

**ИТТЕРБИЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПОРФИРИНОВ
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ**

**В.Д. Румянцева^{1,3,@}, А.Е. Щелкунова¹, А.С. Горшкова¹, Ю.В. Алексеев²,
И.П. Шилов³, А.В. Иванов⁴, Е.В. Давыдов⁵, А.Ф. Миронов¹**

¹Московский технологический университет (Институт тонких химических технологий), Москва, 119571 Россия

²ГНЦ лазерной медицины ФМБА, Москва, 121165 Россия

³Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Фрязино, Московская область, 141190 Россия

⁴Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва, 115478 Россия

⁵Институт ветеринарно-санитарной экспертизы, биологической и пищевой безопасности Московского государственного университета пищевых производств, Москва, 109029 Россия

@ Автор для переписки, e-mail: vdrum@mail.ru

Рассмотрены области применения солей иттербия и иттербиевых комплексов с порфиринами в качестве лечебных и диагностических средств. Приведен синтез 2,4-диметоксигематопорфирина IX, исходя из гемина крови. Получена дикалиевая соль Yb-комплекса этого порфирина, исследованная в качестве перспективного нефототоксичного маркера для люминесцентной диагностики новообразований. Изучены основные фотофизические характеристики данного Yb-комплекса (электронные спектры поглощения, время жизни и интенсивность люминесценции, относительный квантовый выход 4f-люминесценции). Показано влияние колебаний ОН-осцилляторов на тушение люминесценции иона Yb³⁺ в его комплексах с порфиринами, при этом максимальная интенсивность люминесценции наблюдается в растворе 100%-го ДМСО. С целью применения Yb-комплексов для дифференциальной диагностики патологических изменений кожи и слизистых оболочек создана фармацевтическая композиция на основе различных гелей. На основании этого впоследствии выявлено, что при люминесценции в ближнем ИК-диапазоне (900–1100 нм) достигаются высокие значения диагностического контрастного индекса измененная/здоровая ткань (3÷15). Время накопления фармацевтических композиций в различных новообразованиях составляет менее 1 часа. Предложенные фармацевтические композиции позволяют обнаруживать поврежденные участки тканей, не выявляемые визуально, и проводить контроль за лечением воспалительных заболеваний кожи и слизистых оболочек.

Ключевые слова: иттербий, порфирины, иттербиевые комплексы, фотосенсибилизаторы, люминесцентная диагностика, фармацевтические композиции.

**YTTERBIUM PORPHYRINS COMPLEXES
AND THEIR APPLICATION IN MEDICINE**

**V.D. Rumyantseva^{1,3,@}, A.E. Shchelkunova¹, A.S. Gorshkova¹, Yu.V. Alekseev²,
I.P. Shilov³, A.V. Ivanov⁴, E.V. Davydov⁵, A.F. Mironov¹**

¹Moscow Technological University (Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

²State Scientific Center of Laser Medicine FMBA, Moscow, 121165 Russia

³Kotel'nikov Institute of Radioengineering and Electronics RAS, Fryazino, Moscow region, 141190 Russia

⁴Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478 Russia

⁵Institute of Veterinary-Sanitary Examination, Biological and Food Security, Moscow State University of Food Production, Moscow, 109029 Russia

@Corresponding author e-mail: vdrum@mail.ru

Malignant tumors are the second most frequent cause of death after cardiovascular diseases. The photodynamic therapy based on the interaction of laser light with different photosensitizers was discovered in the 20th century as one of treatment methods. When using photosensitizers, the process of singlet oxygen and other active forms generation is observed in both malignant and healthy body tissues, which leads to a number of adverse reactions. More promising diagnostic compounds that do not have these disadvantages are ytterbium porphyrin complexes. These compounds slightly generate singlet oxygen under light irradiation, while maintaining a high level of tumortropic agents as for therapeutic photosensitizers.

This work continues a series of studies devoted to the analysis of physicochemical properties of Yb-complex 2,4-dimethoxyhematoporphyrin IX as a promising marker for fluorescent diagnostics of various tumors. Pharmaceutical compositions based on Yb³⁺-dimethoxyhematoporphyrin IX dipotassium salt were created. These compositions are capable of accumulating in the sites of inflammation and proliferation in diseases of mucosal membranes and cancer lesions. Toxicological and pharmacokinetic studies were carried out with the use of laboratory animals and volunteers. The analysis results showed that the pharmaceutical compositions are perspective for use in clinical practice.

Keywords: *ytterbium, porphyrins, ytterbium complexes, photosensitizers, luminescent diagnostics, pharmaceutical compositions.*

Введение

Злокачественные новообразования по смертности занимают второе место после сердечно-сосудистых заболеваний. Одним из направлений борьбы с этими тяжелыми заболеваниями является открытый в XX веке метод фотодинамической терапии (ФДТ), для которого вначале использовали терапевтические фотосенсибилизаторы (ФС) первого поколения порфиринового ряда – фотофрин II, отечественный фотогем и др., затем второго поколения: на основе хлоринов – фоскан, фотодитазин, радахлорин и др., на основе фталоцианинов – фотосенс [1]. В последнее время получают распространение препараты третьего поколения на основе производных бактериохлоринов, однако эти препараты менее эффективны как диагностические средства вследствие того, что их люминесценция относительно низка. При этом всегда наблюдается процесс генерации синглетного кислорода и других активных форм как в злокачественных, так и в здоровых тканях организма, что приводит к ряду побочных реакций. Более перспективными соединениями, у которых отсутствуют указанные недостатки, являются иттербиевые комплексы порфиринов, впервые предложенные для диагностики новообразований в нашей стране [2]. Данные соединения при облучении светом слабо генерируют синглетный кислород, сохраняя при этом высокий уровень туморотропности терапевтических ФС.

Еще до предложения Yb-комплексов порфиринов в качестве диагностических средств соли лантанидов применяли для лечения различных заболеваний. Китайские авторы изучали поглощение, распределение и метаболизм их солей в организме [3]. Так, после внутривенной инъекции ¹⁶⁹Yb наиболее высокое содержание наблюдается в эндоплазматической сети и митохондриях, наименьшее – в

ядре клетки. Редкоземельные элементы проникают в печень достаточно быстро и легко выводятся оттуда главным образом вместе с желчью. ¹⁶⁹Yb широко применяется в качестве диагностического агента при скинтиграфии внутренних органов, а также при лечении раковых заболеваний мозга, печени, сердца, легких, горла, костной системы и области таза. Применяемые для лечения дозы радиоактивных изотопов являются безопасными. При введении в область мозга препарата ¹⁶⁹Yb в комплексе с диэтилентриаминопентауксусной кислотой он через 14 дней полностью выводится из ЦНС, в тканях также не наблюдается аномальных явлений. Период полураспада изотопа ¹⁶⁹Yb составляет 31.8 дня.

Позднее изучалась антимикробная активность ионов Yb³⁺, свободного основания 5,10,15,20-тетраakis(4-метоксифенил)порфирина и его иттербиевого комплекса против *Staphylococcus aureus* с помощью микрокалориметрии остановленного потока, при этом Yb-комплекс проявил наибольшую активность (предположительно, за счет синергетического эффекта слияния Yb³⁺ и порфиринового основания) с IC₅₀ = 273 мг/л [4]. Дальнейшие исследования проводились на двух катионных Yb³⁺-комплексах: 5,10,15,20-тетраakis(4-метоксифенил)порфирина и 5,10,15,20-тетраakis(4-толил)порфирина [5]. Их антибактериальная активность тестировалась на клеточном и внутриклеточном уровнях против *Escherichia coli*. На внутриклеточном уровне посредством спектроскопии был изучен характер связывания Yb-комплексов с молекулой ДНК и сделан вывод о том, что проявивший большую активность Yb-комплекс 5,10,15,20-тетраakis(4-метоксифенил)порфирина является перспективным интеркалирующим агентом для антимикробной терапии.

В конце 1990-х годов нами совместно с немецкими учеными проводились исследования на лабо-

ракторных животных с Yb-комплексами порфиринов в качестве диагностических меток с использованием радиоактивного ^{169}Yb [6]. Было проведено сравнительное изучение накопления в здоровых и злокачественных тканях экспериментальных животных четырех Yb-комплексов: 5,10,15,20-тетраakis(4-карбокисфенил)-порфирина, 5,10,15,20-тетрасульфопорфирина, 5-фенил-10,15,20-трис(4-сульфопорфирина и дикалиевой соли 2,4-диметоксигематопорфирина IX. Оказалось, что преимущественно в опухолях накапливаются порфирины, имеющие в своем составе как гидрофобные, так и гидрофильные остатки: Yb-2,4-диметоксигематопорфирин IX и несимметричный водорастворимый трисульфотетрафенилпорфирин, что хорошо согласуется с литературными данными [7].

Для исследования цитотоксичности на примере нескольких Yb-комплексов порфиринов был проведен анализ клеточного поглощения без фотоактивации, который показал, что по сравнению с YbCl_3 биодоступность иттербиевого комплекса порфирина значительно выше [8]. Противораковый эффект проявляется через апоптоз раковых клеток, вызванный стрессом эндоплазматического ретикулума и нарушениями в функционировании митохондрий.

Настоящая работа продолжает серию исследований, посвященных анализу физико-химических свойств Yb-комплекса 2,4-диметоксигематопорфирина IX в качестве перспективного маркера для люминесцентной диагностики различных новообразований. На его основе были созданы фармацевтические композиции (ФК), обладающие способностью накапливаться в очагах воспаления и пролиферации

при заболеваниях слизистых оболочек и различных новообразованиях (гель «Флюроскан» № РОСС RU.0001.510608), а также была проведена оценка перспективы применения данных ФК в клинической практике.

Результаты и их обсуждение

Повышенный интерес к изучению люминесценции лантанидов в ближней ИК-области спектра (700–1100 нм) обусловлен возможностью использования этого диапазона для создания контрастных агентов с целью получения магнитно-резонансных изображений, востребованных в биологии и медицине.

Люминесценция самого иона Yb достаточно слабая, но она значительно усиливается в комплексах с порфиринами, что обусловлено переносом энергии с возбужденного макроцикла на ион Yb^{3+} [9, 10].

В процессе работы были исследованы основные фотофизические свойства иттербиевого комплекса 2,4-диметоксигематопорфирина IX: электронные спектры поглощения (рис. 1), время жизни и интенсивность люминесценции, относительный квантовый выход 4f-люминесценции. Данные свойства изучались в различных растворителях (вода, ДМСО и т.д.). Спектры поглощения исходных порфиринов состоят из интенсивной фундаментальной полосы Soret 370–420 нм (B-полоса) и четырех Q-полос в области 500–650 нм. При комплексообразовании полоса Soret становится более интенсивной и претерпевает незначительный bathochromic сдвиг (8–12 нм). Кроме того, наблюдаются две полосы в диапазоне 550–650 нм.

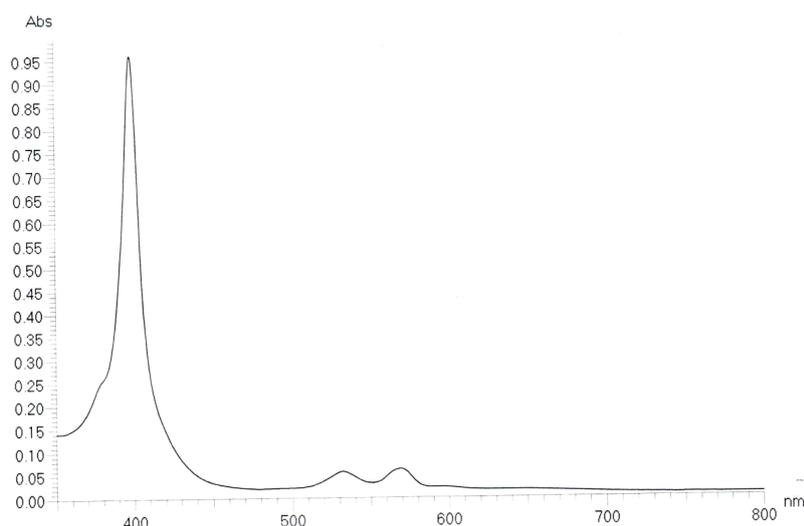


Рис. 1. Электронный спектр поглощения иттербиевого комплекса дикалиевой соли 2,4-диметоксигематопорфирина IX (40% раствор ДМСО, концентрация комплекса 10^{-5} М).

Спектральные и кинетические характеристики люминесценции некоторых образцов металлокомплексов представлены на рис. 2 и 3, где видна характерная для редкоземельных ионов узкая и достаточно

яркая линия люминесценции, которая для Yb^{3+} -иона находится в ИК-диапазоне 975–985 нм, в котором собственная люминесценция биотканей практически отсутствует.

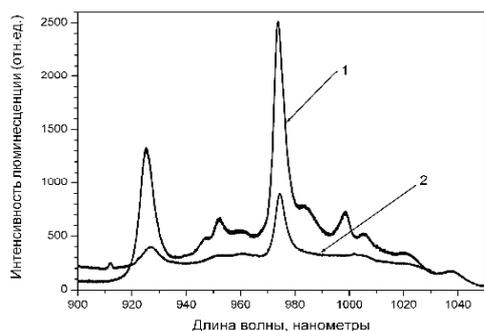


Рис. 2. Спектр люминесценции (в ДМСО):
1 – Yb-комплекс 5,10,15,20-тетра(1-*N*-(*n*-фторфенил)-3-(*o*-хлорфенил)пиразол-4-ил)порфирина;
2 – Yb-2,4-диметоксигематопорфирин IX.

Установлено, что время жизни (τ) для Yb-комплекса 2,4-диметоксигематопорфирина IX составляет 5–10 мкс, что существенно больше времени жизни люминесценции неодимовых комплексов порфиринов (0.72–1.34 мкс). Спад люминесценции имеет неэкспоненциальный характер, что обусловлено сильным тушением люминесценции колебаниями ОН-групп из ближайшего окружения иона иттербия. Как видно из рис. 3, τ для Yb(асас)-комплекса 5,10,15,20-тетраakis(1-*N*-(*n*-фторфенил)-3-(*o*-хлорфенил)пиразол-4-ил)-порфирина составляет около 20 мкс, 5–10 мкс для Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX и ~8 мкс для Yb-комплекса 5,10,15,20-тетраakis(4-карбоксифенил)порфирина.

Достигнутый результат превосходит все известные нам данные по τ для иттербиевых комплексов, полученные другими исследовательскими коллективами. В дальнейшем это может привести к существенному снижению дозы вводимого препарата при возможном сохранении значений коэффициента диагностического контраста.

Измеренный квантовый выход люминесценции иона иттербия в комплексе Yb–ТФП составил 0.4%. Квантовый выход люминесценции в Yb-2,4-диметоксигематопорфирине IX (20% раствор ДМСО) составил уже 0.86%, что хорошо согласуется с литературными данными [11].

Необходимо также отметить, что люминесценция иона иттербия в его комплексах, в том числе и порфириновых, тушится колебаниями ОН-осцилляторов, и поэтому в 100%-ных водных растворах она имеет существенно меньшие значения квантового выхода и времени жизни. Подобным действием, но в меньшей степени, обладают и СН-осцилляторы. Все вышеперечисленные факторы свидетельствуют о том, что для увеличения диагностического потенциала иттербиевых комплексов необходимо по мере возможности изолировать их от тушащего действия водной среды.

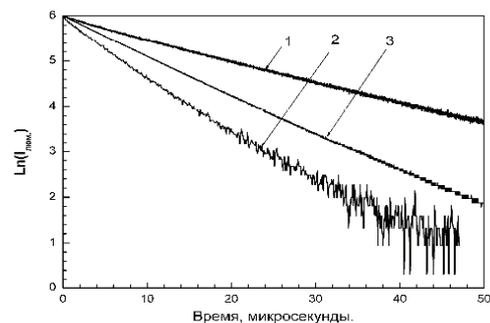


Рис. 3. Кривые затухания люминесценции (в ДМСО):
1 – Yb-комплекс 5,10,15,20-тетра(1-*N*-(*n*-фторфенил)-3-(*o*-хлорфенил)пиразол-4-ил)порфирина;
2 – Yb-5,10,15,20-тетра(*n*-карбоксифенил)порфирин;
3 – Yb-2,4-диметоксигематопорфирин IX.

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

На рис. 4 представлены спектры эмиссии люминесценции металлокомплекса 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 длинноволновую часть спектра (так называемое явление сольватохромизма).

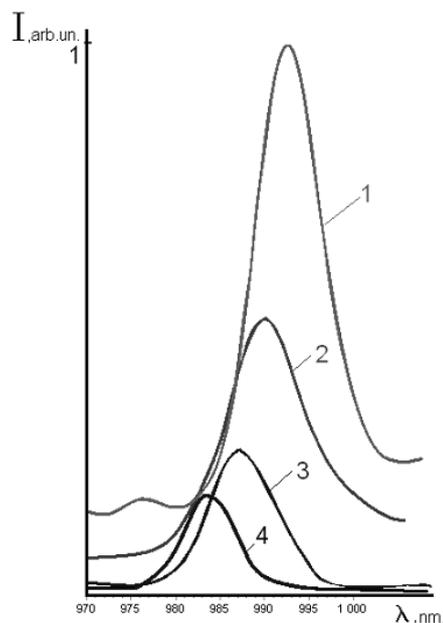


Рис. 4. Спектры эмиссии люминесценции Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX в водных растворах при различной концентрации ДМСО: 1 – 100% ДМСО, 2 – 50% ДМСО, 3 – 20% ДМСО, 4 – без ДМСО.

Из рис. 4 видно, что интенсивность люминесценции существенно возрастает при увеличении концентрации ДМСО (более чем в 10 раз при переходе от водного раствора Yb-комплекса к раствору в 100%-ном ДМСО), а максимум эмиссионного спектра сдвигается при этом почти на 10 нм.

Для изучения изменения времени жизни люминесценции Yb-комплекса в зависимости от концентрации ДМСО проводили дополнительные исследования. Для раствора в 100%-ном ДМСО время жизни люминесценции составило ~22 мкс, что является весьма значительной величиной. Практический интерес использования представляют субстанции иттербиевых комплексов в 20-30%-ном растворе ДМСО, которые разрешены в медицине. Для таких концентраций ДМСО $\tau \sim 5-10$ мкс.

В ходе изучения фотосенсибилизированной люминесценции было обнаружено, что молекулярный кислород не тушит люминесценцию иона иттербия в составе Yb-комплекса 2,4-диметоксигематопорфирина IX [12]. В связи с отсутствием явления тушения образование синглетного кислорода маловероятно, что позволяет избежать повреждений клеток и тканей, накопивших препарат. Экспериментально подтвержденная низкая фототоксичность является достоинством при использовании данного комплекса в

клинической практике в качестве диагностического люминесцентного маркера.

С целью медицинского применения были созданы амфифильные фармацевтические композиции на основе Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX с различными гелями (тизол, калгель, кремофор и др.) и добавками (глицерин, *N*-метилглюкозамин), а также растворы на основе ДМСО (все компоненты разрешены для клинического применения) [13]. Этот растворитель помимо того, что хорошо проникает через кожу, также обеспечивает максимальную интенсивность и время жизни люминесценции композиции [11, 12]. Фармацевтические композиции применяли как для эпикутанного применения, так и для нанесения на слизистые оболочки. Благодаря тому, что иттербиевые комплексы порфиринов практически не обладают световой токсичностью, при нанесении композиций на кожу и слизистые оболочки не происходит отрицательного воздействия на живой организм в виде появления побочных реакций, характерных для фотосенсибилизаторов.

В таблице приведены составы разработанных композиций на основе дикалиевой соли Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX. Композиции 1, 3, 4 и 5 используются для нанесения на кожу, композиция 2 – на патологически измененные слизистые оболочки.

Составы разработанных композиций на основе дикалиевой соли Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX

№	Yb-2,4-диметоксигематопорфирин IX	Растворитель	Основа	Добавки	w/w
1	5 мг	0.5 мл ДМСО	9.5 мл кремофора	–	0.05%
2	6 мг	0.5 мл H ₂ O _{дист.}	5.5 г калгеля	1 мг <i>N</i> -метилглюкозамина	0.1%
3	5 мг	0.5 мл H ₂ O _{дист.}	9.5 мл кремофора	3 мг <i>N</i> -метилглюкозамина, 2 капли глицерина	0.05%
4	5 мг	0.5 мл H ₂ O _{дист.}	9.0 мл кремофора, 1 мл тизоля	–	0.05%
5	5 мг	0.5 мл H ₂ O _{дист.}	9.5 мл тизоля	–	0.05%

Ранее было выявлено [13], что при однократном нанесении фармацевтических композиций в небольшом количестве на очаги поражения при воспалительных и пролиферативных процессах с последующим определением интенсивности люминесценции в ближнем ИК-диапазоне (700–1100 нм) через оптимальное время накопления (~40 мин) имеется разница более чем в 3 раза по сравнению со здоровыми соседними участками. В процессе лечения по мере уменьшения воспалительных явлений (отеки, гиперемия) и заживления эрозий уменьшается накопление препарата и, соответственно, падает интенсивность люминесценции, которая снижается до значений, характерных для нормальных тканей, что особенно важно при дифференциальной диагностике рака с сопутствующим инфицированием.

Было показано, что детерминация различных заболеваний кожи и слизистых при осуществле-

нии процесса люминесцентной диагностики может быть проведена за счет изучения статистических данных величин люминесцентного диагностического контрастного индекса опухоль/здоровая ткань. Достижение высоких значений индекса позволяет с повышенной точностью определять границы распространенности кожных новообразований. В зависимости от типа кожного повреждения этот индекс может изменяться от 3.0 до 15.0 (рис. 5). При этом возможно изучение накопления Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX при воспалительных и пролиферативных процессах с целью выявления их отличий от раковых заболеваний, контроля за наличием или отсутствием пролиферации клеток и изменением накопления Yb-комплекса в процессе лечения.

Фоновые показатели здоровых тканей без нанесения Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX состав-

Экспериментальная часть

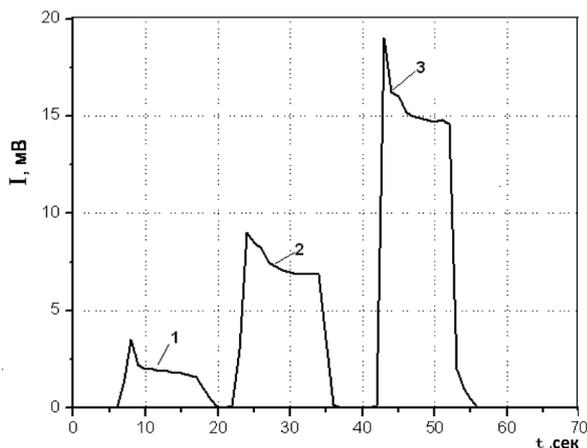


Рис. 5. Интегральная интенсивность люминесценции при исследовании кожных поражений (невус) в зависимости от времени накопления сигнала при применении геля без пенетраторов [13], где:
1 – здоровая кожа (не обработана гелем);
2 – здоровая кожа (обработана гелем);
3 – пораженная часть кожи (невус), обработанная гелем.

ляли от 0.12 до 0.25 мВ. После нанесения препарата на кожу на 40 мин интенсивность люминесценции была от 2.4 до 3 мВ. С течением времени интенсивность люминесценции носила параболический характер с возвращением к исходному уровню через 120 мин. При розацеа (папуло-пустулезная форма) и вульгарных угрях в воспалительной папуле – от 5.5 до 8.1 мВ, эриматозных очагах – 5.4 мВ, пустулах – 8.2 мВ; в гемангиомах – 7.2 мВ; себорейных кератомах – от 7.0 до 15.2 мВ; вульвовагинитах с эрозиями – от 4.4 до 17 мВ (место эрозии) [13].

Новые фармацевтические композиции предложены для нахождения поврежденных участков кожи, не выявляемых визуально, и контроля за эффективностью лечения таких неонкологических заболеваний кожи и слизистых, как угревая сыпь, розацеа, некоторые невусы, гемангиомы, экземы, кератомы, вульвовагиниты и др. Упрощение процесса проведения диагностики на патологически измененной коже и слизистых оболочках дает врачу возможность при необходимости проводить более углубленные исследования, в том числе прицельную биопсию для гистологических исследований. При этом уменьшение люминесценции, как показатель эффективности лечения, облегчает контроль за протеканием болезни. Кроме того, значительное сокращение оптимального времени накопления фармацевтической композиции в различных новообразованиях до значений менее 1 часа крайне важно для проведения процесса диагностических исследований в клинике на реальных пациентах.

В работе использовались реактивы: гемин (Acros Organics), кремофор EL (фирма Sigma), калгель (GlaxoSmithKline Pharmaceuticals S.A., Польша), тизоль (титана глицеросольват аквакомплекса, ООО «Олимп»), ДМСО (Acros Organics). Ацетилацетонат иттербия приготовлен из нитрата иттербия (Aldrich) по методу [14], раствор HBr/AcOH готовили по способу [15]. Синтез 2,4-диметоксигематопорфирина IX осуществлен, исходя из природного гемина [16]. Yb³⁺-комплексы порфиринов синтезировали по методу, описанному в работе [17].

Изучение спектральных и временных характеристик люминесценции проводили на экспериментальном стробоскопическом измерительном стенде, разработанном в ФИРЭ РАН [18]. ИК-спектры регистрировали на FT-спектрометре EQUINOX55 «Bruker» (Германия) в диапазоне 4000–400 см⁻¹ в таблетках KBr. ЭСП измеряли на спектрофотометре Helios Alpha Local Control System «TermoSpectronic» (США) в воде и хлороформе. Масс-спектры получали на спектрометре Ultraflex TOF/TOF («Bruker Daltonics», Германия) с использованием 2,5-дигидроксисбензойной кислоты в качестве матрицы. ВЭЖХ проводили на хроматографе Water Breeze (Германия).

2,4-Диметоксигематопорфирин IX. 0.5 г гемина (0.81 ммоль) суспендировали в 2.5 мл 40% HBr/AcOH, перемешивали и оставляли на 2 суток в холодильнике. Далее реакционную массу выливали при охлаждении в 50 мл метанола и перемешивали в течение суток. Затем разбавляли водой, осадок тетраметилового эфира гематопорфирина (ТМЭ ГП) IX отфильтровывали и сушили. 0.2 г ТМЭ ГП IX в 15 мл ТГФ перемешивали при 70°C до полного растворения осадка, к нему приливали раствор 0.29 г едкого натра в 4 мл воды. Выдерживали 1 ч при 80°C. К горячему раствору медленно приливали 25 мл изопропанола, охлаждали и добавляли 25 мл ацетона. Через 15 мин добавляли еще 25 мл ацетона. Выпавший осадок 2,4-диметоксигематопорфирина IX отфильтровывали, промывали водой, ацетоном и сушили в вакууме. Выход 0.2 г (93%). ЭСП (метанол), $\lambda_{\text{макс}}$, нм ($\epsilon \cdot 10^{-3}$): 400 (157), 498 (11), 533 (7), 566 (5), 622 (3.1). RT 10.114 мин, содержание 97.84% (колонка Nova-Pak C 18, 4×150 мм; элюент А: вода, элюент В: ацетон–ацетонитрил, 6:4, режим элюирования от 30% В до 100% В за 20 мин, скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 400 нм).

Иттербиевый комплекс дикалиевой соли 2,4-диметоксигематопорфирина IX. 100 мг (0.16 ммоль) 2,4-диметоксигематопорфирина IX растворяли в 20 мл 1,2,4-трихлорбензола, добавляли 150 мг (0.32 ммоль) ацетилацетоната иттербия и кипятили в токе аргона в течение 2.5 ч. Реакционную массу охлаждали,

выливали на столбик оксида алюминия, вымывали 1,2,4-трихлорбензол гептаном и затем ацетоном. Оставшийся наверху малиновый слой иттербиевого комплекса порфирина переносили в химический стакан, заливали 200 мл смеси горячего (50-60°C) изопропанола и 1% водного поташа (1:1). Отфильтровывали от оксида алюминия, малиновый раствор разбавляли водой, доводили pH до 7 добавлением разбавленной уксусной кислоты и трижды экстрагировали свежеперегранным хлороформом. Хлороформный экстракт промывали водой три раза, сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали в вакууме. Выход 68.4 мг (53.7%). Полученное вещество растворяли при перемешивании в минимальном количестве 5%-ного водного поташа. Раствор наносили на колонку с акрилексом P-2, в качестве элюента использовали дистиллированную воду. Первая фракция содержала исходный 2,4-диметоксигематопорфирин IX, вторая фракция малинового цвета представляла собой Yb-комплекс порфирина. Раствор концентрировали и проводили диализ против дистиллированной воды в течение суток, затем раствор фильтровали и упаривали досуха. Выход 53 мг (41.6%). ЭСП (вода), $\lambda_{\text{макс}}$, нм ($\epsilon \cdot 10^{-3}$): 398 (196.0), 532 (9.15), 568 (10.6). Данные ВЭЖХ: RT 7.95 мин (колонка Nova-Pack C 18, 3.9×150 мм; элюент 0.1 М ацетат аммония в 70% метаноле, скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 400 нм). ИК-спектр (KBr, ν , см^{-1}): 3424 (OH), 1550 и 1590 (асас).

Список литературы:

- Ivanov A.V., Rumyantseva V.D., Shilov I.P., Markushev V.M., Panas A.I., Ryabov A.S., Mironov A.F., Terentyuk G.S., Ruehm A., Baryshnikov A.Yu., Shchamkhalov K.S. Low toxic ytterbium complexes of 2,4-dimethoxyhematoporphyrin IX for luminescence diagnostics of tumors // *Photon Lasers Med.* 2013. V. 2. № 3. P. 175–187.
- Gaiduk M.I., Grigoryants V.V., Mironov A.F., Rumyantseva V.D., Chissov V.I., Sukhin G.M. Fiber-laser IR luminescence diagnostics of malignant tumors using rare-earth porphyrins // *J. Photochem. Photobiol. B.: Biology.* 1990. V. 7. P. 15–20.
- Zeng Z., Wu J., Deng R. Pharmacological activity of rare earth compounds // *Chemistry.* 1986. № 11. P. 28–31 (кит.).
- Hou A.-X., Xue Z., Liu Y., Qu S.-S., Wong W.-K. Antibacterial effects of a monoporphyrimato ytterbium(III) complex and its free components on *Staphylococcus aureus* as determined by stop-flow microcalorimetry // *Chem. Biodiv.* 2007. V. 4. P. 1492–1500.
- Hou A.-X., Xue Z., Liu Y., Qu S.-S., Wong W.-K. Microcalorimetric and spectroscopic investigation of the antibacterial properties of cationic ytterbium(III)-porphyrin complexes lacking charged peripheral groups // *Chem. Biodiv.* 2007. V. 4. P. 2889–2899.

Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 869.636 (30), 870.638 (69), 871.643 (100), 872.660 (89), 873.661 (49). Рассчитано для $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_6\text{K}_2^{173}\text{Yb}$ м.м. 873.96.

Выводы

Исследование фотофизических свойств позволили квалифицировать Yb-комплекс 2,4-диметоксигематопорфирина IX как эффективное соединение для ранней люминесцентной диагностики рака в ближнем ИК-оптическом диапазоне в связи с высокой величиной произведения коэффициента экстинкции и квантового выхода люминесценции ($\epsilon \cdot \phi$). Кроме того, данный комплекс обладает низкой фото- и цитотоксичностью.

На основании этих характеристик в последующем проведены токсикологические и фармакокинетические исследования на лабораторных животных и получены предварительные данные по клиническому применению на волонтерах-добровольцах препарата «Флюорскан». Таким образом, показано, что калиевая соль Yb^{3+} -диметоксигематопорфирина IX является перспективным маркером для дифференциальной диагностики новообразований, она хорошо растворяется в воде и стабильна при хранении.

Благодарность

Данная работа была выполнена в рамках Государственного задания Минобрнауки РФ, проект № 4.9596.2017/БЧ.

References:

- Ivanov A.V., Rumyantseva V.D., Shilov I.P., Markushev V.M., Panas A.I., Ryabov A.S., Mironov A.F., Terentyuk G.S., Ruehm A., Baryshnikov A.Yu., Shchamkhalov K.S. Low toxic ytterbium complexes of 2,4-dimethoxyhematoporphyrin IX for luminescence diagnostics of tumors // *Photon Lasers Med.* 2013. V. 2. № 3. P. 175–187.
- Gaiduk M.I., Grigoryants V.V., Mironov A.F., Rumyantseva V.D., Chissov V.I., Sukhin G.M. Fiber-laser IR luminescence diagnostics of malignant tumors using rare-earth porphyrins // *J. Photochem. Photobiol. B.: Biology.* 1990. V. 7. P. 15–20.
- Zeng Z., Wu J., Deng R. Pharmacological activity of rare earth compounds // *Chemistry.* 1986. № 11. P. 28–31 (Chin.).
- Hou A.-X., Xue Z., Liu Y., Qu S.-S., Wong W.-K. Antibacterial effects of a monoporphyrimato ytterbium(III) complex and its free components on *Staphylococcus aureus* as determined by stop-flow microcalorimetry // *Chem. Biodiv.* 2007. V. 4. P. 1492–1500.
- Hou A.-X., Xue Z., Liu Y., Qu S.-S., Wong W.-K. Microcalorimetric and spectroscopic investigation of the antibacterial properties of cationic ytterbium(III)-porphyrin complexes lacking charged peripheral groups // *Chem. Biodiv.* 2007. V. 4. P. 2889–2899.

6. Schomaecker K., Gaidouk M.I., Rummyantseva V.D., Fischer T., Loehr H., Salditt S., Liebenhoff S., Schicha H. Synthese tumoraffiner Yb-169 und Y-90-Porphyrin-Komplexe und tiereexperimentelle Untersuchung verschiedener Yb-169-Porphyrins // *Nuklearmedizin*. 1999. Bd. 38. S. 285–291.
7. Banfi S., Caruso E., Buccafurni L., Murano R., Monti E., Gariboldi M., Papa E., Gramatica P. Comparison between 5,10,15,20-tetraaryl- and 5,15-diarylporphyrins as photosensitizers: Synthesis, photodynamic activity and quantitative structure – activity relationship modeling // *J. Med. Chem.* 2006. V. 49. P. 3293–3304.
8. Kwong W.-L., Sun R.W.-Y., Lok C.-N., Siu F.-M., Wong S.-Y., Low K.-H., Che C.-M. An ytterbium(III) porphyrin induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in cancer cells: cytotoxicity and transcriptomics studies // *Chem. Sci.* 2013. V. 4. P. 747–754.
9. Шилов И.П., Иванов А.В., Румянцева В.Д., Миронов А.Ф. Люминесцентная диагностика визуально и эндоскопически доступных опухолей на основе нефротоксичных иттербиевых комплексов порфиринов / В кн.: *Фундаментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. В 2-х томах* / Под ред. А.И. Григорьева и Ю.А. Владимирова. М.: МАКС Пресс, 2015. Т. 2. С. 110–144.
10. Миронов А.Ф. Комплексы порфиринов с лантанидами // *Успехи химии*. 2013. Т. 82. № 4. С. 333–351.
11. Стасhevский А.С., Кнюкшто В.Н., Иванов А.В., Румянцева В.Д., Шилов И.П., Галиевский В.А., Джагаров Б.М. Люминесцентные свойства Yb(acac)-диметоксигематопорфирина IX – перспективного соединения для диагностики злокачественных опухолей // *Тез. докл. Междунар. конф. «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем»*. 17.06–20.06.2014. Беларусь, Минск. Часть 1. 2014. С. 128–130.
12. Стасhevский А.С., Кнюкшто В.Н., Иванов А.В., Румянцева В.Д., Шилов И.П., Галиевский В.А., Джагаров Б.М. Флуоресцентные свойства Yb(acac)-диметоксигематопорфирина IX – перспективного соединения для диагностики злокачественных опухолей // *Журн. прикл. спектроскопии*. 2014. Т. 81. № 6. С. 850–855 (Eng. DOI: 10.1007/s10812-015-0032-0).
13. Алексеев Ю.В., Румянцева В.Д., Шилов И.П., Иванов А.В., Шумилова Н.М., Миславский О.В. Перспективы применения иттербиевых комплексов порфиринов в клинической практике // *Лазерная медицина*. 2016. Т. 20. № 2. С. 20–25.
14. Gorshkova A.S., Gorbachev S.V., Kopylova E.V., Rummyantseva V.D., Mozhchil R.N., Ionov A.M. Microwave synthesis and electron structure of lanthanide tetraarylporphyrin complexes / In: *Chem. Biochem. Technol.: Materials, Processing, and Reability*. Ch. 10 (S.D. Varfolomeev Ed.). Toronto: Apple Academic Press, 2014. P. 130–152.
6. Schomaecker K., Gaidouk M.I., Rummyantseva V.D., Fischer T., Loehr H., Salditt S., Liebenhoff S., Schicha H. Synthese tumoraffiner Yb-169 und Y-90-Porphyrin-Komplexe und tiereexperimentelle Untersuchung verschiedener Yb-169-Porphyrins // *Nuklearmedizin*. 1999. Bd. 38. S. 285–291.
7. Banfi S., Caruso E., Buccafurni L., Murano R., Monti E., Gariboldi M., Papa E., Gramatica P. Comparison between 5,10,15,20-tetraaryl- and 5,15-diarylporphyrins as photosensitizers: Synthesis, photodynamic activity and quantitative structure – activity relationship modeling // *J. Med. Chem.* 2006. V. 49. P. 3293–3304.
8. Kwong W.-L., Sun R.W.-Y., Lok C.-N., Siu F.-M., Wong S.-Y., Low K.-H., Che C.-M. An ytterbium(III) porphyrin induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in cancer cells: cytotoxicity and transcriptomics studies // *Chem. Sci.* 2013. V. 4. P. 747–754.
9. Shilov I.P., Ivanov A.V., Rummyantseva V.D., Mironov A.V. Fluorescent diagnostics of visual and endoscopically accessible tumors on the basis of nephrotoxic ytterbium complexes of porphyrins / In book: *Fundamental'nye nauki – medicine. Biofizicheskie meditsinskie tekhnologii [Fundamental sciences for medicine. Biophysical medical technologies in 2 vol.]* / Eds A.I. Grigoriev and Yu.A. Vladimirov. M.: MAKS Press, 2015. V. 2. P. 110–144. (in Russ.).
10. Mironov A.F. The porphyrin complexes with lanthanides // *Uspekhi khimii [Rus. Chem. Rev.]*. 2013. V. 82. № 4. P. 333–351. (in Russ.).
11. Stashevsky A.S., Knyuksho V.N., Ivanov A.V., Rummyantseva V.D., Shilov I.P., Galievsky V.A., Dzhagarov B.M. Luminescent properties of Yb(acac)-dimethoxyhematoporphyrin IX – a promising compound for diagnostics of malignant tumors // *Abstracts of Int. Conf. «Molecular, membrane and cellular basics of functioning biological systems»*. 17.06–20.06.2014. Belarus, Minsk. Part 1. 2014. P. 128–130. (in Russ.).
12. Stashevsky A.S., Knyuksho V.N., Ivanov A.V., Rummyantseva V.D., Shilov I.P., Galievsky V.A., Dzhagarov B.M. Fluorescence properties of Yb(acac)-dimethoxyporphyrin IX – a promising compound for diagnostics of malignant tumors // *Appl. Spectr.* 2014. V. 81. № 6. P. 938–942. DOI: 10.1007/s10812-015-0032-0.
13. Alekseev Yu.V., Rummyantseva V.D., Shilov I.P., Ivanov A.V., Shumilova N.M., Mislavsky O.V. Prospects for the use of ytterbium complexes of porphyrins in clinical practice // *Lazernaya medicina (Laser Medicine)*. 2016. V. 20. № 2. P. 20–25. (in Russ.).
14. Gorshkova A.S., Gorbachev S.V., Kopylova E.V., Rummyantseva V.D., Mozhchil R.N., Ionov A.M. Microwave synthesis and electron structure of lanthanide tetraarylporphyrin complexes / In: *Chem. Biochem. Technol.: Materials, Processing, and Reability*. Ch. 10 (S.D. Varfolomeev Ed.). Toronto: Apple Academic Press, 2014. P. 130–152.

15. Михайлов Г.Д., Зубцов В.А., Самсонова Т.И., Нижник А.Н., Миронов А.Ф. Способ получения раствора бромистого водорода в уксусной кислоте : А.с. СССР № 1368261. БИ № 3. 23.01.88.

16. Румянцева В.Д., Горшкова А.С., Миронов А.Ф. Иттербий и его комплексы с порфиринами // Вестник МИТХТ. 2014. Т. 9. № 1. С. 3–17.

17. Wong C.-P., Venteicher R.F., Horrocks W. De W. Jr. Lanthanide porphyrin complexes. A potential new class of nuclear magnetic resonance dipolar probe // J. Am. Chem. Soc. 1974. V. 96. № 22. P. 7149–7150.

18. Румянцева В.Д., Щамхалов К.С., Шилов И.П., Кочмарев Л.Ю., Маркушев В.М., Кузьмина З.В., Полянская Н.И., Рябов А.С., Иванов А.В. Флуоресцентная диагностика злокачественных новообразований в экспериментах на животных с использованием субстанций на основе иттербиевых металлокомплексов порфиринов // Мед. физика. 2011. № 2. С. 67–73.

15. Mikhailov G.D., Zubtsov V.A., Samsonova T.I., Nizhnik A.N., Mironov A.F. A method of producing a solution of hydrogen bromide in acetic acid : a.c. USSR № 1368261. Bull. № 3. Filed 23.01.88. (in Russ.).

16. Rumyantseva V.D., Gorshkova A.S., Mironov A.F. Ytterbium and its complexes with porphyrins // Vestnik MITHT (Fine Chem. Technol.) 2014. V. 9. № 1. P. 3–17. (in Russ.).

17. Wong C.-P., Venteicher R.F., Horrocks W. De W. Jr. Lanthanide porphyrin complexes. A potential new class of nuclear magnetic resonance dipolar probe // J. Am. Chem. Soc. 1974. V. 96. № 22. P. 7149–7150.

18. Rumyantseva V.D., Shchamkhalov K.S., Shilov I.P., Kochmarev L.Yu., Markushev V.M., Kuzmina Z.V., Polyanskaya N.I., Ryabov A.S., Ivanov A.V. Fluorescent diagnostics of malignant tumors in animal experiments using substances on the basis of ytterbium metal complexes of porphyrins // Medicinskaya fizika (Medical Physics). 2011. № 2. P. 67–73. (in Russ.).

Об авторах:

Румянцева Валентина Дмитриевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86); старший научный сотрудник, Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН (141190, Россия, Московская обл., Фрязино, пл. академика Введенского, д. 1).

Щелкунова Анастасия Евгеньевна, аспирант кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).

Горшкова Анастасия Сергеевна, аспирант кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).

Алексеев Юрий Витальевич, доктор медицинских наук, руководитель отдела, ГНЦ лазерной медицины ФМБА (121165, Россия, Москва, ул. Студенческая, д. 40).

Шилов Игорь Петрович, кандидат технических наук, заведующий лабораторией, Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН (141190, Россия, Московская обл., Фрязино, пл. академика Введенского, д. 1).

Иванов Андрей Валентинович, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (115478, Россия, Москва, Каширское шоссе, д. 24).

Давыдов Евгений Владимирович, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Ветеринарная медицина», Институт ветеринарно-санитарной экспертизы, биологической и пищевой безопасности, Московский государственный университет пищевых производств (109029, Россия, Москва, ул. Талалихина, д. 33).

Миронов Андрей Федорович, доктор химических наук, профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).