

Научная статья
УДК 546
doi:10.37614/2949-1215.2023.14.5.012

СИНТЕЗ КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЗОЛОТА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА И ПОЛУЧЕНИЕ НАНОКОМПЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА

Владислав Владимирович Поцелеев¹, Елена Сергеевна Трофимчук², Сергей Алексеевич Успенский³

^{1,2,3}Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

¹Институт синтетических полимерных материалов имени Н.С. Ениколопова РАН

¹vladislav.potselev@chemistry.msu.ru

Аннотация

Разработаны подходы к синтезу препарата для фотон-захватной терапии на основе комплексного соединения золота с цистеином $[\text{Au}(\text{I})\text{-Cys}]_n$. Установлена зависимость размеров частиц комплекса от pH. При использовании механизма крейзинга получены наноккомпозитные материалы на основе полилактида и содержащие частицы $[\text{Au}(\text{I})\text{-Cys}]_n$ со средним размером около 10 нм. Полученные материалы изучены при помощи электронной микроскопии, и установлена их структура.

Ключевые слова:

комплекс золото-цистеин, полилактид, наноккомпозитные материалы

Благодарности:

работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, тема № FFSM-2022-0003.

Финансирование:

государственное задание по теме № FFSM-2022-0003.

Для цитирования:

Поцелеев В. В., Трофимчук Е. С., Успенский С. А. Синтез комплексных соединений золота для диагностики рака и получение наноккомпозитных материалов на основе полилактида // Труды Кольского научного центра РАН. Серия: Технические науки. 2023. Т. 14, № 5. С. 67–72. doi:10.37614/2949-1215.2023.14.5.012.

Original article

SYNTHESIS OF GOLD COMPLEX COMPOUNDS FOR CANCER DIAGNOSTICS AND OBTAINING NANOCOMPOSITE MATERIALS BASED ON POLYLACTIDE

Vladislav V. Potselev¹, Elena S. Trofimchuk², Sergey A. Uspenskii³

^{1,2,3}Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

¹Enikolopov Institute of Synthetic Polymeric Materials, Moscow, Russia

¹vladislav.potselev@chemistry.msu.ru

Abstract

Approaches to the synthesis of a drug for photon-capture therapy based on the complex compound of gold with cysteine $[\text{Au}(\text{I})\text{-Cys}]_n$ have been developed. The dependence of the particle sizes of the complex on pH was established. Using the crazing mechanism, nanocomposite materials based on polylactide and containing $[\text{Au}(\text{I})\text{-Cys}]_n$ particles with an average size of about 10 nm were obtained. The obtained materials were studied using electron microscopy and their structure was established.

Keywords:

gold-cysteine complex, polylactide, nanocomposite materials

Acknowledgment:

The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, the topic No. FFSM-2022-0003.

Financing:

The state task on the topic No. FFSM-2022-0003.

For citation:

Potselev V. V., Trofimchuk E. S., Uspenskii S. A. Synthesis of gold complex compounds for cancer diagnostics and obtaining nanocomposite materials based on polylactide // Transactions of the Kola Science Centre of RAS. Series: Engineering Sciences. 2023. Vol. 14, No. 5. P. 67–72. doi:10.37614/2949-1215.2023.14.5.012.

Введение

Одной из самых перспективных областей в лучевой терапии является фотон-захватная терапия (ФЗТ). Ее основная особенность — возможность локального увеличения поглощенной дозы в опухоли практически без затрагивания живых тканей. Для этого используются специальные соединения, содержащие элементы с порядковым номером $Z > 52$ (I, Gd, Au, Bi и др.). На сегодняшний день основной проблемой в ФЗТ является синтез безопасных для организма препаратов с высокими фотон-захватными свойствами и обладающие способностью накапливаться в опухолевых клетках [1]. Многообещающим направлением в ФЗТ может стать получение препаратов на основе нанокомпозитных материалов. Они могут состоять из полимерных соединений, которые повышают избирательность действия препарата, с включенными в них мишенными агентами, например, содержат золото (в виде наночастиц, комплекса с цистеином $[\text{Au(I)-Cys}]_n$ и др.), являются достаточно активными радиосенсибилизаторами.

Существует несколько способов получения такого рода материалов. Однако достаточно эффективным и простым подходом для получения биологически активных материалов является метод структурно-механической модификации аморфных и частично кристаллических полимеров по механизму крейзинга [2–4]. Он заключается в том, что при определенных условиях деформации полимера возникает нанопористая структура, которая заполняется окружающей средой, что позволяет ввести в структуру полимера практически любые, даже термодинамически несовместимые с ним добавки. При этом очень важно, чтобы скорости биodeградации полимера и выделения добавки были сопоставимы. Скорость биodeградации зависит как от природы материала, из которого он изготовлен, его молекулярных характеристик, так и от структуры.

Одним из таких перспективных полимеров, удовлетворяющих перечисленным требованиям, является полимер молочной кислоты — полилактид. При создании подобных материалов в качестве важной задачи выступает изучение кинетических особенностей выделения добавки. Одним из основных аналитических инструментальных методов исследования в медицине и биохимии является УФ-видимая спектрофотометрия. С ее помощью определяют в различных биологических пробах содержание ферментов, гормонов, белков, витаминов, многих неорганических веществ, анализируют качественный и количественный состав мазков крови и т. д.

Целью данной работы является изучение особенностей формирования частиц комплекса с цистеином $[\text{Au(I)-Cys}]_n$ в нанопористых пленках полилактида, а также кинетики выделения соединения золота из полимерной матрицы в фосфатном буфере (pH 9) при температуре 37 °C методом УФ-видимой спектроскопии.

Результаты исследований

Комплекс $[\text{Au(I)-Cys}]_n$ получали двумя способами:

1) к 1 эквиваленту 0,1 % раствора HAuCl_4 (2,9 ммоль/л) добавляли 5 эквивалентов раствора L-цистеина (2,9 ммоль/л);

2) к 1 эквиваленту 0,1 % раствора HAuCl_4 добавляли 1 эквивалент раствора Na_2SO_3 (2,9 ммоль/л), затем добавляли 2 эквивалента раствора L-цистеина (2,9 ммоль/л) и избыток NaOH (0,1 M).

Как известно, почти все комплексы $[\text{Au(I)-SR}]_n$ в водном растворе могут представлять собой циклические или линейные цепочки [5], но длина (n) таких комплексов часто изучена плохо. Наиболее изучена структура миохризина (ауротиомалата натрия), который представляет собой циклический тетрамер согласно работам [6, 7]. Однако в щелочной среде и в присутствии избытка HSR комплексы $[\text{Au(I)-SR}]_n$ могут образовывать растворимые соединения типа $[\text{Au}(\text{SR})_2]^-$ [5]. В работе была установлена зависимость среднего размера частиц $[\text{Au(I)-Cys}]_n$ от pH раствора.

Таким образом, чем выше концентрация OH^- -ионов, тем больше частиц $-\text{SR}$, которые способны образовывать более устойчивый комплекс $[\text{Au}(\text{SR})_2]^-$ путем взаимодействия с атомами золота, находящимися на поверхности наночастиц комплекса $[\text{Au(I)-SR}]_n$, и обмена лигандами. В итоге размер частицы $[\text{Au(I)-SR}]_n$ будет практически линейно уменьшаться от 350 нм в среде pH 7 до 100 нм при pH 9.

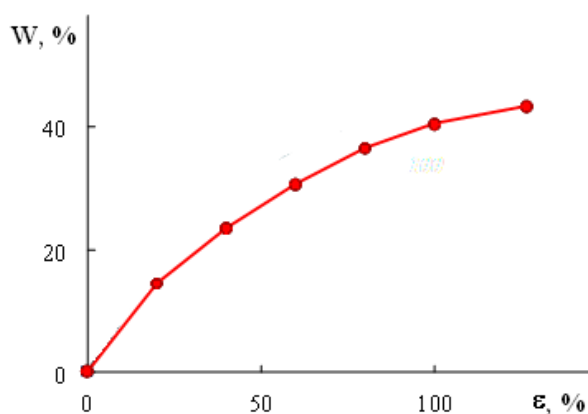


Рис. 1. Зависимость объемной пористости ПЛ от степени деформации в этаноле в случае делокализованного крейзинга

Однако для применения в ФЗТ препарат должен находиться в нейтральной среде, а, как показано было ранее, размер частиц в такой среде составляет порядка 300 нм, что не является хорошим результатом, поскольку частица должна проникнуть в клетку прежде, чем быть облученной. Частицы с размером 100 нм и более практически не поглощаются клетками.

Поэтому на следующем этапе работы была поставлена задача — получить нанокompозитный материал, содержащий комплекс $[\text{Au(I)}\text{-SR}]_n$ с размерами частиц менее 100 нм, который смог бы применяться для доставки этого соединения к опухоли. Для этого был выбран биосовместимый полимер полилактид (ПЛ), на его основе и получали нанокompозиты.

Для получения стабильных открытопористых матриц на основе полилактида предварительно исходные полимерные пленки были закристаллизованы при температуре 50 °С в течение 45 мин. После нагрева при данных условиях степень кристалличности ПЛ составила порядка 30–40 %, средний размер кристаллитов — 14–16 нм (ОКР). Одноосная деформация подобных частично кристаллических пленок ПЛ в среде 95 %-го этанола протекает по механизму делокализованного крейзинга [8]. В этом случае зарождение и развитие пор происходит достаточно однородно по всему объему в межкристаллитных аморфных областях. На рис. 1 представлена зависимость эффективной объемной пористости кристаллической пленки ПЛ от ее степени деформации. Видно, что пористость постепенно растет, достигая своего максимального значения около 40 об. %.

Полученные пористые пленки ПЛ со степенью деформации 80 % были исследованы методом сканирующей электронной микроскопии (рис. 2а). Введение $[\text{AuCys}]_n$ в нанопористые пленки осуществляли путем противоточной диффузии. На рис. 2 (а, б и в) представлены СЭМ- и ПЭМ-изображения полученных нанокompозитов. На них хорошо видно, что в процессе растяжения происходит образование достаточно однородной структуры в объеме полимерной пленки, которая, как ранее было показано [8], обладает открытопористой структурой, которую можно заполнять по всему объему наполнителем. Образование $[\text{AuCys}]_n$ в пленках полилактида было подтверждено электронограммой нанокompозита (рис. 2б, вставка), которая соответствует той, что была получена для чистого $[\text{AuCys}]_n$. Видно, что $[\text{AuCys}]_n$ в основном обнаруживается на поверхности (рис. 2а) и в приповерхностном слое (рис. 2в) пленки ПЛ, при этом толщина слоя составляет 5–10 мкм и наполнитель образует агрегаты с размером частиц порядка 2 мкм. Однако такие агрегаты состоят из частиц $[\text{AuCys}]_n$ размером около 20 нм (рис. 2б), что может являться хорошим результатом, поскольку для применения в ФЗТ наиболее подходящими являются частицы с размером менее 100 нм.

Для нанокompозиционных материалов, используемых для доставки лекарств, важной задачей является изучение кинетики выделения функциональной добавки. Охарактеризованные полимерные образцы, содержащие около 10 мас. % $[\text{AuCys}]_n$, были исследованы на способность выделять функциональную добавку в среду, моделирующую условия человеческого организма. В качестве такой модельной среды был выбран фосфатный буферный раствор (рН 9) и температура 37 °С, которая поддерживалась в течение всего эксперимента.

На рис. 3 представлены зависимости оптической плотности раствора при 206 нм, в который происходило выделение $[\text{AuCys}]_n$ из пленок ПЛ в окружающую среду, от времени. Видно, что в первые часы происходит быстрое увеличение концентрации функциональной добавки в буфере. Это связано с переходом в раствор $[\text{AuCys}]_n$, находящегося на поверхности образцов, а не в порах материала. Далее концентрация $[\text{AuCys}]_n$ в растворе в течение нескольких часов остается практически постоянной. Затем в связи с гидролизом ПЛ меняются свойства материала, он становится более разрыхленным

на поверхности, по этой причине находящийся в поверхностном слое $[\text{AuCys}]_n$ начинает выделяться в окружающую среду. Через 100 часов достигается предел растворимости $[\text{AuCys}]_n$, и концентрация комплекса в растворе выходит на плато.

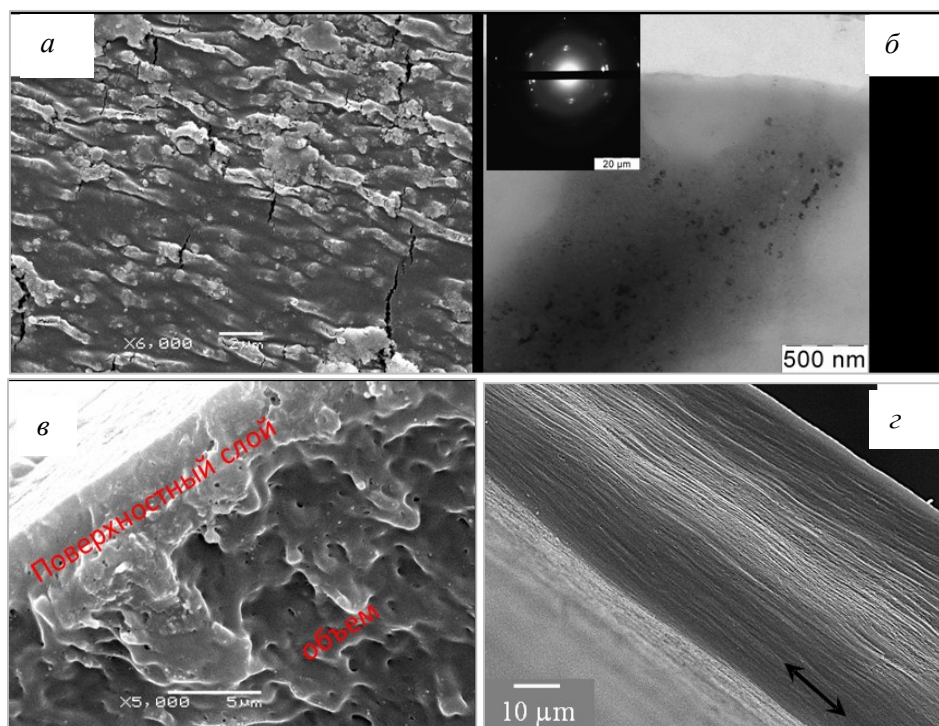


Рис. 2. ТЭМ (б) и СЭМ-микрофотографии (а, в, г) пленок ПЛ, деформированных на 80 %-м этаноле по механизму крейзинга, содержащие (а, б, в) $[\text{AuCys}]_n$ и без наполнителя (г).
а — поверхность, б — ультратонкий срез; в, г — хрупкие сколы образцов

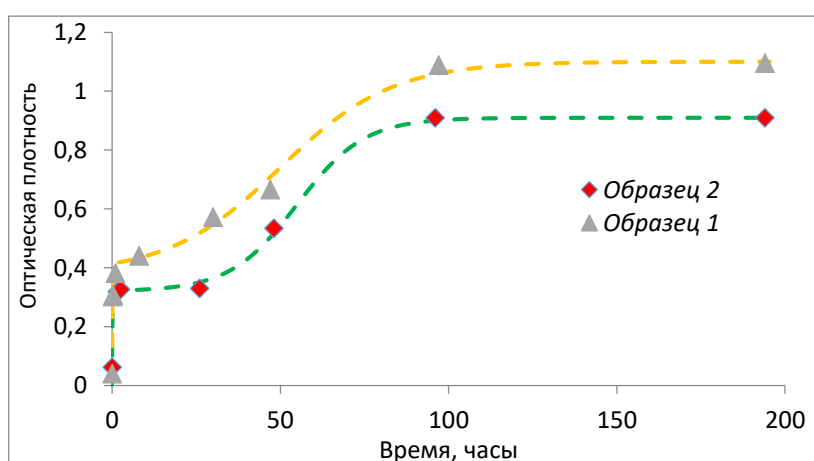


Рис. 3. Зависимость количества $[\text{AuCys}]_n$, выделившегося из полимерных образцов в раствор фосфатного буфера, от времени

Полученные результаты по кинетике выделения $[\text{AuCys}]_n$ в течение 7 дней были аппроксимированы с помощью модели Галлахера и Корригана. Были определены константы скоростей процесса выделения $[\text{AuCys}]_n$ из пленок ПЛ в течение первого часа и после двух дней выдерживания

в растворе буфера при температуре 37 °С. Тангенс угла наклона каждой прямой представляет собой эффективную константу скорости процесса выделения добавки, значения которых представлены в таблице.

Параметры модели Галлахера и Корригана для кинетики выделения $[AuCys]_n$ из полимерных образцов

Образец	k_1 , мкг/час	k_2 , мкг/час	f_b , мкг	f_{max} , мкг	R^2
1	74	0,6	3,9	9,9	0,987
2	74	0,9	2,9	8,3	0,976

Таким образом, полученные в данной работе с использованием структурно-механической модификации по механизму крейзинга пленки полилактида, содержащие функциональную добавку, могут быть перспективными для использования в медицине в качестве биорезорбируемых материалов с биологической активностью для применения в ФЗТ и контролируемые сроки выделения функциональной добавки, в том числе с отложенным действием.

Выводы

1. Проведена оптимизация условий синтеза комплексных соединений цистеин-золото. Показано влияние pH среды на размер и морфологию образующихся частиц комплекса, а именно: с увеличением pH размер частиц линейно уменьшается вследствие образования растворимой формы комплекса типа $[Au(SR)_2]^-$.
2. Получены и охарактеризованы нанокпозиционные материалы на основе полилактида и соединений золота со средним размером частиц 5–20 нм путем прямого синтеза в порах полимерной матрицы, сформированных по механизму крейзинга.
3. Изучены особенности кинетики выделения комплексного соединения золота с цистеином из пористой матрицы полилактида. Обнаружено, что она может быть описана моделью Галлахера и Корригана.

Список источников

1. The study of hyaluronic acid compounds for neutron capture and photon activation therapies / S. N. Koryakin [et. al.] // Central European J. Biology. 2014. No. 9 (10). P. 922–930.
2. Solvent Crazed PET Fibers Imparting Antibacterial Activity by Release of Zn^{2+} / O. Weichold [et. al.] // Polym. Sci. 2009. No. 112. P. 2634–2640.
3. Goldade V. A., Pinchuk L. S., Vinidiktova N. S. Modification of polyester fibers by bactericides using crazing mechanism // Polym. Process. 2010. Vol. 25. P. 199–204.
4. Arzhakova O. V., Dolgova A. A., Volynskii A. L. Mesoporous and Nanocomposite Fibrous Materials Based on Poly(ethylene terephthalate) Fibers with High Craze Density via Environmental Crazing: Preparation, Structure, and Applied Properties // ACS Applied Materials & Interfaces. 2019. Vol. 11 (20). P. 18701–18710. doi:10.1021/acsami.9b02570.
5. Mironov I. V., Kharlamova V. Yu. On the Complexation of Gold(I) with Glutathione in Aqueous Solutions // J. Solution Chemistry. 2020. Vol. 49 (5). P. 583–597.
6. Howard-Lock H. E. Structures of gold(I) and silver(I) thiolate complexes of medicinal interest: a review and recent results // Met. Based Drugs. 1999. Vol. 6. P. 201–209.
7. Reactions of model proteins with aurothiomalate, a clinically established gold(I) drug: the comparison with auranofin / F. Darabi [et. al.] // J. Inorg. Biochem. 2015. Vol. 149. P. 102–107.
8. Porous polylactide prepared by the delocalized crazing as a template for nanocomposite materials / E. S. Trofimchuk [et. al.] // Mendelev Communications. 2020. Vol. 30. P. 171–173.

References

1. Koryakin S. N., Yadrovskaya V., Beketov E. E., Isaeva E. V. The study of hyaluronic acid compounds for neutron capture and photon activation therapies. *Central European Journal of Biology*, 2014, No. 9 (10), pp. 922–930.
2. Weichold O., Goel P., Lehmann K.-H., Möller M. Solvent Crazed PET Fibers Imparting Antibacterial Activity by Release of Zn^{2+} . *Polymer Science*, 2009, No. 112, pp. 2634–2640.
3. Goldade V. A., Pinchuk L. S., Vinidiktova N. S. Modification of polyester fibers by bactericides using crazing mechanism. *International Polymer Processing*, 2010, Vol. 25, pp. 199–204.
4. Arzhakova O. V., Dolgova A. A., Volynskii A. L. Mesoporous and Nanocomposite Fibrous Materials Based on Poly(ethylene terephthalate) Fibers with High Craze Density via Environmental Crazing: Preparation, Structure, and Applied Properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, Vol. 11 (20), pp. 18701–18710. doi:10.1021/acsami.9b02570.
5. Mironov I. V., Kharlamova V. Yu. On the Complexation of Gold(I) with Glutathione in Aqueous Solutions. *Journal of Solution Chemistry*, 2020, Vol. 49 (5), pp. 583–597.
6. Howard-Lock H. E. Structures of gold(I) and silver(I) thiolate complexes of medicinal interest: a review and recent results. *Metal Based Drugs*, 1999, Vol. 6, pp. 201–209.
7. Darabi F., Marzo T., Massai L., Scaletti F., Michelucci E., Messori L. Reactions of model proteins with aurothiomalate, a clinically established gold(I) drug: the comparison with auranofin. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2015, Vol. 149, pp. 102–107.
8. Trofimchuk E. S., Moskvina M. A., Ivanova O. A., Potselev V. V., Demina V. A., Nikonorova N. I., Bakirov A. V., Sedush N. G., Chvalun S. N. Porous polylactide prepared by the delocalized crazing as a template for nanocomposite materials. *Mendelev Communications*, 2020, Vol. 30, pp. 171–173.

Информация об авторах

В. В. Поцелеев — студент;

Е. С. Трофимчук — кандидат химических наук, старший преподаватель;

С. А. Успенский — кандидат химических наук.

Information about the authors

V. V. Potselev — Student;

E. S. Trofimchuk — PhD (Chemistry), Senior Lecturer;

S. A. Uspenskii — PhD (Chemistry).

Статья поступила в редакцию 14.02.2023; одобрена после рецензирования 03.04.2023; принята к публикации 10.04.2023.
The article was submitted 14.02.2023; approved after reviewing 03.04.2023; accepted for publication 10.04.2023.