

УДК: 543.056, 543.423.1, 543.632.491, 616-006.04, 616-006.65

**Определение бора методом атомно-эмиссионной
спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.**

Изучение биораспределения бора в органах мышей ^{10}B

А. Р. Цыганкова,^{1,2} В. В. Каныгин,¹ А. И. Касатова,^{1,3} Е. Л. Завьялов,^{1,4}*

Т. Я. Гусельникова,² А. И. Кичигин,^{1,4} Р. А. Мухамадияров⁵

alphiya@yandex.ru

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Российская Федерация, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова 2, Факс: +7 (383) 363-42-80

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева 3, Факс: +7 (383) 330-94-89

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера ССО РАН, Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 11. Факс: +7(383) 330-71-63

⁴ «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН, Российская Федерация, 630090, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10/2, Факс: +7 (383) 333-12-78

⁵ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Российская Федерация, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6. Факс: +7 (383) 333-27-92

Для аналитического сопровождения бор-нейтронозахватной терапии раковых опухолей оптимизирована методика определения бора в тканях органов животных с помощью атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС ИСП). Предложенная методика характеризуется универсальностью и экспрессностью. В методику входят: процедура предварительного кислотного разложения при повышенных температурах и давлении (при необходимости), АЭС ИСП определение бора в полученных растворах по образцам сравнения на основе одноэлементных растворов. Правильность подтверждена методами «введено-найдено» и варьированием навески. АЭС ИСП методика была использована при оценке накопления борфенилаланина (BPA) и боркаптата (BSH) в органах и тканях при внутривенном введении препарата мышам линии SCID SPF-статуса с использованием клеток глиобластомы человека линии U87.

Ключевые слова: БНЗТ, ВРА, BSH, атомно-эмиссионная спектрометрия, ткани органов, пробоподготовка, определение бора.

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) является бинарной формой лучевой терапии, основанная на селективном уничтожении клеток злокачественных опухолей, таких как анапластическая астроцитома и глиобластома. Основным принципом данного вида терапии является селективное уничтожение только тех клеток, которые содержат достаточное количество изотопа ^{10}B . Продуктом реакции захвата теплового нейтрона является альфа частица с высокой линейной передачей энергии и ядра лития. При этой реакции длина пробега альфа-частицы не превышает размеров клетки (менее 10 мкм).

При проведении предшествующих клинических испытаний единственными источниками нейтронов являлись ядерные реакторы. БНЗТ была применена для лечения более 1500 пациентов по всему миру. Метод доказал свою эффективность как при злокачественных опухолях головного мозга, так и опухолей мягких тканей, паренхиматозных органов и кожи [1, 2]. Опыт использования реакторов для БНЗТ выявил ряд проблем: невозможность установить прибор в лечебно-профилактическом учреждении, затратное экономическое обеспечение и т.д. Для широкого внедрения метода в клиническую практику была начата работа над созданием ускорителя заряженных частиц. В ИЯФ им. Г.И. Будкера СО РАН был предложен и сконструирован источник тепловых нейтронов ускорительного типа. На этом источнике был проведен ряд доклинических экспериментов по БНЗТ на клеточных культурах и лабораторных животных [3, 4, 5].

Для успешной реализации нейтронозахватной реакции, которая бы привела к гибели опухолевых клеток, необходимо ввести достаточное количество ядер бора в поражённые ткани. В настоящее время для БНЗТ широко применяют препараты борфенилаланин ВРА и боркапнат BSH. В молекуле ВРА присутствует 1 атом бора ($C_8H_7NH_2COOH-B(OH)_2$), в то время как BSH имеет в своем составе 12 атомов ($Na_2B_{12}H_{11}SH$).

Первоначально ВРА позиционировали как агент доставки для лечения меланомы. В ходе исследований было обнаружено селективное накопление в других типах злокачественных новообразований, в частности 9L глиосаркоме крыс [6, 7]. Механизм активного накопления опухолевыми клетками может быть объяснен повышенным I-типом аминокислотного транспорта. Селективность его накопления зависит от нарушения проницаемости гемато-энцефалического барьера [8].

Адекватная концентрация ^{10}B в опухолевой ткани для эффективного проведения нейтронозахватной терапии должна находиться в диапазоне 20-35 мкг/кг опухоли [9]. Поэтому проведение доклинических исследований по биораспределению ^{10}B -содержащего препарата в живом организме важная часть в развитии инновационного метода терапии (БНЗТ) рака. В настоящее время определение бора проводят такими методами как масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС ИСП), атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС ИСП) или комбинацией перечисленных методов в сочетании с методами визуализации (позитронно-эмиссионная томография [10], масс-спектрометрия вторичных ионов [11] и др.). Использование многоэлементных методов для определения единственного элемента (В) можно объяснить высокой чувствительностью методов наряду с

широкими динамическими диапазонами (6-8 порядков величины). Указанные спектральные методы имеют низкую погрешность определения в условиях повторяемости и дают возможность использовать сертифицированные стандарты для построения градуировочной зависимости. К методикам определения бора в тканях органов животных обычно предъявляют такие требования как: универсальность, экспрессность, обеспечение низких пределов обнаружения (ПОб) и определения (ПОп) аналита. Под универсальностью в данном случае понимают единые процедуры проведения пробоподготовки для всех тканей и органов, и инструментального определения бора в них.

В доступной иностранной и отечественной литературе описано значительное количество работ, связанных с исследованием закономерностей накопления ^{10}B в клетках [12-16], в органах и тканях мышей, хомяков и крыс [12, 13, 15, 17-21], в крови, сыворотке или моче пациентов [22-25]. В обзоре [26] обсуждены различные методы определения В (в том числе АЭС ИСП) и методы визуализации. В обзоре представлены только принципиальные возможности описанных методов без детализации. С другой стороны, описание конкретных методик, по-видимому, не было целью работы.

В работе [27] авторами подробно изучено определение бора в биологических объектах (растения, коровье молоко, коровья печень, почки и сыворотка крови). При этом отдельно обсуждены матричные помехи со стороны разлагающей смеси (матричный эффект от кислот), со стороны присутствующего в пробах железа. В работе также приведены метрологические характеристики – ПОб, ПОп, точность и прецизионность. Интересно, что при проверке правильности определения бора в ткани печени Авторами были получены значения концентрации значительно ниже, чем в опубликованной

ранее литературе. Схожая работа [28] посвящена определению бора в тканях животных. При пробоподготовке используют предварительное микроволновое растворение, ультразвуковой ввод пробы в ИСП и внутренний стандарт Be.

Авторы работы [29] для определения бора в качестве одного из методов использовали АЭС ИСП. Бор вводили в виде борана, определение проводили ткани в печени, почках, мышцах и опухоли после микроволнового разложения в смеси азотная-фосфорная кислоты (для устранения потерь бора в виде легколетучих соединений). Обсуждаются матричные помехи от используемых кислот и присутствующих компонентов Fe, K, Na, P, S.

В работах [27, 30] подробно обсуждаются приборные эффекты памяти при анализе растворов с высоким содержанием бора и их устранение, например, с использованием раствора маннита ($C_6H_{14}O_6$) или аммиака.

Вызывают интерес работы [31] и [32], где для определения широкого списка микроэлементов, в том числе В, авторы используют метод АЭС с альтернативным плазменным источником возбуждения спектров (ИВС) – двухструйный дуговой плазматрон [33]. Главным преимуществом этого ИВС является высокая (по сравнению с ИСП) мощность плазмы – 15 кВт. Это дает возможность вводить в плазму твердую пробу, без предварительного переведения аналита в раствор. Тем не менее пробы подвергают предварительной обработке – проводят лиофилизацию, которая занимает продолжительное время и зависит от исходной навески. Далее лиофилизированную пробу в виде порошка смешивают со специальным спектральным буфером на основе графитового порошка и хлорида натрия и подвергают АЭС анализу.

Анализируя рассмотренные работы можно заключить, что большинство современных авторов использовали в качестве основы АЭС ИСП методики

количественного определения, разработанные до 2000-х годов, такие как [27-29]. При этом нет точных сведений о том, какие именно спектральные и неспектральные помехи проявляются при анализе той или иной ткани, органа. Стоит отметить, что в рассмотренных работах не обсуждались инструментальные условия анализа. Хотя регистрация аналитических сигналов при оптимальных условиях может привести к снижению ПОб и ПОп и повышению точности анализа (прецизионности). Всё это создаёт предпосылки к необходимости подробно изучить указанные вопросы с использованием возможностей современных приборов.

Материалы и методы

Все эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманного отношения к животным в соответствии с директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЕС). Исследование выполнено на иммунодефицитных 8-10 недельных самцах мышей линии SCID SPF-статуса. За 18-21 день до начала эксперимента проводили подготовку клеток глиобластомы человека линии U87, доводя до концентрации 100 тыс. клеток в 1 мкл и вводили интракраниально для получения подкожного объемного образования. В качестве препарата адресной доставки моноизотопа бора ^{10}B использовали коммерчески доступные (предварительно обогащённые по ^{10}B) L-р-борфенилаланин ВРА и боркапнат BSH.

Препараты ВРА и BSH вводили внутривенно (в ретроорбитальный синус) в концентрации 350 мкг/г и 100 мкг/кг, соответственно. Для оценки биораспределения ВРА и BSH через определённые промежутки времени (1, 2, 3 и 4 ч после введения) животных усыпляли, забирали органы интереса, далее органы замораживали и хранили при $T = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Пробоподготовка тканей и органов животных

Для растворения органов и тканей мышей (кровь, мозг, опухоль, почки, печень, селезенка) использовали следующие кислоты-окислители: азотная кислота HNO_3 (ос.ч 27-5), перекись водорода H_2O_2 (медицинская, 30%).

Для растворения крови, почек и селезенки использовали систему HotBlock серии Pro (Environmental Express, США). Разложение проводили в открытых сосудах. К навеске образца массой 200-1000 мг добавляли азотную кислоту и нагревали до температуры 90 °С, далее выдерживали 30-60 мин до получения прозрачного раствора.

Для растворения проб с большим содержанием жиров – мозга, опухоли и печени, использовали растворение в автоклавах в микроволновой системе MARS-5 (CEM, Matthews). К навеске образца массой 10-1000 мг добавляли смесь азотной кислоты с перекисью водорода (1:0.2-0.5). Рабочая программа разложения образцов состояла из двух стадий. На первой стадии автоклавы нагревали до температуры 90 °С в течении 15 минут и выдерживали 5-10 минут для стабилизации давления. Вторая стадия занимала 20-30 минут при температуре 180 °С.

АЭС ИСП

Содержание бора определяли методом АЭС ИСП на спектрометре высокого разрешения iCAP-6500 (Thermo). Ввод проб осуществляли перистальтическим насосом. Система ввода состояла из распылителя (SeaSpray) и распылительной камеры циклонного типа (Tracey Spray Chamber). Регистрацию аналитического сигнала проводили при аксиальном обзоре плазмы для двух аналитических линий – В 249.678 нм и В 249.773 нм. Инструментальные условия регистрации: мощность – 1150 Вт; скорость перистальтического насоса – 60 об/мин; скорость распылительного потока

аргона – 0.70, л/мин. Градуировочные зависимости строили с использованием сертифицированного одноэлементного раствора ионов бора ГСО 7345-96. Результат анализа получали усреднением по двум аналитическим линиям. Определение бора в пробах селезёнки и печени проводили только по линии 246.678 нм.

Результаты и их обсуждение

Выбор оптимальной пробоподготовки тканей и органов животных

Как правило, анализируемое вещество вводится в индукционную плазму в виде аэрозоля. При этом важно чтобы раствор, полученный после пробоподготовки был гомогенным, прозрачным и полностью содержал искомый компонент.

При определении низких содержаний аналита в объектах животного происхождения основной помехой выступает остаточное количество неразложившейся органической составляющей. Это приводит к появлению неспектральных влияний.

Анализируемые пробы были разделены на две группы согласно их способности к кислотному разложению и количеству остатков после растворения. К первой группе относятся органы, которые растворяются относительно быстро и неразложившийся остаток отсутствует либо минимален. К этой группе были отнесены кровь, почка и селезенка. Для их разложения достаточно мягких условий – разложение в открытых сосудах на HotBlock ТМ при температуре 90-100 °С. Следует отметить, в случае присутствия неразложившегося остатка для предотвращения засорения транспортирующей трубки применяли фильтрацию. Концентрацию бора в растворе определили до и

после процедуры (см. рис. 1). Как видно из рис. 1 фильтрация не влияет на полученный результат, в частности не оказывает занижающего эффекта.

Мозг, опухоль, печень были отнесены ко второй группе. После их растворения в мягких условиях в растворе присутствует значительное количество неразложившегося органического материала из-за значительного присутствия жиров. По этой причине для разложения органов с высоким содержанием жиров использовали более жесткие условия – повышенные температуры и давление. Эти условия создавали в системе микроволнового разложения проб MARS-5.

Чтобы максимально снизить неспектральное влияние для проб второй группы была изучена зависимость количества присутствующего в растворах углерода от температуры кислотного разложения (см. рис. 2). Содержание остаточного углерода С в полученном растворе определяли на спектрометре iCar-6500, используя аналитические линии 247.856 нм и 426.726 нм. Для построения градуировочной зависимости использовали раствор, приготовленный на основе галловой кислоты ($C_7H_6O_5$). Из рис. 2 видно, что наименьшее содержание углерода в растворах (~ 2 %) остается при температуре 180 °С. Указанная температура обеспечивает получение прозрачного, гомогенного раствора. В дальнейших работах использовали выбранную температуру.

Инструментальные условия АЭС ИСП определения бора

При выборе условий руководствовались достижением максимального аналитического сигнала аналита, при минимальных флуктуациях фона. Оптимальная мощность ИСП обеспечивает наилучшие условия возбуждения аналитических линий бора 249.678 и 249.773 нм. Использование адекватной

скорости насоса и распылительного потока аргона приводит к эффективному введению раствора пробы в ИСП и создает необходимую плотность аэрозоля в распылительной камере.

Ранее было установлено [34], что при анализе растворов предпочтительной является скорость распылительного потока аргона в диапазоне 0.50-0.60 л/мин. Для достижения наименьших ПОб и ПОп при постоянном распылительном потоке аргона 0.60 л/мин варьировали мощность плазмы в диапазоне 1000-1300 Вт и скорость перистальтического насоса от 25 до 60 об/мин. После проведенных экспериментов было установлено, что наименьшее значение ПОб для указанных аналитических линий достигается при мощности ИСП 1150 Вт. На рис. 3 в качестве примера приведены ПОб для линии 249.678 нм. Дальнейшее увеличение скорости перистальтического насоса приводит к снижению аналитического сигнала и как следствие увеличению ПОб и ПОп, что согласуется с данными [34].

Матричные эффекты

При определении бора в тканях и органах животных часть несектральных влияний связана с процессами распыления. А именно – раствор после разложения проб имеет до 2% органической составляющей матрицы и высокие концентрации кислот. Это существенно изменяет плотность раствора и приводит к укрупнению частиц аэрозоля, следовательно, к уменьшению эффективности ввода пробы в ИСП. Введение внутреннего стандарта [15, 16, 24, 27, 28, 29 и др.] решает большую часть указанных осложнений. На начальном этапе работы мы использовали «универсальный» внутренний стандарт – раствор У в концентрации 0.1 мкг/мл (324.228 и 371.029 нм) для всех типов проб. Однако при дальнейшем исследовании было выявлено, что заметные матричные

эффекты могут проявляться только для тканей мозга и печени. Концентрация накопленного бора в этих органах выше 1 мкг/кг. Поэтому простое последовательное разбавление проб позволяет обеспечивать определение аналита без ухудшения правильности и прецизионности (см. табл. 1). Из табл. 1 видно, что при анализе раствора с концентрацией матрицы 0.1 г/мл без внутреннего стандарта результат занижен по отношению к значению, полученному при использовании внутреннего стандарта. Тогда как при анализе проб с меньшим содержанием матрицы – 0.01 и 0.005 г/мл результаты анализа в пределах доверительного интервала совпадают с результатом, полученным при использовании внутреннего стандарта.

Наиболее сильные спектральные помехи оказывает присутствующее в тканях и органах Fe (см. рис. 4 *a* и *б*), о чём также указывают авторы [27, 28]. При определении бора по линии 249.678 нм существенное влияние оказывает линия Fe 249.653 нм и неидентифицированная спектральная линия 249.695 нм. Исходя из профиля спектра (рис. 4 *a*) возможно указанная линия принадлежит железу Fe 249.6916 нм, о наличии которой свидетельствуют данные базы спектральных линий NIST [35]. Тогда как в широко распространённой справочной литературе [36] и программном обеспечении iTeva такой линии нет, а указана только линия Fe 249.699 нм. Заметные спектральные интерференции от железа наблюдаются при определении бора по линии 249.773 нм. Как видно из рис.4 *б* влияние оказывает линия Fe 249.782 нм. Следует отметить, что наиболее выраженные спектральные матричные влияния наблюдаются при определении бора по линии 249.773 нм в пробах крови, селезенки и печени. Эти влияния приводят к завышению полученных результатов. Для получения

правильного результата для этих проб целесообразно использовать линию 249.678 нм.

Подтверждение правильности

Заключительным этапом разработки методики определения бора в органах и тканях животных является подтверждение правильности. Правильность разработанной методики подтверждали двумя способами: «введено-найдено», варьирование навески пробы.

В ходе эксперимента «введено-найдено» было установлено, что найденная концентрация удовлетворительно совпадает с введённой концентрацией, внутрилабораторная прецизионность при этом не превышает 20 % (см. табл. 2). Из табл. 2 видно, что найденный результат для аналитической линии 249.773 для проб крови завышен (~20%). Найденные концентрации бора, полученные из разных навесок образца сопоставимы (см. табл. 3). Полученные результаты так же указывают на равномерное распределение бора в органе (ткани).

Данные в табл. 2 и 3 показывают, что процедура пробоподготовки не вносит систематических искажений на полученные результаты в ходе АЭС ИСП анализа. Методика АЭС ИСП определения бора способна обеспечивать экспрессное определение аналита с высокой правильностью и прецизионностью. ПОб при определении бора равен 0.003 мкг/мл. При пересчёте на навеску полученный ПОп равен 0.015 мкг/г. Внутрилабораторная прецизионность при определении бора в разных органах изменяется в диапазоне от 2 до 20%.

Накопление BPA и BSH

Разработанная АЭС ИСП методика определения бора в органах и тканях мышц была использована для оценки эффективности накопления ВРА и BSH в опухоли и построения кинетических кривых выведения препаратов. В табл. 4 приведены найденные концентрации для всех органов интереса – кровь, опухоль, мозг, почка и печень. Цветом в таблице выделены временные точки, для которых найденная концентрация максимальна. Эксперимент показал, что концентрация ВРА и BSH в течение 4 часов снижалась монотонно. Наибольшие абсолютные концентрации бора были определены в пробах почек и печени.

Для препарата ВРА отношение концентраций бора опухоль/кровь (см. рис. 5) изменялось в диапазоне от 1.1:1 до 2.2:1 и составляло 1.3; 1.6; 1.1 и 2.2. С учётом вариабельности найденных значений ^{10}B в исследованных образцах тканей и небольшим объёмом выборки (3 животных на временную точку) величина доверительного интервала находится на приемлемом уровне (см. табл. 4). Полученные концентрации бора в опухоли для временных точек 1 и 2 часа совпадают в пределах доверительного интервала.

Для препарата BSH отношение концентраций бора опухоль/кровь (см. рис. 5) изменялось в диапазоне от 0.44:1 до 1.1:1 и составляло 0.44; 0.53; 1.1 и 1.0. Обращает на себя величина доверительного интервала (см. табл. 4), для всех полученных данных интервал достаточно большой, для некоторых точек сопоставим со значением найденной концентрации. Это связано с большой вариабельностью найденных значений ^{10}B в исследованных образцах тканей.

Таким образом, для ВРА оптимальный период проведения облучения для мышц SCID с ортотопической опухолью ксенотрансплантата – 1-2 часа после введения препарата. Для препарата BSH требуется более длительное время накопления. (см. табл. 4).

Выводы

В результате исследований была разработана АЭС ИСП методика определения бора в тканях органов животных. ПОб при определении бора равен 0.003 мкг/мл; ПОп равен 0.015 мкг/г. Внутрिलाбораторная прецизионность не превышает 20 %.

Были выявлены органы и ткани, в которых накопление бора максимально – почка и печень. Установлено, что максимальное соотношение опухоль/кровь для препарата ВРА равно 2.2 для временной точки 4 ч. Однако абсолютное содержание бора в опухоли при этом мало, наибольшее содержание достигнуто для 1 и 2 ч. Для препарата BSH максимальное соотношение опухоль/кровь равно 1.1 для временной точки 3 ч. Наибольшее содержание бора при этом получено для 1 ч.

Таким образом, для ВРА оптимальный период проведения облучения для мышей SCID с ортотопической опухолью ксенотрансплантата наступает сразу после введения лекарственного средства, тогда как BSH требует более длительного времени накопления.

Благодарности

Исследование выполнено на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных, SPF-вивария ИЦиГ СО РАН.

Финансовая поддержка РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-01007; РФФИ в рамках научного проекта №19-72- 30005.

Список литературы

1. R. F. Barth, M. Vicente, O. Harling et al. // Radiation oncology. 2012. V.7. P.146.
2. R. F. Barth, Z. Zhang, T. Liu, // Cancer communications. 2018. V.38. №1. P.36.

3. В. В. Каньгин, А. И. Кичигин, Н. В. Губанова и др. // Вестник рентгенологии и радиологии. 2015. Т.6. С.36.
4. S. Y. Taskaev, V. V. Kanygin, V. A. Byvaltsev et al. // Biomedical engineering. 2018. V.52. №2. P.73.
5. С. Ю. Таскаев, В. В. Каньгин, В. А. Бывальцев и др. // Медицинская техника. 2018. № 2 (308). С.1.
6. J. A. Coderre, D. D. Joel, P. L. Micca et al. // Radiation research. 1992. V.129. №3. P.290.
7. J. A. Coderre, T. M. Button, P. L. Micca et al. // International journal of radiation. Oncology, Biology, Physics. 1994. V.30. №3. P.643.
8. K. Ono, Y. Kinashi, M. Suzuki et al // Japanese journal of cancer research. 2000. V.91. №8. P.853.
9. D. D. Joel, J. A. Coderre, P. L. Micca // Journal of neuro-oncology. 1999. V.41. №3. P.213.
10. A. Deagostino, N. Protti, D. Alberti et al. // Future medicinal chemistry. 2016. V.8. №8. P.899.
11. P. Agüi-Gonzalez, S. Jähne, N. T. Phan // Journal of analytical atomic spectrometry. 2019. V.34. P.1355.
12. Y. C. Lin, J. J. Hwang, S. J. Wang et al. // Anticancer research. 2012. V.32. №7. P.2657.
13. P. J. Kueffer, C. A. Maitz, A. A. Khan et al. // Proceedings of the national academy of sciences of the USA. 2013. V.110. №16. P.6512.
14. A. Matsumura, Y. Shibata, T. Yamamoto et al. // Cancer letters. 1999. V.141. №1-2. P.203.

15. M. A. Garabalino, E. M. Heber, A. M. Hughes et al. // *Applied radiation and isotopes*. 2014. V.88. P.64.
16. M. Carpano, M. Perona, C. Rodriguez et al. // *International journal of radiation. Oncology, Biology, Physics*. 2015. T.93. №2. P.344.
17. R. F. Barth, G. W. Kabalka, W. Yang et al. // *Applied radiation and isotopes*. 2014. V.88. P.38.
18. M. A. Dagrosa, M. Viaggi, E. Kreimann et al. // *Thyroid*. 2002. V.12. №1. P.7.
19. A. Doi, S. Kawabata, K. Iida et al. // *Journal of neuro-oncology*. 2008. V. 87. №3. P.287.
20. J. Hiratsuka, K. Yoshino, H. Kondoh et al. // *Japanese journal of cancer research*. 2000. V.91. №4. P.446.
21. M. Białek-Pietras, A. B. Olejniczak, S. Tachikawa et al. // *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2013. V. 21. №5. P.1136.
22. J. Laakso, M. Kulvik, I. Ruokonen et al. // *Clinical chemistry*. 2001. V.47. №10. P.1796.
23. M. Korkmaz, U. Şaylı, B. Şaylı et al. // *British journal of nutrition*. 2007. V.98. №3. P.571.
24. R. Rahil-Khazen, B. J. Bolann, R. J. Ulvik // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2000. V.38. №8. P.765.
25. В. И. Федоров // *Аналитика и контроль*. 2005. № 4. С.358.
26. A. Wittig, J. Michel, R. L. Moss et al. // *Critical reviews in oncology/hematology*. 2008. V.68. №1. P.66.
27. S. Evans, U. Krähenbühl // *Fresenius' journal of analytical chemistry*. 1994. V.349. №6. P.454.

28. D. H. Sun, J. K. Waters, T. P. Mawhinney // Journal of analytical atomic spectrometry. 1997. V.12. №6. P.675.
29. T. U. Probst, N. G. Berryman, P. Lemmen et al. // Journal of analytical atomic spectrometry. 1997. V.12. №10. P.1115.
30. A. Al-Ammar, R. K. Gupta, R. M. Barnes // Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. 1999. V.54. №7. P.077.
31. Н. П. Заксас, Т. Т. Султангазиева, Т. М. // Журнал аналитической химии. 2006. Т.61. №6. С.632.
32. N. Zaksas, Y. Gluhcheva, S. Sedykh et al. // Journal of trace elements in medicine and biology. 2013. V.27. №1. P.27.
33. Ж. Ж. Жеенбаев, В. С. Энгельшт. Двухструнный плазмотрон. Фрунзе: Илим, 1983. 200 с.
34. А. Р. Цыганкова, Г. В. Макашова, И. Р. Шелпакова // Методы и объекты химического анализа. 2012. Т.7. № 3. С.138.
35. A. Kramida, Yu. Ralchenko, J. Reader and NIST ASD Team (2018). NIST Atomic Spectra Database (ver. 5.6.1), [Online]. Available: <https://physics.nist.gov/asd> [2019, August 5]. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD. DOI: <https://doi.org/10.18434/T4W30F>
36. А. Н. Зайдель, В. К. Прокофьев, С. М. Райский и др., Таблицы спектральных линий. 3-е изд., испр. и доп. Москва: Наука, 1969. 782 с.

Табл. 1. Найденная концентрация бора (мкг/г) в пробах печени при различной концентрации матрицы (г/мл) с использованием внутреннего стандарта и без (n=3, P=0.95).

Параметр	Без вн. ст-та		Вн. ст-рт,		
	Последовательное разбавление	0.1	0.1	0.01	0.005
Концентрация В		2.00±0.09	2.38±0.19	2.18±0.12	2.20±0.09

Табл. 2. «Введено-найдено» для разных органов (n=3, P=0.95), мкг/г.

В, мкг/мл	Кровь		Почка		Печень	
	Введено	Найдено	Введено	Найдено	Введено	Найдено
249.678	0.052	0.051±0.013	0.10	0.10±0.03	0.25	0.23±0.02
249.773		0.061±0.015		0.10±0.03		0.23±0.03

Табл. 3. Результаты определения бора при варьировании навески пробы печени (n=3, P=0.95), мкг/г.

Номер пробы	1		2	
Масса навески, мг	0.4080	0.7294	0.4546	0.4547
Содержание В, мкг/г	1.7±0.3	1.5±0.4	10±3	10±2

Табл. 4. Результаты определения бора при накоплении борсодержащих препаратов в органах интереса, мкг/г.

Тип пробы	BPA				BSH			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Кровь	9±2	7±2	7±10	1.6±0.2	13.3±1.9	3±3	2.8±0.9	1.2±0.3
Опухоль	12±3	11±2	8±4	3.6±1.2	5.9±0.7	1.6±1.4	3±3	1.2±0.3
Мозг	4.9±0.3	5.3±0.5	5±8	1.9±0.3	0.69±0.11	0.20±0.09	0.17±0.02	0.12±0.02
Почка	39±4	24±8	19±26	7±3	14±4	5±3	3.3±0.4	4±5
Печень	10±2	7±3	6±10	1.6±0.1	14.5±0.3	9.1±1.4	4.3±0.7	6.5±0.2
Опухоль/ кровь	1.3	1.6	1.1	2.2	0.44	0.53	1.1	1.0

Рис. 1. Концентрация бора в растворе после растворения почки (n=4, P=0.95).

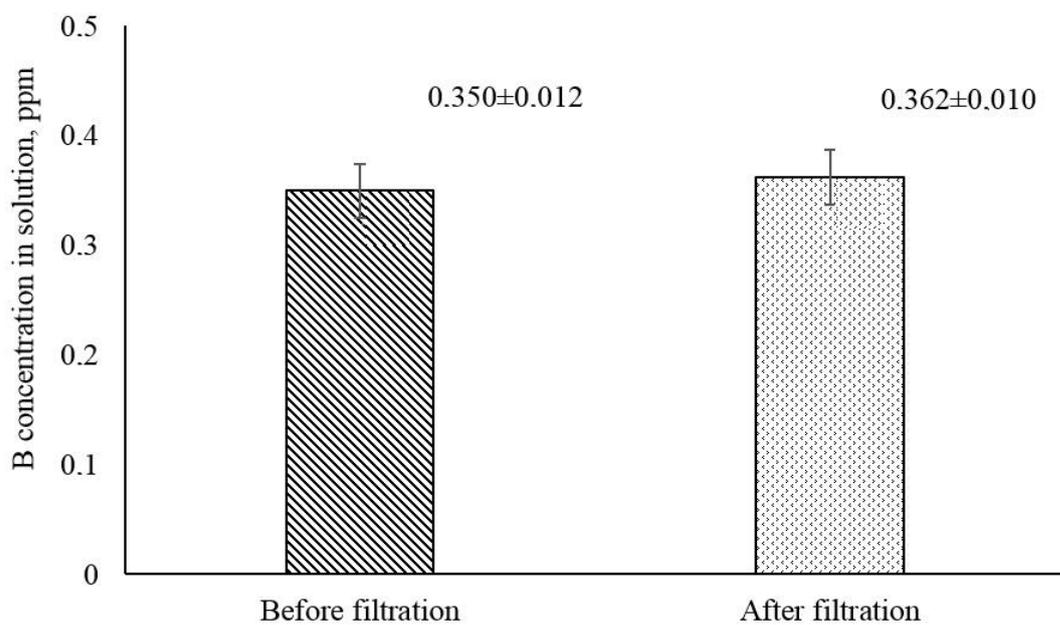
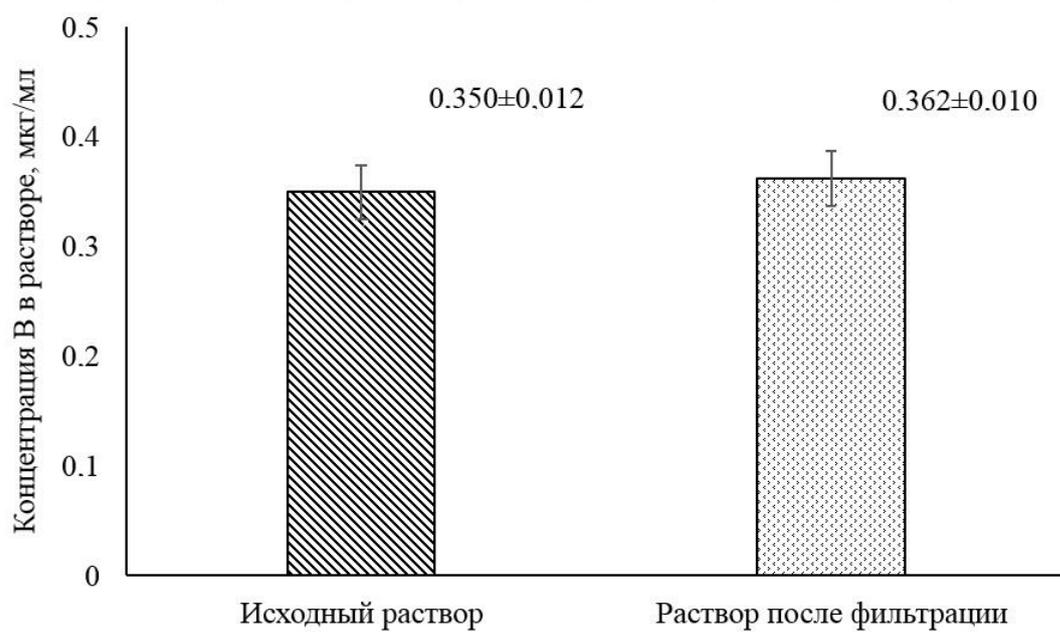


Рис. 2

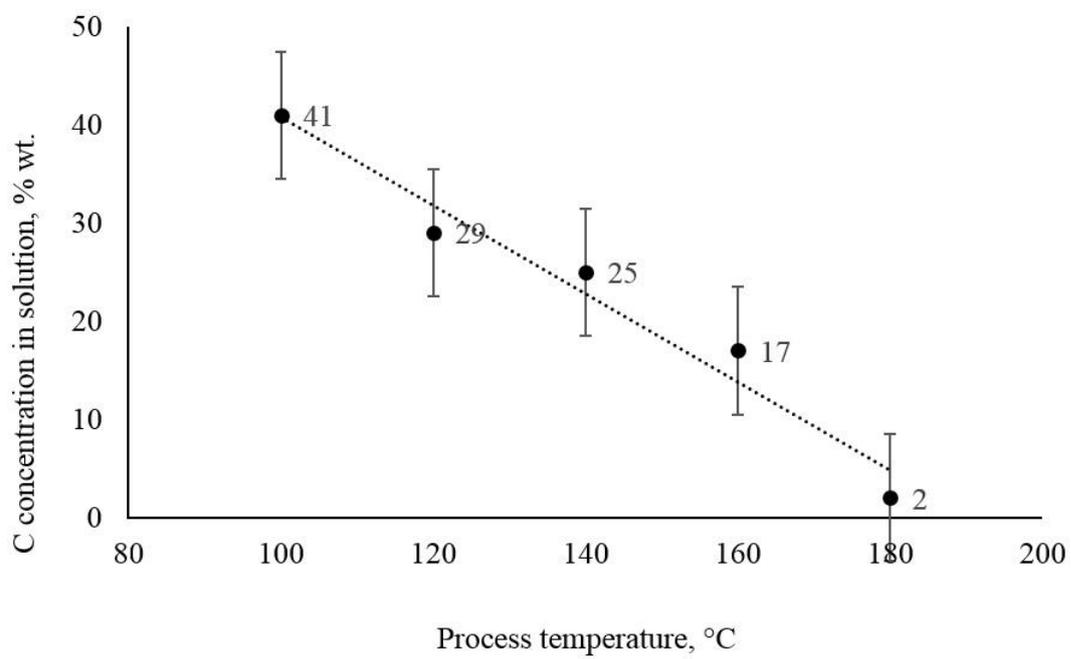
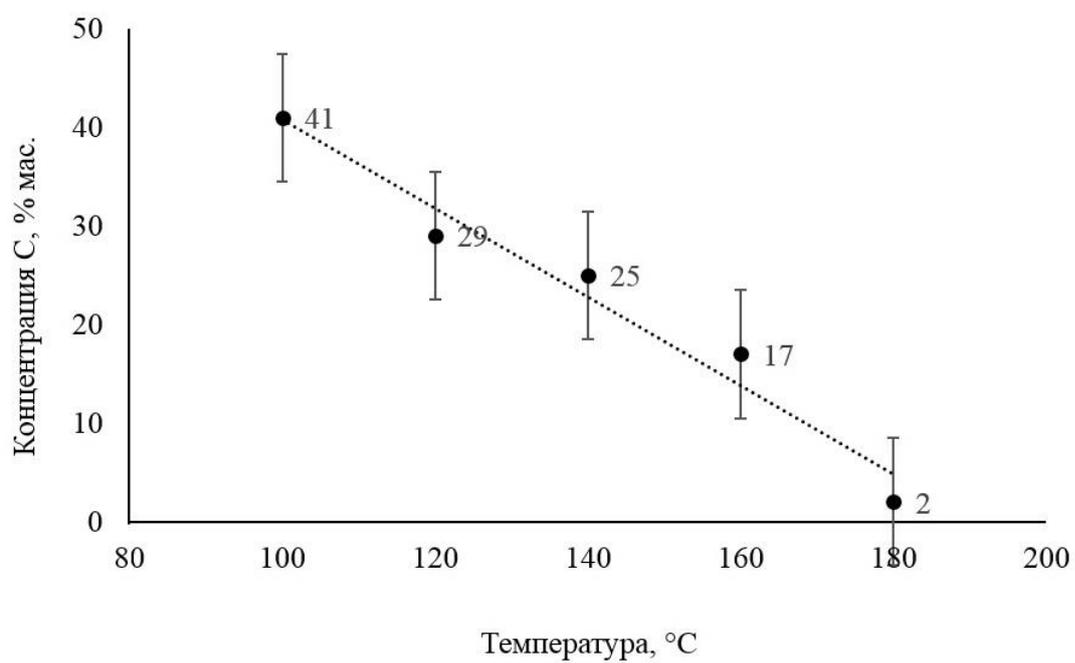


Рис. 3

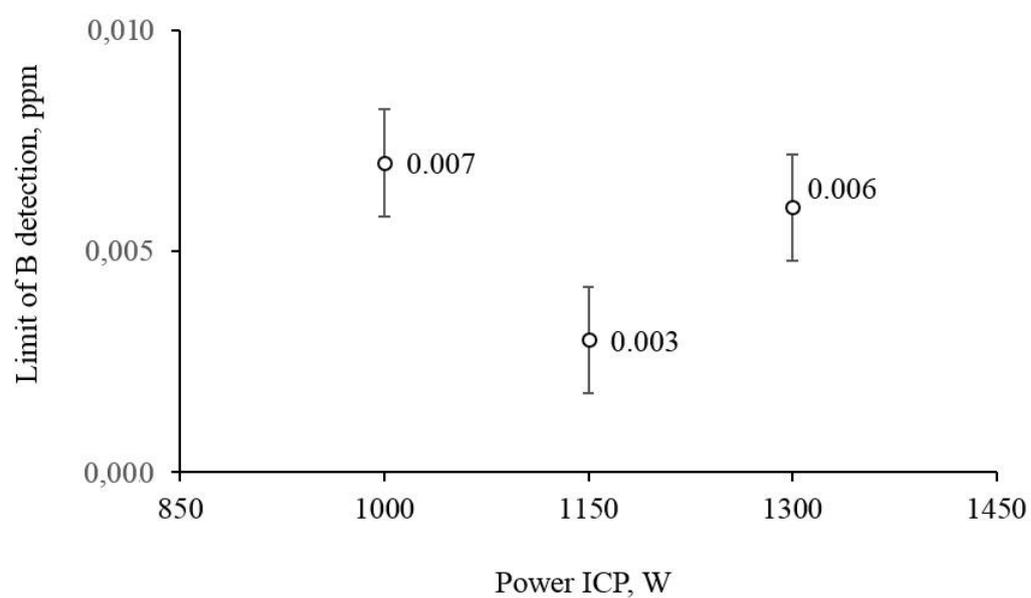
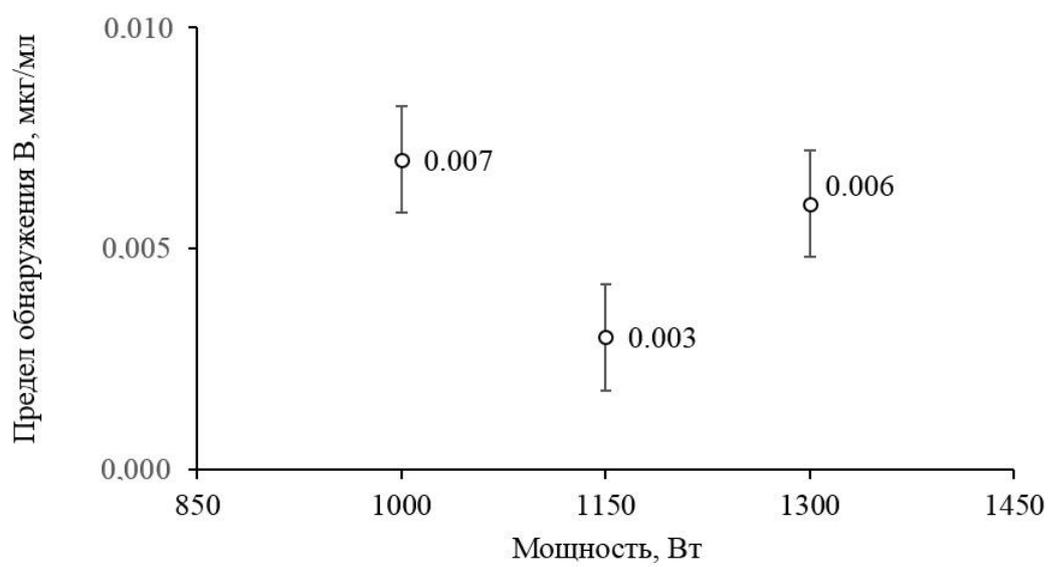


Рис. 4

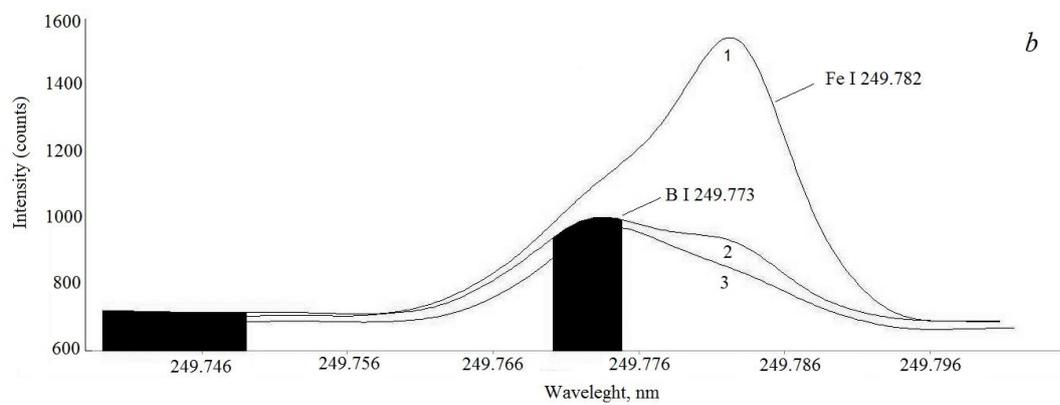
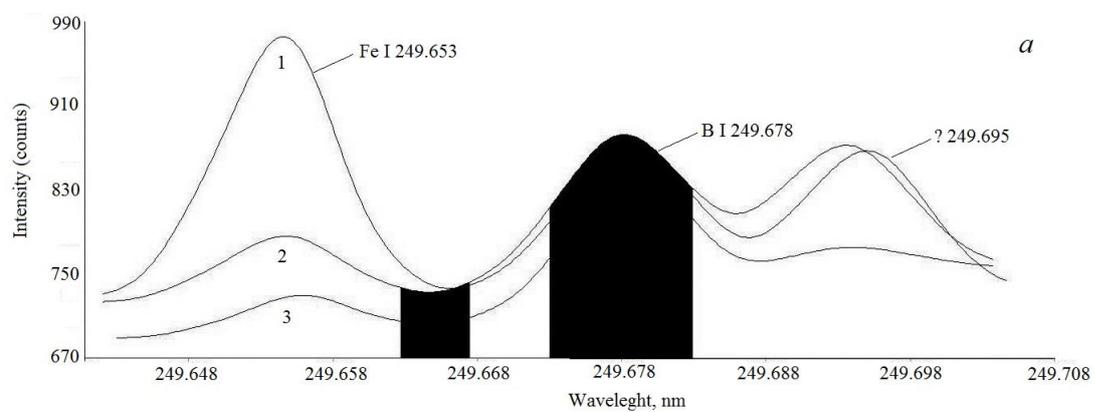
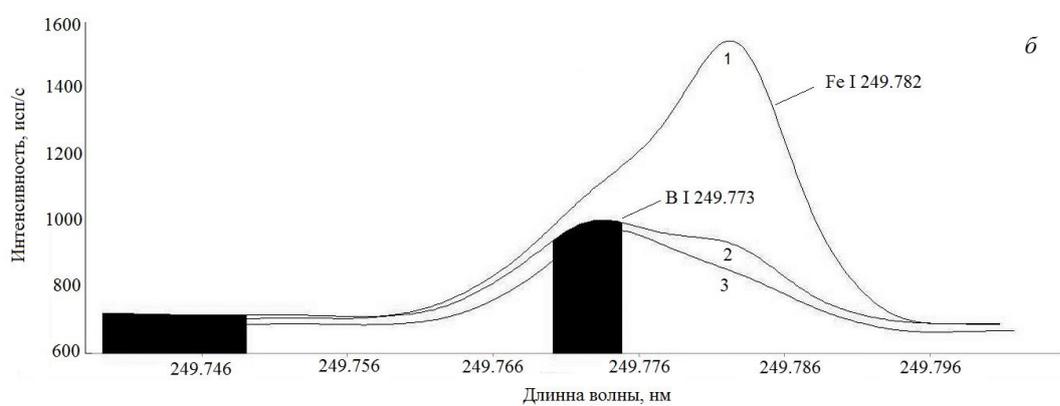
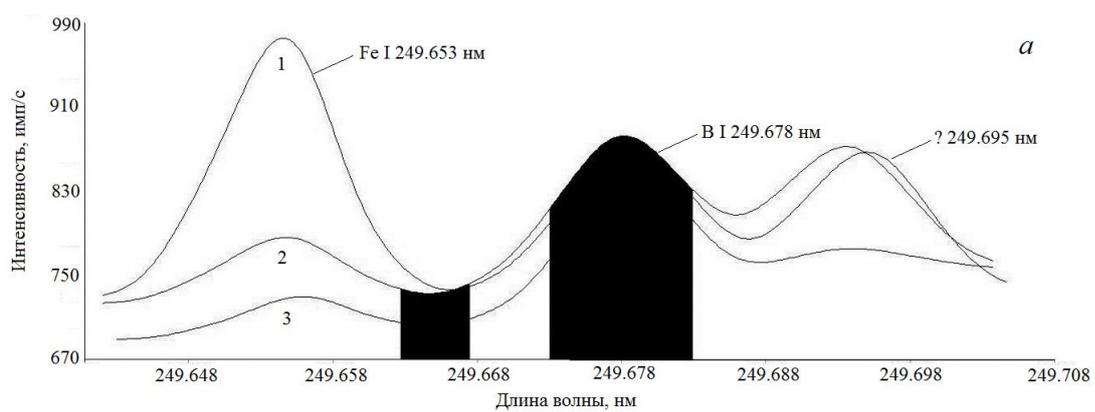
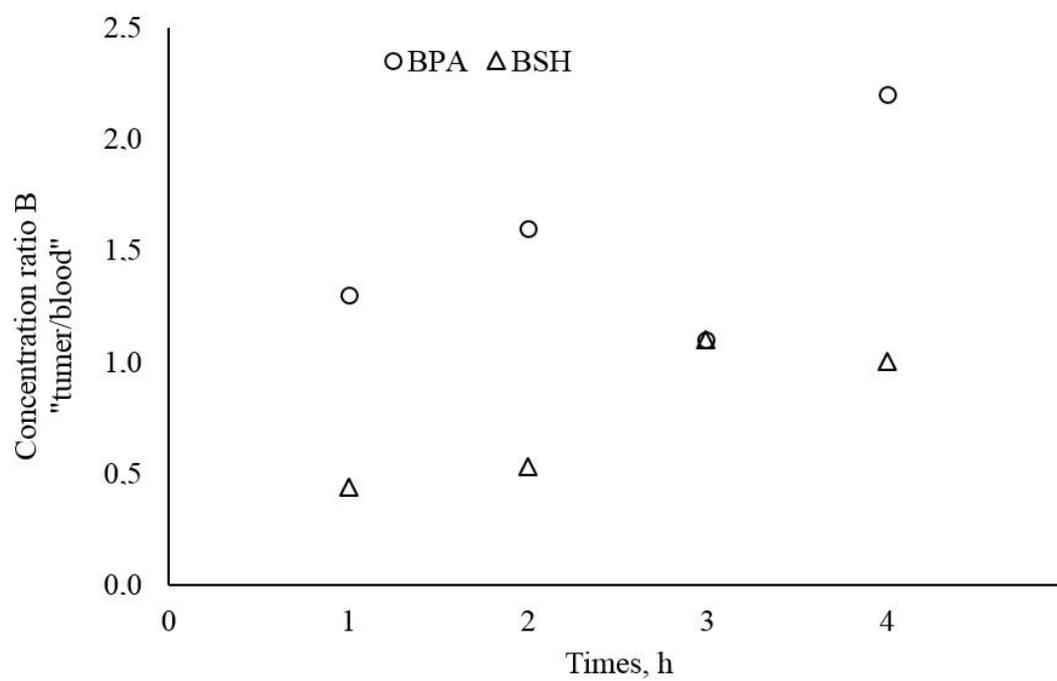
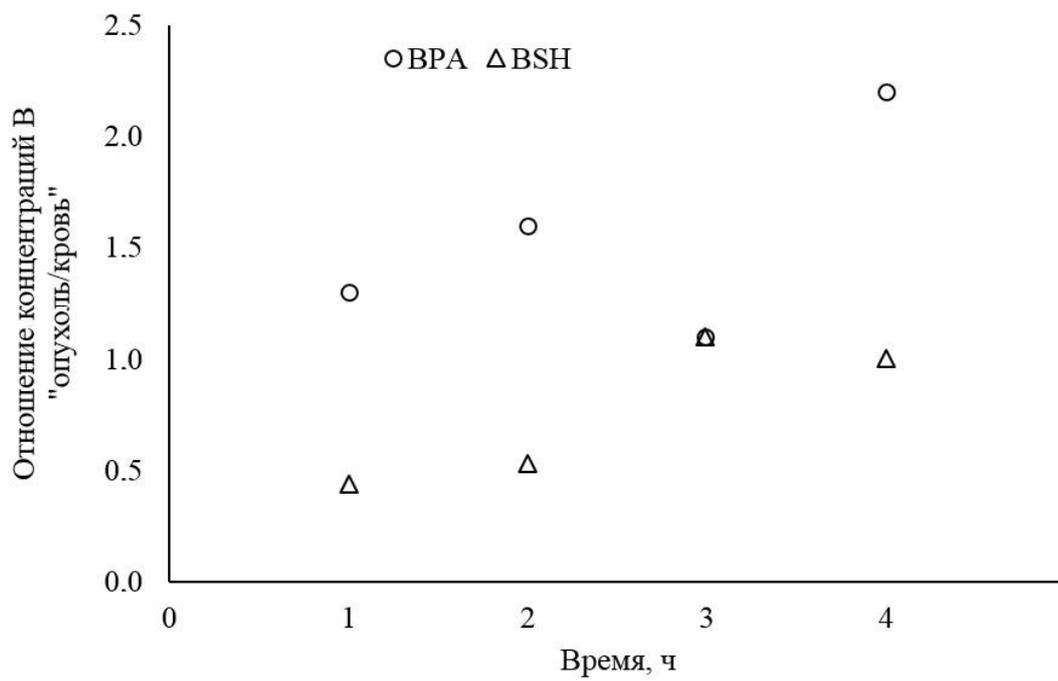


Рис. 5



Подписи к рисункам:

Рис. 1. Концентрация бора в растворе после растворения почки ($n=4$, $P=0.95$).

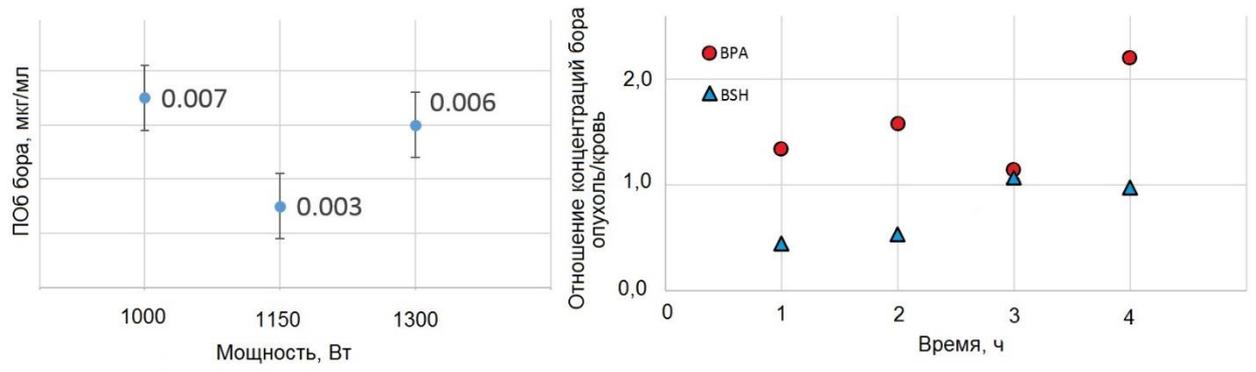
Рис. 2. Зависимость содержания углерода в растворах от температуры разложения.

Рис. 3. ПОб для В 249.678 нм при различной мощности ИСП, мкг/мл.

Рис. 4. Профили спектров для спектральных линий В 249.678 (а) и 249.773 (б) нм для проб 1 – селезёнка, 2 – почка, 3 – мозг.

Рис. 5. Отношение концентраций В «опухоль/кровь» в зависимости от времени для ВРА и BSH.

Графический реферат



Полное название статьи: Определение бора методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Изучение биораспределения бора в органах мышей ^{10}B .

Название статьи на англ: ICP-AES boron determination method. Studies of ^{10}B boron boidistribution in mice's organs

A. Tsygankova^{1,2}, V. Kanygin¹, A. Kasatova^{1,3}, E. Zavjalov^{1,4}, T. Guselnikova², A. Kichigin^{1,4}, R. Mukhamadiyarov⁵

1 Novosibirsk State University, 1, Pirogova str., Novosibirsk, 630090, Russia, telefax +7 (383) 363-42-80

2 Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry SB RAS, 3, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia, telefax +7 (383) 330-94-89

3 Budker Institute of Nuclear Physics SB RAS, 11, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia, telefax +7(383) 330-71-63

4 «SPF-vivarium» Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 10, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia, telefax +7 (383) 333-12-78

5 Municipal Budgetary Healthcare Institution Kemerovo Cardiology Dispensary, 6, Sosnoviy blvd, Kemerovo, 650002, Russia, telefax +7 (383) 333-27-92

Аннотация:

Для аналитического сопровождения бор-нейтронозахватной терапии раковых опухолей оптимизирована АЭС ИСП методика определения бора в тканях органов животных. Предложенная методика характеризуется универсальностью и экспрессностью. В методику входят: процедура предварительного кислотного разложения при повышенных температурах и

давлении (при необходимости), АЭС ИСП определение бора в полученных растворах по образцам сравнения на основе одноэлементных растворов.

Правильность подтверждена методами «введено-найдено» и варьированием навески. АЭС ИСП методика была использована при оценке накопления ВРА и BSH в органах и тканях при внутривенном введении препарата мышам линии SCID SPF-статуса с использованием клеток глиобластомы человека линии U87.

Annotation:

To accompany boron neutron capture therapy cancerous tumours there has been optimised ICP-AES method for boron determination in animals' organs tissues. This technique is characterised by its universalism. The approach comprises preliminary acid decomposition at high temperatures and pressure (if necessary), ICP-AES boron determination in the gained solutions analysing comparative samples basing on single element solution. Its validity is proved by spike experiment and mass sample variation test. ICP-AES method is used during evaluation of BPA and BSH accumulation in organs and tissues when intravenously injecting U87 glioblastoma medication to SCID mice of SPF-status.

Ключевые слова: БНЗТ, ВРА, BSH, атомно-эмиссионная спектрометрия, ткани органов, пробоподготовка, определение бора.

Keywords: BNCT, BPA, BSH, atomic emission spectroscopy, organs tissues, sample preparation, boron determination.

Краткое название на англ.яз: ICP-AES boron determination method

Список терминов на англ. яз:

Бор-нейтронозахватная терапия – Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)

Пределы обнаружения – limits of detection (LODs)

Пределы определения – limits of quantification (LOQs)

Матричные влияния – matrix effect

Точность, прецизионность – precision

Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой –

ICP-AES

Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой – ICP-MS

Борфенилаланин – L-p-boronphenylalanine (BPA)

Боркаптан – borocaptate (BSH)

Микроволновая система – microwave accelerated reaction system MARS-5

Жиры – lipids

Альтернативный источник возбуждения спектров – Alternative plasma

spectra excitation source

мкг/мл – ppm

Масс-спектрометрия вторичных ионов – Secondary-ion mass spectrometry

(SIMS)

Позитронно-эмиссионная томография – positron emission tomography

Эксперимент "введено-найдено" – spike experiment