



„NOWY BARWNIK DO FLUORESCENCYJNEGO WYBARWIANIA WARSTWY ROGOWEJ NASKÓRKA”

Opis produktu

Nowy barwnik fluorescencyjny z rodziny *Safirinium-Q* to organiczny związek chemiczny do wizualizacji próbek biologicznych, w szczególności warstwy rogowej naskórka (*stratum corneum*), dedykowany do branży biomedycznej, farmaceutycznej i kosmetycznej.

Związek jest użyteczny w mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej dostarcza unikatowych informacji, związanych m.in. z:

- ✓ identyfikacją struktur budulcowych warstwy rogowej naskórka tj. korneocyty oraz otaczająca je macierz lipidowa;
- ✓ oceną zdolności penetracji warstwy rogowej naskórka przez ksenobiotyki, w tym substancje lecznicze oraz ich przenikania do głębszych warstw skóry (*epidermis* i *dermis*);
- ✓ identyfikacją dróg transportu substancji do skóry, w tym transfolikularną poprzez mieszek włosowy, gruczoł łojowy i gruczoł potowy oraz transepidermalną prostopadle do komórek korneocytów i macierzy lipidowej, jak również poprzez macierz lipidową oraz kaniony otaczające grupy korneocytów (tzw. klastry);
- ✓ poznaniem mechanizmów utraty barierowości skóry pod wpływem działania różnych substancji;
- ✓ badaniem interakcji substancji ze składnikami budulcowymi skóry;
- ✓ oceną stanu jakościowego włosów (barwienie białka keratyny);
- ✓ diagnostyką chorób skóry;
- ✓ analizą porównawczą zaburzenia lub poprawy struktury warstwy rogowej naskórka pod wpływem formułacji leczniczych czy pielęgnacyjnych aplikowanych na skórę.

Nowy barwnik charakteryzuje się właściwościami amfifilowymi z przewagą właściwości lipofilowych. Charakter związku sprawia, iż barwnik ma wysokie powinowactwo z jednej strony do struktur lipofilowych i hydrofobowych, a z drugiej lipofilowych i hydrofilowych, a tym samym cechuje go szersze spektrum zastosowania w badaniach próbek biologicznych w porównaniu do barwników fluorescencyjnych obecnie dostępnych na rynku.

Barwniki fluorescencyjne z rodziny *Safirinium-P* oraz *Safirinium-Q* znalazły już zastosowanie w szczególności w branży biomedycznej do znakowania przetrwalników bakteryjnych oraz w badaniach hydrolizatów białkowych. Technologia ich wytwarzania została ujawniona w opisie patentowym PL223740 B i stanowi przedmiot oferty technologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Celowana modyfikacja w obrębie struktury chromoforu *Safirinium* oraz optymalizacja syntezy chemicznej pozwoliły na opracowanie nowatorskiej i ekonomicznej metody wytwarzania barwnika fluorescencyjnego, opartej na reakcji fluorogenicznej, przy użyciu substratów o strukturze izoksazonów.

Słowa kluczowe

barwniki fluorescencyjne, pochodne *Safirinium-Q*, synteza chemiczna, wizualizacja struktur komórkowych, warstwa rogową naskórka, *stratum corneum*, mikroskopia fluorescencyjna, fluorescencyjna mikroskopia konfokalna



„NOWY BARWNIK DO FLUORESCENCYJNEGO WYBARWIANIA WARSTWY ROGOWEJ NASKÓRKA”

Status prawny produktu

Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej:

Dokonane w 2018 roku zgłoszenie patentowe P.425847- jedyny uprawniony do wynalazku – Gdański Uniwersytet Medyczny

Przedmiot oferty

Przedmiotem oferty jest nowy, uniwersalny barwnik fluorescencyjny z rodziny *Safirinium-Q* oraz technologia wytwarzania barwnika dedykowanego do zastosowań w mikroskopii fluorescencyjnej oraz konfokalnej do wizualizacji warstwy rogowej naskórka, oceny zaburzeń strukturalnych tej warstwy, identyfikacji drogi wnikania do skóry substancji lipofilowych oraz hydrofilowych.

Dotychczasowe finansowanie badań nad produktem

Projekt finansowany był częściowo ze środków grantu uzyskanego w ramach programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego pn. „luventus Plus” IP 2012 055472.

Analiza konkurencji na rynku

Rynek barwników fluorescencyjnych wzrasta o kilka punktów procentowych z roku na rok, a w latach 2014-2016 osiągnął wartości o ponad 30% wyższe niż w latach ubiegłych. Zainteresowanie tą grupą związków wzrasta z uwagi na coraz szersze zastosowanie w najnowszych technikach identyfikacji, obrazowania i wizualizacji struktur komórkowych, znajdujących przydatność np. w diagnostyce chorób, czy weryfikacji zdolności pokonywania bariery skóry ludzkiej przez ksenobiotyki, w tym substancje lecznicze lub toksyczne. Obecnie odnotowuje się wzrost zainteresowania syntezą innowacyjnych barwników fluorescencyjnych o bardziej specyficznym powinowactwie do struktur komórkowych, co pozwoli na realizację różnych celów badawczych. W przypadku obrazowania *stratum corneum*, do najczęściej stosowanych, komercyjnych barwników fluorescencyjnych należą: fluoresceina (FLU), sulforodaminy B (SRB), ester heksylowy rodaminy (RBHE). Jednakże barwniki te wykazują specyficzne powinowactwo do konkretnych struktur budulcowych warstwy rogowej naskórka, co skutkuje albo wybarwieniem lipidów macierzy lipidowej, jak w przypadku RBHE lub białek korneocytów, jak w przypadku FLU czy SRB. Natomiast nowa propozycja barwnika fluorescencyjnego ma zdolność wybarwiania przede wszystkim lipidów, ale także białek korneocytów, a ponadto białka – keratyny włosa. Z grupy *Safirinium-P* oraz *Safirinium-Q* znane są już barwniki fluorescencyjne wykorzystywane do fluorescencyjnego znakowania przetrwalników bakteryjnych oraz w proteomice jako znaczniki jonizacyjne w badaniach hydrolizatów białkowych. Jednakże barwniki te nie wykazują specyficznego powinowactwa do struktur warstwy rogowej naskórka, albo w przypadku oddziaływania ze składnikami *stratum corneum* charakteryzują się bardzo krótkim czasem trwania fluorescencji.

Zalety proponowanego produktu

Technologia wytwarzania nowej klasy barwnika fluorescencyjnego z rodziny *Safirinium-Q* jest prosta, szybka, wydajna i wykorzystuje reakcję fluorogeniczną nowego typu z użyciem pochodnych



„NOWY BARWNIK DO FLUORESCENCYJNEGO WYBARWIANIA WARSTWY ROGOWEJ NASKÓRKA”

izoksazonów. Innowacyjny barwnik powstający w wyniku tej syntezy charakteryzuje się właściwościami amfifilowymi, jest rozpuszczalny w wodzie, stabilny chemicznie, wykazuje wysoką wydajność kwantową fluorescencji, duże przesunięcie Stokesa oraz trwałość fotooptyczną. Wyróżnia się także optymalną dla dyfuzji do skóry wielkością cząsteczki poniżej 500 Da oraz lipofilowością, co umożliwiło penetrację do warstwy rogowej naskórka - *stratum corneum*. Wszystkie te cechy sprawiają, iż jest bardziej uniwersalny aniżeli stosowane komercyjnie barwniki fluorescencyjne, jak również, że może być stosowany w badaniach dla szerszej grupy związków aplikowanych na skórę, a to znacząco poszerza spektrum badań barierowości skóry. Wykazuje on powinowactwo zarówno do lipidów kanionów otaczających skupiska korneocytów, lipidów macierzy lipidowej, przede wszystkim ceramidów, otaczającej pojedyncze korneocyty, jak również keratyny będącej składnikiem budulcowym korneocytów, umożliwiając jednoczesną ich obserwację. Unikalną cechą otrzymanego barwnika jest zdolność wybarwiania w warstwie rogowej naskórka tzw. kanionów, czyli przestrzeni lipidowych pomiędzy klastrami korneocytów, istotnych dla barierowości skóry. Wybarwiając kaniony można obserwować wnikanie substancji do skóry, w tym substancji aktywnych, pochodzących z różnych formułacji produktów leczniczych czy kosmetycznych, a także nośników, w tym liposomów aplikowanych na skórę.

Dodatkowym atutem stosowania innowacyjnego barwnika jest możliwość dokonywania oceny oddziaływania struktur skóry ze składnikami preparatów dermalnych (leczniczych i kosmetycznych) lub ksenobiotykami pochodzącymi ze środowiska, ale również badania działania regeneracyjnego lub niszczącego formułacji na skórę poprzez wizualizację kształtu korneocytów. Technika barwienia fluorescencyjnego z zastosowaniem innowacyjnego barwnika pozwala na powtarzalne uzyskiwanie wysokiej jakości obrazów mikroskopowych. Istotnym podkreślenia jest także fakt, że nowy barwnik fluorescencyjny umożliwia tworzenie mieszaniny z barwnikami o właściwościach hydrofilowych. Z uwagi na fakt, że nowy barwnik posiada właściwości amfifilowe i ma barwę niebieską, można go mieszać z hydrofilowym barwnikiem SRB koloru pomarańczowego celem kontrastowego wybarwienia specyficznych struktur *stratum corneum*. Mieszanina ma zdolność wybarwiania zarówno korneocytów, macierzy lipidowej, jak i kanionów. Cecha ta może być szansą dla nowej jakości badania penetracji substancji aktywnych i pomocniczych o zróżnicowanych właściwościach obecnych w preparatach na skórę, zarówno leczniczych, jak i pielęgnacyjnych.