

УДК: 616.073, 547.979.733

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫЙ СТЕНД ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ МАЛОТОКСИЧНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ С ИТТЕРБИЕМ

В. М. Маркушев<sup>1</sup>, В. Д. Румянцева<sup>2</sup>, И. П. Шилов<sup>2</sup>, А. С. Горшкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт радиотехники и электроники им. В.А.Котельникова РАН,  
125009, Москва, ул. Моховая, 11-7

<sup>2</sup> Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова  
РАН, 141190, Московская область, г. Фрязино, пл. академика Введенского, д. 1

Статья поступила в редакцию 31 июля 2018 г.

**Аннотация.** Представлены результаты разработки диагностического высокочувствительного лазерного измерительного стенда для изучения спектрально-люминесцентных и кинетических характеристик наноразмерных малотоксичных фотосенсибилизаторов на основе комплексов порфиринов с иттербием. Исследованы спектральные свойства некоторых образцов иттербиевых комплексов порфиринов, перспективных для диагностики опухолей.

**Ключевые слова:** измерительный стенд, люминесценция, БИК-люминесцентная диагностика, иттербиевые комплексы порфиринов.

**Abstract.** Porphyrins are known to have an ability to accumulate in malignant tumors, which had led to their use in photodynamic cancer therapy. As for early cancer diagnostics, photosensitizers based on metal (in particular lanthanide) complexes of porphyrins, seem to be the most promising. Among the lanthanides, the ytterbium ion has the highest internal quantum yield (up to 4%), which is why its low-toxic porphyrins complexes may be used in NIR-luminescent diagnostics. The laser measuring test-bench with excitation in visible range of spectrum (wavelength ~ 530 nm) designed for the analysis of spectral-luminescent and kinetics characteristics of ytterbium porphyrin complexes, was developed. Photophysical properties of lanthanide porphyrin complexes emitting in NIR-spectral range, are

considered. The DMSO solvent influence on the ytterbium ion luminescence was studied in comparison with aqueous solutions. It was shown that the luminescence intensity greatly increases with DMSO concentration increase. Yb-porphyrin complexes in DMSO solution with concentration of 20-30%, allowed in medicine, are of practical interest concerning intravenous injections. For such DMSO concentrations Yb luminescence lifetime is  $\sim 5-10 \mu\text{s}$ . A lifetime for complex of 5,10,15,20-tetra(1-N-(*p*-fluorophenyl)-3(*o*-chlorophenyl)pyrazol-4-yl)porphyrin was found to be about  $20 \mu\text{s}$ , which is the most high luminescence lifetime among ytterbium complexes synthesized earlier. In the future, this can lead to a significant reduction in a drug dose with a possible saving of diagnostic contrast ratio values.

**Keywords:** measuring stand, luminescence, near infrared luminescent diagnostics, ytterbium complexes of porphyrins.

## 1. Введение

В середине XX века была обнаружена способность порфиринов накапливаться в злокачественных опухолях, что привело в дальнейшем к использованию этих соединений для фотодинамической терапии рака. Однако оказалось, что свободные основания порфиринов обладают побочным действием – фототоксичностью. В тоже время ряд их металлокомплексов обладает пониженной фототоксичностью, в связи с чем появляется перспектива использования металлопорфиринов в качестве малотоксичных фотосенсибилизаторов (МФС) при ранней диагностике злокачественных опухолей.

В последнее время появилось ряд работ [1–2], в которых для различных биомедицинских применений, включая диагностику новообразований, предлагаются МФС на основе некоторых лантанидных комплексов порфиринов (ЛКП), люминесцирующих в ближней ИК-области спектра (БИК-люминесценция). К ним относятся комплексы порфиринов на основе Yb, Ho, Er и Nd. Для достижения повышенной эмиссии лантанидных ионов требуется

эффективный энергетический переход между антенной, роль которой исполняет порфириновый лиганд, и эммитером – ионом лантанида.

Данный процесс называется сенсбилизацией. Энергетический зазор между отдающим энергию уровнем антенны и принимающим энергию уровнем иона лантанида в идеале должен составлять  $1000\text{--}2000\text{ см}^{-1}$  [3], ЛКП почти идеально подходят под эти требования (рис. 1). К тому же они обладают повышенным коэффициентом экстинкции в видимой области и УФ-диапазоне спектра. Эмиссионный процесс регулируется эффективностью интерсистемного перехода (ISC):  $S_1\text{--}T_1$ , где:  $S_1$  – синглетный уровень, а  $T_1$  – триплетный уровень порфиринового лиганда, а также эффективностью энергетического переноса:  $T_1\text{--}Ln_1$ , где  $Ln_1$  – возбужденный уровень лантанидного иона; и, наконец, внутренним лантанидным квантовым выходом:  $Ln_1\text{--}Ln$ , где  $Ln$  – основное состояние иона. Таким образом, общий квантовый выход  $\Phi_{\text{tot}}$  является продуктом трех вышеперечисленных стадий. Необходимо отметить, что внутренний квантовый выход главным образом зависит от энергетического зазора между наинизшим уровнем возбужденного состояния и наивысшим подуровнем основного состояния лантанидного иона. Чем меньше этот зазор, тем больше теряется энергии на дезактивационные процессы. Энергетический зазор для Nd(III), Er(III), Yb(III) составляет, соответственно,  $5500\text{ см}^{-1}$ ,  $6500\text{ см}^{-1}$ ,  $10\,000\text{ см}^{-1}$ . Вот почему у иона  $Yb^{3+}$  наиболее высокий внутренний квантовый выход (до 4%), благодаря этому он является наиболее перспективным кандидатом на применение в БИК-люминесцентной диагностике новообразований.

К тому же введение иона иттербия в центр порфириновой матрицы приводит к резкому снижению фотохимической активности [4], сохраняя при этом свойственную большинству порфиринов тропность к злокачественным опухолям. Дело в том, что ионы иттербия, введенные в соответствующие производные гематопорфирина, в значительной степени снижают квантовый выход генерации синглетного кислорода. Это связано с тем, что люминесцентный уровень иона  $Yb^{3+}$  лежит несколько ниже триплетного уровня

органической части молекулы, но выше, чем у синглетного кислорода. В итоге возбуждение порфириновой матрицы под влиянием внешнего светового излучения передается не на кислород, а перехватывается ионом  $\text{Yb}^{3+}$ , тем самым резко снижая сенсibilизированную порфирином генерацию синглетного кислорода.

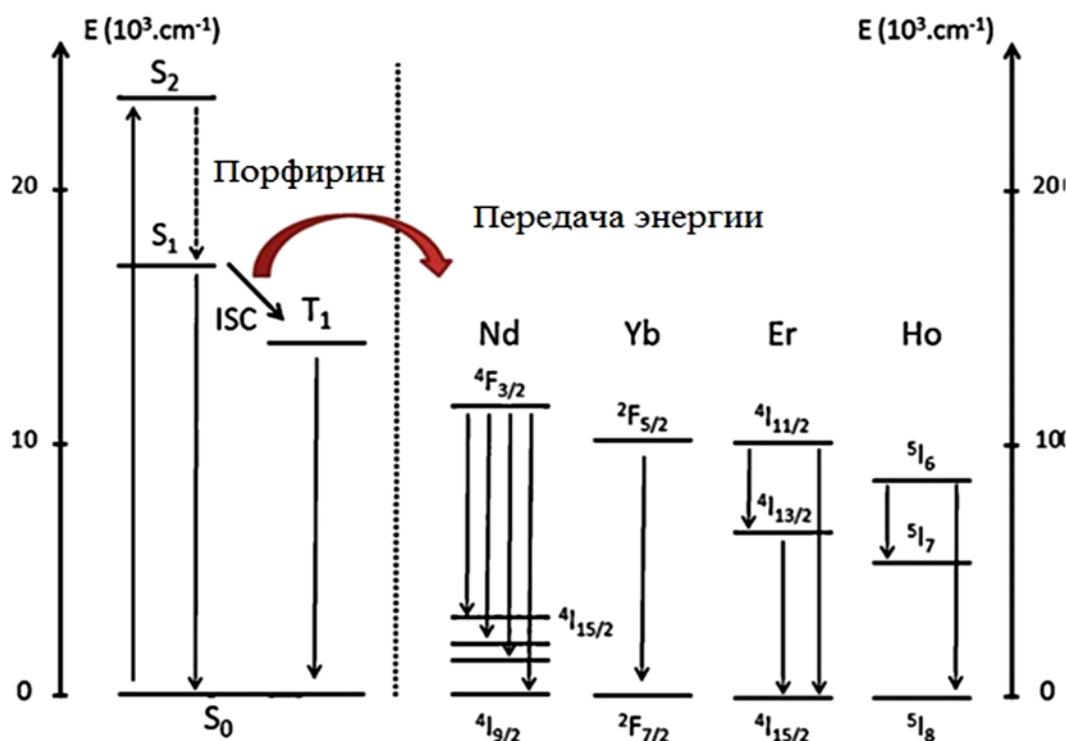


Рис. 1. Схема процесса сенсibilизации порфириновой антенны для БИК-эмиссии ионов лантанидов [2].

В результате фототоксичность у таких иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП) значительно снижается, а при возбуждении  $\pi$ -электронной системы органической части молекулы у  $\text{Yb}$ -комплексов наблюдается люминесценция, обусловленная переходами  $4f$  электронов иона  $\text{Yb}^{3+}$ :  ${}^2\text{F}_{5/2} \rightarrow {}^2\text{F}_{7/2}$ .

В данной работе представлены результаты разработки высокочувствительного диагностического лазерного измерительного стенда для исследования спектральных и временных характеристик люминесценции синтезированных в ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН иттербиевых

комплексов порфиринов. Проведены исследования спектральных свойств некоторых образцов ИКП.

## 2. Описание измерительного стенда для исследования спектрально-люминесцентных свойств ИКП

В ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН создан макет измерительного стробоскопического стенда, блок-схема которого представлена на рис. 2.

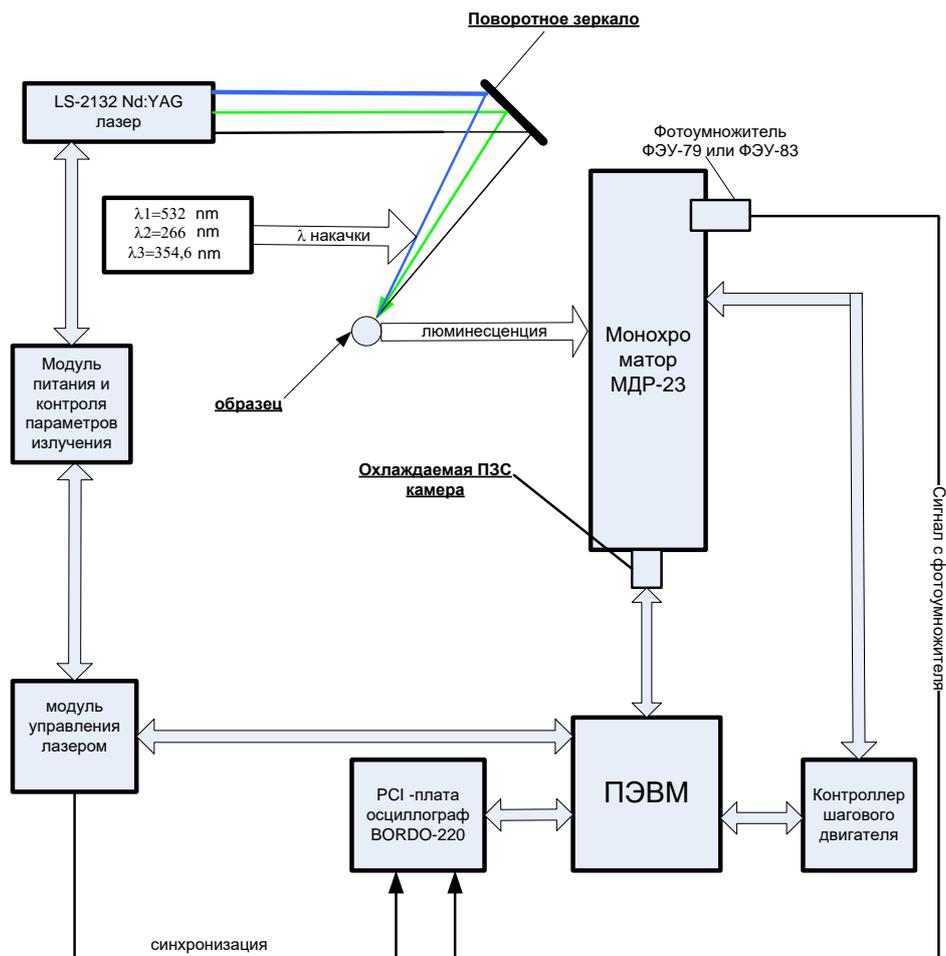


Рис. 2. Блок-схема измерительного стенда, предназначенного для исследования люминесценции и кинетики спектров МФС на основе комплексов порфиринов с иттербием.

Возбуждение люминесценции исследуемых образцов порфириновых комплексов осуществляется излучением твердотельного импульсного лазера LS-2132 фирмы Lotis-Tii на кристалле алюмоиттриевого граната с ионами неодима. Частота следования импульсов от 1 до 15 Гц. Длительность импульса по уровню 0.5 около 10 наносекунд. Основная длина волны излучения

~1064 нм. Энергия в одиночном импульсе составляет 100–180 миллиджоулей (мДж). В состав лазера входит преобразователь частоты на нелинейных кристаллах. Для удвоения основной частоты используется нелинейный кристалл CDA. Преобразование в 3-ю и 4-ю гармоники происходит на кристаллах KDP. Все кристаллы, включая электрооптический затвор, термостатированы, что позволяет добиться высокой стабильности энергии как на основной частоте, так и во второй, третьей и четвертой гармониках.

Управление лазером осуществляется от пульта дистанционного управления или от персонального компьютера. Программное обеспечение позволяет не только управлять работой лазера, но и проводить полную диагностику лазерных параметров, включая определение энергии основной частоты (1064 нм) генерации, общего числа вспышек лампы, нестабильности энергии накачки и выходной энергии.

В качестве монохроматора используется однорешеточный монохроматор МДР-23. Он имеет две выходные щели и переключатель направления выхода, что дает возможность использовать два различных фотоприемника для регистрации сигнала, например, ФЭУ видимого диапазона и ФЭУ ближнего ИК-диапазона. В комплект входят решетка 600 штр./мм (дисперсия – 2.6 нм/мм) на видимый и ближний ИК диапазон и решетка 1200 штр./мм (дисперсия – 1.3 нм/мм) на ближний УФ и видимый диапазон. Входящий в состав монохроматора блок ручного управления работой шагового двигателя поворота решетки переделан для работы с платой цифрового вывода и управляется от ЭВМ. Люминесценция регистрируется фотоприемниками двух типов:

1. фотоэлектронные умножители ФЭУ-83, ФЭУ-79. Временное разрешение около 30 нс;
2. камера ВИДЕОСКАН-285-USB на ПЗС матрице SONY ICX285AL с охлаждением до ~ 0 °С. Разрешение камеры 1392\*1040 пикселей, размер матрицы 8.77\*6.6 мм, размер пикселя – 6.45\*6.45 мкм.

При изучении характера затухания люминесценции использовались ФЭУ, а регистрация спектров люминесценции осуществлялась с помощью камеры.

### 3. Экспериментальные результаты

Известно, что спектры поглощения исходных порфиринов состоят из интенсивной фундаментальной полосы *Soret* 370–420 нм (*B*-полоса) и четырех так называемых *Q*-полос в области 500–600 нм. При комплексообразовании полоса *Soret* становится более интенсивной и претерпевает незначительный bathochromный сдвиг (8–12 нм). Кроме того, наблюдаются две полосы в диапазоне 530–600 нм. Возбуждение люминесценции образцов ИКП нами проводилось на длине волны 530 нм (вторая гармоника лазера), второй по интенсивности после линии *Soret*.

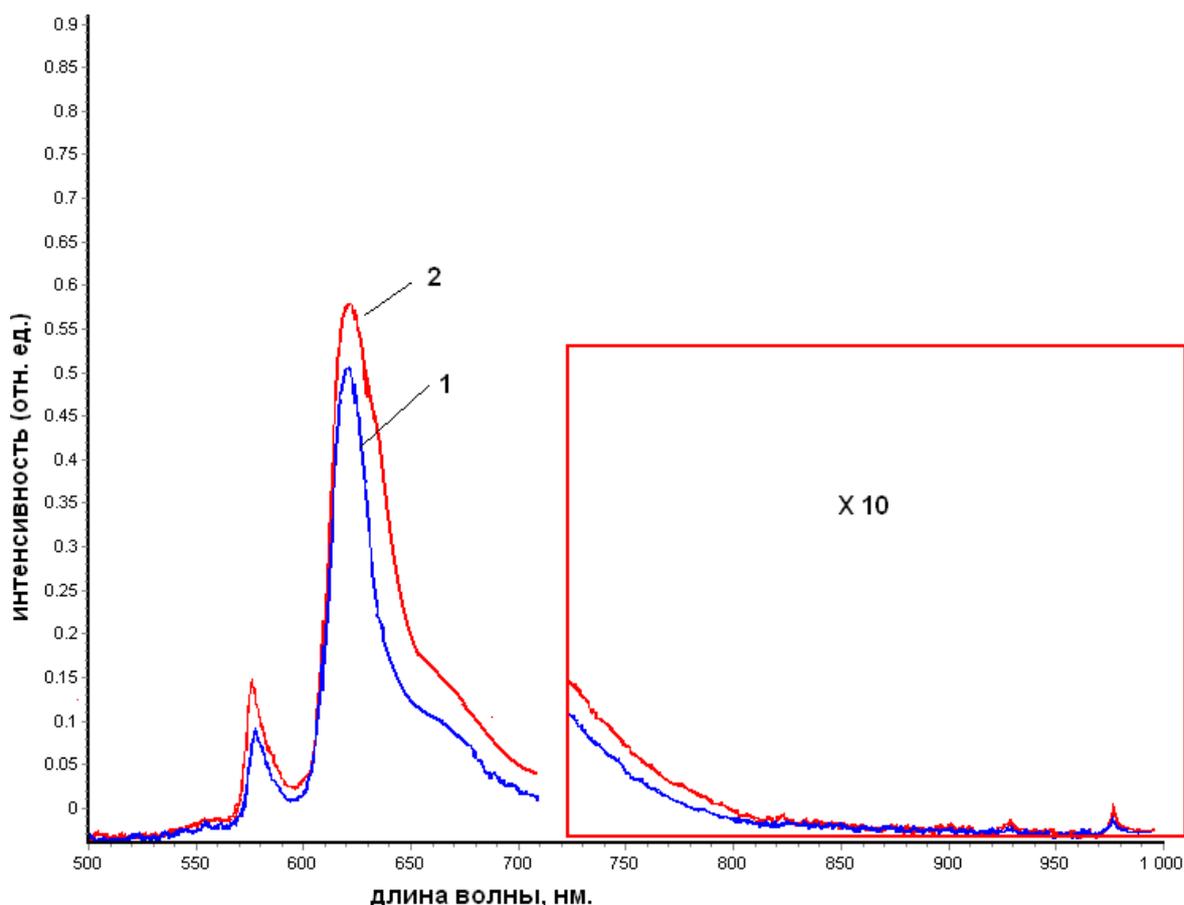


Рис. 3. Спектр люминесценции образцов ИКП:  
 1 - Yb-комплекс 5,10,15,20-тетраакс(4-карбоксифенил)порфирина,  
 2 - Yb-комплекс 2,4-диметоксигематопорфирина IX (водный раствор,  
 концентрация  $10^{-4}$  М).

Спектральные характеристики люминесценции некоторых образцов представлены на рис. 3, который демонстрирует, что ИКП обладают характерной для редкоземельных ионов узкой полосой люминесценции, которая для Yb находится в ИК-диапазоне 975–985 нм, где собственная люминесценция биотканей практически отсутствует. Сама порфириновая матрица эмитирует флуоресценцию с пиком на длине волны 630 нм. Как видно из рис. 3, большая часть энергии возбуждения идет на флуоресценцию (переход  $S_1-S_0$ ). Общий квантовый выход люминесценции  $\Phi_{tot}$  ионов иттербия в исследуемых комплексах рассчитывали по методу, где в качестве эталона использовался раствор Zn-тетрафенилпорфирина в этаноле, квантовый выход которого равен 0.03 [5]. Квантовый выход люминесценции иона иттербия в Yb-2,4-диметоксигематопорфирине IX (20% раствор DMSO) составил ~1 %.

Впервые нами была обнаружена эмиссионная полоса с длиной волны около 570 нм (рис. 3). Этот результат можно объяснить тем, что использование в качестве матрицы для иона иттербия нелинейных сред (каковыми являются порфирины) позволяет сдвигать длину волны генерации лазерного излучения в видимую область спектра благодаря самоудвоению и самосмешиванию частот. Подобный эффект был получен в работе [6], где в качестве нелинейной среды для иона иттербия использовались алюмобораты. Тогда было обнаружено непрерывное лазерное излучение в зеленой и желтой (560–570 нм) областях спектра.

Кинетические характеристики спектров люминесценции некоторых образцов ИКП представлены на рис. 4.

Установлено, что среднее время жизни для синтезированных ИКП достигает ~10 мкс, что существенно больше времени жизни неодимовых комплексов порфиринов (0.72–1.34 мкс). Спад люминесценции имеет неэкспоненциальный характер, что обусловлено сильным тушением люминесценции колебаниями O–H групп из ближайшего окружения иона иттербия. Время жизни люминесценции для Yb(асас)-комплекса 5,10,15,20-тетракис(1-N-(*n*-фторфенил)-3(*o*-хлорфенил)пиразол-4-ил)порфирина

максимально и составляет около 20 мкс, что значительно превосходит времена жизни люминесценции других иттербиевых комплексов (11 мкс для Yb(асас)-2,4-диметоксигематопорфирина IX и 8 мкс для Yb-комплекса 5,10,15,20-тетракис(4-карбоксифенил)порфирина). Достигнутый результат превосходит все известные нам данные по временам жизни люминесценции ИКП, полученных другими исследовательскими коллективами, что может в дальнейшем привести к существенному снижению дозы вводимого препарата при возможном сохранении значений коэффициента диагностического контраста.

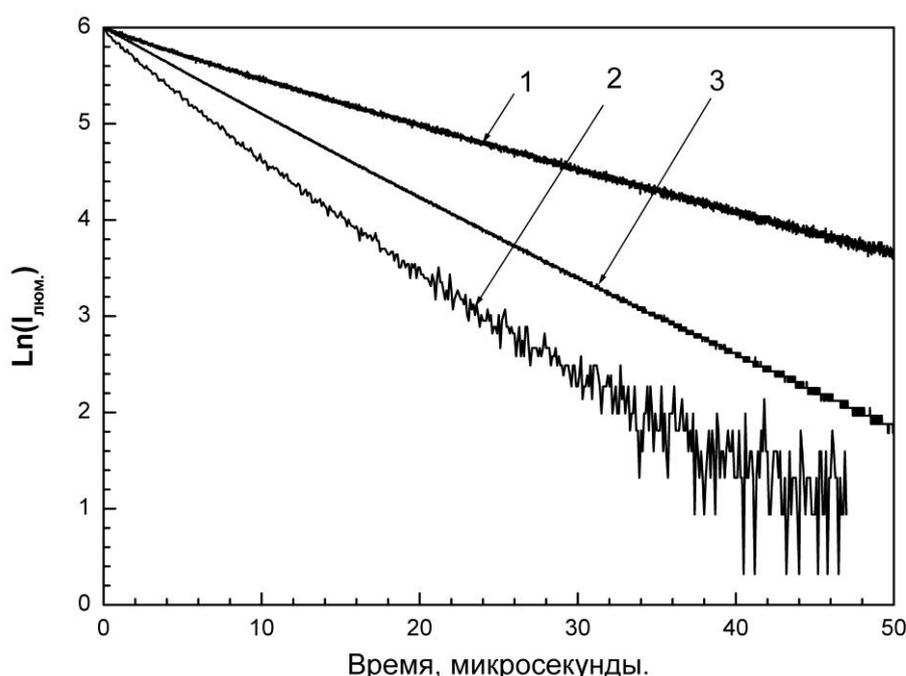


Рис. 4. Кривые затухания люминесценции образцов порфиринов с Yb:  
 1 - Yb-комплекс 5,10,15,20-тетра(1-N-(*n*-фторфенил)-3(*o*-хлорфенил)пиразол-4-ил)порфирина  
 2 - Yb-комплекс 5,10,15,20-тетракис(4-карбоксифенил)порфирина  
 3 - Yb-комплекс 2,4-диметоксигематопорфирина IX.

Необходимо также отметить, что люминесценция иона иттербия в его комплексах, в том числе и порфириновых, тушится колебаниями СН- и ОН-осцилляторов, и поэтому в 100%-ных водных растворах она имеет значительно меньшие значения квантового выхода и времени жизни люминесценции. Все

вышеперечисленные факторы свидетельствуют о том, что для увеличения диагностического потенциала ИКП необходимо по мере возможности изолировать их от тушащего действия водной среды.

В этом смысле перспективным растворителем для ИКДГ может стать ДМСО, который имеет уникальные биомедицинские и фармакологические свойства: проникает через биологические мембраны, улучшает транспортные свойства препаратов, стимулирует иммунную систему.

На рис. 5 представлены спектры эмиссии люминесценции ИКДГ в водных растворах при различной концентрации ДМСО. При этом характер конкретного спектра отражает полярность среды, в которой пребывает ион иттербия. В условиях меньшей полярности (растворы с растущей концентрацией ДМСО) эмиссионные максимумы сдвинуты в соответствии с уравнениями Липперта [7] в длинноволновую часть спектра (так называемое явление сольватохроизма).

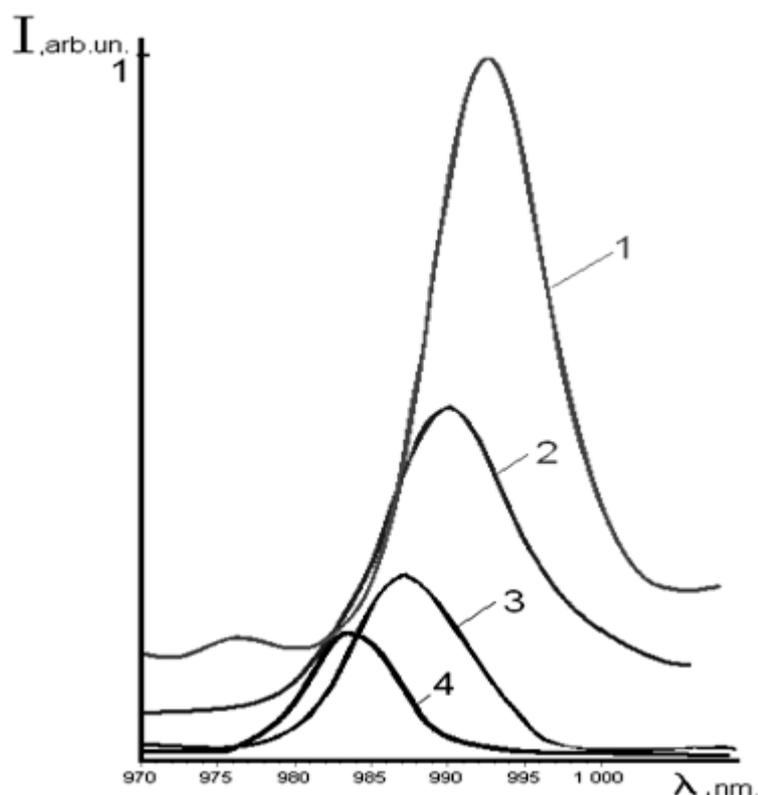


Рис.5. Спектры эмиссии люминесценции ИКДГ в водных растворах при различной концентрации ДМСО: 1 - 100% ДМСО, 2 - 50% ДМСО, 3 - 20% ДМСО, 4 - водный раствор.

Из рис. 5 видно, что интенсивность люминесценции существенно возрастает при увеличении концентрации ДМСО (более чем в 10 раз при переходе от водного раствора ИКДГ к ИКДГ в 100% ДМСО), а максимум эмиссионного спектра сдвигается при этом почти на 10 нм.

Практический интерес использования при внутривенном введении представляют субстанции ИКДГ в растворе ДМСО с концентрацией 20-30%, разрешенной в медицине. Для таких концентраций ДМСО время жизни люминесценции ИКДГ составляет ~ 5–10 мкс.

#### 4. Заключение

В ИРЭ им. В.А. Котельникова РАН создан и запущен в эксплуатацию диагностический измерительный стенд с возбуждением в видимом диапазоне для исследования затухания люминесценции и кинетики спектров МФС на основе комплексов порфиринов с иттербием.

На разработанном оборудовании исследованы спектрально-люминесцентные характеристики некоторых перспективных соединений для ранней люминесцентной диагностики рака: Yb-комплекса 5,10,15,20-тетра(1-N-(*n*-фторфенил)-3(*o*-хлорфенил)-пиразол-4-ил)порфирина и Yb-комплекса 2,4-диметоксигематопорфирина IX.

Установлено, что время жизни для Yb-комплекса 5,10,15,20-тетра(1-N-(*n*-фторфенил)-3(*o*-хлорфенил)пиразол-4-ил)порфирина составляет около 20 мкс, что значительно превосходит времена жизни люминесценции иттербиевых комплексов, синтезированных ранее.

#### Литература

1. Comby S., Bunzli J. Lanthanide near-infrared luminescence in molecular probes and devices // *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, Elsevier Science, Amsterdam, 2007, Vol. 37, pp. 217–470.
2. Bulach V., Sguerra F., Mir Wais Hosseini. Porphyrin lanthanide complexes for NIR emission // *Coordination Chemistry Review*, 2012, Vol. 256, pp. 1468–1478.

3. Armelao L., Quici S. and et al. Design of luminescent lanthanide complexes: From molecules to highly efficient photo-emitting materials // *Coordination Chemistry Review*, 2010, Vol. 254, pp. 487–505.
4. Ivanov A.V., Rumyantseva V.D., Shchamkhalov K.S., Shilov I.P. Luminescence Diagnostics of Malignant Tumors in the IR Spectral Range Using Yb-Porphyrin Metallocomplexes // *Laser Phys.*, 2010, Vol. 20, No. 12, pp. 2056–2065.
5. Градюшко А.Т., Цвирко М.П. Вероятность интеркомбинационных переходов в молекулах порфиринов и металлопорфиринов // *Оптика и спектроскопия*, 1971, Т. 31, № 4, С. 548–556.
6. Болдырев К.Н., Попова М.Н., Безматерных Л.Н., Беттинелли М. Неэквивалентные центры  $\text{Yb}^{3+}$  в одноцентровых лазерных кристаллах  $\text{Y}_{1-x}\text{Yb}_x\text{Al}_3(\text{BO}_3)_4$  // *Квантовая электроника*, 2011, Т. 41, № 2, С. 120–124.
7. Павлович В.С., Луговский А.П., Сагайдак Д.И., Ступак А.П. Фотофизические свойства порошка и растворов *N*-(*n*-метоксифенил)-4-октиламино-1,8-нафталимида // *Ж. прикладной спектроскопии*, 2013, Т. 80, № 4, С. 539–544.

**Для цитирования:**

В. М. Маркушев, В. Д. Румянцева, И. П. Шилов, А. С. Горшкова. Диагностический измерительный стенд для исследования спектрально-люминесцентных свойств малотоксичных фотосенсибилизаторов на основе комплексов порфиринов с иттербием. Журнал радиоэлектроники [электронный журнал]. 2018. №8. Режим доступа: <http://jre.cplire.ru/jre/aug18/19/text.pdf>  
DOI 10.30898/1684-1719.2018.8.19