

УДК 544.032.06:05.16.08

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОНАГРЕВА ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ЛАЗЕРНО-СИНТЕЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ БОРА ДЛЯ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Я. Б. Беляев^{1,2}, И. В. Зелепукин^{1,2}, А. И. Пастухов³, П. В. Шахов¹,
Г. В. Тихоновский¹, А. А. Попов¹, А. Ю. Захаркив¹, С. М. Климентов¹,
А. А. Гармаш¹, И. Н. Завестовская^{1,4}, С. М. Деев^{1,2}, А. В. Кабашин³

В работе исследуются фототермические свойства наночастиц бора (НЧ В), синтезированных методом импульсной лазерной абляции в жидкости. Обнаружено, что НЧ В обладают высоким коэффициентом оптической экстинкции в ближнем инфракрасном диапазоне, в частности, 0.2 Л/(см·г) на длине волны 800 нм. Показана способность водных суспензий НЧ В при облучении лазером с длиной волны 830 нм и мощностью излучения 1 Вт нагреваться на температуры от 6.5 до 36 °С при увеличении концентрации частиц с 0.04 до 0.8 г/Л, в то время как нагрев среды без добавления частиц составлял 2 °С. НЧ В были способны поддерживать стабильный фототермический отклик в течение нескольких циклов облучения. Полученные результаты демонстрируют высокий потенциал НЧ В для применения в качестве сенсбилизаторов фототермической терапии (ФТТ).

Ключевые слова: лазерная абляция в жидкости, фотонагрев, оптическая спектроскопия, наночастицы, бор.

Введение. Наномедицина – активно развивающаяся область науки, изучающая применение наноматериалов для диагностики и терапии различных заболеваний [1, 2]. Од-

¹ ИФИБ НИЯУ “МИФИ”, 115409 Россия, Москва, Каширское ш., 31.

² Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, 117997 Россия, Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10.

³ LP3, Aix Marseille University, CNRS, 13288 Marseille, France; e-mail: andrei.kabashin@univ-amu.fr.

⁴ ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53.

ними из перспективных и уникальных наноматериалов для медицинского применения являются наночастицы бора (НЧ В) и его соединений благодаря возможности обеспечивать с помощью них высокую концентрацию активных изотопов бора для нейтронзахватной терапии [3–5].

Другим перспективным методом лечения рака с помощью наночастиц является фотогипертермия (фототермия) [6], заключающаяся в локализованном термолизе опухолевой ткани за счет накопления там нанолечарств с высоким показателем конверсии поглощенного света в тепло [7]. Ввиду требования высокой глубины проникновения света для эффективного поглощения сенсбилизатором фототермическая терапия (ФТТ) чаще всего осуществляется в ближнем инфракрасном диапазоне (БИК), где находятся окна относительной прозрачности биологических тканей. О фототермических способностях НЧ В на данный момент, насколько нам известно, в достаточной мере в литературе освещено не было.

В данной статье исследуются фототермические свойства НЧ В в первом окне относительной прозрачности биологических тканей (650–950 нм). Для получения НЧ В был использован недавно разработанный лазерно-абляционный метод, обеспечивающий высокую чистоту поверхности и биосовместимость наночастиц. Исследования свойств фотоиндуцированного нагрева НЧ В в воде с помощью 830 нм лазерного излучения мощностью 1 Вт показали возможность добиться повышения температуры более чем на 30 °С при концентрациях частиц больше 0.4 г/л. При меньших концентрациях были достигнуты температурные режимы, подходящие для более мягких форм гипертермии. Представленные результаты могут существенно повысить эффективность методов наномедицины с использованием НЧ В.

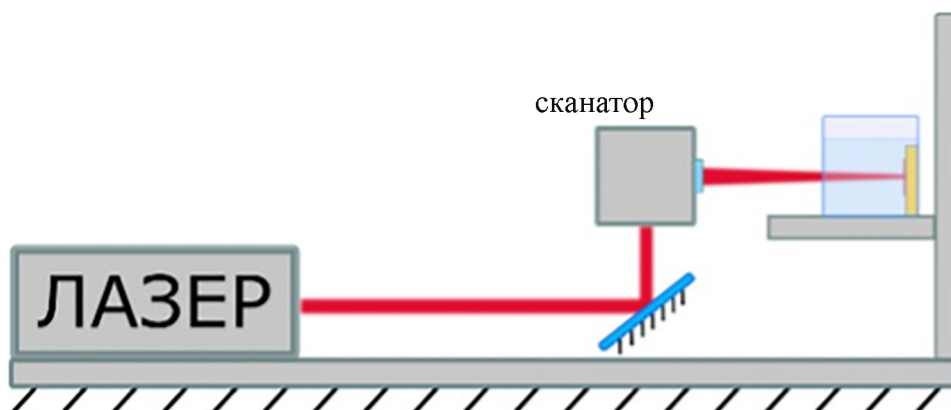


Рис. 1: Схема экспериментальной установки для ИЛАЗ.

Материалы и методы. Наночастицы бора были получены методом импульсной лазерной абляции кристаллической мишени бора (MaTecK, чистота 99.5%) в деионизованной воде (рис. 1). Ключевым отличием данного подхода была возможность достигнуть высокой скорости перемещения лазерного луча (до 6000 м/с) относительно поверхности мишени, что позволило эффективно использовать лазерные импульсы с частотой 100 кГц. В процессе абляции лазерный пучок (1030 нм, 270 фс, 50 мкДж, ТЕТА 10, Авеста, Россия) фокусировался на поверхности мишени, зафиксированной вертикально в стеклянной кювете, заполненной 50 мл жидкости. Толщина слоя жидкости между стенкой кюветы и поверхностью мишени составляла 3.3 мм.

Морфология и размеры НЧ В были определены при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе MAIA 3 (Tescan, Чехия) при ускоряющем напряжении 20 кВ. Для статистической обработки распределения размера была проанализирована 1000 отдельных частиц. Концентрация наночастиц в растворе определялась путем взвешивания массы частиц в фиксированном объеме после удаления жидкости и высушивания. Спектр оптической экстинкции был получен при помощи спектрофотометра MC 122 (SOL Instruments, Республика Беларусь) в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм. Измерения гидродинамического размера наночастиц проводились в воде методом динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания).

Для исследования фототермических свойств НЧ В в пластиковую спектрофотометрическую кювету с длиной оптического пути 10 мм наливалась водная суспензия наночастиц (1 мл) и затем облучалась 830 нм непрерывным лазерным источником через боковую стенку кюветы. Изменение температуры жидкости регистрировалось с помощью термографической камеры FLIR С3 (FLIR, США). Измерения проводились при температуре окружающей среды 27.5 °С.

Результаты и обсуждение. НЧ В были получены методом фемтосекундной импульсной лазерной абляции в деионизованной воде. С помощью СЭМ было определено, что полученные НЧ имели сферическую форму (рис. 2(а)), а их размерное распределение имело бимодальный характер с пиками около 35 и 85 нм (рис. 2(б)). Средний гидродинамический диаметр НЧ В в воде составил 131 ± 55 нм, что подтверждает получение коллоидного раствора наноразмерных частиц.

Спектр оптической экстинкции НЧ В в диапазоне 350–1050 нм не имеет ярко выраженных пиков и представляет собой монотонно спадающую с увеличением длины волны зависимость (рис. 3). Тем не менее, относительное значение коэффициента опти-

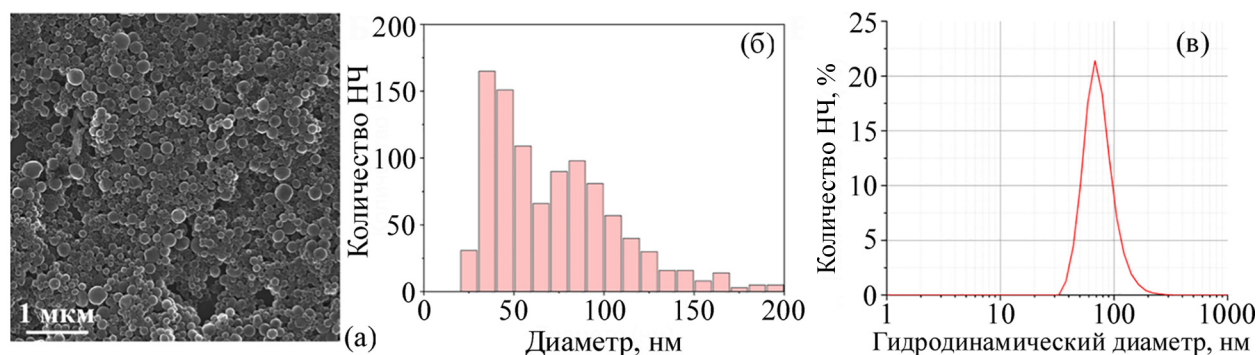


Рис. 2: (а) СЭМ-изображение НЧ В; (б) размерное распределение НЧ В по анализу СЭМ-снимков; (в) гидродинамический размер НЧ В в воде.

ческой экстинкции в первом окне относительной прозрачности биологических тканей (650–950 нм) остаётся довольно высоким. В частности, значение этого коэффициента на длине волны 800 нм составляет 0.2 Л/(см·г), что сравнимо с таковым у наноматериалов, наиболее активно применяемых в качестве сенсibilizаторов ФТТ [7, 8]. Таким образом, НЧ В являются привлекательными наночастицами для реализации фотоконверсионных механизмов в БИК диапазоне.

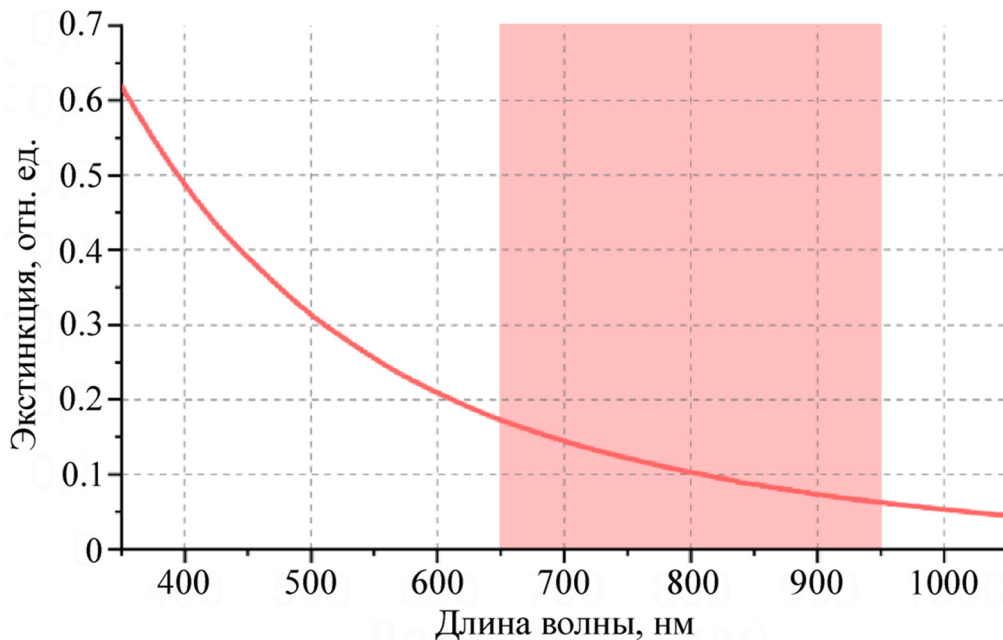


Рис. 3: Спектр оптической экстинкции НЧ В. Закрашенная область в диапазоне 650–950 нм соответствует первому окну прозрачности биологических тканей.

Для исследования фототермических свойств НЧ В был проведён ряд экспериментов по фотоиндуцированному нагреву водной суспензии частиц непрерывным лазером с длиной волны 830 нм. В первую очередь было исследовано влияние концентрации НЧ В на кинетику их нагрева при фиксированной мощности лазерного излучения (1 Вт). Результаты этих измерений представлены на рис. 4((а),(б)). При концентрациях наночастиц 0.4 г/л и 0.8 г/л в течение 15 мин облучения были получены установившиеся температуры 59 °С и 63 °С, соответственно, что идеально подходит для осуществления термической абляции биологических тканей.

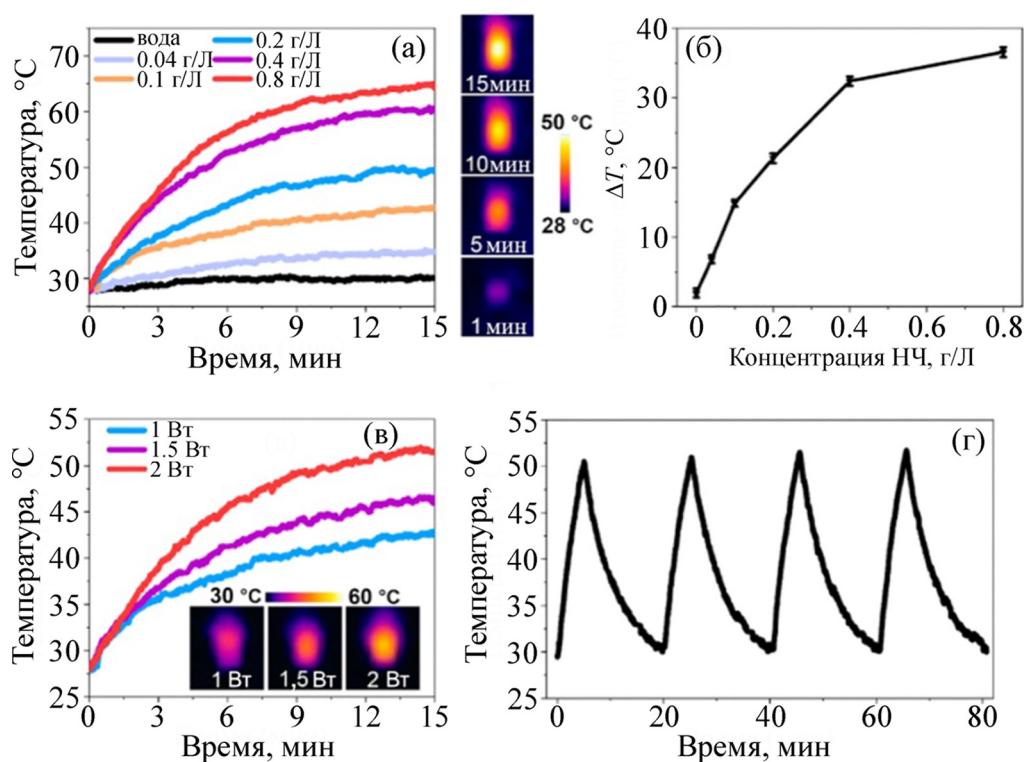


Рис. 4: Фототермические свойства НЧ В при облучении 830 нм лазером: (а) кинетики фототермического нагрева суспензий с различными концентрациями НЧ при мощности падающего лазерного излучения 1 Вт. На вставке справа показано изменение температурной карты суспензии наночастиц (0.2 г/л) при облучении; (б) график зависимости максимального изменения температуры (ΔT) за 15 мин облучения (1 Вт) от концентрации НЧ; (в) зависимости температуры суспензий от мощности лазерного излучения при концентрации НЧ 0.1 г/л. На вставке показаны температурные карты при максимальном нагреве; (г) кинетика циклического нагрева при 1 Вт облучении (5 мин) и охлаждения (15 мин) НЧ В в концентрации 0.4 г/л.

Так, увеличение температуры на $6.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ в эксперименте было достигнуто при достаточно низкой концентрации НЧ В 0.04 г/л , в то время как образец, содержащий только деионизованную воду, был нагрет всего на $2\text{ }^{\circ}\text{C}$. При концентрации 0.2 г/л температура установилась на $49\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\Delta T = 21.5\text{ }^{\circ}\text{C}$), что соответствует граничному положению между умеренной гипертермией и абляционным режимом. Стоит отметить, что такие концентрации наночастиц достижимы в опухоли после внутривенного введения нанолечарств без выраженного токсического эффекта для здоровых тканей.

На рис. 4(в) показаны результаты исследования зависимости кинетики фототермического нагрева от мощности лазерного излучения при фиксированной концентрации частиц (0.1 г/л). Увеличение мощности излучения с 1 до 2 Вт приводило к повышению установившегося температурного режима с $41\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $52\text{ }^{\circ}\text{C}$. Таким образом, при относительно безопасных интенсивностях облучения НЧ В могут позволить достигнуть условий, подходящих как для “мягкой” гипертермии ($\geq 41\text{ }^{\circ}\text{C}$), так и для термической абляции тканей ($\geq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Заметим, что в некоторых случаях для достижения терапевтического эффекта требуется провести несколько циклов нагрева пораженной области, поэтому используемые сенсibilизаторы должны обладать стабильным фототермическим эффектом. Для исследования фототермической стабильности полученные НЧ их подвергали циклическому фотоиндуцированному нагреву и естественному охлаждению. В результате было обнаружено, что тепловой отклик НЧ бора сохраняется в течение, как минимум, 4 таких циклов (рис. 4(г)). Такая высокая фотостабильность выгодно отличает лазерно-синтезированные НЧ В от многих альтернативных сенсibilизаторов ФТТ. Например, известно, что золотые наностержни, являющиеся одним из самых популярных сенсibilизаторов ФТТ, демонстрируют низкую фотостабильность в БИК [9].

В заключение отметим, что представленная статья продолжает цикл наших работ, посвященных созданию новых функциональных наноматериалов методом ИЛАЖ для различных биомедицинских применений [10–14].

Заключение. В работе были синтезированы НЧ В методом ИЛАЖ в деионизованной воде. Проведено *in vitro* исследование фототермических свойств полученных НЧ при облучении БИК лазером. Показано, что при концентрации наночастиц $\leq 0.2\text{ г/л}$ могут быть достигнуты температурные режимы для мягкой и умеренной гипертермии, что перспективно для увеличения эффективности использования НЧ В в качестве фототермических агентов в комбинированной терапии. При увеличении концентрации до 0.4 г/л локальное изменение температуры составило более $31\text{ }^{\circ}\text{C}$, что подходит для

термической абляции биологических тканей. Кроме того, лазерно-синтезированные НЧ В показали высокую стабильность своих фототермических свойств. В целом, полученные данные подтверждают высокую перспективность использования данных НЧ для биомедицинских применений в качестве сенсibilizаторов ФТТ.

Работы по разработке методов синтеза и характеристики НЧ были выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (№ 19-72-30012) и гранта Минобрнауки России в рамках Соглашения № 075-15-2021-1347, соответственно.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] G. Chen, I. Roy, C. Yang, P. N. Prasad, *Chem. Rev.* **116**, 2826 (2016). DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00148.
- [2] M. Björnmalm, K. J. Thurecht, M. Michael, et al., *ACS Nano* **11**, 9594 (2017). DOI: 10.1021/acsnano.7b04855.
- [3] W. J. Chan, H. L. Cho, V. Goudar, et al., *Nanomedicine* **16**(6), 441 (2021).
- [4] A. Wroblewska, B. Szermer-Olearnik, E. Pajtasz-Piasecka, *POSTĘPY HIGIENY I MEDYCYNY DOSWIADCZALNEJ*, **75**, 122 (2021).
- [5] A. Zaboronok, P. Khaptakhanova, S. Uspenskii, et al., *Pharmaceutics* **14**(4), 761 (2022).
- [6] X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed, *Lasers Med. Sci.* **23**, 217 (2008). DOI: 10.1007/s10103-007-0470-x.
- [7] A. A. Popov, G. Tselikov, N. Dumas, et al., *Sci. Rep.* **9**, 1194 (2019). DOI: 10.1038/s41598-018-37519-1.
- [8] J. T. Robinson, S. M. Tabakman, Y. Liang, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 6825 (2011). DOI: 10.1021/ja2010175.
- [9] S. Link, C. Burda, M. B. Mohamed, et al., *J. Phys. Chem. A* **103**, 1165 (1999). DOI: 10.1021/jp983141k.
- [10] V. M. Petriev, V. K. Tischenko, A. A. Mikhailovskaya, et al., *Sci. Rep.* **9**, 2017 (2019). DOI: 10.1038/s41598-018-38474-7.
- [11] V. A. Oleshchenko, A. Y. Kharin, A. F. Alykova, et al., *Appl. Surf. Sci.* **516**, 145661 (2020). DOI: 10.1016/j.apsusc.2020.145661.
- [12] I. V. Zelepukin, A. A. Popov, V. O. Shipunova, et al., *Mater. Sci. Eng. C* **120**, 111717 (2021). DOI: 10.1016/j.msec.2020.111717.

- [13] A. Al-Kattan, V. Nirwan, A. Popov, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 1563 (2018). DOI: 10.3390/ijms19061563.
- [14] A. A. Popov, Z. Swiatkowska-Warkocka, M. Marszalek, et al., *Nanomaterials* **12**, 649 (2022). DOI: 10.3390/nano12040649.

Поступила в редакцию 26 апреля 2022 г.

После доработки 10 мая 2022 г.

Принята к публикации 11 мая 2022 г.