

УДК 621.398:616.073

МАЛОГАБАРИТНОЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ИССЛЕДОВАНИЙ СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ СВОЙСТВ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ

И. П. Шилов¹, Л. Ю. Кочмарев¹, Г. Л. Даниелян², Б. В. Зубов²

¹ Институт радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал, 141190, г. Фрязино МО, пл. акад. Введенского, д. 1

² ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 38

Статья поступила в редакцию 23 июня 2019 г.

Аннотация. Представлены результаты разработки малогабаритного устройства на основе высокочувствительного мини спектрометра типа FSD-10/2 и мощного светодиодного осветителя для изучения спектрально-люминесцентных свойств наноразмерных металлокомплексов порфиринов, перспективных для люминесцентной диагностики рака. Исследованы спектральные свойства нескольких образцов иттербиевых и платиновых комплексов порфиринов.

Ключевые слова: металлокомплексы порфиринов, люминесцентная диагностика, флуоресценция, волоконно-оптический зонд, мини спектрометр, малогабаритное устройство, спектральная экспресс-диагностика.

Abstract. The results of the development of a small-size device for spectral-luminescent properties studying of nanoscale porphyrins metal complexes promising for cancer luminescent diagnostics, are presented. The small-size device is based on a highly sensitive sensor-mini spectrometer type FSD-10/2. It is shown that the developed small-size portable device provides a large number of express-studies of spectral-luminescent characteristics of various nanoscale porphyrins metal complexes, in particular, the ytterbium and platinum complexes. The device spectral range of 200–1080 nm allows to explore a wide range of metal porphyrins complexes. At the same time a sufficiently high level of spectral resolution (up to 2–5 nm) is provided. From the luminescence intensity spectra it is possible to make some evaluation of the test compound applicability for early tumors luminescence

diagnostics. The spectral-luminescent properties of some samples of ytterbium and platinum porphyrins complexes are studied. Thus, for platinum porphyrins complexes the luminescence maximum is observed in the 650 nm proximity, and for ytterbium porphyrins complexes it is in the 980 nm region.

Key words: porphyrin metal complexes, luminescent diagnostics, fluorescence, fiber-optic probe, mini spectrometer, small-size device, spectral express-diagnostics.

1. Введение

Большой интерес к металлокомплексам порфиринов (МКП) платиновой и иттербиевой групп обусловлен тем, что они обладают уникальными спектрально-люминесцентными характеристиками, в частности высоким коэффициентом экстинкции (порядка $10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), значительным (более 250 нм) разнесением полос возбуждения и регистрации люминесценции, повышенными квантовыми выходами. При этом некоторые из этих металлокомплексов обладают пониженной фототоксичностью, в связи с чем появляется перспектива использования МКП в качестве малотоксичных фотосенсибилизаторов (МФС) для ранней люминесцентной диагностики различных новообразований, включая злокачественные опухоли [1].

В последнее время появился ряд работ [2–4], в которых для различных биомедицинских применений, включая люминесцентную диагностику новообразований, предлагаются МФС на основе иттербиевых комплексов порфиринов, люминесцирующих в ближней ИК-области спектра (900–1100 нм), а также платиновых комплексов порфиринов. В работах [4–5] было показано, что введение иона иттербия в центр порфириновой матрицы приводит к резкому снижению фотохимической активности, сохраняя при этом свойственную большинству порфиринов тропность к злокачественным опухолям.

Определенный интерес представляют также и металлопорфирины с центральными ионами атомов из платиновой группы элементов. Несмотря на то что при возбуждении этих соединений генерируется синглетный кислород,

благодаря своим уникальным характеристикам, их оказалось возможным использовать для флуоресцентного обнаружения *in vivo* в достаточно низких концентрациях, не представляющих опасности для организма.

Для исследования спектральных и временных характеристик люминесценции синтезированных в ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН иттербиевых комплексов порфиринов был разработан стационарный высокочувствительный диагностический измерительный стенд [5], имеющий в своей конструкции монохроматор. Однако зачастую требуется проведение экспресс-оценки спектрально-люминесцентных свойств большого числа различных соединений МКП с высокой производительностью соответствующих измерений.

С этой целью в данной работе представлены результаты разработки малогабаритного переносного устройства на основе высокочувствительного мини спектрометра типа FSD-10/2 для экспресс-исследований спектрально-люминесцентных свойств большого количества различных наноразмерных МКП. Проведены исследования спектрально-люминесцентных свойств некоторых образцов МКП.

2. Описание устройства для экспресс-исследований спектрально-люминесцентных свойств МКП

Для проведения экспресс-исследований спектрально-люминесцентных свойств соединений МКП разработано малогабаритное портативное устройство, внешний вид которого представлен на рис. 1. Устройство состоит из следующих основных элементов (рис. 2):

– излучательные головки (2) типа «АФС» на основе мощных светодиодов с блоком питания (1), который обеспечивает одновременное управление двумя излучающими головками (например, на 400 нм и 530 нм) с регулировкой их мощности излучения, частоты следования импульсов и продолжительности. Все излучающие головки совместимы (через SMA-разъемы) с волоконно-оптическим зондом. Рабочие длины волн головок находятся в максимуме полос поглощения иттербиевых и платиновых МКП (400 нм и 530 нм).

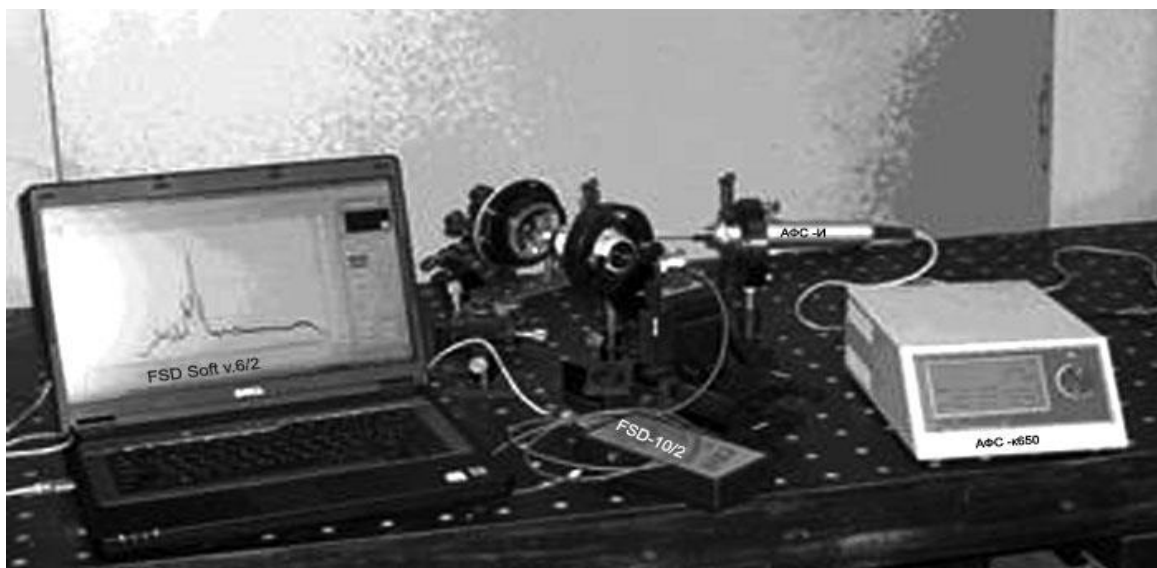


Рис. 1. Внешний вид макета измерительного устройства для экспресс-исследований спектрально-люминесцентных характеристик МКП.

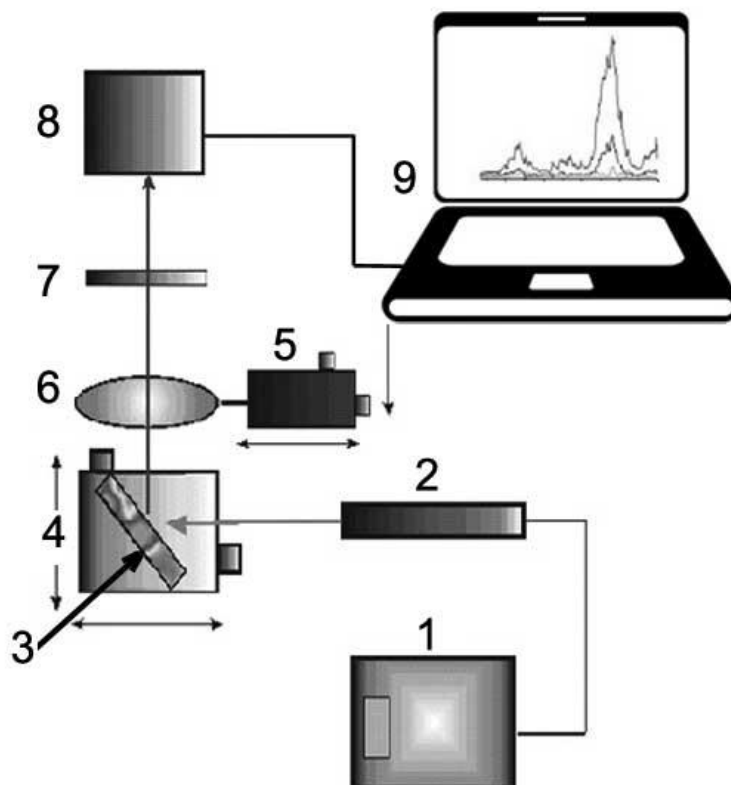


Рис. 2. Блок-схема макета устройства для экспресс-измерений спектрально-люминесцентных характеристик МКП: 1 – блок питания и управления излучателями, 2 – АФС-излучательные головки, 3 – образец, 4 – сканирующий столик с оптической зеркальной кюветой, 5 – юстировочный столик, 6 – система линз, 7 – светофильтры, 8 – мини спектрометр FSD-10/2, 9 – ноутбук.

Для проведения исследований спектральных характеристик порфириновых соединений использовалось высокоапертурное полимер-полимерное волокно (числовая апертура $\sim 0,5$), вставленное в металлическую трубку и соединенное с излучательной головкой;

– оптическая зеркальная кювета, в которую помещается образец (3), с системой сканирования (4) относительно излучательной головки. Кювета выполнена из кварцевого стекла и дает 3–5-кратное усиление флуоресценции. Кювета позволяет использовать малое количество раствора (0,2–1,0 мл);

– светофильтры (7), отсекающие возбуждающее излучение и пропускающее в приемник только сигнал люминесценции;

– система линз (6), фокусирующая сигнал люминесценции во внешний волоконный кабель приемного устройства;

– мини спектрометр (8) типа FSD-10/2 с ноутбуком (9).

Данный тип мини спектрометра обладает малыми габаритами и оснащен высокоскоростным портом обмена информацией USB, служащим для его совместной работы с PC или Notebook с установленным программным обеспечением и имеющим порт USB версии 1.1 или 2.0, что обеспечивает электропитание прибора непосредственно от компьютера [6–7]. В качестве входной оптической щели измерительной системы (рис. 3) служит оптическое волокно диаметром 50–200 мкм, снабженное оптическим разъемом и позволяющее подключать внешний волоконный кабель для доставки оптического излучения. Длина кабеля около 1 м, выполнен он из кварц-кварцевого оптического волокна с диаметром сердцевины 100 мкм и числовой апертурой 0,22. Входное отверстие, являющееся полированным торцом оптического волокна, находится в фокальной плоскости вогнутой дифференциальной решетки (2), которая раскладывает световой сигнал на монохроматические составляющие и создает в своей фокальной плоскости изображение спектра.

В отличие от спектрометров ведущих западных фирм, в оптических схемах, в которых используется либо плоская решетка с коллимирующим и

фокусирующим зеркалами, либо вогнутая решетка с искривленными неравноотстоящими штрихами, в настоящем приборе без потери качества спектрального изображения удалось ограничиться единственным простым в изготовлении оптическим элементом – вогнутой классической решеткой [8]. Достоинством данной схемы является отсутствие меридиональной комы и составляющих aberrаций 2-го порядка по высоте щели.

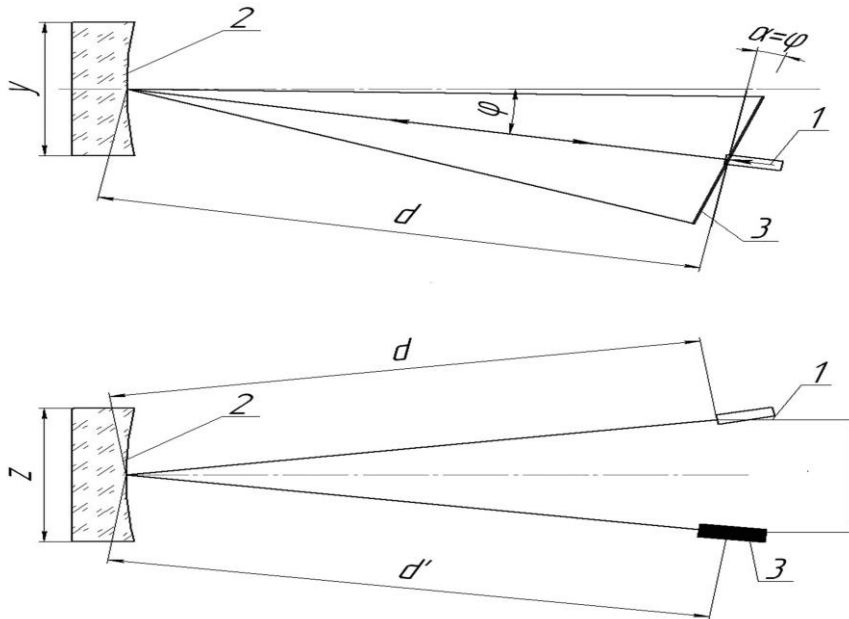


Рис. 3. Вид сечения сверху и сбоку выбранной оптической схемы мини спектрометра: 1 – входная щель (микрощель $0,04 \times 0,3$ на полированном торце волоконного световода), 2 – нарезная вогнутая ($R = d = 50$ мм) сферическая решетка, 3 – приемник спектрометра CCD-линейка с размером пикселей $0,008 \times 0,2$ мм, φ – угол положения центральной длины волны спектра, α – угол оптимального размещения плоскости CCD-линейки.

В фокальной плоскости установлен оптический датчик с линейно расположенными светочувствительными элементами (пикселями).

Приемником спектрометра служит CCD-линейка, плоскость которой с целью минимизации дефокусировки наклонена на угол, равный углу падения лучей на дифракционную решетку $\alpha = \varphi$. В сагиттальной плоскости входное волокно и CCD-линейка разнесены на расстояние $l = 10$ мм и развернуты таким образом, чтобы торец волокна и плоскости приемника были перпендикулярны главному лучу, проходящему через вершину решетки.

Параметры CCD-линейки следующие: TCD1304DJ-XX (фирма Toshiba), с числом пикселей 3648, размер пикселя – 0.008x0,2 мм. Время экспозиции: 100 мкс – 10 с. Время преобразования АЦП: 5 мкс. Максимум спектральной чувствительности CCD-линейки Toshiba 1304DG приходится на диапазон 500–800 нм, что соответствует максимумам эмиссионных полос наиболее перспективных МКП для люминесцентной диагностики рака.

Полученный с оптического датчика видеосигнал далее усиливается и нормализуется по уровню. Затем сигнал поступает на АЦП, где оцифровка уровня видеосигнала происходит только в моменты последовательного выбора светочувствительной ячейки датчика. Передача оцифрованных данных осуществляется непосредственно в управляющую программу «FSD Soft» версия 6-2 спроектированную специально для задач флуоресцентного анализа в ПК с установленной системой WINDOWS (7–10 версия).

Программное обеспечение FSD-Soft-v.6-2 отличается от аналогичных большим разнообразием опций, предлагаемых к выбору потребителем. Кроме простых функций обработки: накопление, осреднение по времени и по длине волны, интегральные оценки в динамике непрерывного сканирования спектров во времени в двух выбранных диапазонах спектра, в программу включен корреляционный анализ распознавания – идентификации текущего регистрируемого (измеряемого) спектра и спектров, заранее снятых и занесенных в память микропроцессора.

3. Экспериментальные результаты

Для ранней люминесцентной диагностики рака перспективно использование нового класса МФС (чисто диагностических МФС), которые практически не генерируют синглетный кислород, имея при этом высокие спектрально-люминесцентные характеристики при сохранении уровня туморотропности терапевтических фотосенсибилизаторов. Для этой цели в последнее время предлагается использовать МКП иттербия и платины [9–10].

С целью определения оптимальных составов МКП, разработки методик их синтеза, типа растворителей и т.д., необходимо проведение большого

количества исследований спектрально-люминесцентных свойств вышеназванных соединений.

В ходе данной работы были исследованы спектры люминесценции иттербиевых и платиновых комплексов. На рис. 4 для примера представлен спектр люминесценции платинового комплекса тетрафенилпорфирина. Возбуждение люминесценции осуществлялось при помощи излучательной головки АФС на длине волны 530 нм (зеленый LED).

Как видно из рисунка, максимум люминесценции наблюдается в окрестности 650 нм. Как показали наши исследования, введение заместителей в матрицу порфиринового лиганда не приводит к изменению положения основного максимума (табл. 1), однако дополнительный максимум (плечо) все же испытывает сдвиг с 700 нм до 720 нм.

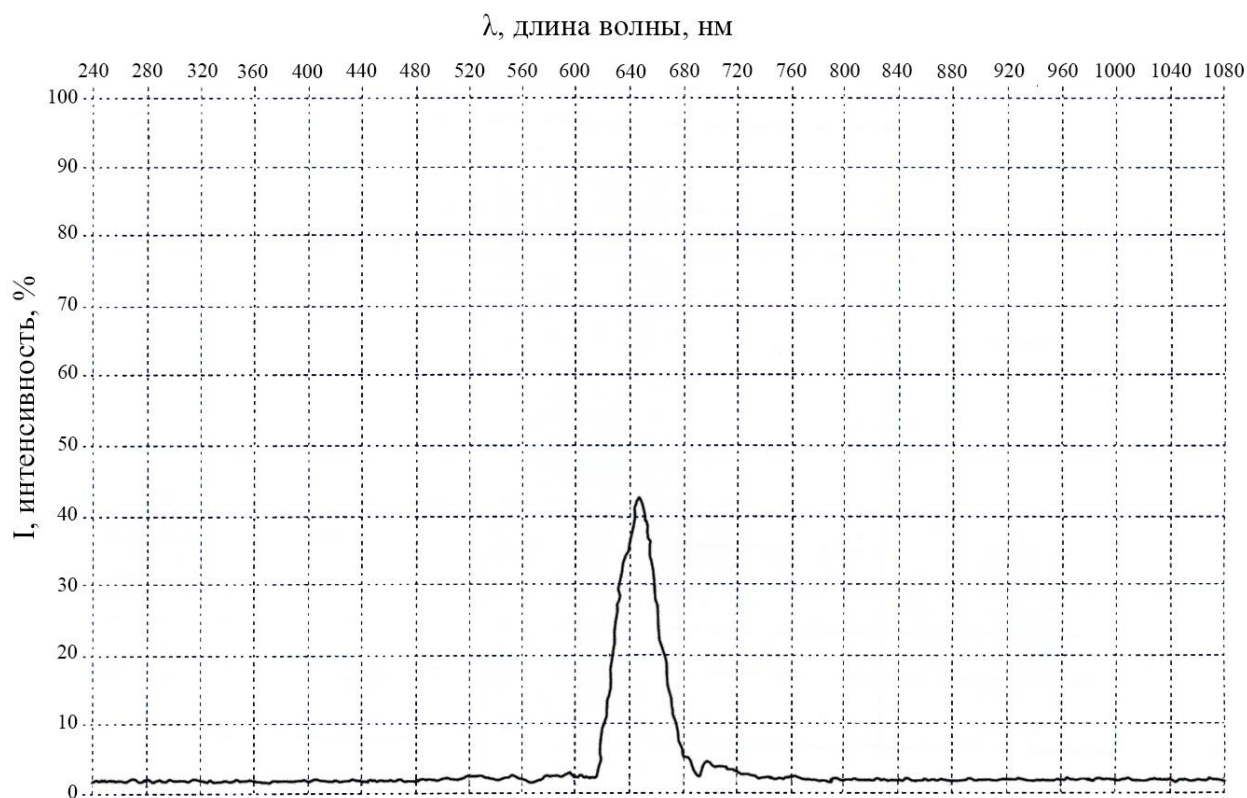


Рис. 4. Спектр люминесценции платинового комплекса тетрафенилпорфирина.
Таблица 1. Люминесцентно-спектральные характеристики металлопорфиринов с ионами элементов платиновой группы

Таблица 1.

Соединение	В полоса, нм $\lambda_{\text{ПОГЛ}} / \lambda_{\text{ВОЗБ}}$	Q полосы, нм $\lambda_{\text{ПОГЛ}} / \lambda_{\text{ВОЗБ}}$	$\lambda_{\text{ЭМ}}$, нм
Pt(II)-тетрафенилпорфирин	401/404	508, 538 / 508, 539	650, 700 плечо
Pt(II)-тетрафенилпорфирин(<i>m</i> - OCH_3) ₄	401/406	508, 538 / 508, 538	650, 720 плечо
Pt(IV)(Cl) ₂ -тетрафенилпорфирин(<i>m</i> - OCH_3) ₄	422/404 ^d	537, 571 / 508 ^d , 538 ^d	650, 720 плечо
Pt(II)-тетрафенилпорфирин(<i>p</i> - CO_2CH_3) ₄	402/404	510, 538 / 508, 538	650, 720 плечо
Pt(IV)(Cl) ₂ -тетрафенилпорфирин(<i>p</i> - CO_2CH_3) ₄	422/406 ^d	537, 571 / 508 ^d , 538 ^d	650, 710 плечо

Спектральные характеристики люминесценции некоторых образцов иттербиевых МКП представлены на рис. 5, который демонстрирует, что иттербиевые МКП обладают характерной для редкоземельных ионов узкой и достаточно яркой полосой люминесценции, которая для иона Yb^{3+} находится в ИК-диапазоне 975–985 нм, где собственная люминесценция биотканей практически отсутствует. Известно, что спектры поглощения исходных порфиринов состоят из интенсивной фундаментальной полосы Core 370–420 нм (В-полоса) и четырех, так называемых, Q-полос в области 500–600 нм. При комплексообразовании (введении металла в порфириновый макроцикл) полоса Core становится более интенсивной и претерпевает незначительный батохромный сдвиг (8–12 нм). Кроме того, наблюдаются две полосы в диапазоне 530–600 нм. Возбуждение люминесценции образцов иттербиевых МКП нами проводилось на длине волны 400 нм (излучательная головка АФС № 1). Из рис. 5 также видно, что интенсивность люминесценции существенно возрастает при увеличении концентрации МКП (более чем в 10 раз) при переходе от $[\text{C}] 10^{-6}$ М к $[\text{C}] 10^{-4}$ М. 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 величины квантового выхода и интенсивности люминесценции. Все вышеперечисленные факторы

свидетельствуют о том, что для увеличения диагностического потенциала иттербиевых МКП необходимо по мере возможности изолировать их от тушающего действия водной среды. В этом смысле перспективным растворителем является диметилсульфоксид (ДМСО), который имеет уникальные биомедицинские и фармакологические свойства: проникает через биологические мембраны, улучшает транспортные свойства препаратов, стимулирует иммунную систему.

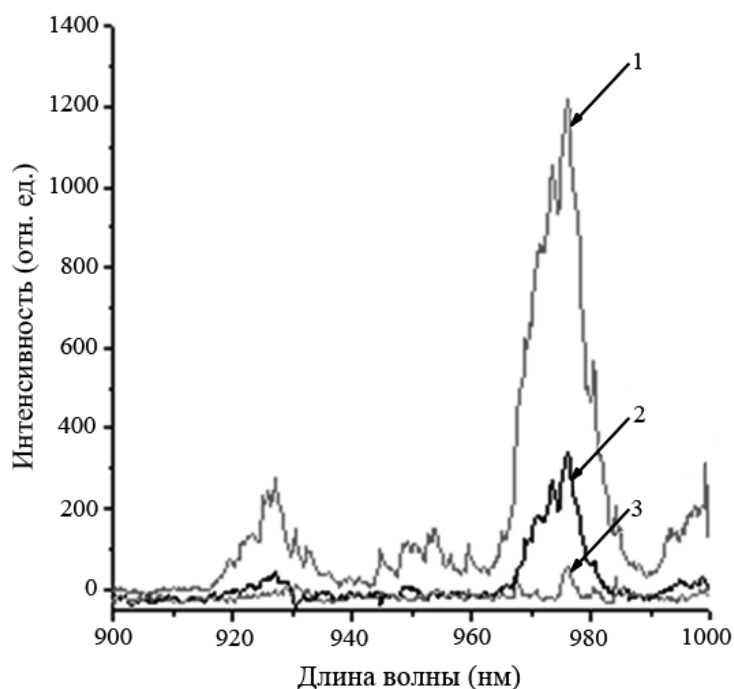


Рис. 5. Спектры люминесценции растворов Yb-тетрапиразолилпорфирина в ДМСО (100%) при разных концентрациях ИКП:
1 – $[C] 10^{-4}$ М; 2 – $[C] 10^{-5}$ М; 3 – $[C] 10^{-6}$ М.

Следует отметить, что представленная макетная установка позволяет посредством замены кюветы с образцами и последующей юстировкой производить в течение 1 часа 10–15 измерений спектров люминесценции МКП.

Ниже представлены основные технические характеристики данного устройства.

Рабочая длина волны излучательных головок АФС, нм:	400 и 530
Оптическая мощность излучательных головок, мВ:	120 (400 нм) и 80 (530 нм)
Уширение спектральной полосы (по $\frac{1}{2}$ интенсивности), нм:	20–30
Апертура светодиодов:	0.50

Излучательная площадка, мм:	1,2x1,2
Девиация выходной оптической мощности, %:	10
Спектральный диапазон мини спектрометра FSD-10/2, нм:	200–1080
Спектральное разрешение, нм:	2,0 (вход 50 мкм волокно) и 4,5 (вход 200 мкм)
Чувствительность, нВт:	0,1 (632 нм)
Тип оптического детектора миниспектрометра:	TCD1304AP
Число пикселей детектора:	3648
Размер пикселя CCD, мм:	0,008x0,2
Минимальное время экспозиции, мкс:	100
Максимальное время экспозиции, с:	32
Время измерения одного полного спектра, мс:	20
Разрядность АЦП:	16 бит (65536 квантов)
Время преобразования АЦП:	5,0 мкс/пиксель
Потребляемый ток, мА:	не более 170
Потребляемая мощность установки, Вт:	не более 10.0
Общий вес устройства:	до 3,0 кг

4. Заключение

Показано, что разработанное макетное малогабаритное переносное устройство на основе высокочувствительного сенсора-мини спектрометра типа FSD-10/2 обеспечивает проведение большого количества экспресс-исследований спектрально-люминесцентных свойств различных наноразмерных МКП, в частности иттербиевой и платиновой групп. При этом достигнута высокая производительность измерений. В течение 1 часа осуществляется до 15 измерений спектров люминесценции МКП с достаточно высокой точностью. По спектрам интенсивности люминесценции можно произвести некоторую оценку применимости исследуемого соединения для нужд ранней люминесцентной диагностики новообразований. На разработанном оборудовании исследованы спектрально-люминесцентные характеристики некоторых перспективных соединений для люминесцентной диагностики рака.

Работа выполнена в рамках государственного задания.

Литература

1. A.V. Ivanov, V.D. Romyantseva, K.S. Shchamkhalov, I.P. Shilov. Luminescence Diagnostics of Malignant Tumors in the IR Spectral Range Using Yb-Porphyrin Metallocomplexes // *Laser Phys.* 2010. Vol. 20, No. 12, pp. 2056–2065. DOI: 10.1134/s10546660x10220032
2. А.Ф. Миронов. Современное состояние химии фотосенсибилизаторов на основе порфиринов и родственных соединений. В кн.: *Успехи химии порфиринов*. Т. 4. СПб.: НИИ Химии СПбГУ, 2004, с. 271–292.
3. S. Comby, J.C.G. Bunzli. Lanthanide near-infrared luminescence in molecular probes and devices // *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*. Elsevier Science, Amsterdam, 2007. pp. 217–470. DOI: 10.1016/s0168-1273(07)37035-9
4. V. Bulach, F. Sguerra, M.W. Hosseini. Porphyrin lanthanide complexes for NIR emission // *Coordination Chemistry Review*. 2012. Vol. 256, pp. 1468–1478. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.027
5. 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. N8. Режим доступа <http://jre.cplire.ru/jre/aug18/19/text.pdf> DOI: 10/30898/1684-1719.2018.8.19
6. Ю.В. Бажанов, Г.Л. Даниелян, С.Н. Марков. Разработка малогабаритного модульного спектрометра // 7-я Международная конференция «Прикладная оптика». Санкт-Петербург, 14–18 ноября 2006.: Сборник тезисов докладов. 2006, Т. 3, с. 139–143.
7. G.L. Danielyan. Multi-Channel Fiber Optic Bundles and Sensors for Biomedical Applications // *Systems of Optical Security*. Proc. SPIE, 2003. Vol. 5566, pp. 198–203. DOI: 10.1117/12.577574

8. Ю.В. Бажанов, Л.К. Тимергазеева. Минимизация дефокусировки вогнутой дифракционной решетки в произвольно заданной схеме спектрального прибора // Оптический журнал. 1996. Т. 11, с. 42–46.
9. Y. Alekseev, V. Rummyantseva, A. Gorshkova, A. Shchelkunova, I. Shilov, A. Ivanov. Luminescent diagnostics of skin defects in the NIR range // Biomedical Optics. 2017. Vol. 22, No. 9, p. 098001. DOI: 10.1117/1.JBO.22.9.098001
10. Н.П. Ивановская, Г.М. Сухин, Н.С. Осин. Платина-копропорфирин – длительно люминесцирующий метчик для ранней диагностики поверхностных опухолей // *Лазерная медицина*. 2012. Т. 16, № 4, с. 22–26.

Для цитирования:

И. П. Шилов, Л. Ю. Кочмарев, Г. Л. Даниелян, Б. В. Зубов. Малогабаритное устройство для экспресс-исследований спектрально-люминесцентных свойств металлокомплексов порфиринов. Журнал радиоэлектроники [электронный журнал]. 2019. № 7. Режим доступа: <http://jre.cplire.ru/jre/jul19/4/text.pdf>
DOI 10.30898/1684-1719.2019.7.4