

## Лазерная доставка, процессы и спектральное исследование современного хлоринсодержащего препарата для лечения онихомикоза при лазерном воздействии с длиной волны 405 nm

© А.В. Беликов<sup>1,2</sup>, А.Д. Козлова<sup>1,¶</sup>, Ю.В. Федорова<sup>1</sup>, С.Н. Смирнов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Университет ИТМО,  
197101 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,  
197022 Санкт-Петербург, Россия

¶e-mail: ntavalin@gmail.com

Поступила в редакцию 10.01.2023 г.

В окончательной редакции 03.02.2023 г.

Принята к публикации 08.02.2023 г.

В эксперименте *in vitro* исследована лазерная микропорация ногтевой пластины и активная лазерная доставка под ногтевую пластину современного хлоринсодержащего фотосенсибилизирующего препарата Chloderm для лечения онихомикоза лазерным излучением с длиной волны 405 nm. Оценены скорость и эффективность абляции ногтевой пластины, а также скорость доставки препарата под ногтевую пластину. Максимальная скорость абляции составила  $2600 \pm 200 \mu\text{m/s}$ , а эффективность абляции  $2.6 \pm 0.2 \mu\text{m/mJ}$ . Максимальная скорость доставки препарата составила  $5.3 \pm 0.5 \text{ mg/s}$  при  $P = 1.0 \text{ W}$  и времени воздействия  $t = 0.3 \text{ s}$ . Впервые обнаружены и описаны процессы, возникающие при воздействии лазерного излучения на Chloderm и его водные растворы. Представлены результаты исследования спектров экстинкции водного раствора Chloderm в диапазоне 350–900 nm до и после воздействия лазерного излучения. Показано, что воздействие лазерного излучения с длиной волны 405 nm и параметрами, достаточными для активной лазерной доставки водного раствора препарата Chloderm ( $C = 5\%$ ) под ногтевую пластину, не изменяет конформационное состояние препарата, а значит не ухудшает его фотодинамические и люминесцентные свойства.

**Ключевые слова:** лазерная доставка, микропорация, абляция, ногтевая пластина, эффективность, онихомикоз, хлоринсодержащий фотосенсибилизирующий препарат, спектр экстинкции, длина волны.

DOI: 10.21883/OS.2023.06.55919.119-23

### Введение

Лазеры широко применяются в современной физике, технике и медицине, в том числе в дерматологии для лечения грибковых заболеваний. Онихомикоз является распространенным в дерматологии заболеванием ногтей, вызванным грибковой инфекцией [1,2]. Для лечения онихомикоза широко применяют пероральные противогрибковые препараты. Однако в этом случае терапия занимает длительное время, и существует риск гепатотоксичности. Хирургические методы лечения онихомикоза весьма болезненны [3]. Также при лечении онихомикоза широко используются местные фармацевтические препараты. Эффективность такого лечения ограничена, так как ногтевая пластина препятствует доставке местных лекарственных средств к ногтевому ложу, пораженному грибку [4,5].

Проницаемость ногтевой пластины можно увеличить с помощью лазерной микропорации. При лазерном воздействии в результате преобразования поглощаемой лазерной энергии в тепло биоткань нагревается и аблируется, образуя микропоры, по которым возможна доставка лекарства [6]. Лазерное излучение с длиной волны 405 nm может быть использовано для эффек-

тивной лазерной микропорации здорового и пораженного онихомикозом ногтя, так как оно эффективно поглощается кератином ногтевой пластины, а также меланином, вырабатываемым меланоцитами ногтевой матрицы вследствие меланонихии (гиперпигментации ногтей) при онихомикозе, а также возбудителями онихомикоза, находящимися в ногтевой пластине [7]. Однако эффективность и скорость абляции ногтевой пластины излучением лазера с длиной волны 405 nm до сих пор не исследовались.

Увеличение эффективности доставки местных препаратов под микропорированную ногтевую пластину может быть достигнуто в ограниченной степени путем улучшения состава препарата и в большей степени путем применения внешней энергии для улучшения проникновения препаратов в биоткань (активная доставка) [8,9]. В частности, лазерно-индуцированные гидродинамические процессы могут увеличивать скорость проникновения препаратов в биологические ткани [10,11]. При этом важно избежать нежелательного изменения свойств препарата под действием лазерного излучения. Известно, что под действием лазерного излучения происходит изменение оптических свойств фотосенси-

билизирующих препаратов, в том числе в результате изменения их конформационного состояния [12–15].

Современными эффективными фотодинамическими препаратами для лечения онихомикоза являются хлоринсодержащие фотодинамические препараты нового поколения, в том числе Chloderm (ИП „В.В. Ашмаров“, Россия). Фотодинамический агент этого препарата, трис-меглюминовая соль хлорина еб, является мощным фотосенсибилизатором. Для спектра поглощения хлорина еб характерно наличие наиболее интенсивной В-полосы поглощения (полоса Core), Qx 00- и Qx 01-полос, а также Qu 00-полосы. В-полоса довольно широкая и по основанию простирается от 320 до 480 nm. При фотодинамической терапии в основном используются источники света, длина волны которых попадает в пик Qu 00-полосы. Это связано с тем, что свет с этой длиной волны глубоко проникает в биоткань. Однако это излучение поглощается фотосенсибилизатором не так эффективно, как излучение попадающее в пик В-полосы. Применение же источников с длиной волны, попадающей в В-полосу, ограничено малой глубиной проникновения их излучения в биоткань. Для ряда дерматологических заболеваний и прежде всего онихомикоза глубина проникновения света не должна быть выше 0.3–0.5 mm, что открывает возможность использования излучения, лежащего вне Qu 00-полосы, в том числе с длиной волны 405 nm, попадающей в пик В-полосы поглощения. В работе [15] показано, что воздействие на Chloderm лазерного излучения с длиной волны 405 nm и интенсивностью 200 mW/cm<sup>2</sup> эффективно обесцвечивает препарат вследствие генерации синглетного кислорода, который обладает выраженным цитотоксичным действием и приводит к разрушению клеточных мембран клеток. Однако скорость доставки препарата Chloderm под ногтевую пластину излучением лазера с длиной волны 405 nm до сих пор не исследовалась. Также не исследовалась возможность изменения конформационного состояния Chloderm под действием этого излучения с параметрами достаточными для активной лазерной доставки препарата под ногтевую пластину. В этой связи актуальным является определение средней мощности и времени воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm, которые, с одной стороны, приводят к активной доставке препарата под ногтевую пластину, а с другой стороны, не приводят к агрегации молекул хлорина и, следовательно, к существенному ухудшению их фотодинамических и люминесцентных свойств для последующего фотодинамического воздействия.

Таким образом, целью настоящей работы являлось *in vitro* исследование лазерной микропорации ногтевой пластины и активной лазерной доставки под ногтевую пластину современного хлоринсодержащего фотосенсибилизирующего препарата Chloderm для лечения онихомикоза лазерным излучением с длиной волны 405 nm, в результате которого будут определены скорость и эффективность абляции ногтевой пластины, а также скорость доставки препарата под ногтевую пластину,

исследованы спектры экстинкции Chloderm до и после воздействия лазерного излучения, а также оценено влияние воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm и параметрами достаточными для активной лазерной доставки Chloderm под ногтевую пластину на конформационное состояние препарата.

## Материалы и методы

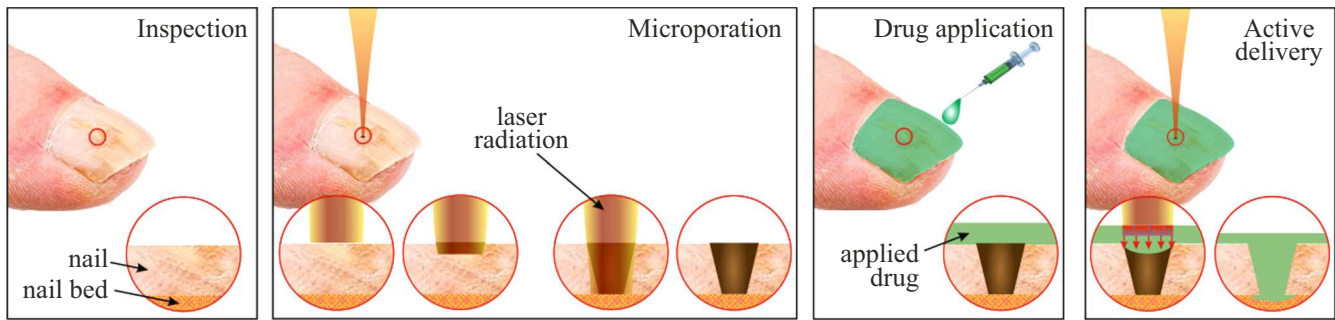
Исследовался современный хлоринсодержащий фотосенсибилизирующий препарат Chloderm (ИП „В.В. Ашмаров“, Россия) и его водные растворы с различной массовой концентрацией (*C*) препарата. Процессы, протекающие при воздействии лазерного излучения с длиной волны 405 nm на Chloderm, регистрировались с помощью цифрового USB-микроскопа DTX 50 (Levenhuk, Inc., США) с 4-кратным увеличением в отраженном свете.

Применялся метод микропорации ногтевой пластины и активной лазерной доставки лекарственного препарата под ногтевую пластину, который предполагает инспекцию состояния ногтя, микропорацию ногтевой пластины лазерным излучением без нанесенного на поверхность ногтя слоя препарата с последующим нанесением препарата на дорсальную поверхность микропорированной ногтевой пластины и воздействием лазерного излучения через слой этого препарата для его активной доставки под ногтевую пластину (рис. 1).

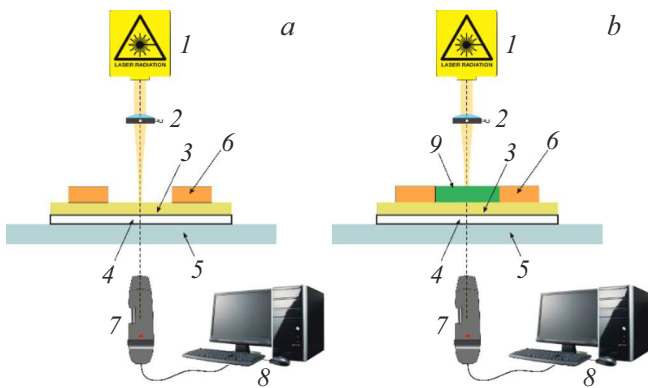
В исследовании *in vitro* использовались образцы, представляющие собой фрагменты свежеекстрагированных здоровых ногтевых пластин человека от трёх добровольцев. Всего было исследовано 20 образцов. Перед началом эксперимента образцы ногтевых пластин, средняя толщина которых составила  $370 \pm 20 \mu\text{m}$ , были механически очищены от грязи и промывты дистиллированной водой.

Для *in vitro* микропорации ногтевой пластины и активной лазерной доставки использовалось излучение непрерывного (CW) полупроводникового InGaN лазера производства компании Xinrui technology (Китай) с длиной волны 405 nm. Средняя мощность лазерного излучения составляла  $P = 0.5, 0.8$  и  $1.0 \text{ W}$  и была ограничена параметрами используемого лазерного диода. Размер лазерного пучка на дорсальной поверхности ногтевой пластины составлял  $140 \times 110 \mu\text{m}$  (по уровню  $e^{-2}$ ). Время лазерного воздействия  $t$  соответствовало 0.04, 0.08, 0.1, 0.12, 0.15, 0.2, 0.3, 0.4 и 0.6 s. Схема экспериментальной установки для микропорации ногтевой пластины и активной доставки фотосенсибилизирующих препаратов под ногтевую пластину лазерным излучением была аналогична описанной в работе [14] и представлена на рис. 2.

На обращенной к лазеру поверхности образца ногтевой пластины создавалась микрокувета, при этом поверхность ногтевой пластины являлась дном микрокуветы. Размеры внутреннего пространства куветы со-



**Рис. 1.** Метод микропорации ногтевой пластины без нанесенного на поверхность ногтя слоя препарата и активной лазерной доставки лекарственного препарата после нанесения препарата на дорсальную поверхность микропорированной ногтевой пластины при лечении заболеваний ногтей человека.



**Рис. 2.** Схема экспериментальной установки для микропорации (а) и активной лазерной доставки (б) Chloderm под ногтевую пластину: 1 — лазер ( $\lambda = 405 \text{ nm}$ ), 2 — линза ( $F = 120 \text{ mm}$ ), 3 — фрагмент ногтевой пластины, 4 — бумажная подложка, 5 — стеклянная пластина, 6 — микрокувета, 7 — цифровой USB-микроскоп DTX 50 (Levenhuk, Inc., США), 8 — компьютер, 9 — хлоринсодержащий фотосенсибилизирующий препарат.

ставляли  $\sim 1.5 \times 1.5 \times 0.1 \text{ mm}$ . При помещении хлоринсодержащего фотосенсибилизирующего препарата в это внутреннее пространство формировался слой препарата толщиной  $100 \pm 10 \mu\text{m}$ .

На первом этапе (рис. 2, а) микрокувета на ногтевой пластине не заполнялась фотосенсибилизирующим препаратом, лазерное излучение фокусировалось на обращенную к лазеру поверхность ногтевой пластины. В результате лазерного воздействия с длиной волны  $405 \text{ nm}$  в ногтевой пластине создавалась микропора. Процесс микропорации ногтевой пластины (кожи) контролировался с помощью цифрового USB-микроскопа, соединенного с компьютером и размещенного с тыльной стороны бумажной подложки, на которой располагался образец ногтевой пластины. Момент микропорации соответствовал моменту появления дефекта на тыльной стороне бумажной подложки. На втором этапе (рис. 2, б) микрокувета заполнялась фотосенсибилизи-

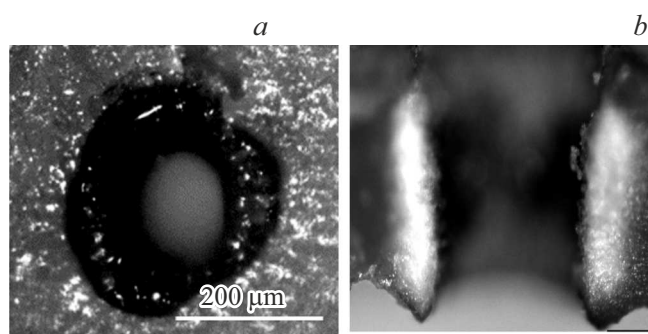
рующим препаратом. Сразу после этого осуществлялась его активная доставка в результате лазерного воздействия с длиной волны  $405 \text{ nm}$ . Момент доставки фотодинамического препарата регистрировался цифровым USB-микроскопом и соответствовал моменту окраски бумажной подложки препаратом.

Внешний вид создаваемых в ногтевой пластине микропор и их продольных шлифов, получаемых в результате абразивного шлифования вдоль оси микропоры, регистрировался микроскопом Zeiss Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Германия). Анализ полученных изображений микропор в программе CorelDRAW Graphics Suite 2021 (Corel Corp., Канада) позволял определить их форму и глубину, а также скорость и эффективность абляции ногтевой пластины. Скорость абляции определялась как отношение глубины кратера в ногтевой пластине ко времени действия лазерного излучения. Эффективность абляции определялась как отношение глубины кратера в ногтевой пластине к энергии лазерного излучения, необходимой для его создания. Масса  $PM_{\text{Chloderm}}$  фотосенсибилизирующего препарата, проникшего через одиночное отверстие в момент его доставки под ногтевую пластину, и скорость  $V_{\text{Chloderm}}$  доставки препарата через одиночное микроотверстие под ногтевую пластину определялись аналогично методу, изложенному в [14].

Для обнаружения конформационных изменений хлоринсодержащего фотосенсибилизирующего препарата Chloderm в процессе его активной доставки лазерным излучением с длиной волны  $405 \text{ nm}$  были исследованы спектры экстинкции Chloderm в диапазоне  $350\text{--}900 \text{ nm}$  до и после лазерного воздействия с длиной волны  $405 \text{ nm}$ . Для регистрации спектров экстинкции использовался двухлучевой спектрофотометр T90+ (PG Instruments Ltd, Великобритания). В эксперименте водный раствор Chloderm ( $C = 5\%$ ) помещался в кварцевую кювету с размерами идентичными размерам внутреннего пространства микрокуветы, создаваемой на поверхности ногтя при микропорации ногтевой пластины и активной лазерной доставке (см. выше). В опорное плечо спектрометра помещалась идентичная по размерам кварцевая кювета с дистиллированной водой. Регистри-

ровался спектр пропускания водного раствора Chloderm до лазерного воздействия. Затем производилось облучение водного раствора Chloderm путем сканирования лазерного излучения с длиной волны 405 nm вдоль поверхности фотосенсибилизирующего препарата. При этом средняя мощность лазерного излучения была максимальной и равной 1 W. Сканирование осуществлялось дискретно от точки к точке с шагом равным диаметру лазерного пучка, до тех пор, пока не была облучена вся площадь поверхности препарата. Время лазерного воздействия в одну точку составляло 0.2, 0.4 или 0.8 s. Затем облученный водный раствор Chloderm внутри кюветы в течение  $60 \pm 1$  s перемешивался в мультиротаторе Multi Bio RS-24 (Biosan, Латвия), осуществлявшем вращательное, возвратно-поступательное движение и встряхивание кюветы, после чего регистрировался спектр пропускания раствора. Каждое измерение проводилось с шагом 1 nm и длилось порядка 3 min. Для каждого образца выполнялось по 10 измерений.

По полученным спектрам пропускания в соответствии с законом Бугера–Ламберта–Бера рассчитывался спектр экстинкции водного раствора Chloderm до и после лазерного воздействия. Коэффициент экстинкции  $\mu_t$  в данном случае учитывал как поглощения, так и рассеяния. В экспериментах исследовались полосы поглощения с пиком на длине волны  $672 \pm 3$  nm (Qy 00-полоса поглощения препарата) и с пиком на длине волны  $697 \pm 3$  nm, которые соответствуют конформационным состояниям хлорина е6 в форме мономера и тетрамера соответственно [16], а также коэффициент экстинкции на длине волны  $405 \pm 5$  nm (B-полоса поглощения препарата). Для оценки конформационного состояния хлорина е6 в Chloderm рассчитывался коэффициент спектральной трансформации ( $k_t$ ) как отношение коэффициента поглощения препарата на длине волны 672 nm, соответствующей поглощению мономеров к коэффициенту поглощения на длине волны 697 nm, соответствующей поглощению тетрамеров. Исследовалось изменение  $k_t$  в зависимости от времени лазерного воздействия  $t$ . Следует отметить, что в данном случае анализ  $k_t$  позволяет понять только тенденцию изменения отношения количества мономеров к количеству тетрамеров в растворе, но не оценить их количество. Для оценки количества мономеров и тетрамеров в растворе до и после лазерного воздействия нужно исследовать поведение их молярных коэффициентов поглощения, что выходит за рамки данной работы. В предположении о постоянстве молярных коэффициентов поглощения мономеров и тетрамеров, увеличение  $k_t$  указывает на то, что количество мономеров увеличивается относительно количества тетрамеров. Статистическая обработка данных, полученных в экспериментах, заключалась в определении средних значений и стандартного отклонения измеренных величин и проводилась в программном пакете STATGRAPHICS Plus 5.0 (Statistical Graphics Corp., США).



**Рис. 3.** Внешний вид ногтевой пластины, микропорированной лазерным излучением с длиной волны 405 nm: фото дорсальной стороны ногтевой пластины с микропорой сверху (a) и фото продольного шлифа ногтевой пластины с микропорой (b) ( $P = 1$  W,  $t = 0.2$  s).

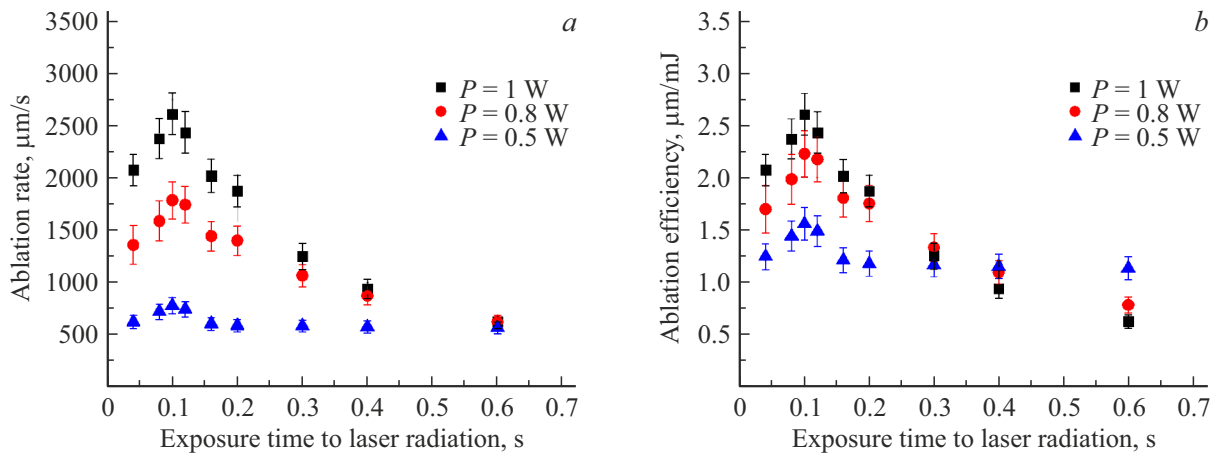
## Результаты и обсуждение

Характерный внешний вид ногтевой пластины, микропорированной излучением с длиной волны 405 nm, представлен на рис. 3.

Видно, что в результате воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm возможно создание в ногтевой пластине сквозных микропор диаметром порядка 200  $\mu$ m. Стенки микропоры существенно деформированы, прилежащая к ним ткань увеличена в размерах и карбонизирована, что свидетельствует о существенном нагреве ногтевой пластины в процессе ее микропорации. Толщина увеличенной карбонизированной области, прилежащей к стенке микропоры, достигает 70  $\mu$ m. Следует отметить, что карбонизация свидетельствует о достижении высоких температур, которые могут травмировать ногтевое ложе в результате микропорации ногтевой пластины. Вместе с тем в работе [17] авторы изучали абляцию ногтевой пластины излучением Er:YAG лазера, при которой так же, как и в нашем случае, наблюдалась карбонизация ногтевой пластины. Авторы этой работы показали, что такое лазерное воздействие в сочетании с последующим действием противогрибковым препаратом (аморолфином) приводит к повышению эффективности местного лечения онихомикоза. В этой связи можно ожидать, что карбонизация не окажет негативного влияния на результат лечения и в случае воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm, хотя данное утверждение, безусловно, нуждается в дополнительной проверке, которая планируется авторами в будущем, но выходит за рамки данной работы.

Зависимости скорости и эффективности абляции ногтевой пластины от времени лазерного воздействия с длиной волны 405 nm при его различной средней мощности представлены на рис. 4, a и 4, b соответственно.

Видно, что представленные зависимости имеют экстремум при времени лазерного воздействия 0.1 s. Рост скорости и эффективности абляции ногтевой пластины



**Рис. 4.** Зависимости скорости (а) и эффективности (б) абляции ногтевой пластины от времени воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm и различной средней мощностью.

при временах меньших 0.1 s можно связать с ростом поглощенной ногтевой пластиной энергии лазерного излучения и связанным с этим увеличением превышения плотностью энергии пороговой величины, необходимой для начала абляции ногтевой пластины. Уменьшение скорости и эффективности абляции ногтевой пластины при временах больших 0.1 s можно связать с уменьшением достигающей дна микропоры плотности энергии лазерного излучения в результате отдаления дна микропоры от плоскости перетяжки лазерного пучка в течение времени лазерного воздействия, а также с накоплением продуктов лазерного разрушения внутри кратера, которые поглощают излучение. Также следует отметить, что скорость и эффективность абляции ногтевой пластины увеличиваются с ростом мощности лазерного излучения, что, очевидно, обусловлено увеличением объема ногтевой пластины, внутри которого плотность энергии лазерного излучения превышает пороговую для абляции величину. При времени лазерного воздействия  $t = 0.6$  s скорости абляции ногтевой пластины для всех трех исследованных в работе значений средней мощности лазерного излучения становятся сопоставимы друг с другом (рис. 4, а). Это можно объяснить различием в динамике изменения эффективности абляции ногтевой пластины для этих мощностей (рис. 4, б). При  $t = 0.3$  s эффективность абляции для средней мощности лазерного излучения  $P = 0.5$  W уступает эффективности при  $P = 0.8$  и 1.0 W, а при  $t = 0.4$  s эффективность абляции для средней мощности  $P = 0.5$  W уже превышает эффективность при  $P = 0.8$  и 1.0 W. То есть для  $P = 0.5$  W эффективность с течением времени воздействия уменьшается медленнее, чем для  $P = 0.8$  и 1.0 W, и при  $t = 0.6$  s для  $P = 0.5$  W меньшая средняя мощность компенсируется большей эффективностью абляции.

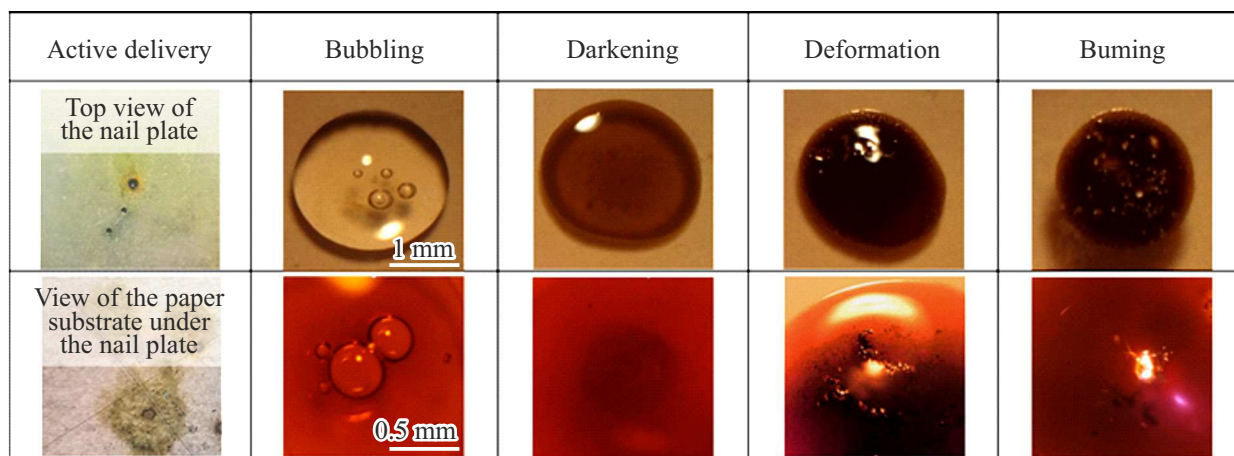
Максимальная скорость абляции ногтевой пластины излучением с длиной волны 450 nm составила  $2600 \pm 200 \mu\text{m/s}$ , а эффективность абляции ногтевой пластины —  $2.6 \pm 0.2 \mu\text{m/mJ}$  при воздействии на ногтевую

пластину лазерного излучения с мощностью  $P = 1.0$  W в течение  $t = 0.1$  s. Для сквозной микропорации ногтевой пластины толщиной  $370 \pm 20 \mu\text{m}$  при  $P = 1.0$  W потребовалось  $t = 0.2 \pm 0.02$  s.

Следует отметить, что эффективность абляции ногтевой пластины излучением непрерывного InGaN лазера с длиной волны 405 nm превышает эффективность абляции ногтевой пластины излучением непрерывного лазера с длиной волны 450 nm ( $1.47 \mu\text{m/mJ}$ ) [14] и уступает эффективности абляции излучением импульсного Er:YLF лазера ( $4.6 \mu\text{m/mJ}$ ) [18], что можно объяснить как различием в поглощении ногтевой пластиной излучения на этих длинах волн, так и различием в импульсной мощности. Скорость абляции ногтевой пластины излучением непрерывного InGaN лазера с длиной волны 405 nm и  $P = 1.0$  W сопоставима со скоростью абляции ногтевой пластины излучением непрерывного лазера с длиной волны 450 nm с  $P = 1.9$  W ( $2750 \pm 30 \mu\text{m/s}$ ) [14] и превышает скорость абляции излучением импульсного Er:YLF лазера с  $P = 0.12$  W, энергией в импульсе  $E = 4$  mJ и частотой следования  $f = 30$  Hz ( $360 \mu\text{m/s}$ ) [18].

При воздействии лазерным излучением с длиной волны 405 nm на каплю препарата Chloderm и его водных растворов, расположенную на поверхности микропорированной ногтевой пластины, впервые были обнаружены пять процессов: активная доставка, пузырение, потемнение, деформация поверхности капли препарата и горение (рис. 5). Факт возникновения этих процессов зависел от средней мощности, времени воздействия лазерного излучения и концентрации Chloderm в водном растворе.

При воздействии лазерного излучения с длиной волны 405 nm с мощностью  $P = 1$  W в течение  $t = 0.2$  s на каплю водного раствора Chloderm с концентрацией  $C < 2\%$ , расположенную на поверхности микропорированной ногтевой пластины, наблюдалась только активная доставка раствора под ногтевую пластину. При воздействии лазерного излучения на водный раствор



**Рис. 5.** Процессы, возникающие при воздействии лазерного излучения с длиной волны 405 nm на каплю хлоринсодержащего фотосенсибилизирующего препарата „Chloderm“, расположенную на поверхности микропорированной ногтевой пластины.

Chloderm с концентрацией  $C = 2\text{--}25\%$  наблюдались активная доставка раствора под ногтевую пластину и его пузырение. При воздействии лазерного излучения на водный раствор Chloderm с концентрацией  $C = 25\text{--}55\%$  наблюдались активная доставка раствора и деформация поверхности капли. При воздействии лазерного излучения на водный раствор Chloderm с концентрацией  $C = 55\text{--}60\%$  наблюдались активная доставка раствора, потемнение и деформация поверхности капли. При воздействии лазерного излучения на водный раствор Chloderm с концентрацией  $C > 60\%$  и препарат наблюдались потемнение и горение. Для дальнейших исследований была выбрана концентрация  $C = 5\%$ , так как в этом случае можно было оценить влияние только процесса пузырения на конформационное состояние хлорина е6 в Chloderm при его активной лазерной доставке излучением с длиной волны 405 nm.

Зависимости массы  $PM_{\text{Chloderm}}$  водного раствора Chloderm ( $C = 5\%$ ), проникшего через одиночную микропору в ногтевую пластину в момент его доставки под ногтевую пластину, и скорости ( $V_{\text{Chloderm}}$ ) активной лазерной доставки этого водного раствора под ногтевую пластину от времени воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm и различной средней мощностью представлена на рисунках 6, *a* и 6, *b* соответственно.

Видно, что представленные зависимости  $PM_{\text{Chloderm}}$  и  $V_{\text{Chloderm}}$  имеют экстремум. Экстремум для  $PM_{\text{Chloderm}}$  расположен на  $t = 0.3$  s при  $P = 1$  W, на  $t = 0.4$  s при  $P = 0.8$  W, а для  $P = 0.5$  W в исследуемом диапазоне времен воздействия  $t$  и средних мощностей лазерного излучения  $P$  не был обнаружен. Экстремум для  $V_{\text{Chloderm}}$  расположен на  $t = 0.3$  s при всех  $P$ . Первоначальный рост  $PM_{\text{Chloderm}}$  и  $V_{\text{Chloderm}}$  связан с ростом энергетической экспозиции лазерного излучения. Последующее падение  $PM_{\text{Chloderm}}$  и  $V_{\text{Chloderm}}$  может быть связано как с частичным разлетом капли водного раствора Chloderm в результате формирования в ней под действием лазер-

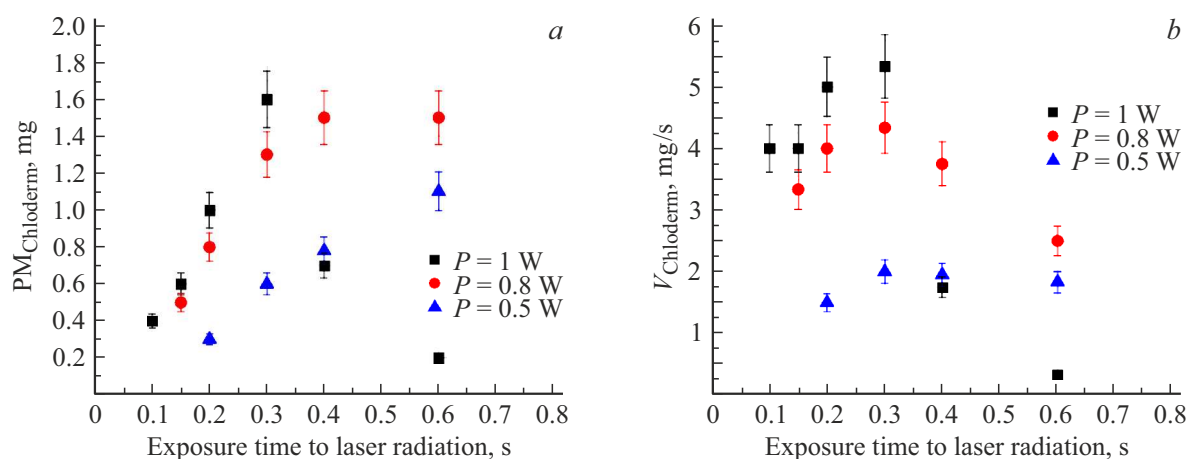
ного излучения парогазовых полостей (пузырей), так и с вызванным этим процессом падением коэффициента поглощения на длине волны лазерного излучения.

Максимальные масса  $PM_{\text{Chloderm}} = 1.6 \pm 0.15$  mg и скорость доставки  $V_{\text{Chloderm}} = 5.3 \pm 0.5$  mg/s были зарегистрированы при  $P = 1.0$  W и  $t = 0.3$  s. Минимальное время, необходимое для активной лазерной доставки, наблюдалось при  $P = 1.0$  W и соответствовало  $t = 0.1$  s.

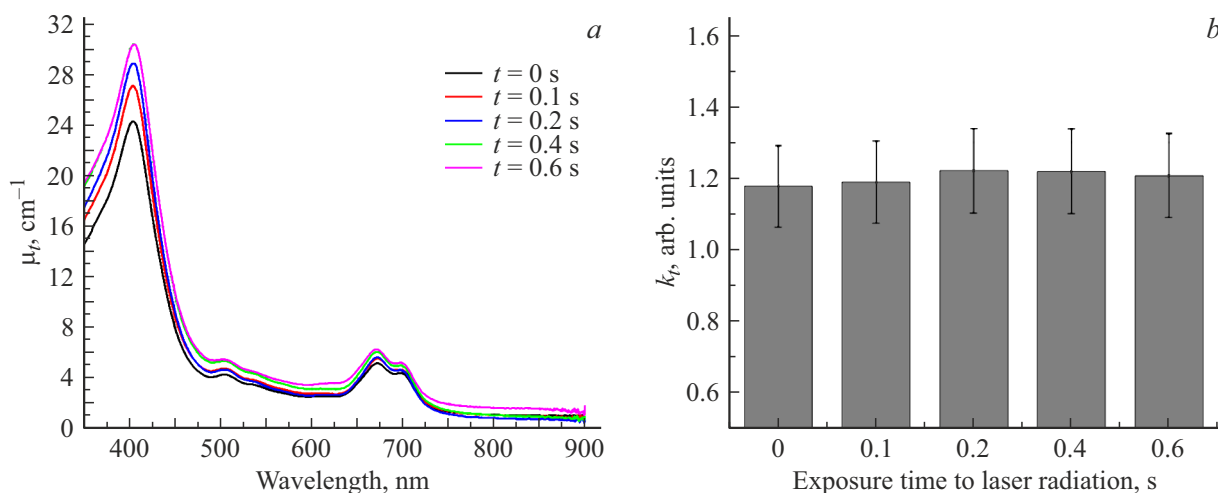
Следует отметить, что скорость доставки  $V_{\text{Chloderm}}$  ( $C = 5\%$ ) излучением непрерывного InGaN лазера с длиной волны 405 nm превышает скорость доставки  $V_{\text{Chloderm}}$  ( $C = 0.65\%$ ) излучением непрерывного лазера с длиной волны 450 nm ( $1.15 \pm 0.10$  mg/s) [14] и скорость доставки  $V_{\text{Chloderm}}$  ( $C = 0.65\%$ ) излучением Et:YLF лазера с длительностью импульса 270  $\mu$ s, энергией импульса  $E = 4$  mJ и частотой следования  $f = 30$  Hz ( $1.40 \pm 0.15$  mg/s) [19], что можно объяснить различием в количестве хлорина е6 в препарате и, соответственно, с отличиями в поглощении препаратами излучения лазеров с длинами волн 405 и 450 nm, а также с различием в импульсной мощности лазерных источников.

Спектры экстинкции водного раствора Chloderm ( $C = 5\%$ ) до и после воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm и мощностью  $P = 1.0$  W (интенсивность 6500 W/cm<sup>2</sup>) представлены на рис. 7, *a*. Зависимость коэффициента спектральной трансформации  $k_t$  от времени этого лазерного воздействия представлена на рис. 7, *b*.

Спектры экстинкции водного раствора Chloderm ( $C = 5\%$ ) имеют ярко выраженные полосы поглощения с пиками на длинах волн  $405 \pm 5$  nm (В-полоса),  $672 \pm 3$  и  $697 \pm 3$  nm (Qu 00-полосы). До лазерного воздействия коэффициент экстинкции  $\mu_t$  водного раствора Chloderm на длине волны 405 nm составлял  $24.24$  cm<sup>-1</sup>, на длине волны 672 nm —  $5.14$  cm<sup>-1</sup>, а на длине волны 697 nm —  $4.37$  cm<sup>-1</sup>. После воздействия на водный раствор Chloderm ( $C = 5\%$ ) непрерывного



**Рис. 6.** Зависимости массы  $PM_{\text{Chloderm}}$  (a) и скорости ( $V_{\text{Chloderm}}$ ) активной лазерной доставки (b) водного раствора Chloderm ( $C = 5\%$ ) от времени воздействия лазерного излучения с длиной волны 405 nm и различной средней мощностью.



**Рис. 7.** Спектры экстинкции ( $\mu_t$ ) водного раствора Chloderm ( $C = 5\%$ ) (a) и коэффициенты спектральной трансформации  $k_t$  (b) до и после лазерного воздействия с длиной волны 405 nm, мощностью  $P = 1.0$  W и различным временем лазерного воздействия.

лазерного излучения с длиной волны 405 nm и мощностью  $P = 1.0$  W (рис. 7, a) в течение  $t = 0.1, 0.2, 0.4$  и  $0.6$  s коэффициент экстинкции  $\mu_t$  на длине волны 405 nm увеличился до 27.07, 28.86, 30.41 и  $30.37 \text{ cm}^{-1}$ , на длине волны 672 nm — до 5.52, 5.63, 6.04 и  $6.25 \text{ cm}^{-1}$ , а на длине волны 697 nm — до 4.63, 4.63, 4.96 и  $5.18 \text{ cm}^{-1}$  соответственно. Увеличение может быть связано с увеличением концентрации фотосенсибилизатора (хлорин еб) в препарате из-за испарения воды под действием лазерного излучения. Наблюдаемый процесс пузырения, очевидно, свидетельствует о том, что в растворе достигается температура близкая к  $100^\circ\text{C}$ , необходимая для испарения воды. Можно также отметить, что пики полос поглощения на длинах волн 405, 672 и 697 nm не смещаются, что говорит в пользу отсутствия изменений состояния молекулы хлорин еб.

Коэффициент спектральной трансформации до и после лазерного воздействия  $k_t > 1$ . Коэффициент транс-

формации  $k_t$  при  $t = 0.6$  s статистически значимо ( $p$ -value  $< 0.05$ ) увеличивается с  $1.18 \pm 0.11$  ( $t = 0$  s) до  $1.21 \pm 0.12$ . Это свидетельствует о том, что с ростом  $t$  изменяется конформационное состояние водного раствора Chloderm и количество мономеров хлорина еб увеличивается. Рост количества мономеров хлорина еб приводит к росту квантового выхода синглетного кислорода и увеличению эффективности фотодинамической терапии [20–22]. Рост  $k_t$  может быть связан с изменением температуры и pH препарата в результате светового воздействия [16,20,21,23–25]. Изменение конформационного состояния хлорина еб может происходить как за счет агрегации, так и за счет изменений, происходящих в самих мономерах и тетрамерах. Исследуемый в работе коэффициент спектральной трансформации описывает агрегацию и не позволяет судить об изменениях, происходящих в мономерах и тетрамерах, так как не учитывает изменения их молярных коэффициентов поглощения.

При минимальном необходимом для активной лазерной доставки Chloclerm времени лазерного воздействия с длиной волны 405 nm ( $t = 0.1$  s)  $k_t$  статистически значимо не изменяется, что говорит о том, что при лазерной доставке современного хлоринсодержащего препарата Chloclerm ( $C = 5\%$ ) излучением с длиной волны 405 nm и средней мощностью  $P = 1.0$  W его конформационное состояние не изменяется, а значит не ухудшаются его фотодинамические и люминесцентные свойства.

## Заключение

В условиях *in vitro* исследована микропорация ногтевой пластины и активная лазерная доставка современного хлоринсодержащего препарата Chloclerm после его нанесения на дорсальную поверхность микропорированной ногтевой пластины излучением непрерывного InGaN лазера с длиной волны 405 nm. Впервые обнаружены возникающие при воздействии лазерным излучением с длиной волны 405 nm на каплю препарата Chloclerm и его водных растворов, расположенную на поверхности микропорированной ногтевой пластины, процессы: активная доставка, пузырение, потемнение, деформация поверхности капли препарата и горение. Факт возникновения этих процессов зависел от средней мощности, времени воздействия лазерного излучения и концентрации Chloclerm в водном растворе. Определены скорость и эффективность абляции ногтевой пластины излучением непрерывного InGaN лазера с длиной волны 405 nm. Максимальная скорость абляции составила  $2600 \pm 200 \mu\text{m/s}$ , а эффективность абляции —  $2.6 \pm 0.2 \mu\text{m/mJ}$ . Продемонстрирована возможность активной доставки водного раствора Chloclerm ( $C = 5\%$ ) под микропорированную этим лазером ногтевую пластину. Показано, что при  $P = 1.0$  W и  $t = 0.3$  s скорость активной лазерной доставки под ногтевую пластину водного раствора Chloclerm излучением с длиной волны 405 nm достигает  $5.3 \pm 0.5$  mg/s, а минимальное время, необходимое для активной лазерной доставки препарата, составляет 0.1 s. Исследованы спектры экстинкции водного раствора Chloclerm до и после лазерного воздействия с длиной волны 405 nm. Установлено, что при  $P = 1.0$  W и  $t = 0.6$  s коэффициент его экстинкции увеличивается, а коэффициент спектральной трансформации  $k_t$  статистически значимо возрастает, но при  $t = 0.1$  s минимальном необходимом для активной лазерной доставки Chloclerm  $k_t$  статистически значимо не изменяется.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность В.В. Ашмарову за предоставленные образцы современных хлоринсодержащих фотосенсибилизирующих препаратов.

## Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-25-00468).

## Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## Список литературы

- [1] P. Rich, R. K. Scher. *An atlas of diseases of the nail* (CRC Press, Boca Raton, 2003).
- [2] B.E. Elewski. *American J. Clinical Dermatology*, **1** (1), 19 (2000). DOI: 10.2165/00128071-200001010-00002
- [3] L.G. Hochman. *J. Cosmetic Laser Therapy*, **13** (1), 2 (2011). DOI: 10.3109/14764172.2011.552616
- [4] A.K. Gupta, N. Stec, R.C. Summerbell, N.H. Shear, V. Piguet, A. Tosti, B.M. Piraccini. *J. European Academy of Dermatology and Venereology*, **34** (9), 1972 (2020). DOI: 10.1111/jdv.16394
- [5] M.T. Tsai, T.Y. Tsai, S.C. Shen, C.Y. Ng, Y.J. Lee, J.D. Lee, C.H. Yang. *Sensors*, **16** (12), 2111 (2016). DOI:10.3390/s16122111
- [6] J. Neev, J. Stuart Nelson, M. Critelli, J.L. McCullough, E. Cheung, W.A. Carrasco, B.C. Stuart. *Lasers in Surgery and Medicine*, **21** (2), 186 (1997). DOI: 10.1002/(SICI)1096-9101(1997)21:2<186::AID-LSM10>3.0.CO;2-D
- [7] E.G. Bendit. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, **4** (5), 539 (1966). DOI: 10.1002/bip.1966.360040506
- [8] Е.Г. Кузнецова, В.А. Рьжикова, Л.А. Саломатина, В.И. Севастьянов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*, **18** (2), 152 (2016). DOI: 10.15825/1995-1191-2016-2-152-162
- [9] *Качественная клиническая практика*, (1), 2 (2001).
- [10] V.I. Yusupov, V.M. Chudnovskii, V.N. Bagratashvili. *Laser Phys.*, **20** (7), 1641 (2010). DOI: 10.1134/S1054660X1014001X
- [11] A.V. Belikov, A.D. Tavalinskaya, S.N. Smirnov, A.N. Sergeev. *Biomedical Optics Express*, **10** (7), 3232 (2019). DOI: 10.1364/BOE.10.003232
- [12] G. Pradeep, S. Cyriac, S. Ramkumar, C.S. Kartha. *Japanese J. Appl. Phys.*, **39** (1R), 137 (2000). DOI: 10.1143/JJAP.39.137
- [13] A.V. Belikov, A.D. Tavalinskaya, S.N. Smirnov. *Lasers in Surgery and Medicine*, **53** (8), 1122 (2021). DOI: 10.1002/lsm.23379
- [14] А.В. Беликов, Ю.В. Федорова, А.Д. Козлова, С.Н. Смирнов. *Опт. и спектр.*, **130** (6), 872 (2022). DOI: 10.21883/OS.2023.06.55919.119-23
- [15] A.V. Belikov, A.D. Kozlova, S.N. Smirnov, Y.V. Fyodorova. *J. Biomed. Photonics & Engineering*, **8** (4), 040502 (2022). DOI: 10.18287/JBPE22.08.040502
- [16] Е.В. Кунделев. *Круговой дихроизм в оптических спектрах агрегатов тетрапиррольных молекул и комплексов квантовая точка-молекула*. Автореф. канд. дис. (СПб НИУ ИТМО, СПб. 2017).
- [17] O.O.D. Morais, I.M.C. Costa, C.M. Gomes, D.H. Shinzato, G.M.C. Ayres, R.M. Cardoso. *Anais brasileiros de dermatologia*, **88** (5), 847 (2013). DOI:10.1590/abd1806-4841.20131932



- [18] A.V. Belikov, A.N. Sergeev, S.N. Smirnov, A.D. Tavalinskaya. *Frontiers of Optoelectronics*, **10** (3), 299 (2017). DOI: 10.1007/s12200-017-0719-3
- [19] А.Д. Козлова. *Исследование процессов лазерной микрорепарации и доставки фотодинамических препаратов под ногтевую пластину*. Автореф. канд. дис. (СПб НИУ ИТМО, СПб. 2022).
- [20] H.A. Isakau, M.V. Parkhats, V.N. Knyukshto, B.M. Dzhagarov, E.P. Petrov, P.T. Petrov. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **92** (3), 165 (2008). DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2008.06.004
- [21] B. Čunderlíková, L. Gangeskar, J. Moan. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **53** (1–3), 81 (1999). DOI: 10.1016/S1011-1344(99)00130-X
- [22] D.R. Dadadzhanov, I.V. Martynenko, A.O. Orlova, V.G. Maslov, A.V. Fedorov, A.V. Baranov. *Opt. Spectrosc.*, **119** (5), 738 (2015). DOI: 10.1134/S0030400X15110053
- [23] Т.И. Ермилова, Д.С. Тарасов. В сб.: *Сборник работ 69-й научной конференции студентов и аспирантов Белорусского государственного университета 14-17 мая 2012 г.*, (Изд. центр БГУ, Минск, 2013), I, 126.
- [24] Н.В. Белько, М.П. Самцов, А.П. Луговский. *Журн. Белорусского государственного университета. Физика*, **2**, 19 (2020). DOI:10.33581/2520-2243-2020-2-19-27
- [25] А.В. Беликов, С.Н. Смирнов, А.Д. Тавалинская. *Опт. и спектр.*, **129** (6), 698 (2021). DOI: 10.21883/OS.2023.06.55919.119-23