

# «Разработка биосовместимых наночастиц для диагностики и терапии»

В.Б.Лощенов

Лаборатория Лазерной биоспектроскопии

Центр естественнонаучных исследований

Института общей физики им А.М.Прохорова РАН,

ЗАО БИОСПЕК

*Дубна, 2011*

- Работа проводится при поддержке правительства Москвы, фонда Бортника, РАН.
- Основной соисполнитель ГНЦ НИОПИК.

# Достоинства молекулярных фотосенсибилизаторов

1. Высокий квантовый выход люминесценции.
2. Низкая темновая токсичность.
3. Они есть (в России 4 производителя: НИОПИК, МИТХТ, Радафарма, Вета Гранд).
4. Создана инфраструктура (благодаря усилиям правительства Москвы, НИОПИКа, ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Онкологического института им. Герцена, Онкологического центра им. Н. Н.Блохина, ММА им. И.М.Сеченова, Центра лазерной медицины, Института радиологии).
5. Подготовлены специалисты высокого уровня (около 10 докторских и 40 кандидатских диссертаций) медицинских, биологических, химических, технических и физико-математических наук.
6. Создана научно-техническая база по производству диагностических и терапевтических комплексов (ИОФ РАН, Биоспек, Полюс...). Это оборудование установлено более чем в 40 российских клиниках и в 16 зарубежных медицинских центрах и частных медицинских компаниях.
7. Вылечены тысячи и диагностированы десятки тысяч пациентов.
8. Конкурентоспособны на внешнем рынке.

# Недостатки молекулярных фотосенсибилизаторов и магнитных растворов

Необходимо: Высокая концентрация препарата в опухоли в сравнении с нормальными тканями

В наличии: Концентрация выше, но незначительно.

Необходимо: Максимально-возможная глубина проникновения света в биологическую ткань. Оптимальная длина волны поглощения, люминесценции и рассеяния 750 – 1050 нм (окно прозрачности биологических тканей). Для визуализации поверхностных опухолей так же эффективно использование видимого диапазона.

В наличии: У всех, разрешенных к медицинскому применению, фотосенсибилизаторов длинноволновый край спектра возбуждения люминесценции находится в диапазоне 600-650нм и спектр люминесценции 630-700нм. Кроме недостаточно высокой глубины проникновения в ткань, собственная люминесценция тканей экранирует люминесценцию ФС.

В чем преимущества наночастиц и нанотехнологий для клинического применения?

Какие физические свойства отвечают за эффективность их применения?

Размер имеет значение

**Преимущество 1.** Существует принципиальная возможность достигнуть значительного (10-100 раз) накопления нанофотосенсибилизаторов в опухоли по сравнению с нормальной тканью.

Стенки кровеносных сосудов опухоли намного более проницаемы (поры от 100 до 800 нм), чем стенки нормальных сосудов (поры от 2 до 6 нм), кроме почек (40-60нм), печени и селезенки (до 150нм).

Clinical Cancer Research. 2002

### **The Potential of Drug-carrying Immunoliposomes as Anticancer Agents**

*Doris R. Siwak, Ana M. Tari and Gabriel Lopez-Berestein*

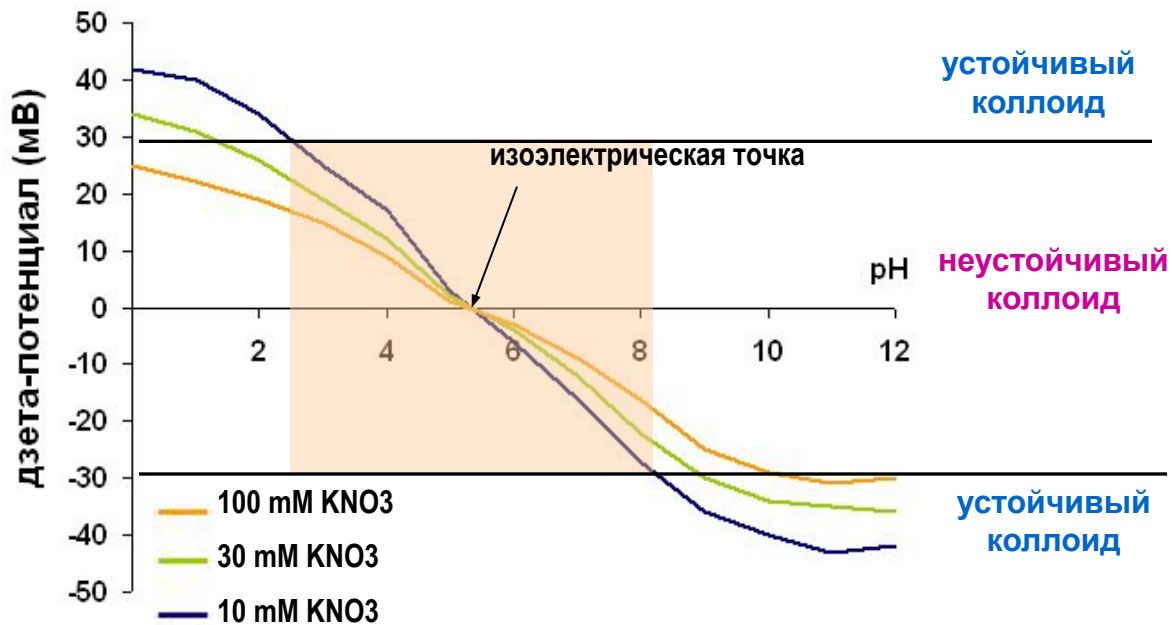
«...In tumor tissue, the vasculature is discontinuous, and pore sizes vary from 100 to 780 nm. By comparison, normal vascular endothelium is 2 nm in most tissues, 6 nm in postcapillary venules, 40–60 nm for the kidney glomerulus, and up to 150 nm for sinusoidal epithelium of the liver and spleen...»

**Преимущество 2.** Возможность создания сверхлокальных повреждений размером от нескольких нанометров до микрометров при облучении короткими световыми импульсами длительностью от фемто- до наносекунд

Длительность импульса	эффективный радиус воздействия	типы мишеней
1 sec	350 мкм	
1 ms	10 мкм	Клетки, капилляры
1mks	0.35 мкм	Клеточные органеллы
1ns	10 nm	Наночастицы, биомолекулы
1ps	0.3 nm	кластеры
1fs	0.1 А	молекулы

Теоретически рассчитанная глубина диффузии тепла в зависимости от длительности лазерного импульса

**Преимущество 3.** Возможность манипулирования свойствами нанофотосенсибилизаторов (степень агрегации, спектральные характеристики, тропность к окружающим биомолекулам, тканям и органам) на всех этапах от введения до выведения из организма с целью оптимизации тактики диагностики и лечения.





**Преимущество 4.** Более широкие возможности использования методов физического воздействия для **терапии** (световое, включая ближний инфракрасный диапазон, магнитное, электрическое, лучевое или ультразвуковое воздействие).

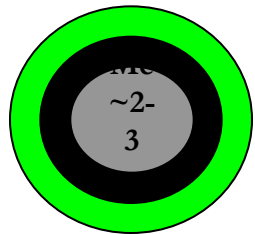
**Преимущество 5.** Существует принципиальная возможность использования существенно более дешевых лазерных источников (**800 нм**), по сравнению с используемыми для молекулярных фотосенсибилизаторов, излучение которых к тому же более глубоко проникает в биоткань как для визуализации, так и для терапии.

**Преимущество 6.** Существует принципиальная возможность прецизионного **программируемого** воздействия на опухоли, например послойного от периферии к центру, или с глубины на поверхность.

Примеры некоторых разрабатываемых  
нами наночастиц и нанотехнологий в  
сотрудничестве с другими  
организациями и отдельными  
исследователями

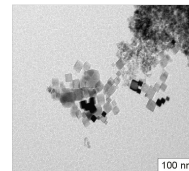
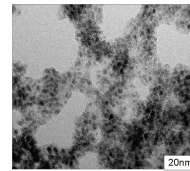
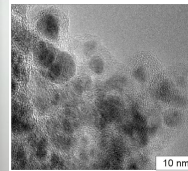
# Лазерная фотодеструкция раковых опухолей с применением углеродсодержащих нанокompозитов

Нанокompозиты. Металлы или оксиды, покрытые углеродом и биополимером

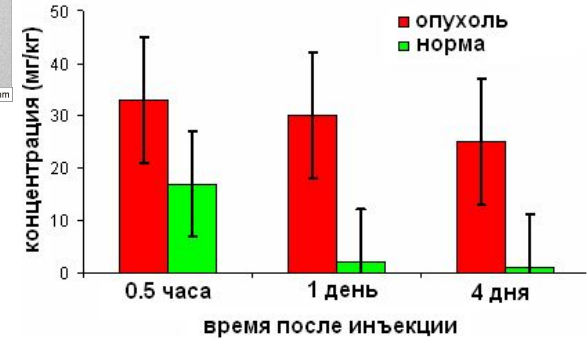


биополимер

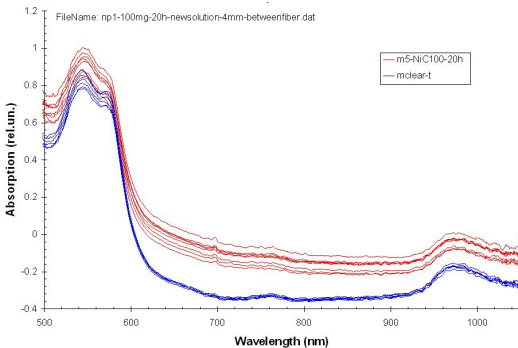
углерод



Первый шаг - аккумуляция наночастиц Fe@C, покрытых биополимером (Проксанол 268, полиэтиленгликоль) в опухоли (красный цвет) и (зеленый) в нормальных тканях после введения препарата с наночастицами внутривенно лабораторным животным



Селективность накопления в опухолевой ткани



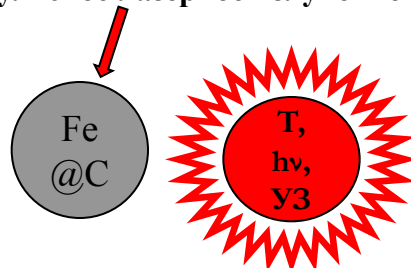
Спектры поглощения опухоли и нормальной ткани через 20 часов после введения наночастиц

Второй шаг - воздействие импульсным лазерным излучением на наночастицы в опухоли через кожу

Опухоль с наночастицами Fe@C, внутривенное введение

Опухоль без наночастиц

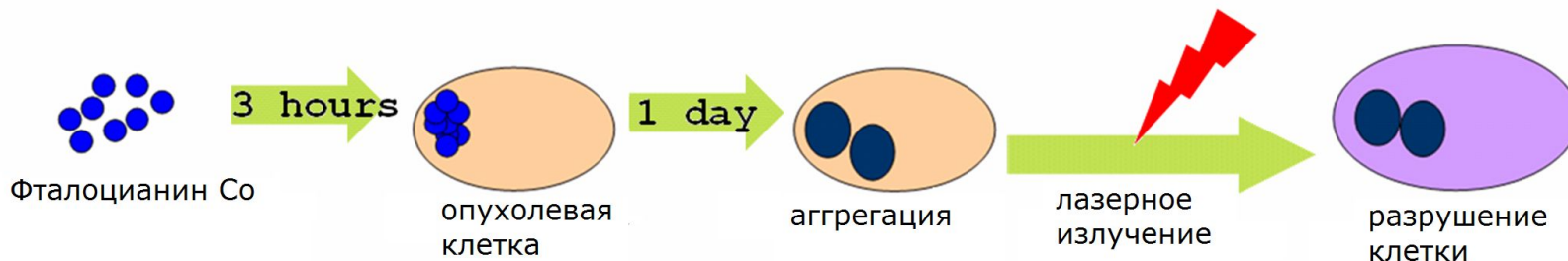
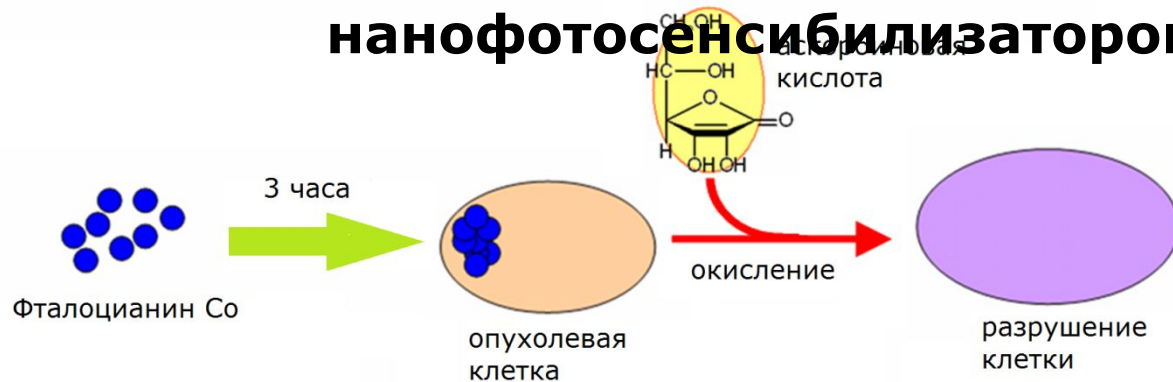
Импульсное лазерное излучение



Один день после лазерного облучения Ti-сапфировый импульсный лазер 800 нм, 3 пс, 1кГц

Два дня после лазерного облучения

# Принципы лазерной гипертермии и каталитической терапии с использованием нефлуоресцирующих нанофотосенсибилизаторов



**Некроз после  
лазерного облучения  
опухоли с  
наночастицами  
фталоцианина  
кобальта**

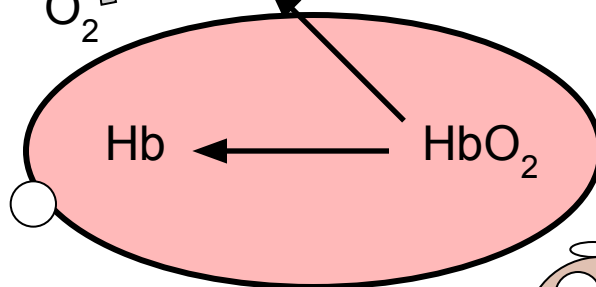
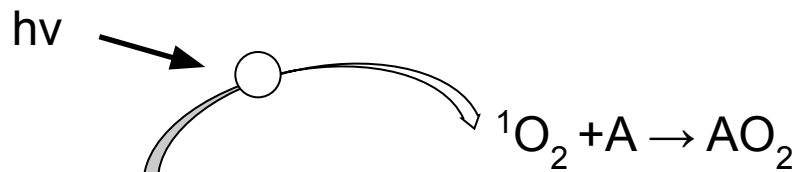
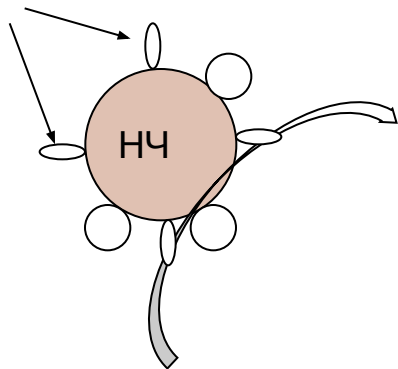


**Совместно с ФГУП ГНЦ  
«НИОПИК» при поддержке  
правительства Москвы**

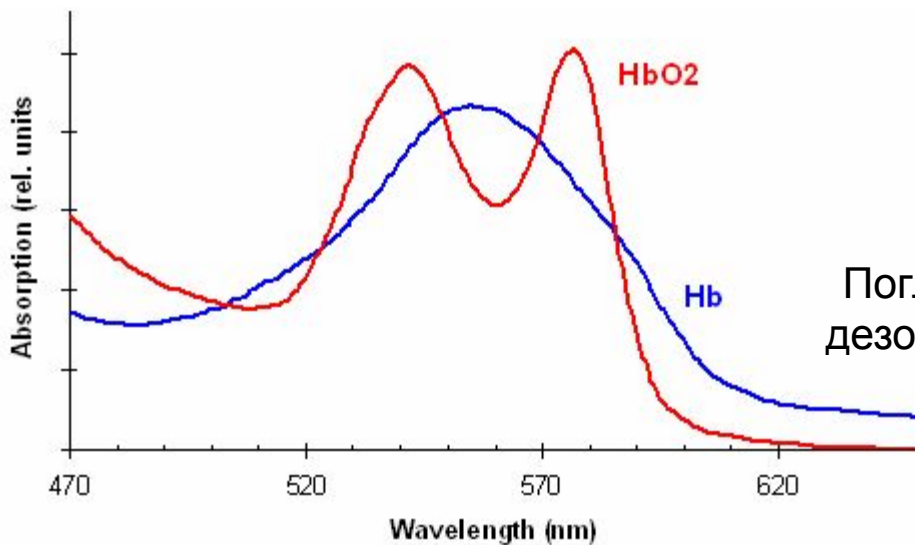
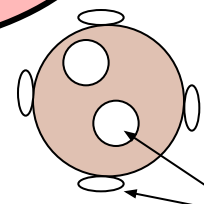
**A.V. Ryabova, S.Yu. Vasil'chenko, A.I. Volkova, O.L. Kaliya, and V.B. Loschenov. Cobalt Phthalocyanine Nanoparticles Capable Of Reversible Aggregating In Biotissues Under Physical Action. // AIP Conference Proceedings Volume 1275. BONSAI PROJECT SYMPOSIUM: BREAKTHROUGHS IN NANOPARTICLES FOR BIO-IMAGING. 2010. pp. 121-127**

# Фотодинамическая активность в присутствии суспензии эритроцитов

Молекулы фотосенсибилизатора в орто-положении

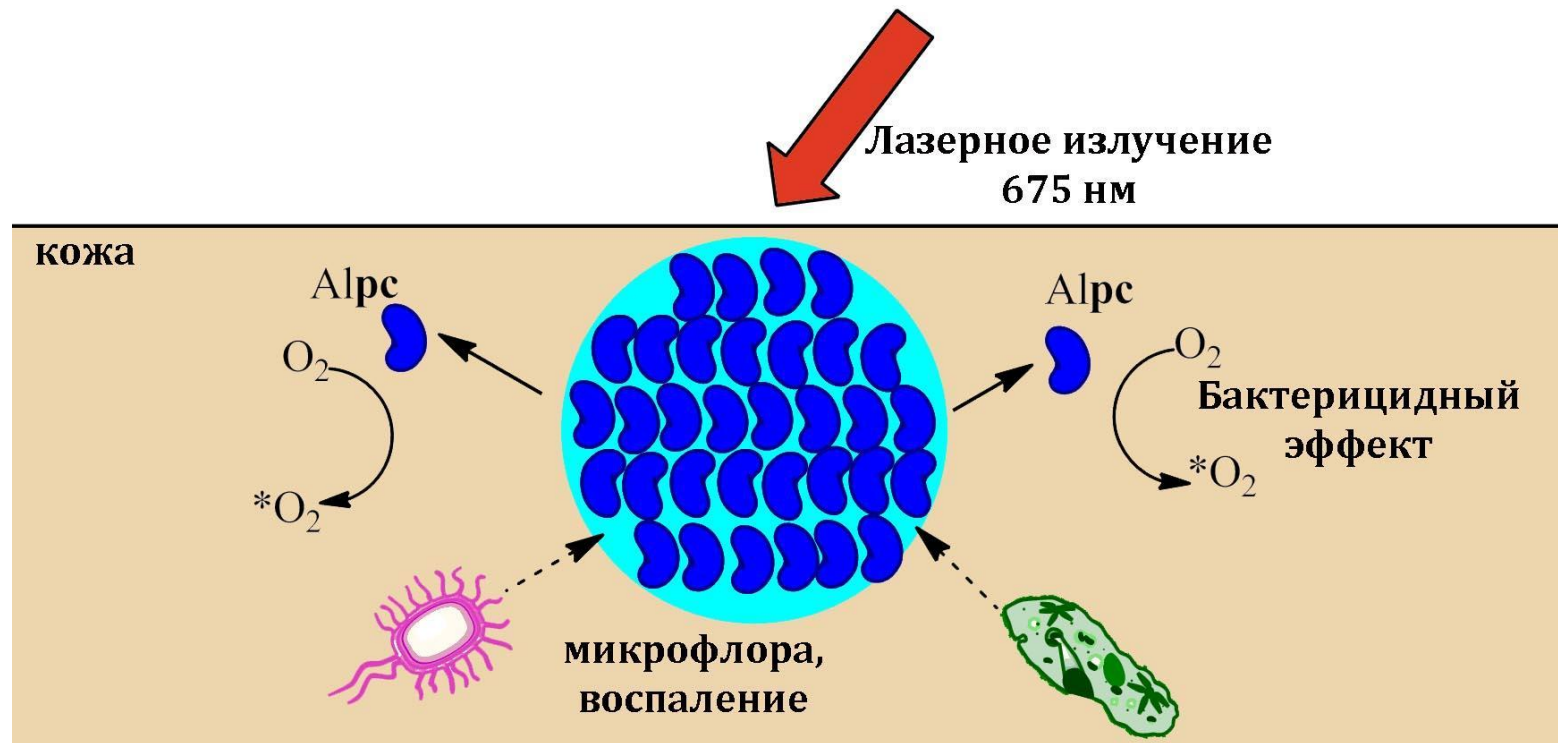


Повреждения мембраны эритроцита



Поглощение оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина

# Принципы флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии с использованием нанофотосенсибилизаторов



S.Yu. Vasilchenko, A.I. Volkova, A.V. Ryabova, V.B. Loschenov, V.I. Konov, A.A. Mamedov, S.G. Kuzmin and E.A. Lukyanets. Application of aluminum phthalocyanine nanoparticles for fluorescent diagnostics in dentistry and skin autotransplantation. // Journal of Biophotonics, 2010. №. 5–6. p. 336–346

# Использование НЧ фталоцианина алюминия для контроля за динамикой приживления

Схема получения коллоидного раствора наночастиц фталоцианина алюминия

Исходные кристаллы водонерастворимого фталоцианина алюминия  
0,1 – 200 мкм

Ультразвуковая диспергация  
15 мин, 70 Вт

Наночастицы фталоцианина алюминия  
50-200 нм

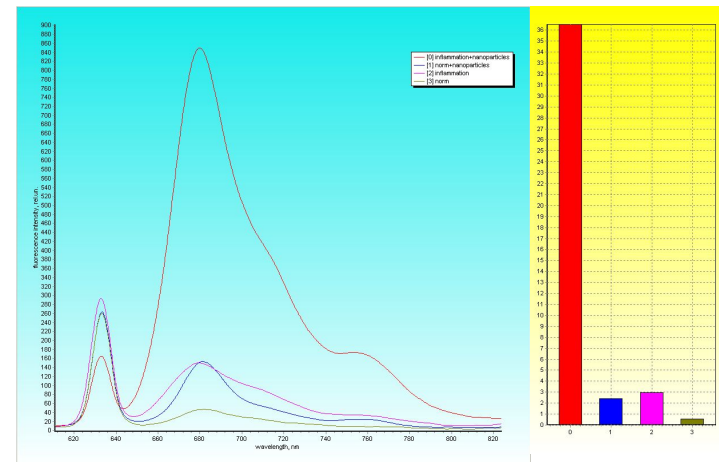


Водорастворимая (слева) и водонерастворимая (справа) формы фталоцианина алюминия. Изображение в видимом свете и флуоресцентное изображение при возбуждении на длине волны 632 нм.

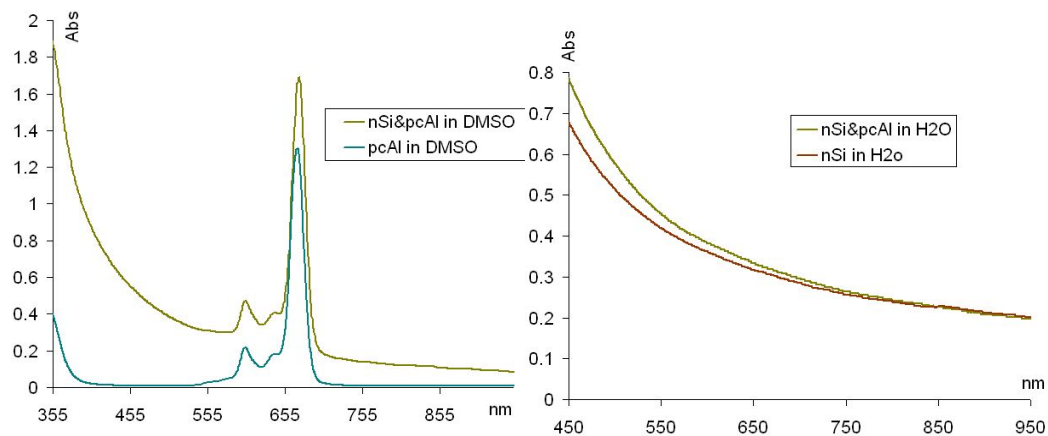
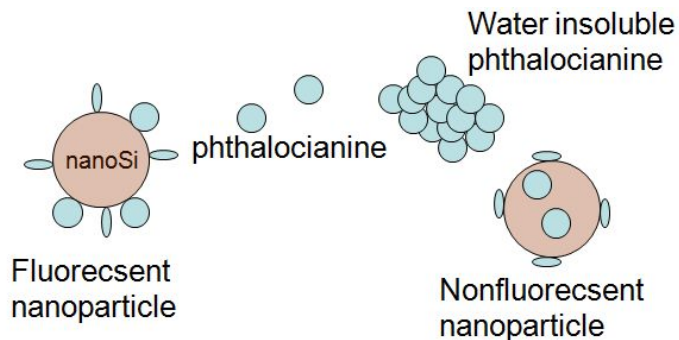
НЧ фталоцианина алюминия растворяются в воспаленной ткани вследствие активности энзимов.



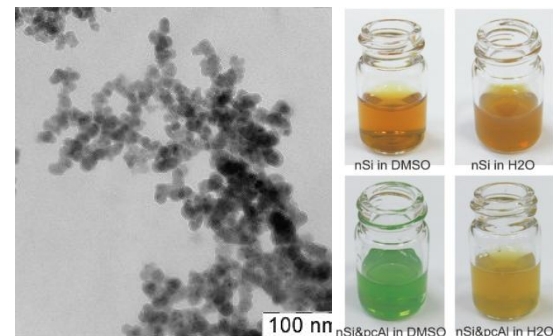
Флуоресценция фталоцианина алюминия после аппликационного применения НЧ (250 мг/л, 3 ч).



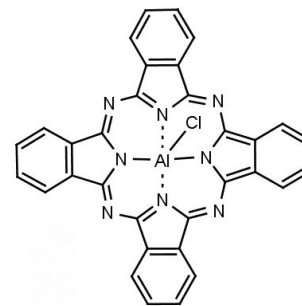
Спектры флуоресценции трансплантата и здоровой кожи до и после аппликации НЧ.



Absorption spectra of silicon nanoparticles covered by pcAl and pcAl in DMSO (a) and in H<sub>2</sub>O (b).



TEM photo of silicon nanoparticles covered by pcAl. (b) View of silicon nanoparticles colloids in DMSO and H<sub>2</sub>O before covering (up) and after covering with pcAl (down).

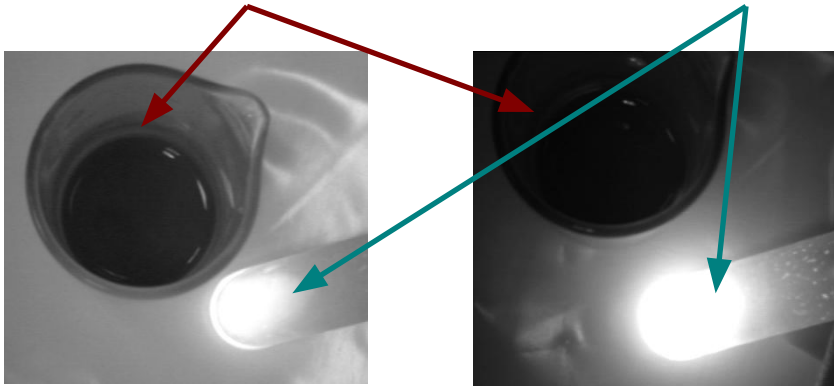


Al phthalocyanine molecule (b)



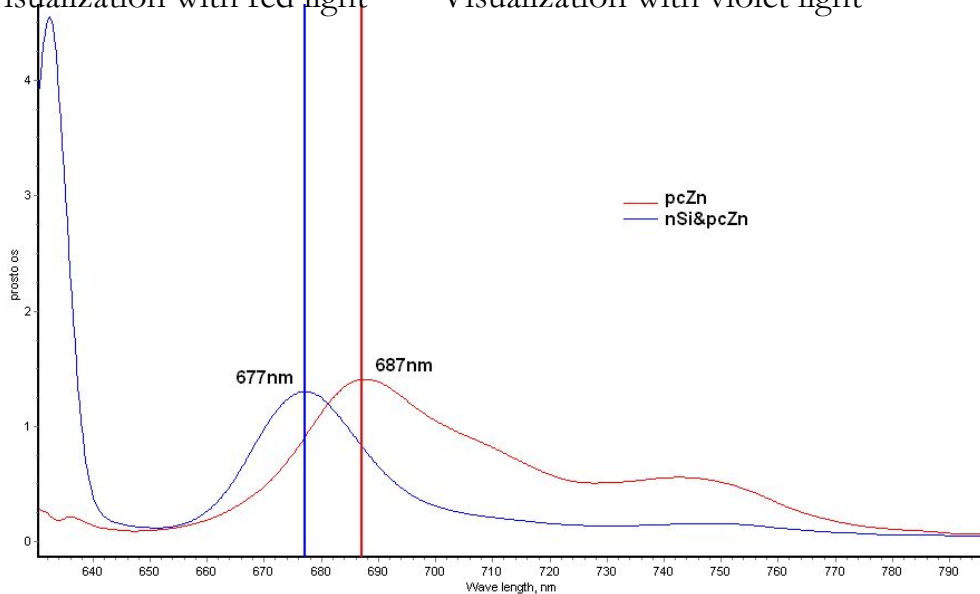
# Italian Si 2312&pcZn

High concentrated in EtOH dissolved



Visualization with red light

Visualization with violet light

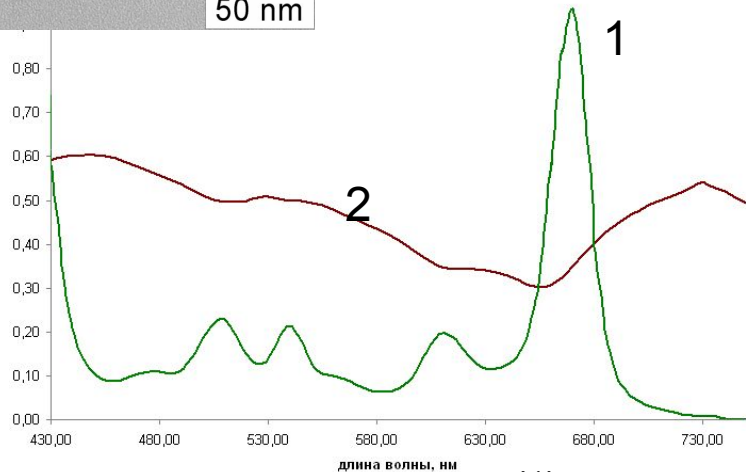
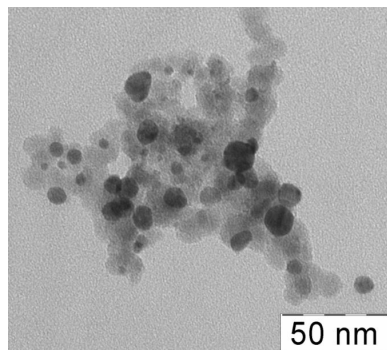


The luminescence of solution for input (2mg/ml) sample nSi&pcZn&emucsol7.

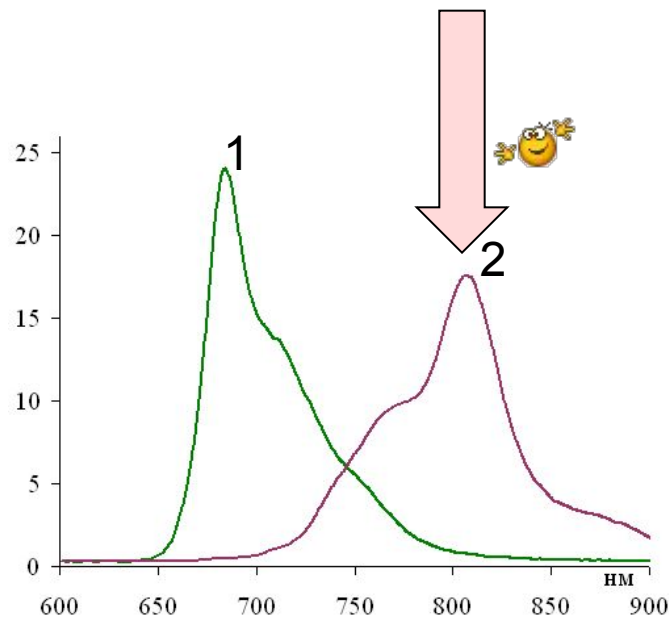
No acute toxicity was observed

Spectra of luminescence Si2312&pcZn in EtOH (excitation 633 nm)

# метилфеофорбид в молекулярном и наноразмерном состоянии в истинных и коллоидных растворах



Спектры поглощения истинного (1) и коллоидного (2) растворов метилфеофорбида

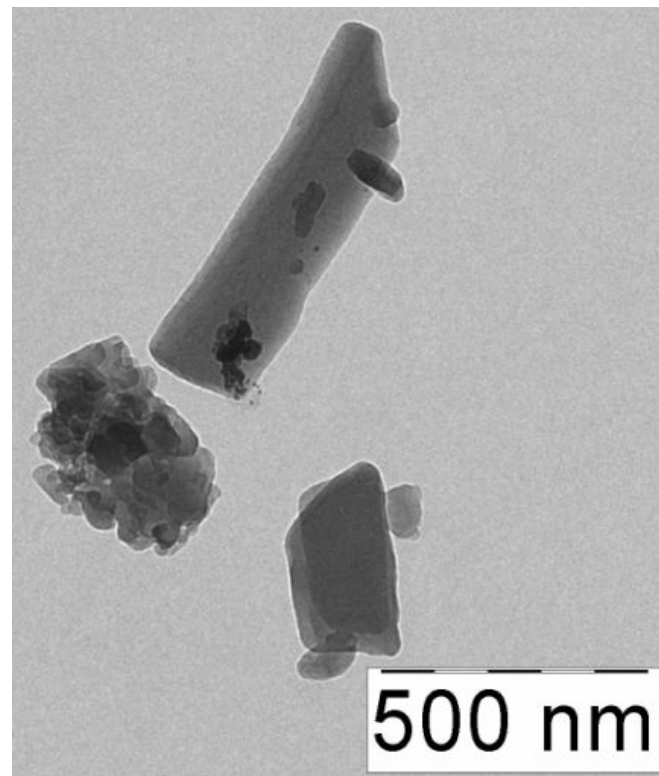
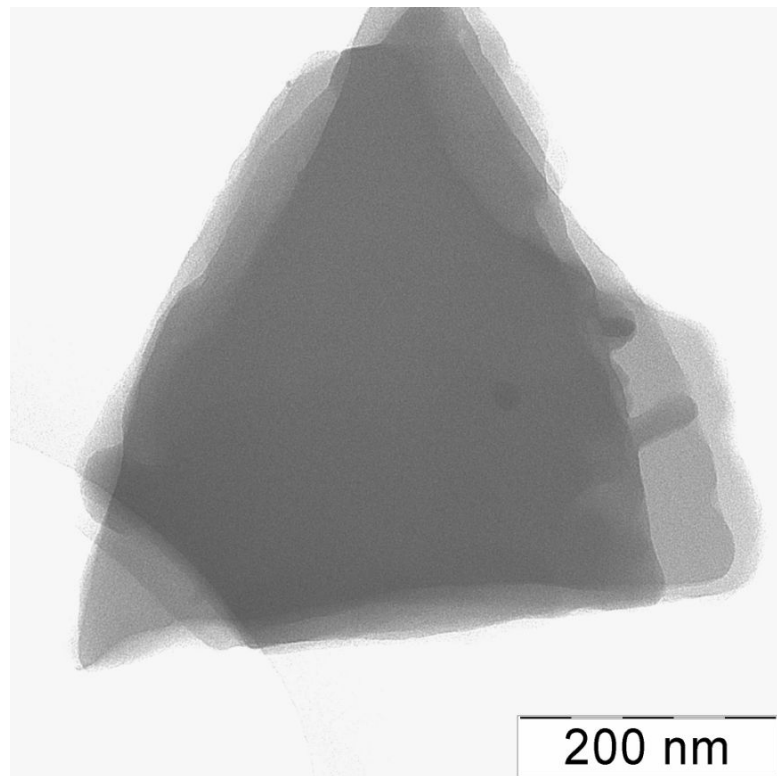


Спектры флуоресценции истинного (1) и коллоидного (2) растворов метилфеофорбида.

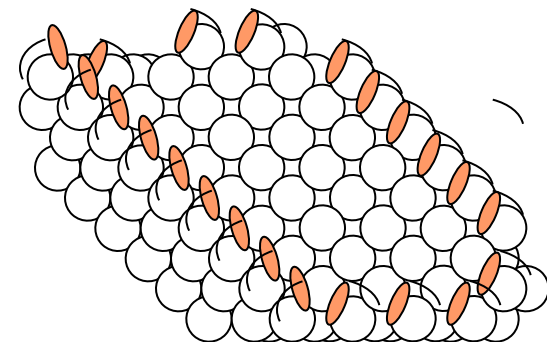
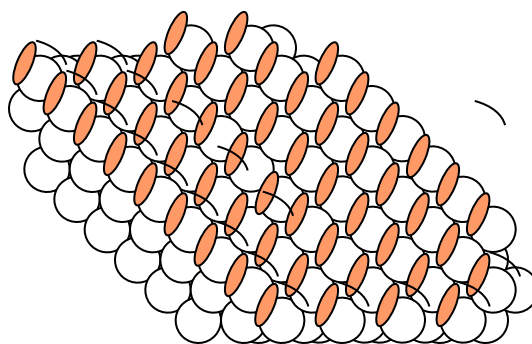
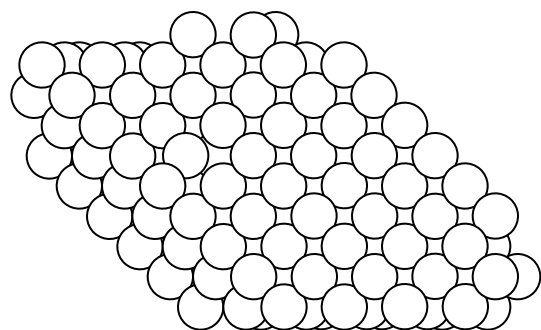
## Парадокс:

Спектры поглощения НЧ метилфеофорбида А говорят о высоком коэффициенте поглощения во всем диапазоне видимого света, за исключением полос поглощения мономолекулярного метилфеофорбида. Это свойство позволит использовать НЧ метилфеофорбида как универсальный биосовместимый акцептор световой энергии.

Спектры флуоресценции НЧ метилфеофорбида имеют максимум на 810 нм и форму, зеркально отраженную форме спектра флуоресценции мономолекулярного метилфеофорбида.

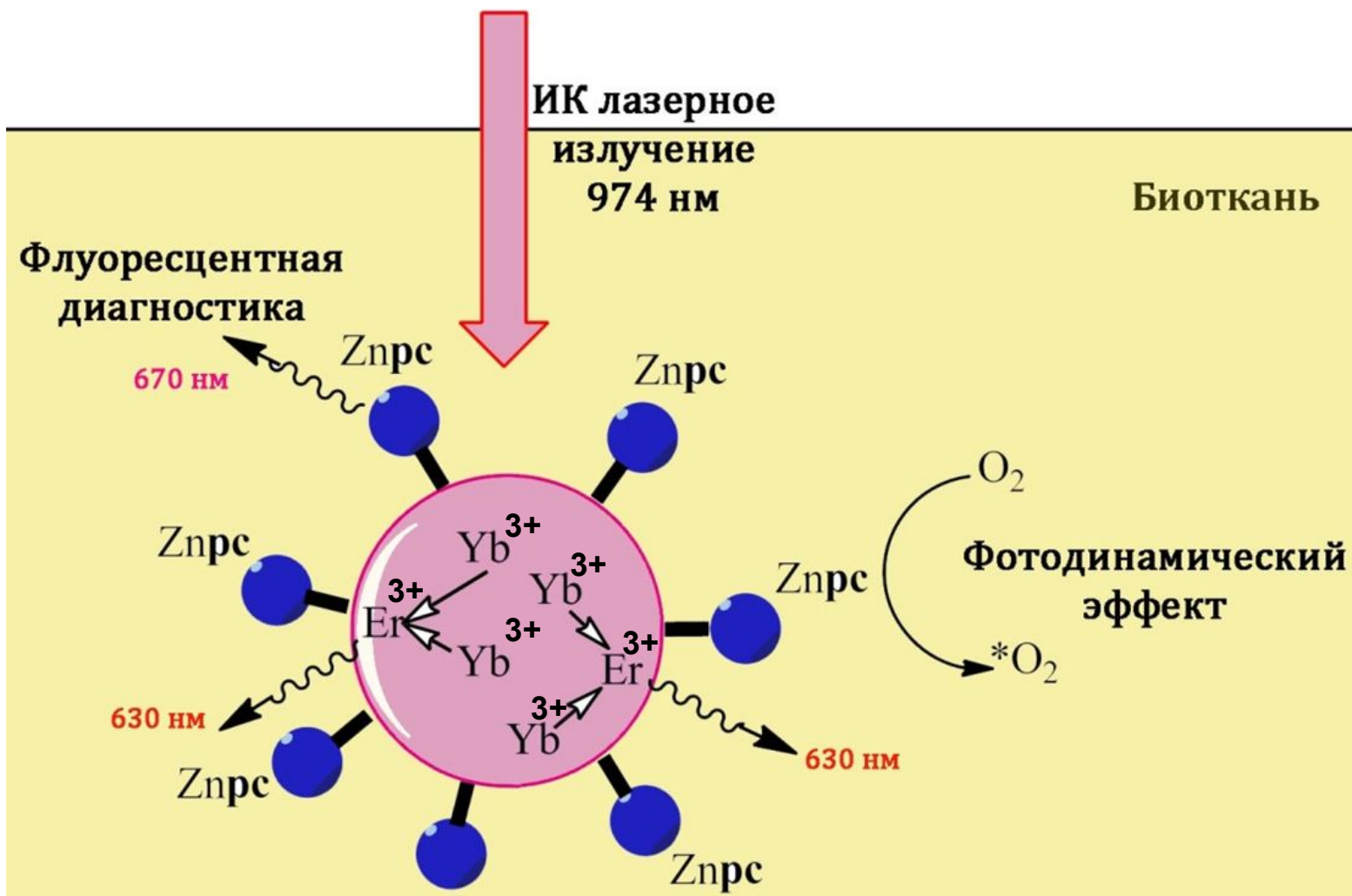


ПЭМ наночастиц феофорбида



Схематические изображения флотирующих молекул на наночастицах феофорбидах

# Принципы флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии с наночастицами РЗЭ



# Использование спектроскопии наночастиц на основе поликристаллов $Gd_{14}B_6Ge_2O_{34}$ и стекол $La_2O_3 - B_2O_3$ , активированных ионами $Nd^{3+}$ , для диагностики рака.

А.В. Попов, А.В. Рябова, М.Г. Комова, В.А. Крутько, О.Б. Петрова, В.Б. Лощенов, Ю.К. Воронько. // «Квантовая электроника», Т. 40, в печати.

## Диагностика:

Gd – МРТ

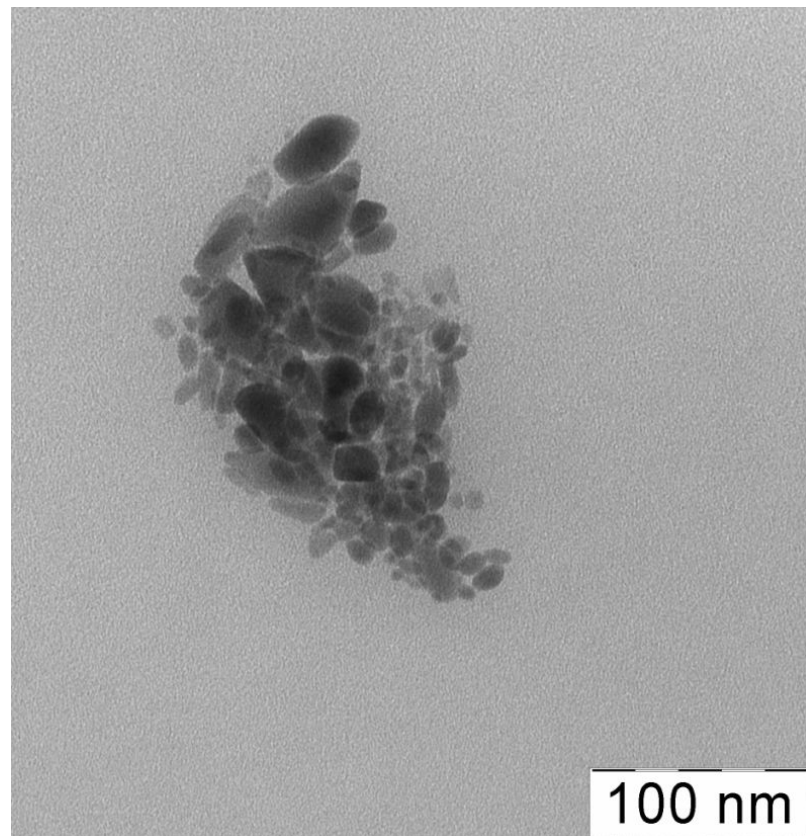
$Nd^{3+}$  - флуоресценция в ближнем ИК-диапазоне

## Терапия:

B – НЗТ

Gd – НЗТ

$Nd^{3+}$  - гипертермия

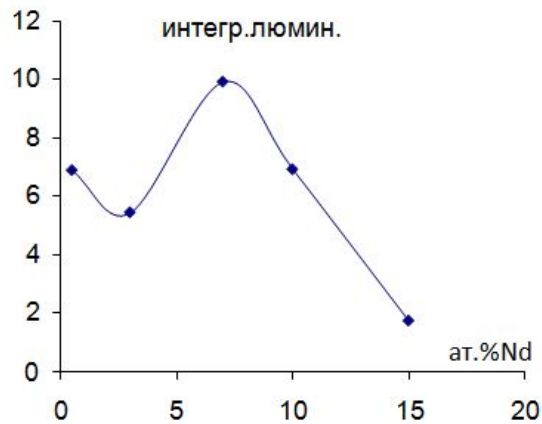
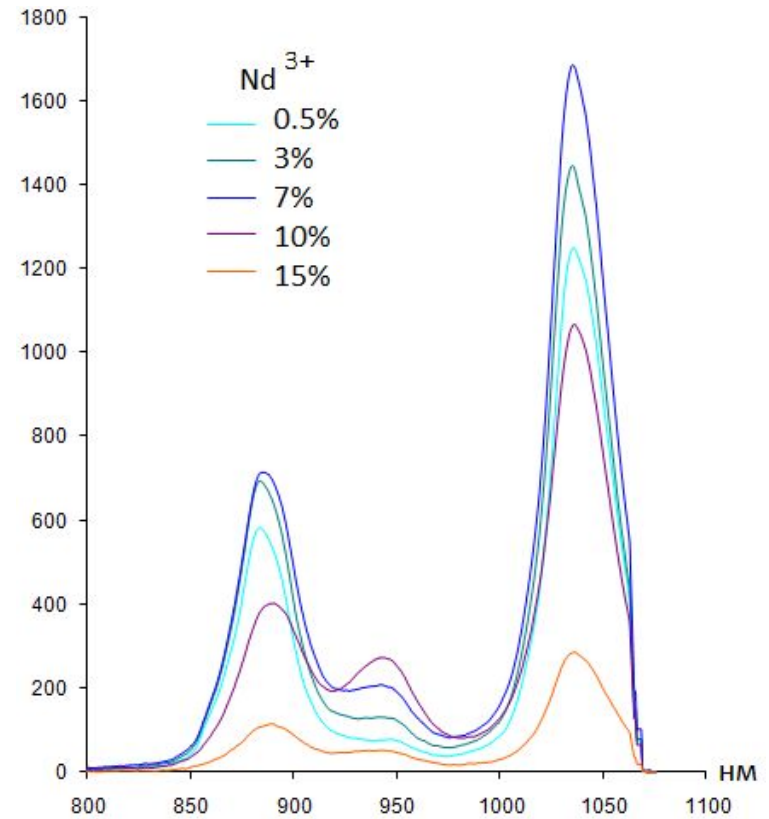
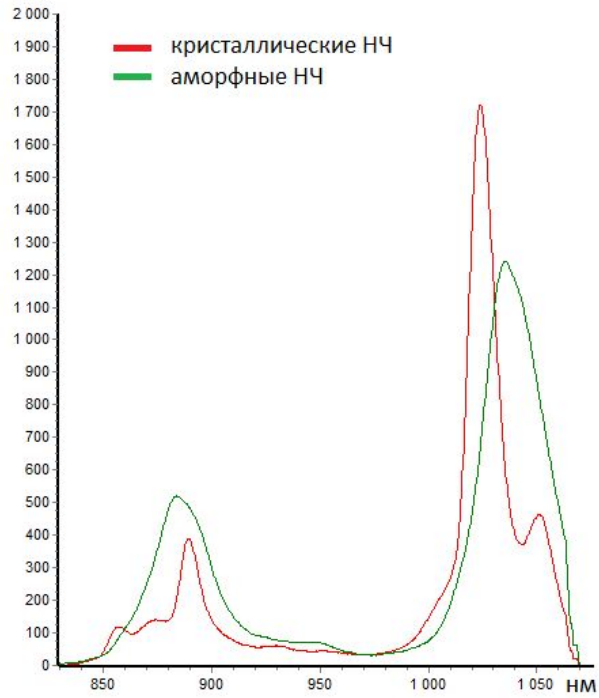


Поликристаллические боратогерманаты  $Gd_{14}(BO_3)_6(GeO_4)_2O_8:Nd^{3+}$  ( $Nd^{3+}$ : 0.5, 3.0, 7.0, 10, 15 ат.%)

получали при 1520К методом твердофазного синтеза (ИОНХ РАН).

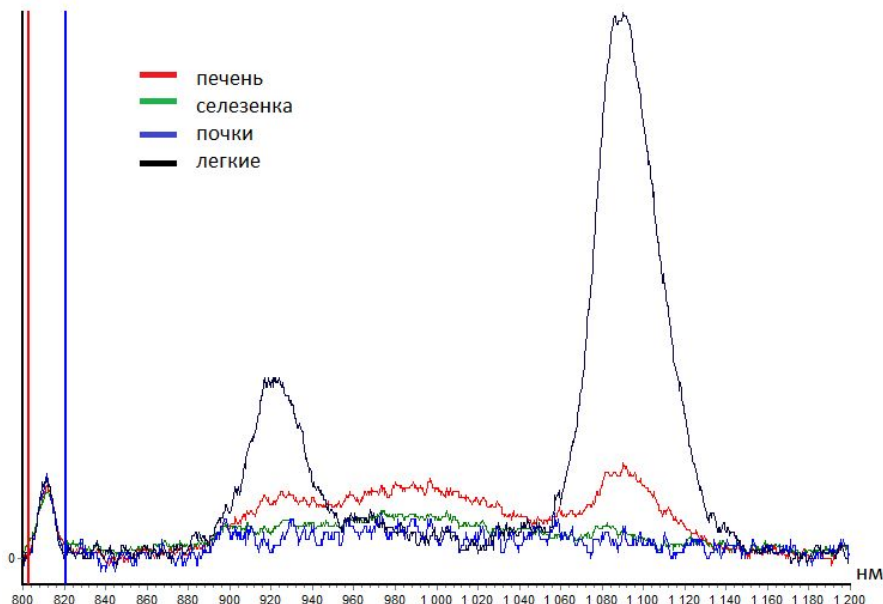
*Совместно с лабораторией Спектроскопии кристаллов и стекол  
(Воронько Юрий Козьмич, Попов Александр Владимирович)*

# Спектры люминесценции НЧ с $\text{Nd}^{3+}$ при возбуждении лазером 810 нм.

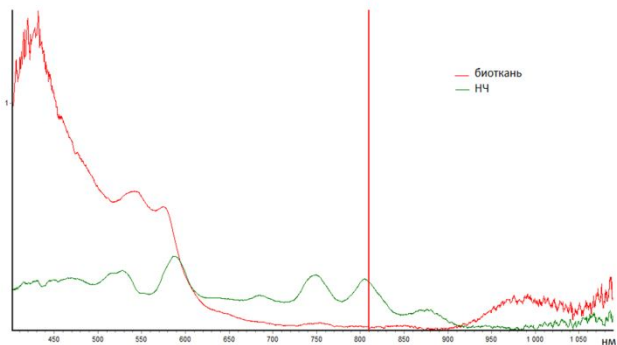


*Зависимость интегральной люминесценции НЧ в зависимости от ат.%  $\text{Nd}^{3+}$ .*

# исследования на экспериментальных животных



*Спектры флуоресценции тканей мыши через час после внутривенного введения коллоида наночастиц.*

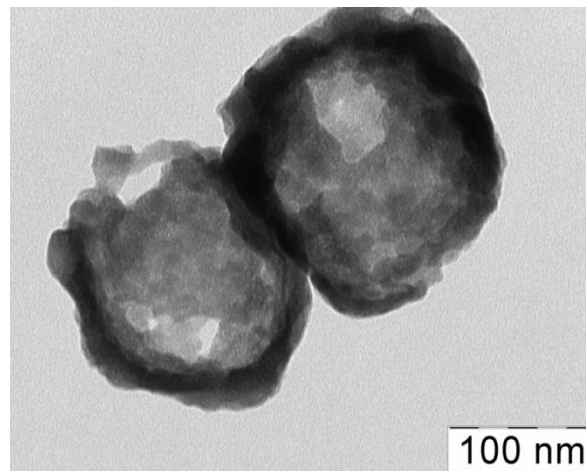
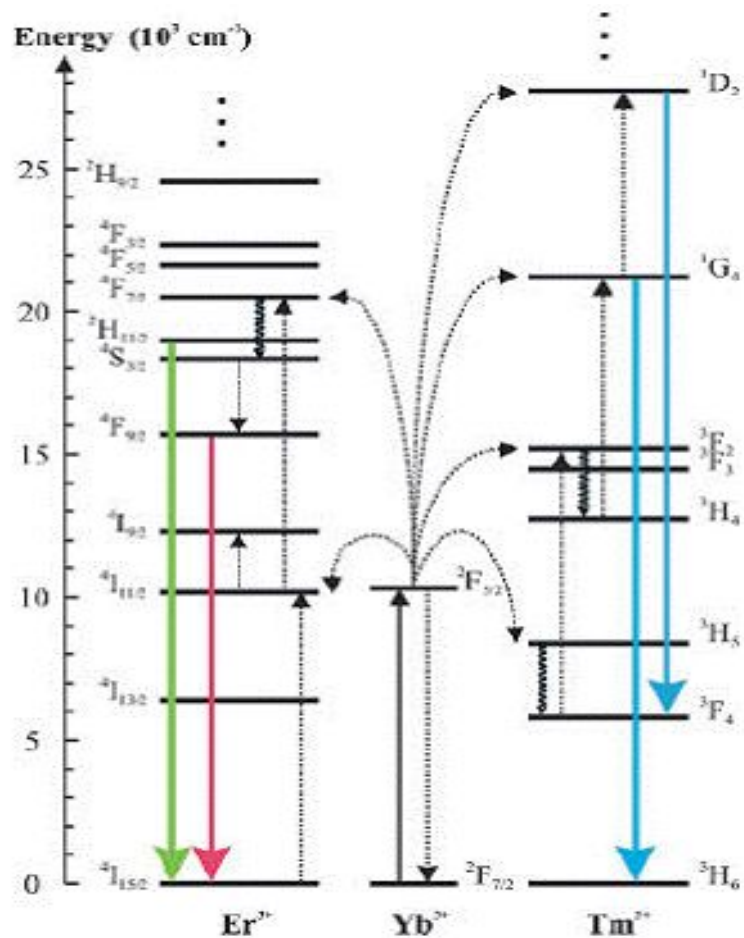


Водный коллоид НЧ  
 $Gd_{14}(VO_3)_6(GeO_4)_2O_8:7 \text{ ат\% } Nd^{3+}$   
 вводили в хвостовую вену в объеме  
 0.2 мл в концентрации 2 мг/мл (доза  
 = 16 мг/кг).

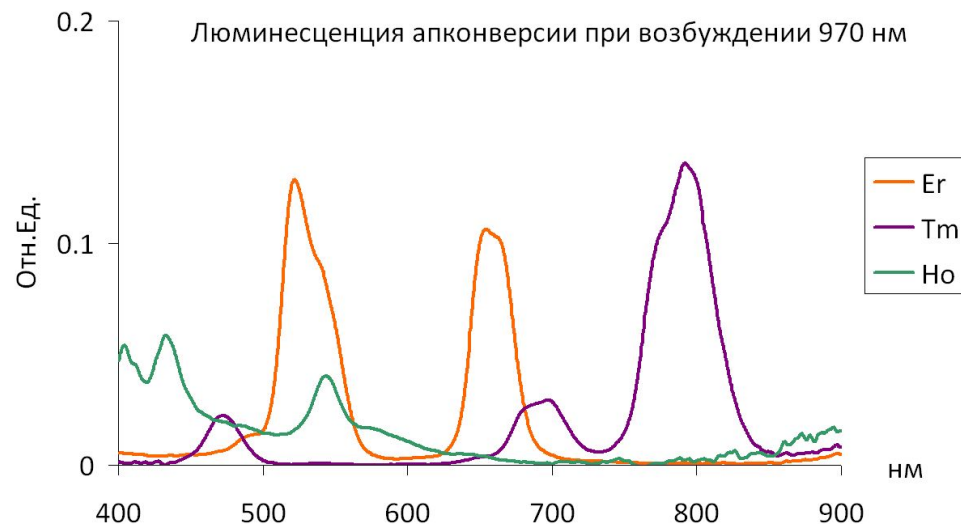
	Концентрация (мг/кг)
Доза	16.0
Печень	20.9
Селезенка	10.3
Почки	5.6
Легкие	71.1

*Распределение НЧ по внутренним органам (данные флуоресцентной спектроскопии).*

# Апконверсия наночастиц



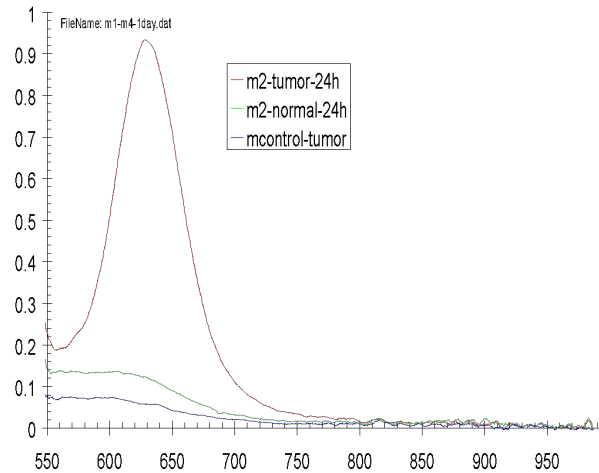
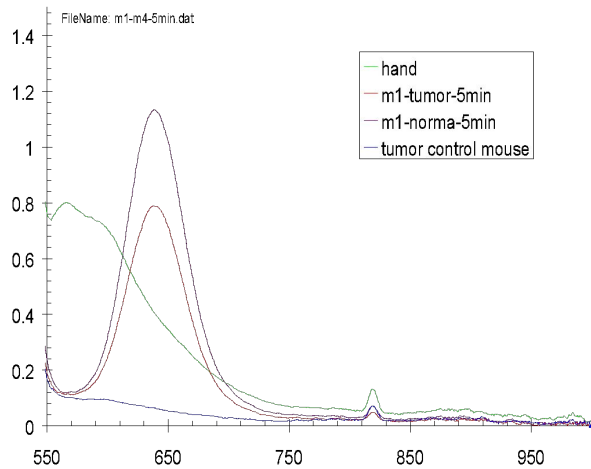
ПЭМ образца  $\text{NaY}_{0.8}\text{Yb}_{0.17}\text{Er}_{0.03}\text{F}_4$



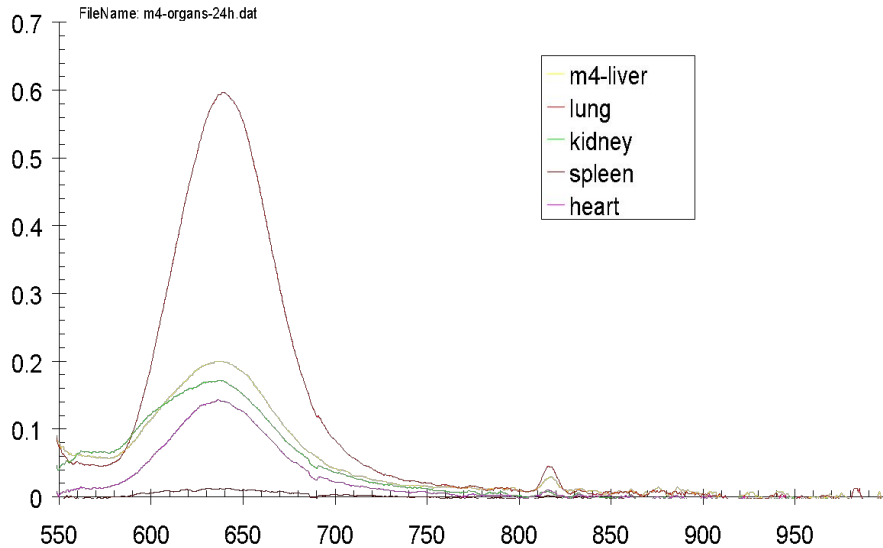
Совместно с лабораторией Технологии наноматериалов для фотоники  
(Федоров Павел Павлович, Кузнецов Сергей Викторович, Даша)



# Luminescence spectra of tumor and normal muscular tissues in 5 minutes and 24 h after system administration of classical quantum dots in dose of 20 mg/kg in vivo.



**Green line – hand luminescence for comparison, red – tumor, dark-blue normal tissue, light blue – control (tumor before input).**



**Quantum Dots lead to the brightness of the luminescence, however, the wavelength of luminescence is not optimal.**

Luminescence spectra in different organs (post mortem) in 24 hours after input of CdTe quantum dots in a dose of 20 mg/kg.

Спасибо за внимание!

