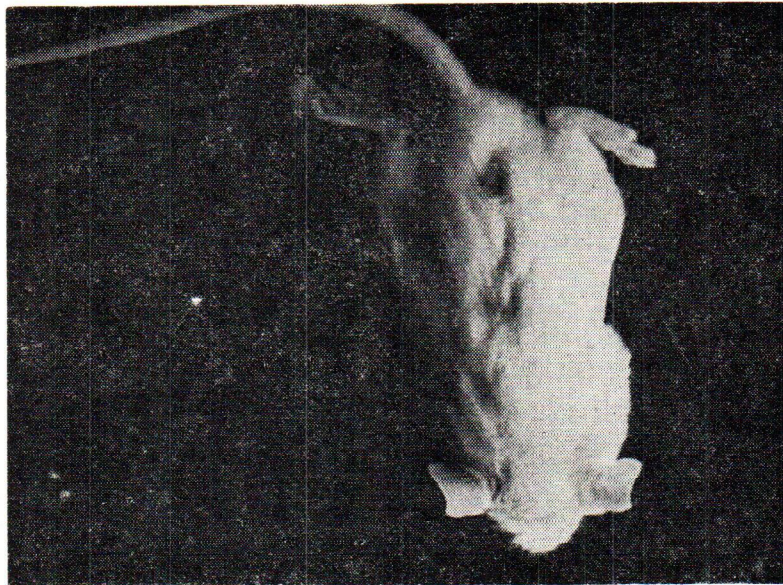
Leukophor BS	716 mg/kg
Leukophor RG	1 000 mg/kg
Uvitex RT	1 200 mg/kg

Otprilike 1/3 LD<sub>50</sub> je primjenjivana intraperitonealno miševima za ispitivanje fotodinamskog djelovanja. Dvjesto grupama po 20 miševa injicirane su navedene supstancije, s tim da je jedna grupa nakon injiciranja bila na svjetlu, a druga u mraku. Leukophor BS je primjenjivan 7 dana jedanput na dan dozom od 250 mg/kg. U grupi koja je bila na svjetlu patološke promjene na koži (edem, crvenilo, ispadanje dlaka), su se javile peti dan tretmana, a deveti dan nakon početka tretmana u 80% životinja su primijećene ulceracije na koži. U grupi koja je bila u mraku prve promjene na koži su primijećene sedmi dan, dok je deveti dan 30% životinja imalo samo edeme, a ulceracija uopće nije bilo. Lokalno je Leukophor BS apliciran mazanjem obrijane kože na leđima miševa 1%-tnom otopinom tokom 20 dana. U životinja u mraku nisu primijećene nikakve promjene na koži, dok su u 40% osvijetljenih životinja zabilježena već opisana oštećenja kože.

Efekti drugih dvaju fotodinamskih agensa ispitivani samo nakon intraperitonealne primjene. U miševa injiciranih s 350 mg/kg Uvitexa RT nije bilo nikakvih promjena na koži, dok je u životinja tretiranih s 350 mg/kg Leukophor RG na svjetlu 20% životinja imalo ulceracije na leđima.

Rezultati ovog rada pokazuju da neka optička bjelila imaju izrazito fotodinamsko djelovanje. Tako je razlika u broju miševa s patološkim promjenama na koži, između osvijetljavane i neosvijetljavane grupe, evidentno signifikantna nakon parenteralne i lokalne primjene Leukophora BS. Ovaj spoj djeluje vrlo efikasno i na osvijetljavane paramecije. Leukophor RG pokazuje slabije fotodinamsko djelovanje i u paramecija i u miševa, dok Uvitex RT djeluje fotodinamski samo na paramecije. Leukophor BS je supstancija s najvećom, a Uvitex RT s najmanjom toksičnošću. Ovi podaci upućuju na mogući paralelizam između toksičnosti optičkih bjelila i njihova fotodinamskog efekta.

Budući da, prema našim rezultatima, optička bjelila mogu izazvati ozbiljna oštećenja kože, opsežnija ispitivanja njihova utjecaja na živu materiju bila bi sigurno opravdana.



Sl. 1. Oštećenje kože izazvano fotodinamskim djelovanjem optičkog bjelila  
*Leukophor BS* nakon intraperitonealne primjene



Sl. 2. Oštećenje kože izazvano fotodinamskim djelovanjem optičkog bjelila  
*Leukophor BS* nakon lokalne primjene

*Literatura*

1. Raab, O.: Z. Biol., 39 (1900) 524.
2. Ito, T.: Photochem. Photobiol., 28 (1978) 493.
3. Dixon, W. J., Mood, A. M.: J. Am. Statist. Assoc., 43 (1948) 109.

*Summary*

PHOTODYNAMIC ACTION OF SOME OPTICAL BLEACHING AGENTS

The photodynamic action of the optical bleaching agents Leukophor BS, Leukophor RG and Uvitex RT was investigated. Leukophor BS exerted the most potent photodynamic action by killing all paramecia exposed to light in five minutes. Administered intraperitoneally it produced more frequent and more serious skin lesions in mice exposed to light than in those held in the dark. After topical application pathological changes of the skin were observed only in mice irradiated with light. The other two investigated substances were less toxic and their photodynamic action was also weaker.

*Department of Pharmacology,  
Faculty of Medicine, University of Zagreb,  
Zagreb*

*Received for publication  
January 14, 1981*