

УДК 541.64

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ИОНОВ ТЕРБИЯ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ СОПОЛИМЕРОВ СТИРОЛСУЛЬФОНАТА НАТРИЯ С 4-МЕТАКРИЛОИЛАМИДОСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ

© 2022 г. Т. Н. Некрасова¹, Н. А. Нестерова^{1,*}, А. И. Фишер^{1,2}, И. И. Гаврилова¹, А. П. Катасонова¹, член-корреспондент РАН Е. Ф. Панарин¹

Поступило 25.11.2021 г.

После доработки 21.02.2022 г.

Принято к публикации 28.02.2022 г.

Синтезированы водорастворимые сополимеры стиролсульфоната натрия и 4-метакрилоиламидо-салициловой кислоты состава 93/7 мол. % и исследовано их взаимодействие с ионами тербия и гадолиния с целью получения люминесцирующих зондов, перспективных для визуализации их в биомедицинских исследованиях. Показано, что в водных растворах в интервале концентраций сополимера 0.15–1.7 мг мл⁻¹ и соотношении $[Tb^{3+}]/[COO^-] = 1$ образуются водорастворимые люминесцирующие металлополимерные комплексы с длительностью свечения 823 мкс. При частичной замене в комплексе ионов Tb^{3+} на ионы Gd^{3+} формируются биметаллические комплексы с интенсивной люминесценцией.

Ключевые слова: люминесцирующие металлополимерные комплексы, лантаноиды, полистирол-сульфонат натрия, 4-метакрилоиламидо-салициловая кислота

DOI: 10.31857/S2686953522020054

Развивающаяся в настоящее время пандемия коронавируса стимулирует поиск новых противовирусных средств как среди низкомолекулярных, так и среди водорастворимых высокомолекулярных веществ. Среди полимеров высокой молекулярной массы исследователей вызывают полианионы, в частности сульфосодержащие полимеры, например, полистиролсульфонат натрия (поли-ССNa), поливинилсульфонат натрия и др., которые активны в отношении различных вирусов (гриппа, ВИЧ, герпеса, бешенства и др.) [1, 2]. Для биовизуализации клеток, вирусов, тканей и биологических процессов в последнее время используют металлополимерные комплексы лантаноидов – Eu^{3+} , Tb^{3+} [3–6].

Для исследования взаимодействия полистиролсульфоната натрия (I) с вирусами и клетками в данной работе осуществлен синтез сополимера (II) стиролсульфоната натрия (ССNa) с 4-метакрилоиламидо-салициловой кислотой (МАСК).

Объекты исследования представлены на рис. 1. На их основе изучены условия формирования люминесцирующих комплексов ионов Tb^{3+} в водных растворах. 4-Амино-салициловая кислота является противотуберкулезным препаратом, а ее полимерные производные образуют люминесцирующие комплексы с Eu^{3+} , Tb^{3+} [7, 8]. То есть синтезированный сополимер обладает полифункциональной биологической активностью.

Сополимер и гомополимеры получали методом радикальной (со)полимеризации в растворах (ДМФА, ДМСО) в присутствии динитрила азобисизомасляной кислоты (ДАК) в качестве инициатора при 65°C в течение 24 ч. Выделяли полученные полимеры диализом против воды с последующей лиофильной сушкой. Молекулярные массы рассчитывали исходя из значений характеристической вязкости по формуле $[\eta] = 1.17 \times 10^{-2} M^{0.69}$ для полистиролсульфоната натрия [9]: для I молекулярная масса составила 31×10^3 , для сополимера II – 84×10^3 . Содержание МАСК, используемой в качестве метки хелата для получения люминесцирующего зонда, определенное УФ-спектрофотометрически в сополимере составило 7 мол. %.

Исследовали водные растворы с концентрацией сополимера 1.5 и 0.12 мг мл⁻¹ и pH 8–9. Соотношение $[COO^-]/[Tb^{3+}]$ варьировали добавлением

¹ Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук, 199004 Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный Технологический институт (Технический университет), 190013 Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: lab.2305@mail.ru

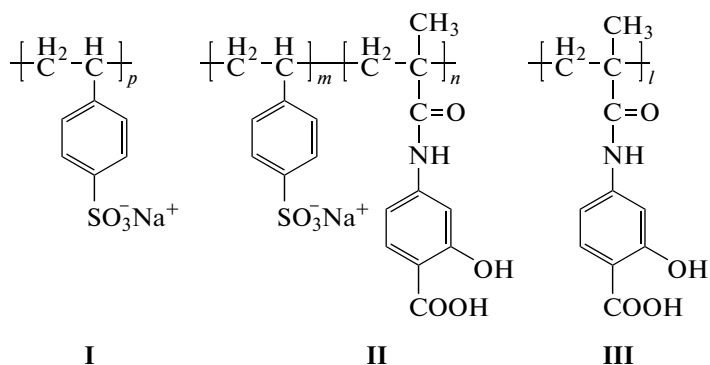


Рис. 1. Структурные схемы объектов исследования. Полистиролсульфонат натрия (I), сополимер стиролсульфоната натрия с 4-метакрилоиламидосалициловой кислотой (II), полиметакрилоиламидосалициловая кислота (III).

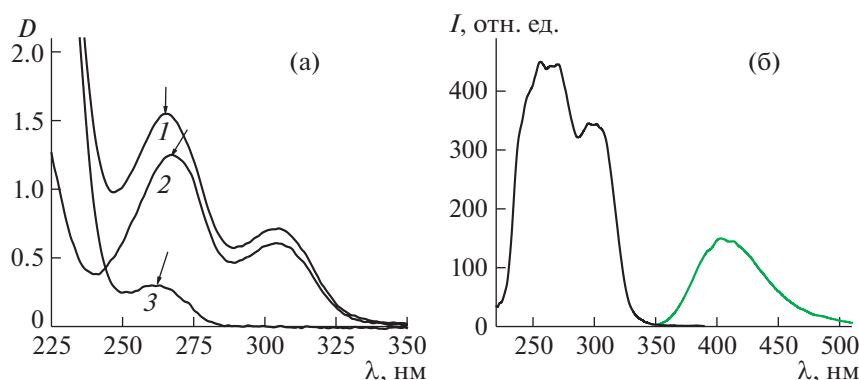


Рис. 2. (а) УФ-спектры водных растворов исследуемых (со)полимеров – сополимер (CCNa–МАСК) (спектр 1), поли-МАСК (спектр 2), поли-CCNa (спектр 3); (б) спектры возбуждения (черная кривая) $\lambda_{эм} = 402$ нм и люминесценции (зеленая кривая) сополимера (CCNa–МАСК), $\lambda_{возб} = 302$ нм, pH 8.5.

раствора $TbCl_3$ ($c = 5 \times 10^{-4}$ моль $л^{-1}$) к раствору сополимера.

Спектры поглощения растворов регистрировали на спектрофотометре СФ256 УВИ (ООО “ЛОМО Фототоника”, Россия). Спектры возбуждения и люминесценции растворов записывали на спектрофлуориметре LS100 (фирма “РТИ”, Канада). Время жизни возбужденного состояния комплекса Tb^{3+} с сополимером II ($\tau_{фосф.}$) определяли из кинетической кривой спада интенсивности фосфоресценции. Измерения проводили в термостатируемой ячейке при 25°C в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см.

На рис. 2а приведены спектры поглощения водных растворов (со)полимеров I, II, III в интервале длин волн 220–400 нм. В спектрах поглощения раствора сополимера II (рис. 2а, спектр 1) присутствует полоса $\lambda_{макс} = 265$ нм, обусловленная $\pi-\pi^*$ электронными переходами в ароматическом кольце. Эта полоса представляет собой суперпозицию двух полос I ($\lambda_{макс} = 262$ нм, рис. 2а, спектр 2), и III ($\lambda_{макс} = 267$ нм, рис. 2а, спектр 3).

На рис. 2б приведены спектры возбуждения и люминесценции сополимера II.

На рис. 3 приведены спектры возбуждения и люминесценции ионов Tb^{3+} в растворе сополимера II при разных концентрациях сополимера.

При сравнении рис. 2а и 3 видно, что спектры возбуждения и поглощения растворов комплекса Tb^{3+}/II и исходного раствора сополимера II различаются по форме и, кроме того, в отличие от спектров поглощения растворов II, существенно изменяются с изменением концентрации сополимера. В комплексах лантаноидов соотношение между полосами, обусловленными поглощением лиганда и поглощением иона лантаноида, зависит не только от их молярных коэффициентов поглощения, но и от эффективности сенсибилизации люминесценции [6]. Существенное изменение формы спектров возбуждения при уменьшении концентрации сополимера указывает на перестройку внутренней сферы комплекса, связанную с изменением числа COO^- -групп и молекул воды, координированных Tb^{3+} .

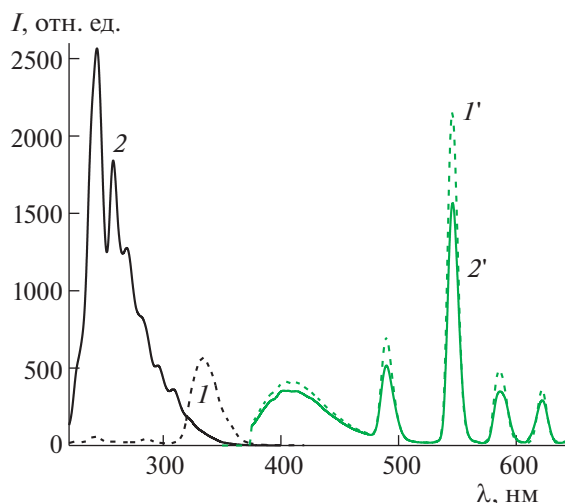


Рис. 3. Спектры возбуждения (черные кривые) $\lambda_{эм} = 544$ нм и люминесценции Tb^{3+} (зеленые кривые) в растворе сополимера (CCNa–МАСК) при концентрациях сополимера: 1.57 мг $мл^{-1}$ (1) и 0.12 мг $мл^{-1}$ (2). $[Tb^{3+}]/[COO^-] = 1$. $\lambda_{возб} = 335$ нм (1), $\lambda_{возб} = 310$ нм (2). Значения I для кривых 1' и 2' умножены на коэффициент 5.0.

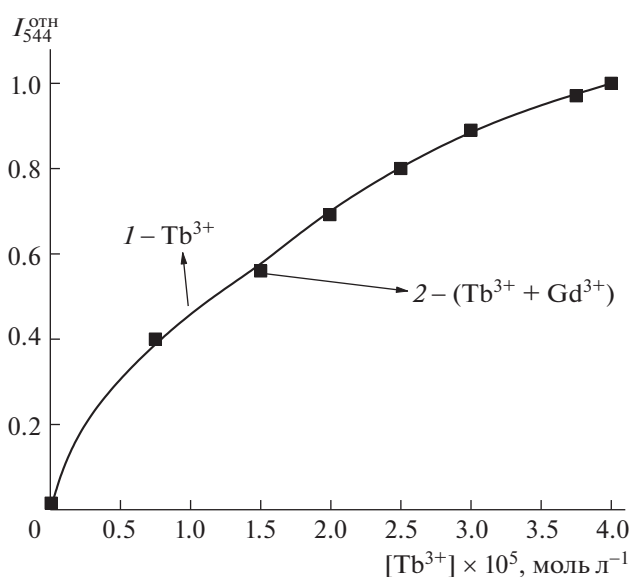


Рис. 4. Изменение интенсивности люминесценции ($I_{544}^{отн}$), нормированной к 1 при $[Tb^{3+}] = 4 \times 10^{-5}$ моль $л^{-1}$, раствора комплекса Tb^{3+}/II при добавлении ионов Gd^{3+} (черные квадраты 2), и аналогичная зависимость – в отсутствие ионов Gd^{3+} (сплошная кривая 1) при изменении концентрации Tb^{3+} .

В спектрах возбуждения при $c = 1.57$ мг $мл^{-1}$ присутствует одна полоса с $\lambda_{макс} = 335$ нм, в то время как при $c = 0.12$ мг $мл^{-1}$ в спектре появляются полосы с максимумами 227, 258, 268, 296, 310 нм (рис. 3, спектры 1, 2). Наблюдаемый эффект влияния концентрации обусловлен конкуренцией в связывании ионов Tb^{3+} звеньями стиролсульфоната и МАСК. Стиролсульфонат как анион сильной кислоты слабо координирует ионы

Tb^{3+} , поэтому при концентрации сополимера II $c_{II} \geq 1.5$ мг $мл^{-1}$ они в основном связываются звеньями МАСК. Но так как константы образования комплексов ионов лантаноидов с карбоксильными группами находятся в интервале $(1 \times 10^4) - (1 \times 10^6)$ [10], то при разбавлении раствора равновесие смещается в сторону формирования “координационно ненасыщенных” комплексов типа $Tb^{3+}(COO^-)_{3-n}$ ($n = 1, 2$).

Измерения времен жизни $\tau_{\text{фосф}}$ возбужденного состояния комплексов Tb^{3+} с сополимером **II** определяли из кинетических кривых спада интенсивности фосфоресценции. Кинетические кривые описываются двухэкспоненциальной зависимостью с $\tau_{\text{фосф}} = 823$ и 157 мкс, значения предэкспоненциального множителя составляют 0.92 и 0.08 соответственно. Основываясь на проведенных в работе [11] расчетах, можно предположить, что полимерный комплекс Tb^{3+}/II может содержать примерно до 4 молекул воды.

В спектрах фотолюминесценции растворов Tb^{3+} с сополимером **II** для исследованных концентраций (рис. 3) наряду с полосами 495 , 545 , 587 , 622 нм, характерными для Tb^{3+} , обусловленными переходами ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_j$ ($j = 6, 5, 4, 3$), присутствует полоса люминесценции МАСК $\lambda = 402$ нм, что указывает на неполноту передачи энергии с триплетного уровня лиганда на резонансный уровень Tb^{3+} . Известно, что если внутрисистемный перенос недостаточен эффективен, то частичная замена люминесцирующих ионов на ионы Gd^{3+} может способствовать возрастанию интенсивности люминесценции ионов лантаноидов [12–14]. Макромолекулярные комплексы Gd^{3+} помимо использования в МРТ перспективны для одновременного проведения МРТ и направленных терапевтических процедур [15], а также могут быть совмещены с другими способами визуализации.

На рис. 4 приведено изменение интенсивности люминесценции комплекса Tb^{3+}/II , нормированной к 1 при $[\text{Tb}^{3+}] = 4 \times 10^{-5}$ моль л^{-1} , при добавлении ионов Gd^{3+} (черные квадраты). Соотношение $[\text{Tb}^{3+}]/[\text{Gd}^{3+}]$ изменяли от 0.6 до 16 , уменьшая концентрацию Tb^{3+} , но сохраняя при этом общую концентрацию ионов Tb^{3+} и Gd^{3+} постоянной и равной 4×10^{-5} моль л^{-1} . Для сравнения в тех же координатах приведена зависимость для Tb^{3+}/II без Gd^{3+} (сплошная кривая).

Из рис. 4 видно, что добавление Gd^{3+} не влияет на люминесценцию Tb^{3+} при всех соотношениях $[\text{Tb}^{3+}]/[\text{Gd}^{3+}]$. Возможно, это вызвано тем, что либо Gd^{3+} связывается звеньями стиролсульфоната, либо Gd^{3+} , замещая Tb^{3+} в комплексе с **II**, создает дополнительную ступень передачи энергии электронного возбуждения на излучающий уровень Tb^{3+} , что способствует усилению люминесценции, компенсируя уменьшение концентрации комплексов $\text{Tb}^{3+}/\text{МАСК}$ в сополимере.

Таким образом, формирование комплексов сополимера (CCNa–МАСК) с ионами Tb^{3+} , а также биметаллических комплексов Tb^{3+} и Gd^{3+} с сополимером **II** открывает перспективы создания водорастворимых полимерных полифункциональных биологически активных веществ с противовирусной активностью, содержащих зонды с

оптическими и магнитно-резонансными свойствами, для диагностики и визуализации клеток, органов и тканей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Anderson R.A., Feathergill K., Diao X., Cooper M., Kirkpatrick R., Spear P., Waller D.P., Chany C., Doncel G.F., Herold B., Zaneveld L.J.* // J. Androl. 2000. V. 21. № 6. P. 862–875.
<https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2000.tb03417.x>
2. *Контаров Н.А., Ермакова А.А., Гребенкина Н.С., Юминова Н.В., Зверев В.В.* // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60. № 4. С. 5–9.
3. *Bünzli J.-C.G.* // J. Lumin. 2016. V. 170. № 3. P. 866–878.
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2015.07.033>
4. *Leonard J.P., Nolan C.B., Stomeo F., Gunnlaugsson T.* // Top. Curr. Chem. 2007. P. 1–43.
https://doi.org/10.1007/128_2007_142
5. *Yan Y., Zhang J., Ren L., Tang C.* // Chem. Soc. Rev. 2016. V. 45. № 19. P. 5232–5263.
<https://doi.org/10.1039/c6cs00026F>
6. *Utochnikova V.V.* // Coord. Chem. Rev. 2019. V. 398. Article 113006.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.07.003>
7. *Gao B., Zhang W., Zhang Z., Lei Q.* // J. Lumin. 2012. V. 132 № 8. P. 2005–2011.
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2012.01.055>
8. *Du C., Ma L., Xu Y., Zhao Y., Jiang C.* // Eur. Polym. J. 1998. V. 34. № 1. P. 23–29.
[https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(97\)00080-3](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(97)00080-3)
9. *Pavlov G.M., Zaitseva I.I., Gubarev A.S., Gavrilova I.I., Panarin E.F.* // Russ. J. Appl. Chem. 2006. 79. P. 1490–1493.
<https://doi.org/10.1134/S1070427206090187>
10. *Janicki R., Mondry A., Starynowicz P.* // Coord. Chem. Rev. 2017. V. 340. P. 98–133.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2016.12.001>
11. *Arnaud N., Georges J.* // Spectrochim. Acta, Part A. 2003. V. 59. № 8. P. 1829–1840.
[https://doi.org/10.1016/s1386-1425\(02\)00414-6](https://doi.org/10.1016/s1386-1425(02)00414-6)
12. *Ermolaev V.L., Sveshnikova E.B.* // Russ. Chem. Rev. 2012. V. 81. № 9. P. 769–789.
<https://doi.org/10.1070/RC2012v081n09ABEH004259>
13. *Dai T.-T., Liu L., Tao D.-L., Li S.-G., Zhang H., Cui Y.-M., Wang Y.-Z., Chen J.-T., Zhang K., Sun W.-Z., Zhao X.-Y.* // Chin. Chem. Lett. 2014. V. 25. № 6. P. 892–896.
<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2014.03.007>
14. *Уточникова В.В., Кузьмина Н.П.* // Коорд. химия. 2016. Т. 42. № 10. С. 640–656.
<https://doi.org/10.7868/S0132344X16090073>
15. *Cho H.K., Cho H.-J., Lone S., Kim D.-D., Yeum J.H., Cheong I.W.* // J. Mater. Chem. 2011. V. 21. P. 15486–15493.
<https://doi.org/10.1039/c1jm11608h>

LUMINESCENCE OF TERBIUM IONS IN AQUEOUS SOLUTIONS OF SODIUM STYRENE SULFONATE COPOLYMERS WITH 4-METHACRYLAMIDOSALICYLIC ACID

T. N. Nekrasova^a, N. A. Nesterova^{a,#}, A. I. Fischer^{a,b}, I. I. Gavrilova^a,
A. P. Katasonova^a, and Corresponding Member of the RAS E. F. Panarin^a

^a Institute of High Molecular Compounds of the Russian Academy of Sciences, 199004 St. Petersburg, Russian Federation

^b Saint Petersburg State Institute of Technology (Technical University), 190013 Saint Petersburg, Russian Federation

[#]E-mail: lab.230@mail.ru

Water-soluble copolymers of sodium styrene sulfate and 4-methacrylamidosalicylic acid of 93/7 mol % composition, were synthesized and their interaction with terbium and gadolinium ions was investigated in order to obtain luminescent probes promising for their visualization in biomedical research. It is shown that in aqueous solutions in the concentration range of the copolymer 0.15–1.7 mg ml⁻¹ and the ratio [Tb³⁺]/[COO⁻] = 1 water-soluble luminescent metal polymer complexes with a lifetime of 823 μs are formed. When Tb³⁺ ions are partially replaced in the complex by Gd³⁺ ions, bimetallic complexes with intense luminescence are formed.

Keywords: metal-luminescent polymer complexes, lanthanides, sodium polystyrene sulfate, 4-methacrylamidosalicylic acid