

DOI: <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2024.4.3>

УДК: 577:61

О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИТТЕРБИЕВОГО КОМПЛЕКСА 2,4-ди(α -МЕТОКСИЭТИЛ)ДЕЙТЕРОПОРФИРИНА IX ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ ПОВЕРХНОСТНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

И.П. Шилов¹, В.Д. Румянцева^{1,2}, А.С. Горшкова¹, А.В. Иванов³

¹ ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН, филиал Фрязино
141190, Фрязино, пл. Введенского, 1

² МИРЭА – Российский технологический университет
119454, Москва, пр. Вернадского, 78

³ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России
115522, Москва, Каширское ш., 23

Статья поступила в редакцию 20 февраля 2024 г.

Аннотация. Исследована динамика фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода для иттербиевого комплекса 2,4-ди(α -метоксиэтил)дейтеропорфирина IX (Yb-ДМДП IX) и для его безметальной формы при лазерном возбуждении на высокочувствительном лазерном флуориметре. Показано, что квантовый выход генерации синглетного кислорода для Yb-ДМДП IX (11%) значительно меньше, чем в случае самого ДМДП IX (40%), что экспериментально подтверждает низкую фототоксичность Yb-комплекса. Однако установленные 11% квантового выхода $^1\text{O}_2$ говорят о возможном присутствии в основном веществе Yb-ДМДП IX также и ДМДП IX, приводящей к остаточной фототоксичности. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии были установлены количественные соотношения Yb-комплекса и его безметальной формы (~11%). Таким образом представленный Yb-комплекс может быть использован также и для терапостики рака, поскольку после проведения ИК-люминесцентной диагностики

(в спектральном диапазоне 900-1100 нм) возможно и последующее осуществление процедуры ФДТ в полосе поглощения безметалльной формы порфирина (БФП) на длине волны 630 нм. Эффективность Yb-ДМДП IX для осуществления процедуры ФДТ может быть в значительной степени повышена путем обработки данного соединения аскорбиновой кислотой после проведения процедуры ИК-люминесцентной диагностики.

Ключевые слова:

иттербиевый комплекс 2,4-ди(α -метоксиэтил)дейтеропорфирин IX, фотоактивность, люминесценция, синглетный кислород, квантовый выход, лазерный флуориметр, фототоксичность, фотодинамическая терапия, ИК-люминесцентная диагностика рака.

Финансирование: работа выполнена по Госзаданию ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН и при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № F5FZ-2023-0004).

Автор для переписки: Шилов Игорь Петрович, laserlabi@ms.ire.rssi.ru

Введение

Одним из главных направлений биомедицинской фотоники является создание мультимодальных наноструктур для тераностики новообразований, которые совмещают диагностические и терапевтические функции в одной наночастице [1, 2]. Тераностика предполагает комплекс методов диагностики и терапии, объединенных в единый последовательный или одновременный процесс в рамках общей технологической платформы. Ранее было установлено, что одним из наиболее перспективных соединений для ИК-люминесцентной диагностики новообразований является дикалиевая соль Yb-комплекса 2,4-ди(α -метоксиэтил)дейтеропорфирина IX (Yb-ДМДП IX), который является аналогом природного соединения и в связи с этим малотоксичен [3].

Дело в том, что введение иона Yb³⁺ в центр порфиринового лиганда приводит к резкому снижению фотохимической активности комплекса. При этом сохраняется характерное для большинства порфиринов сродство

к опухолевым клеткам [4]. Возбуждение порфиринового макроцикла под воздействием внешнего светового излучения передается не на кислород, а перехватывается ионом Yb^{3+} , за счет чего в значительной степени снижается квантовый выход генерации синглетного кислорода. В результате фототоксичность у таких иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП) существенно уменьшается. При возбуждении π -электронной системы органической части молекулы ИКП регистрируется люминесценция, обусловленная переходами 4f электронов иона Yb^{3+} : ${}^4\text{F}_{5/2} \rightarrow {}^2\text{F}_{7/2}$ [5].

Необходимо подчеркнуть, что Yb -ДМДП IX характеризуется люминесцентным сигналом повышенной интенсивности в ближнем инфракрасном (БИК) спектральном диапазоне 900-1100 нм, в так называемом «окне прозрачности биотканей». Данное соединение обладает также высоким коэффициентом экстинкции $\sim 105 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ и временем жизни люминесценции до 10 мкс [3]. Результаты по исследованию биораспределения, селективности накопления и токсичности, полученные в экспериментах на животных, и по изучению спектрально-кинетических свойств Yb -ДМДП IX подтвердили его перспективность для ЛД оптически доступных новообразований. Однако оставался открытым вопрос о применимости Yb -ДМДП IX также и для тераностики опухолей.

В связи с чем целью настоящей работы явились исследования по возможному применению данного соединения также и для процедур тераностики рака.

1. Материалы и методы.

Синтез дикалиевой соли Yb -ДМДП IX проводили по схеме, описанной в работе [6].

Для проведения исследований спектрально-люминесцентных свойств Yb -ДМДП IX было разработано малогабаритное портативное устройство на основе мини-спектрометра FSD-10, описанное в [7]. Данный тип мини-спектрометра обладает малыми габаритами и оснащен высокоскоростным

портом обмена информацией USB. Динамика фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода в Yb-ДМДП и в БФП исследовалась при лазерном возбуждении на высокочувствительном лазерном флуориметре разработки Института Физики им. Степанова (НАН, Республика Беларусь). Данный флуориметр для изучения кинетики люминесценции работает в диапазоне 950-1400 нм с временным разрешением 1 нс. В качестве детекторов излучения применялись ФЭУ с полупроводниковыми InP/InGaAsP-фотокатодами (фирма Hamamatsu). Длина волны возбуждения составила 531 нм (Nd:LSB-лазер STA-01SH, STANDA Ltd.), детектирования – 1270 нм. Энергия лазерных импульсов – 1 мДж/имп. Флуориметр позволяет измерять сигналы люминесценции $^1\text{O}_2$ с квантовым выходом до 6×10^{-9} .

Исследования селективности накопления Yb-ДМДП в тканях лабораторных животных проводили на макетном лазерно-волоконном флуориметре (ЛВФ), разработанном в ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН [8].

Спектры поглощения синтезированных ИКП снимались на спектрофлуориметре LS-5B фирмы Perkin Elmer.

Для хромато-масс-спектрометрического анализа использовали жидкостной хроматограф Agilent 1260 Infinity, оснащенный многорежимным источником ионизации Agilent G1978B, квадрупольными масс-селективным детектором Agilent 6120 и многоволновым спектрофотометрическим детектором Agilent 1260 MWD VL (Agilent Technologies, США).

2. Результаты и их обсуждение.

С целью экспериментального подтверждения низкой фотоактивности Yb-ДМДП IX нами была исследована динамика фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода в Yb-ДМДП и в безметальной субстанции при лазерном возбуждении на высокочувствительном лазерном флуориметре. Электронный переход из нижнего возбужденного синглетного состояния в основное триплетное $1\Delta_g \rightarrow 3\Sigma_g^-$, соответствующий люминесценции кислорода на длине волны 1270 нм, имеет строгий запрет по спину, четности и

орбитальному угловому моменту, поэтому радиационное время жизни $^1\text{O}_2$ в жидкостях достигает нескольких секунд. Однако измеряемое время жизни $^1\text{O}_2$ определяется не столько скоростью излучательной дезактивации, сколько тушением $^1\Delta g$ -состояния молекулами среды и, как следствие, может изменяться в очень широких пределах.

Изучение кинетических сигналов фотосенсибилизированной люминесценции синглетного кислорода в водных растворах исследуемого соединения показало, что квантовый выход генерации синглетного кислорода с 40% для ДМДП IX снижается почти в 4 раза (до 11%) для Yb-ДМДП, что экспериментально подтверждает его низкую фототоксичность (рис. 1).

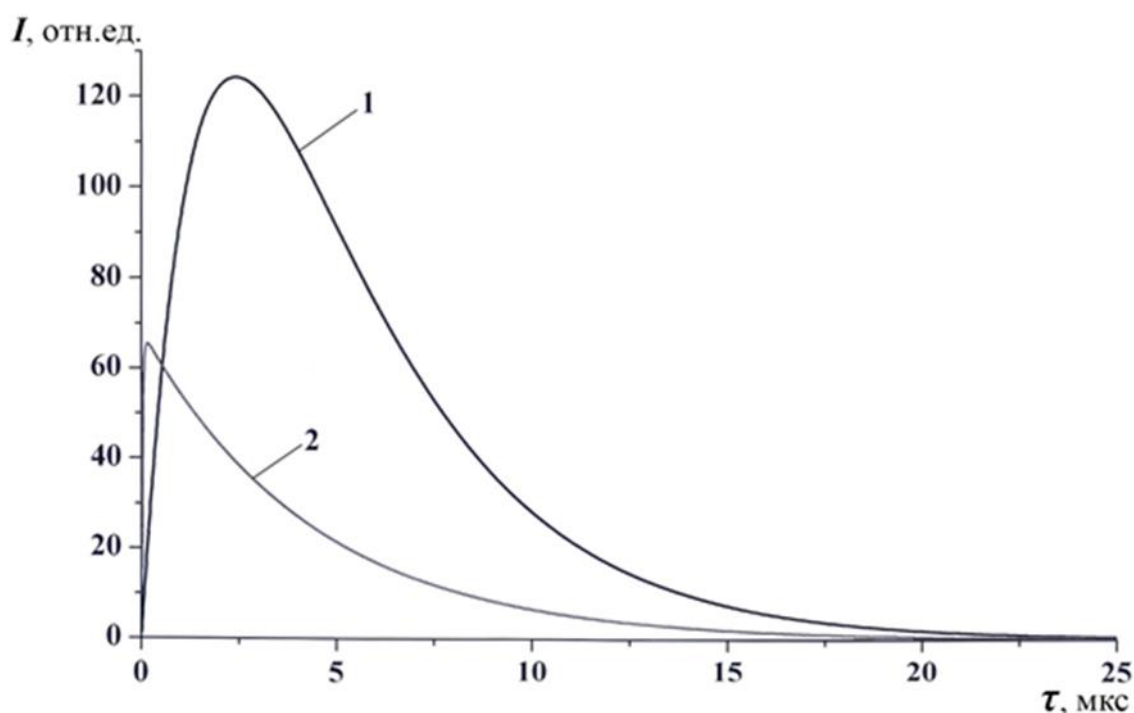


Рис. 1. Кинетические сигналы фотосенсибилизированной люминесценции синглетного кислорода в водных растворах ДМДП IX (1) и Yb-ДМДП IX (2).

Было также показано, что квантовый выход генерации синглетного кислорода составил: для БФП – 44%, для Yb-ДМДП IX – 11%. Поскольку других механизмов фототоксичности ИКП, кроме генерации активных форм кислорода, не наблюдается, можно утверждать о низкой фотохимической активности Yb-ДМДП IX. Однако 11% говорят о возможном присутствии в основном веществе также и БФП, приводящей к остаточной фототоксичности.

Для подтверждения этого предположения нами были проведены исследования спектрально-люминесцентных свойств Yb-ДМДП IX с помощью устройства на основе миниспектрометра FSD-10 в спектральном диапазоне 400-800 нм (рис. 2).

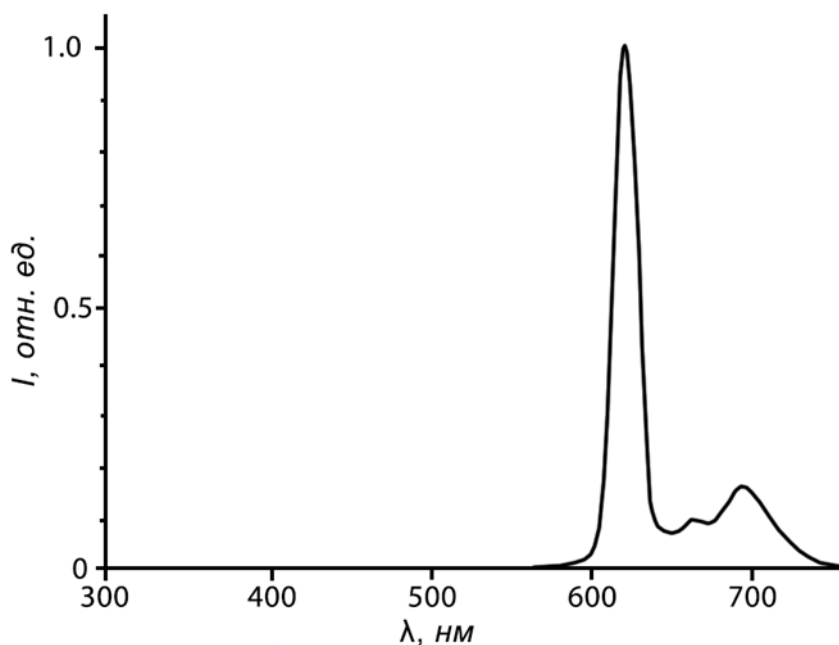
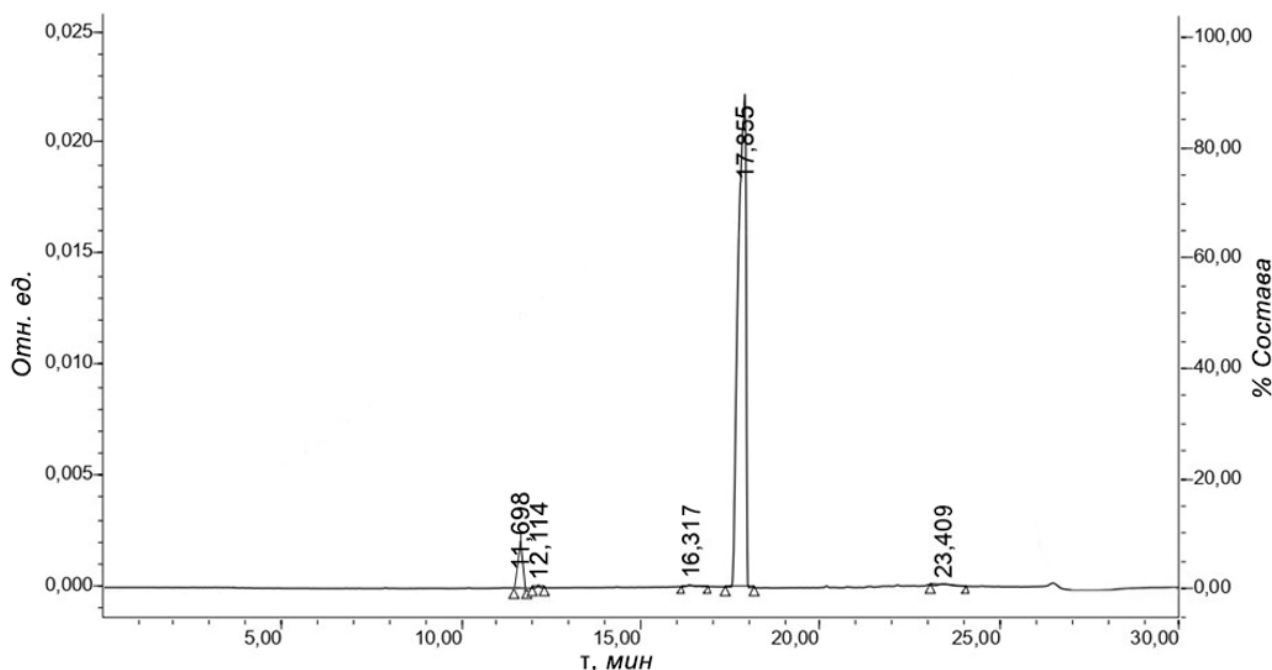


Рис. 2. Спектр люминесценции Yb-ДМДП IX в диапазоне 400-800 нм.

Из графика видны две основные полосы на 630 и 700 нм, четко указывающие на присутствие в данном соединении его безметальной формы. Однако остается открытым вопрос о количественном соотношении Yb-ДМДП и ДМДП IX. С этой целью нами были проведены исследования высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). На рис. 3 представлены результаты исследования ВЭЖХ, с помощью которой возможно установить наличие дополнительных примесей в основном продукте. Индивидуальность вещества подтверждена данными ВЭЖХ. Как видно из таблицы, содержание основного вещества составляет около 90% (89.01%, строка №4 подрисуночной таблицы). Остальные почти 11% приходятся на БФП, который является цитотоксичным соединением и может применяться для целей фотодинамической терапии (ФДТ). Так разрешенный в РФ в процессах ФДТ фотосенсибилизатор первого поколения «Фотогем» как раз и содержал в своем составе БФП. И процедуры ФДТ производились в полосе поглощения

БФП на длине волны 630 нм. Таким образом есть основания полагать о возможном использовании Yb-ДМДП также и для целей тераностики.



	Время удержания (мин)	Площадь ($V \cdot \text{сек}$)	% Площади	Высота (V)	% Высоты
1	11,698	39474	10,15	2596	10,12
2	12,114	467	0,12	121	0,47
3	16,317	1128	0,29	73	0,28
4	17,855	346163	89,01	22767	88,81
5	23,409	1672	0,43	79	0,32

Рис. 3. Результаты ВЭЖХ для Yb-ДМДП IX.

Однако необходимо отметить, что незначительная величина присутствия БФП (около 11%) в основном веществе не сможет обеспечить необходимую эффективность процесса ФДТ. При этом может возникнуть потребность в значительных экспозиционных дозах (вплоть до 1000 Дж/см²) облучения опухолевых тканей терапевтическим лазером на длине волны 630 нм, которые могут вызвать целый ряд побочных эффектов. В связи с чем возникла идея о резком увеличении доли БФП в основном веществе уже после проведения процедур ЛД непосредственно перед ФДТ. Нами были проведены соответствующие исследования, которые показали, что добиться удаления иона Yb³⁺ из порфириновой матрицы можно путем обработки субстанции слабыми кислотами (аскорбиновая, лимонная). На рис. 4. представлены результаты обработки раствора ИКП аскорбиновой кислотой.

Полученные данные подтверждают исход иона Yb^{3+} из порфириновой матрицы, поскольку обработка кислотами приводит к появлению четырех Q-полос в электронных спектрах поглощения вместо двух полос в области 50-600 нм. Особенно эффективна обработка аскорбиновой кислотой при концентрации 1% (рН = 4.3).

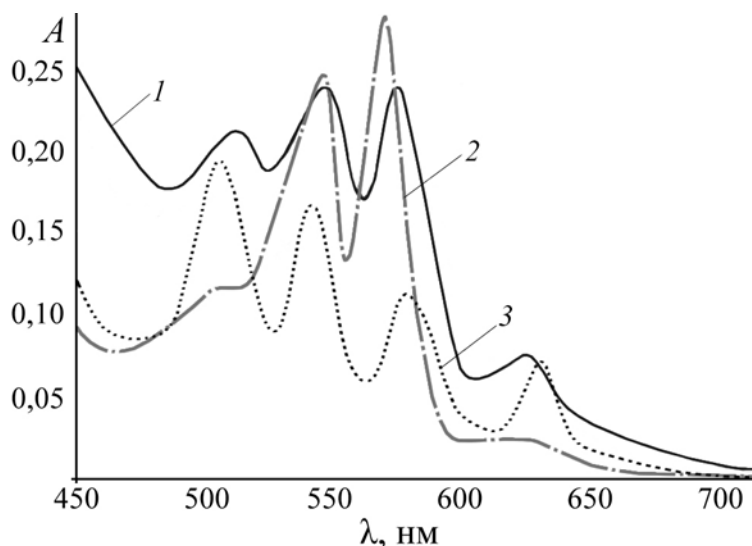


Рис. 4. Электронные спектры поглощения: 1 – Yb -ДМДП IX + аскорбиновая кислота, 2 – Yb -ДМДП IX, 3 – ДМДП IX.

Тераностика злокачественных новообразований кожи и слизистых оболочек с использованием данной субстанции осуществлялась нами следующим образом. Вначале производится процедура ЛД, при которой обрабатываются гелем, основу которого составляет Yb -ДМДП (99%), подозрительные участки кожи и слизистых оболочек. Вследствие того, что ИКП практически не обладают световой токсичностью, при нанесении этих гелей на кожу и слизистые оболочки не происходит отрицательного воздействия на живой организм в виде появления побочных дерматологических реакций. По истечении 20-30 мин после обработки кожных новообразований и близкорасположенных здоровых тканей данным веществом измеряется диагностический контрастный индекс – отношение интенсивности люминесценции тканей (новообразование/норма), который может составлять от 2.5 до 15.0 в зависимости от типа кожного повреждения. Далее перед стадией ФДТ проводится процедура обработки патологически измененных участков биоткани насыщенным раствором аскорбиновой кислоты (1 г в 3 мл 0.9% NaCl).

Ее накопление в биоткани проводили в течение 10-15 мин. По истечении данного времени замерялась интегральная интенсивность люминесценции в БИК-диапазоне на различных участках биотканей. При этом интегральная интенсивность БИК-люминесценции падает почти в 3 раза по сравнению с необработанной аскорбиновой кислотой биотканью (рис. 5), что подтверждает интенсивный исход иона иттербия из порфиринового макроцикла.

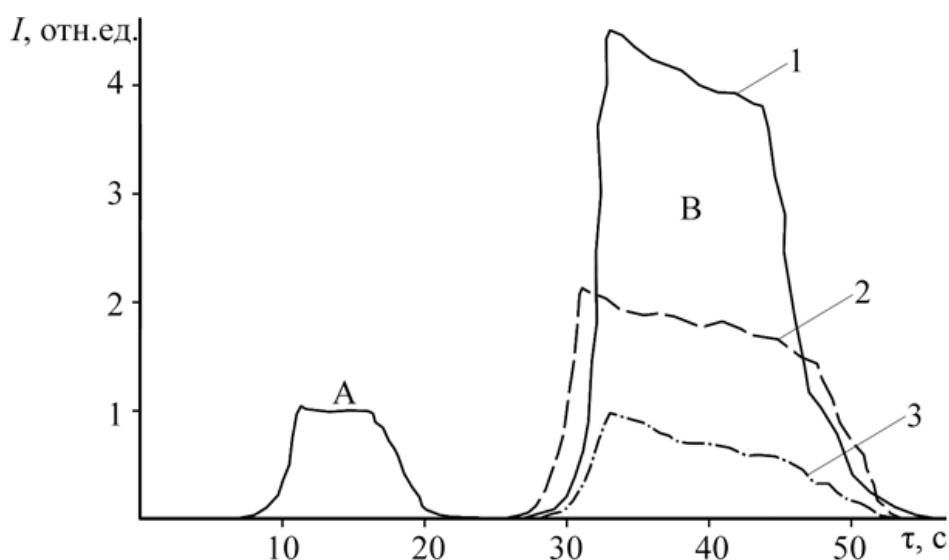


Рис. 5. Интегральная интенсивность люминесценции при различных процедурах обработки кожи: 1 – до обработки аскорбиновой кислотой, 2 – после обработки аскорбиновой кислотой (в течение 15 мин), 3 – после проведения процедуры ФДТ.

А – здоровая область кожи, соседняя с опухолевой областью, В – пораженная опухолью область кожи, обработанная гелем и кислотой.

Таким образом в биоткани в основном присутствует БФП. На следующем этапе тераностики проводится процедура ФДТ выявленных ранее пораженных участков биоткани посредством обработки их терапевтическим лазером на длине волны 630 нм. При этом экспозиционная доза может составлять 150-300 Дж/см².

Заключение

Результаты проведенных исследований указали на возможное использование Yb-ДМДП IX в целях тераностики опухолей поверхностной локализации. Таким образом после проведения ИК-люминесцентной диагностики (в спектральном диапазоне 900-1100 нм) возможно и последующее осуществление процедуры ФДТ в полосе поглощения безметалльной формы

порфирина на длине волны 630 нм. Эффективность Yb-ДМДП IX для осуществления процедуры ФДТ может быть в значительной степени повышена путем обработки данного соединения аскорбиновой кислотой непосредственно в пораженной опухоли биоткани после проведения процедуры ИК-люминесцентной диагностики.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения Yb-ДМДП IX для разработки чувствительных люминесцентных методов диагностики опухолей, а также проведения последующей процедуры ФДТ при оптимальных экспозиционных дозах терапевтического лазера на уровне 150-300 Дж/см².

Благодарности. Авторы благодарны сотрудникам Института Физики им. Степанова (НАН, Республика Беларусь) д.ф.-м.н. Б. М. Джагарову и к. ф.-м.н. А. С. Сташевскому за проведение исследований на высокочувствительном лазерном флуориметре разработки Института Физики им. Степанова (НАН, Республика Беларусь).

Финансирование: работа выполнена по Госзаданию ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН и при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FSFZ-2023-0004).

Литература

1. Comby S., Bünzli J. C. G. Lanthanide near-infrared luminescence in molecular probes and devices // Handbook on the physics and chemistry of rare earths. – 2007. – V. 37. – P. 217-470. [https://doi.org/10.1016/S0168-1273\(07\)37035-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1273(07)37035-9)
2. Bulach V., Sguerra F., Hosseini M. W. Porphyrin lanthanide complexes for NIR emission // Coordination Chemistry Reviews. – 2012. – V. 256. – №. 15-16. – P. 1468-1478. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.02.027>
3. Шилов И. П. и др. Перспективы инфракрасной люминесцентной диагностики новообразований поверхностной локации на основе иттербиевых комплексов порфиринов // Радиотехника и электроника. – 2023. – Т. 68. – №. 4. – С. 399-406. <https://doi.org/10.31857/S0033849423030130>

4. Ivanov A. V. et al. Luminescence diagnostics of malignant tumors in the IR spectral range using Yb-porphyrin metallocomplexes // Laser Physics. – 2010. – V. 20. – P. 2056-2065. <http://dx.doi.org/10.1134/S1054660X10220032>
5. Гайнов В. В., Шайдуллин Р. И., Рябушкин О. А. Стационарный разогрев активных волоконных световодов при оптической накачке // Квантовая электроника. – 2011. – Т. 41. – №. 7. – С. 637-643.
6. Щелкунова А. Е. и др. Разработка синтеза дикалиевой соли иттербиевого комплекса 2, 4-ди (α -метоксиэтил) дейтеропорфирина IX // Макрогетероциклы. – 2019. – Т. 12. – №. 4. – С. 382-388. <https://doi.org/10.6060/mhc190658s>
7. Шилов И. П. и др. Малогабаритное устройство для экспресс-исследований спектрально-люминесцентных свойств металлокомплексов порфиринов // Журнал радиоэлектроники. – 2019. – №. 7. – С. 10-10. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2019.7.4>
8. Shilov I. P. et al. Development of a Laser-Fiber Fluorimeter for IR Luminescence Cancer Diagnosis // Journal of Communications Technology and Electronics. – 2022. – V. 67. – №. 4. – P. 463-469. <https://doi.org/10.1134/S106422692204009X>

Для цитирования:

Шилов И.П., Румянцева В.Д., Горшкова А.С., Иванов А.В. О возможности использования иттербиевого комплекса 2,4-ди (α -метоксиэтил)дейтеропорфирина IX для тераностики новообразований поверхностной локализации. // Журнал радиоэлектроники. – 2024. – №. 4. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2024.4.3>